

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 389 792**

21 Número de solicitud: 201130613

51 Int. Cl.:

C12N 15/66

(2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación: **18.04.2011**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **31.10.2012**

43 Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
31.10.2012

71 Solicitante/s:
**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS (CSIC) (50.0%)
SERRANO, 117
28006 MADRID, ES y
UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA
(50.0%)**

72 Inventor/es:
**ORZÁEZ CALATAYUD, Diego Vicente;
SARRIÓN PERDIGONES, Alejandro;
GRANELL RICHARD, Antonio;
JUÁREZ ORTEGA, Paloma y
FERNÁNDEZ DEL CARMEN, Asunción**

74 Agente/Representante:
UNGRÍA LÓPEZ, Javier

54 Título: **SISTEMA PARA ENSAMBLADO DE PIEZAS GENÉTICAS.**

57 Resumen:

Sistema para ensamblado de piezas genéticas.
La presente invención describe un sistema de ensamblado in vitro para piezas genéticas. El ensamblado de fragmentos de DNA constituye la base de la ingeniería genética y la biología sintética. Para el diseño de nuevos circuitos genéticos, ambas disciplinas tienden hacia la generación de colecciones de piezas genéticas intercambiables y reciclables (es decir, susceptibles de ser utilizadas en laboratorios distintos y para generar combinaciones genéticas distintas), que puedan ser unidas entre sí mediante el uso de un método estándar de ensamblaje. Es particularmente necesario el desarrollo de métodos que permitan gran eficiencia y versatilidad en el ensamblaje de piezas en los rangos que van entre 5 y 50 piezas individuales, ya que la naturaleza modular de las interacciones genéticas hace que buena parte de la ingeniería se desarrolle en torno a diseños genéticos que abarcan estos rangos de tamaño.

ES 2 389 792 A1

DESCRIPCIÓN

Sistema para ensamblado de piezas genéticas

- La presente invención se engloba en el sector técnico de la Biotecnología, la Biología Sintética y por extensión a la Biotecnología Agraria y Biología Sintética de Plantas para la creación de plantas transgénicas, cisgénicas y/o intragénicas con nuevos caracteres agronómicos.

ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

El ensamblaje de estructuras funcionales básicas de DNA (denominadas de aquí en adelante “piezas” o “partes”) para producir nuevas combinaciones (referidas de aquí en adelante como “módulos”, o “dispositivos” si resultan del ensamblaje de dos o más módulos) constituye la herramienta básica de la Biología Sintética.

- Tradicionalmente, el ensamblado múltiple de fragmentos de DNA se ha llevado a cabo sobre plásmidos que contienen un sitio de clonaje múltiple (MCS). El MCS consiste en una secuencia de DNA con un número variable de dianas de enzimas de restricción tipo II (ERTII). En esta metodología, el ensamblaje de uno o más fragmentos para formar estructuras de complejidad creciente se realiza por inserciones sucesivas de nuevas piezas, utilizando para ello las dianas de restricción presentes en el MCS. Las clonaciones múltiples basadas en MCS tradicionales tienen importantes limitaciones, fundamentalmente la presencia de dianas de restricción internas en los nuevos fragmentos a ensamblar, el número finito de dianas del MCS, la complejidad técnica, que incluye separación electroforética/purificación de los fragmentos, o la permanencia de las secuencias diana en las zonas de unión entre las partes ensambladas (referidas de aquí en adelante como “costuras de ensamblado” o simplemente “costuras”). Todo ello hace que el método MCS tradicional no sea susceptible de estandarización y por tanto es susceptible de ser mejorado.

Como alternativa a MCS tradicional, se han venido desarrollando nuevos métodos de ensamblaje. La tendencia general es acercar el ensamblaje genético a los mecanismos habituales en otras ingenierías, y para ello se requieren cuatro características básicas:

- (i) estandarización, es decir que las reglas de ensamblaje puedan aplicarse independientemente de la identidad de las partes;
- (ii) reciclabilidad, es decir que los nuevos ensamblajes puedan reutilizarse para realizar ensamblajes más complejos;
- (iii) eficiencia, es decir que permita la construcción de ensamblajes complejos de forma rápida y segura; y finalmente
- (iv) simplicidad, es decir que el ensamblaje funcione con un conjunto mínimo de reglas sencillas para facilitar la automatización y la adopción del sistema por el usuario final.

- Los métodos desarrollados en la actualidad son fundamentalmente de dos tipos: multipartitos, en los que el ensamblaje múltiple se realiza en un solo paso mediante adición de dos o más partes en tándem; o bien binarios, en los que el ensamblaje múltiple va creciendo paso a paso mediante uniones dos a dos de fragmentos ensamblados previamente.

- Uno de los métodos más utilizados es el denominado “Gateway Cloning”, sujeto a las patentes US números 5888732, 6143557, 6171861, 6270969, 6277608, 6720140 y otras patentes pendientes pertenecientes a Invitrogen Corporation. El clonaje Gateway está basado en recombinación homóloga in vitro mediada por una mezcla de recombinasas denominadas BP y LR. En una elaboración ulterior se desarrolló el sistema Multisite Gateway (Invitrogen), que permite el ensamblaje multipartito de hasta cuatro partes de forma direccional en un vector de destino. Varios vectores de ensamblaje multigénico se han desarrollado a partir de la tecnología Gateway (Chen et al., 2006, Chung et al., 2005). A pesar de su alta eficiencia, el ensamblaje por Gateway cloning está limitado a un máximo de cuatro partes, lo que impide formar módulos de orden superior y/o dispositivos. Además la recombinación conduce a la formación de costuras (sitios attB) de 25 nucleótidos.

- Un conjunto alternativo de metodologías (SLIC, Gibson, CPEC) está basado en la generación de fragmentos solapantes de simple cadena entre las “partes” a ensamblar. De esta forma el ensamblaje se estabiliza por apareamiento entre las cadenas complementarias, que posteriormente es cerrado covalentemente por ligasas o por la propia célula huésped. En todas estas tecnologías, las extensiones solapantes son introducidas por PCR, generando posteriormente los fragmentos de simple cadena mediante distintas técnicas. SLIC (Sequence and Ligase Independent Cloning), produce los fragmentos de simple cadena mediante la actividad exonucleasa de la ligasa T4 (Aslanidis and de Jong, 1990, Li and Elledge, 2007). El método de Gibson usa la polimerasa T5 perseguida por la polimerasa Phusion para generar y reparar la secuencias solapantes (Gibson et al., 2009). Finalmente el método llamado Circular Polymerase Extension Cloning (Quan and Tian, 2009), se basa en la actividad cebadora mutua de plásmido e inserto para ensamblar partes por PCR sin adición de oligonucleótidos. Todos estos sistemas de ensamblaje son multipartitos y generan ensamblajes sin costuras. Sin embargo, son bastante susceptibles de

introducir errores, ya que están basados en PCR. Además, debido a que están basados en apareamientos de secuencias complementarias, son poco compatibles con la existencia de zonas con alta estructura secundaria, secuencias repetitivas, etc. Otras metodologías multipartitas emplean distintas herramientas como el uso de enzimas de restricción con secuencias de reconocimiento largo (rare cutters) (Goderis et al., 2002) "homing endonucleases",

5 secuencias de recombinación (Lin et al., 2003), o una combinación de dos o más de ellas como el kit ACEM (Bieniossek et al., 2009) (Berger, 2010) (WO/2010/100278).

Otra metodología de ensamblaje multipartito descrita recientemente es el llamado método Golden Gate (Engler et al., 2009, Engler et al., 2008). Está basado en el uso de enzimas de restricción de tipo IIS (ERTIIS). A diferencia de los ERTII convencionales, en los cuales el sitio de reconocimiento es palindrómico y coincide con el sitio de

10 digestión, los ERTIIS no tienen diana de corte sino que digieren algunos nucleótidos más allá del sitio de reconocimiento, independientemente de su secuencia, dejando extremos protuberantes generalmente de 4 nucleótidos. En Golden Gate, las partes a ensamblar están flanqueadas por dianas ERTIIS orientadas hacia dentro del fragmento. De esta forma la diana desaparece tras el ensamblaje, facilitando una unión sin costuras. Para el ensamblaje sólo se requiere una pequeña región solapante de 4 nucleótidos entre partes adyacentes, que se hace

15 coincidir con la zona de corte del ERTIIS. En una reacción Golden Gate los fragmentos a ensamblar se incuban en presencia del ERTIIS y ligasa T4 en ciclos de digestión y ligación en un único tubo. Esta técnica aumenta notablemente la eficiencia de los ensamblajes pues evita tener que realizar extracción de gel de los fragmentos a clonar. Golden Gate es fácilmente estandarizable, sin embargo en su desarrollo inicial, las construcciones no eran reusables, lo que impide su adopción como estándar en Biología Sintética.

20 En una subsiguiente innovación técnica, denominada MoClo (Weber, Engler et al. 2011), se introdujeron dos nuevas enzimas de restricción de tipo IIS en los plásmidos de destino, lo que permite la utilización de estas enzimas para una segunda ronda de ensamblaje multipartito. Con objeto de aproximarse al objetivo de reciclabilidad, el sistema MoClo introduce un nivel de ensamblaje llamado "intermedio" que consiste en adicionar un casete de selección negativa a una pieza más al final del ensamblaje. Esto permite crear versiones de construcciones múltiples

25 "abiertas", que si bien no pueden ser directamente transferidas a la célula ya que contienen una pieza superflua (cassete de selección), sí que se puedan utilizar como molde sobre el que adicionar nuevas piezas y hacer así crecer la construcción en el futuro. El sistema MoClo es pues un sistema modular estandarizado susceptible de automatización. Aunque MoClo permite el crecimiento teóricamente indefinido de los ensamblajes Golden Gate, el diseño resultante presenta una serie de inconvenientes que complican su adopción por el usuario y que se

30 enumeran a continuación:

(i) el sistema requiere el uso de tres enzimas de restricción para asegurar un potencial crecimiento indefinido del sistema; para que el sistema funcione correctamente las piezas deben estar libres de dianas de restricción internas. Para ello es necesario mutagenizar (domesticar) aquellas piezas originales que presentan dianas de restricción

35 internas. El empleo de tres enzimas distintos aumenta la probabilidad de encontrar dianas internas en las piezas originales y por tanto aumenta los requerimientos de domesticación.

(ii) los módulos ensamblados en MoClo no son completamente reciclables dado el carácter "cerrado" de las construcciones: si no se le añade el casete de selección adicional no pueden seguir aumentando de tamaño;

(iii) el sistema en su conjunto es complejo: consta de 36 plásmidos (42 si se usa la opción de crecimiento reverso) y un gran número de reglas de ensamblaje;

40 (iv) la topología del sistema es básicamente lineal con diferentes niveles de ensamblaje y ramas laterales correspondientes a los niveles intermedios (figura 1A).

Por último, la propuesta más representativa que permite crecimientos binarios es el estándar de ensamblaje de Biobricks desarrollado en el MIT (Che, 2004, Knight, 2003), y comercializado recientemente por New England Biolabs y Ginkgo Bio Works. Los Biobricks son, en virtud de su simplicidad, una propuesta muy exitosa de

45 estandarización de las reglas de ensamblaje de piezas en Biología Sintética. Los biobricks son piezas genéticas básicas (biopiezas) flanqueadas por 4 enzimas de restricción de tipo II, A y B en su extremo 5', y C y D en su extremo 3'. En virtud de la compatibilidad entre B y C, la unión entre dos piezas básicas genera una pieza de orden superior indivisible (módulo) que contiene los mismos sitios flanqueantes que sus constituyentes iniciales. Esta propiedad se denomina "idempotencia", y constituye la máxima simplificación en las reglas de ensamblaje, ya que

50 una sola regla gobierna todo tipo de ensamblajes. Esta simplicidad facilita la automatización y el intercambio de piezas genéticas entre laboratorios, ya que cualesquiera piezas genéticas generadas mediante esta metodología pueden a su vez ensamblarse entre sí independientemente de su origen y su secuencia nucleotídica. No obstante, el uso de enzimas tipo II genera "costuras", lo que resulta problemático en la generación de ensamblajes "limpios" como los requeridos en fusiones de regiones codificantes. Por otra parte, esta estrategia hace uso de 4 enzimas de

55 restricción distintos, lo que obliga a sintetizar o mutagenizar ("domesticar") gran cantidad de piezas básicas que contienen sitios de reconocimiento para estas enzimas en sus secuencias originales. Finalmente, al tratarse de un sistema que no incorpora uniones multipartitas, es necesario un gran número de uniones binarias para realizar ensamblajes complejos, lo que lo convierte en una metodología lenta y costosa para muchas aplicaciones.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Las metodologías de ensamblaje actuales son de dos tipos: multipartitas o binarias. Los métodos binarios pueden ser compatibles con el uso de piezas intercambiables y reciclables. En particular los sistemas del tipo Biobricks son idempotentes, es decir, utilizan una única regla para cualquier ensamblaje, lo que facilita enormemente su estandarización y automatización. Sin embargo los métodos descritos hasta el momento producen costuras entre las piezas ensambladas. Además, al tratarse en todo caso de ensamblajes binarios la construcción de circuitos complejos a partir de piezas básicas resulta más laboriosa que en el caso de los ensamblajes multipartitos.

Los métodos multipartitos son rápidos porque permiten ensamblajes simultáneos de más de dos elementos. Sin embargo los métodos actuales adolecen de ciertas limitaciones. Algunos son limitados en el número de piezas a ensamblar (multisite Gateway). Otros requieren la síntesis de piezas de novo en cada reacción de ensamblaje, generalmente mediante PCR, para poder así agregar regiones solapantes entre las piezas a ensamblar que no existían necesariamente en las piezas originales. La generación de amplias regiones solapantes asegura un ensamblado sin costuras pero dificulta la intercambiabilidad y reciclabilidad de las piezas. Además, hace necesaria la comprobación de la integridad de la pieza tras cada ensamblaje, ya que la síntesis de novo puede generar errores de copia. Por tanto estas metodologías multipartitas son poco aptas para su utilización como estándar de ensamblaje en colecciones de piezas genéticas intercambiables y reciclables.

Recientemente se describió metodología multipartita conocida como Golden Gate, basada en el uso de enzimas de restricción de tipo IIS. Golden Gate es altamente eficiente, y tiene como principal característica que permite un ensamblaje sin costuras sin utilizar PCR en el proceso de ensamblaje. Sin embargo, en su descripción original, Golden Gate tiene como principal inconveniente la falta de reciclabilidad de sus piezas, lo que dificulta su uso como sistema de ensamblaje estandarizado en Biología Sintética. Esta carencia de Golden Gate ha sido parcialmente superada más recientemente mediante la tecnología MoClo, que extiende de forma indefinida las capacidades de ensamblaje multipartito de Golden Gate. Para ello MoClo amplía la tecnología Golden Gate utilizando al menos dos enzimas de restricción de tipo IIS en orientación A12B, siendo A y B sitios de corte del primer enzima y 1 y 2 sitios de reconocimiento del segundo enzima (ej. Bpl-Bsal-Bsal-Bpl). Ello le permite llevar a cabo dos niveles de ensamblaje: en el nivel 1 se ensamblan las "partes" básicas utilizando el primero de los enzimas (Bsal), mientras que el segundo enzima se utiliza para ensamblaje de unidades transcripcionales (Bpl). Para conseguir abrir el sistema de forma indefinida a ulteriores ensamblajes, existe la posibilidad de dejar "abierto" el nivel 2 mediante la adición, como una pieza más, de un nuevo casete de selección. El sistema MoClo tiene por tanto una estructura lineal con ramificaciones laterales (Figura 1A). Estas ramificaciones permiten dejar la estructura abierta a nuevos ensamblajes, aunque dicha estructura abierta no es directamente utilizable para su introducción en la célula ya que contiene un cassette de selección ajeno al ensamblaje. Por tanto, la estrategia MoClo supone una solución parcial al problema de la reciclabilidad de los ensamblajes multipartitos Golden Gate, y está lastrada por una gran complejidad, muy alejada de la idempotencia de los BioBricks: el sistema completo contiene un total de 42 plásmidos incluyendo adaptadores, linkers y plásmidos para realizar ensamblajes reversos.

La presente invención consiste en un nuevo sistema modular de ensamblaje que permite combinar de forma indefinida las construcciones multipartitas Golden Gate haciendo uso de reglas muy simples, cercanas a la idempotencia y con un número muy pequeño de elementos. Tras una primera etapa de ensamblaje multipartito en el que se unen partes básicas de forma estandarizada, los ensamblajes multipartitos resultantes (dispositivos) se unen entre sí indefinidamente mediante uniones binarias. En su conjunto, el sistema de clonaje puede describirse como un doble bucle que permite un ensamblaje quasi-idempotente de ensamblajes multipartitos. Es por tanto una solución alternativa a MoClo que añade sencillez y reciclabilidad a los ensamblajes multipartitos, facilitando su aplicación a la Biología Sintética.

Brevemente, la invención consiste en un sistema de ensamblado *in vitro* para piezas genéticas basado en el uso de enzimas de restricción de tipo IIS. En el estado anterior de la técnica, el ensamblaje estandarizado MoClo, también basado en enzimas de restricción de tipo IIS, utilizaba dos dianas de dos enzimas de restricción en orientación definida (A12B), lo que daba lugar a un diseño lineal de sucesivos niveles jerárquicos, con ramificaciones laterales opcionales que permiten dejar ensamblajes abiertos para la adición de piezas adicionales (Fig 1A). La presente invención proporciona una solución alternativa sencilla al diseño lineal: un diseño de clonaciones en bucle que hace uso de sólo dos niveles que van alternándose entre sí (Figura 1B). Ello se consigue mediante el uso de 2 enzimas de restricción tipo IIS (E1 y E2), pero a diferencia de MoClo, en la presente invención, ambos enzimas se utilizan en los dos niveles y con orientaciones invertidas. Así en el nivel α la orientación de los enzimas es del tipo general A12B, mientras que en el siguiente nivel (nivel Ω), la orientación es del tipo general 1AB2, donde los números representan sitios de corte del primer enzima y donde las letras representan sitios de corte del segundo enzima. Para conseguir la reciclabilidad de los ensamblajes resultantes (es decir, que estos puedan seguir ensamblándose entre sí), la presente invención necesita de sólo dos plásmidos de destino para cada nivel (α y Ω). El sistema resultante tiene una estructura de doble bucle en el que los plásmidos de entrada de la primera ronda (nivel α) de ensamblaje se convierten en plásmidos de destino de la segunda ronda (nivel Ω) y viceversa, lo que permite ensamblar nuevas unidades de forma indefinida. Las únicas limitaciones serán las impuestas por el tamaño y/o composición de DNA que pueda ser propagado por un determinado vector. La presente invención permite por tanto

la estandarización de Golden Gate para su uso en Biología Sintética. Además, se consigue un crecimiento potencialmente indefinido con un conjunto pequeño de herramientas y un limitado número de reglas de ensamblaje.

Plásmido pDGB_K_C12B (CECT 7899)

5 Uno de los plásmidos de destino objetos de la presente invención para el ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena, ha sido depositado el **21 de marzo de 2011**, en la **Colección Española de Cultivos Tipo (CECT)** en el Edificio 3 CUE del parque científico de la Universidad de Valencia, Catedrático Agustín Escardino nº9, 46980 Paterna, Valencia (España), por **D. Diego Orzáez**, del Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCO), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Universidad Politécnica de Valencia, Avenida Fausto Elio S/N 46022, Valencia (España).

10 El plásmido de destino para el ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena depositado cuya referencia es **pDGB_K_C12B**, fue recibido por la CECT con el número de acceso **CECT 7 899** una vez dicha Autoridad Internacional para el Depósito declaró que el plásmido en cuestión era viable.

15 El plásmido **CECT 7899** es un plásmido circular y contiene un casete de selección positiva LacZ flanqueado en su extremo 5' por los sitios C y 1 y en su extremo 3' por los sitios 2 y B. El resto de elementos estructurales del plásmido son: un origen de replicación pSa, un origen de replicación ColE1 y un gen de resistencia a kanamicina. (**SEQ.ID.NO:11**).

Plásmido pDGB_K_A12C (CECT 7900)

20 Uno de los plásmidos de destino objetos de la presente invención para el ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena, ha sido depositado el **25 de marzo de 2011**, en la **Colección Española de Cultivos Tipo (CECT)** en el Edificio 3 CUE del parque científico de la Universidad de Valencia, Catedrático Agustín Escardino nº9, 46980 Paterna, Valencia (España), por **D. Diego Orzáez**, del Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCO), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Universidad Politécnica de Valencia, Avenida Fausto Elio S/N 46022, Valencia (España).

25 El plásmido de destino para el ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena depositado cuya referencia es **pDGB_K_A12C**, fue recibido por la CECT con el número de acceso **CECT 7 900** una vez dicha Autoridad Internacional para el Depósito declaró que el plásmido en cuestión era viable.

30 El plásmido **CECT 7900** es un plásmido circular y contiene un casete de selección positiva LacZ flanqueado en su extremo 5' por los sitios A y 1 y en su extremo 3' por los sitios 2 y C. El resto de elementos estructurales del plásmido son: un origen de replicación pSa, un origen de replicación ColE1 y un gen de resistencia a kanamicina. (**SEQ.ID.NO:10**).

Plásmido pDGB_K_3AB2 (CECT 7901)

35 Uno de los plásmidos de destino objetos de la presente invención para el ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena, ha sido depositado el **01 de abril de 2011**, en la **Colección Española de Cultivos Tipo (CECT)** en el Edificio 3 CUE del parque científico de la Universidad de Valencia, Catedrático Agustín Escardino nº9, 46980 Paterna, Valencia (España), por **D. Diego Orzáez**, del Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCO), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Universidad Politécnica de Valencia, Avenida Fausto Elio S/N 46022, Valencia (España).

40 El plásmido de destino para el ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena depositado cuya referencia es **pDGB_K_3AB2**, fue recibido por la CECT con el número de acceso **CECT 7 901** una vez dicha Autoridad Internacional para el Depósito declaró que el plásmido en cuestión era viable.

El plásmido **CECT 7901** es un plásmido circular y contiene un casete de selección positiva LacZ flanqueado en su extremo 5' por los sitios 3 y A y en su extremo 3' por los sitios B y 2. El resto de elementos estructurales del plásmido son: un origen de replicación pSa, un origen de replicación ColE1 y un gen de resistencia a espectinomomicina. (**SEQ.ID.NO:13**).

45 **Plásmido pDGB_K_1AB3 (CECT 7902)**

50 Uno de los plásmidos de destino objetos de la presente invención para el ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena, ha sido depositado el **21 de marzo de 2011**, en la **Colección Española de Cultivos Tipo (CECT)** en el Edificio 3 CUE del parque científico de la Universidad de Valencia, Catedrático Agustín Escardino nº9, 46980 Paterna, Valencia (España), por **D. Diego Orzáez**, del Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCO), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Universidad Politécnica de Valencia, Avenida Fausto Elio S/N 46022, Valencia (España).

El plásmido de destino para el ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena depositado cuya referencia es **pDGB_K_1AB3**, fue recibido por la CECT con el número de acceso **CECT 7 902** una vez dicha Autoridad Internacional para el Depósito declaró que el plásmido en cuestión era viable.

- 5 El plásmido **CECT 7902** es un plásmido circular y contiene un casete de selección positiva LacZ flanqueado en su extremo 5' por los sitios 1 y A y en su extremo 3' por los sitios B y 3. El resto de elementos estructurales del plásmido son: un origen de replicación pSa, un origen de replicación ColE1 y un gen de resistencia a espectinomicina. (**SEQ.ID.NO:12**).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

- 10 La invención describe un sistema de ensamblado *in vitro* basado en el uso de enzimas de restricción de tipo IIS. El sistema Golden Gate anteriormente descrito permite realizar un ensamblaje multipartito sin costuras basado en enzimas de restricción de tipo IIS mediante el uso de dianas de un único enzima de restricción (E1). La presente invención permite, en virtud de un diseño especial de los plásmidos de destino en el que se usan al menos 2 enzimas de restricción de tipo IIS (E1, E2), además de realizar ensamblajes multipartitos como los previamente descritos, la posibilidad de combinarlos indefinidamente de forma binaria.

- 15 El sistema está formado por cuatro plásmidos de destino, pDGBs. Cada uno de los plásmidos de destino incorpora un casete delator que permita selección negativa (Sel), tal como LacZ o ccdB, o cualquier otro marcador que permita el crecimiento y la selección de aquellos clones que no contienen dicho marcador. Dicho marcador está flanqueado por un mínimo de 4 dianas de al menos 2 enzimas de restricción de tipo IIS, (E1 y E2). Las enzimas E1 y E2 pueden ser enzimas de restricción de tipo IIS tal como BsaI, BsmBI, BsbI, FokI, BsmAI, AarI, etc, o cualquier otro enzima de restricción con las siguientes características:

- 20 (i) que los sitios de reconocimiento y corte del enzima estén separados espacialmente, y preferentemente que el sitio de reconocimiento consista en una secuencia específica de cinco o más nucleótidos;
- (ii) que el sitio de corte del enzima no tenga requerimientos de secuencia, de forma que se pueda asignar a cada enzima cualquier secuencia de corte consistente en una serie de n nucleótidos (preferentemente cuatro o más)
- 25 donde n es una característica del propio enzima;
- (iii) que la digestión del DNA con el enzima tenga como consecuencia la formación de extremos cohesivos de DNA (preferentemente de 4 o más nucleótidos), que coincidirán con la secuencia de corte asignada por la invención.

- 30 Aprovechando la característica de las ERTIs de tener distintos sitios de reconocimiento y corte y el hecho de que la zona de corte viene determinada por la orientación de la secuencia de reconocimiento de la enzima de restricción, se diseñó una disposición como la que se muestra en la Figura 2A. Las dianas de reconocimiento de las enzimas de restricción presentan sus secuencias de reconocimiento en dirección 5'→3' conforme se indica en la figura 2A con flechas sólidas. Estas se encuentran en orientaciones invertidas de modo que se pueden dirigir los sitios de reconocimiento conforme se indica en la Figura 2A mediante las flechas discontinuas.

- 35 Los sitios de corte de los ERTIs son secuencias de nucleótidos cualesquiera, donde el número de nucleótidos que componen la diana, habitualmente cuatro, puede variar según el enzima concreto de que se trate. Por simplicidad, las secuencias nucleotídicas concretas asignadas a los sitios de corte del enzima E1 en los plásmidos de la invención se denotan con nomenclatura numérica (1,2,3...) y las propias de E2 una nomenclatura alfabética (A,B,C...).

- 40 Dado que los ERTIs no tienen requerimientos respecto a los sitios de corte (sólo a los de reconocimiento), los sitios de corte 1, 2, 3, A, B y C asignados a los distintos enzimas en los distintos plásmidos de la invención pueden consistir en cualquier secuencia nucleotídica siempre que:

- (i) el número de nucleótidos de cada secuencia concreta sea igual a número de nucleótidos de la secuencia de corte de su enzima correspondiente (E1 o E2). Habitualmente se tratará de secuencias de 4 o más nucleótidos;
- 45 (ii) cada secuencia de corte concreta se localice a la distancia correcta del sitio de reconocimiento de su enzima y en la orientación correcta respecto de éste, de forma que pueda ser digerida por su enzima correspondiente dando lugar a la generación de un extremo cohesivo de cadena sencilla;
- (iii) las secuencias 1 2 y 3 sean distintas entre sí, y que preferiblemente se diferencien en 2 o más posiciones;
- (iv) las secuencias A, B y C sean distintas entre sí, y que preferiblemente se diferencien en 2 o más posiciones;
- (v) no se trate de secuencias palindrómicas.

- 50 En el sistema se usan al menos dos marcadores de selección positiva diferentes (M1 y M2) en la estructuras de los plásmidos, dando lugar a dos grupos de plásmidos, los plásmidos de nivel α , que contienen el marcador M1 y los

plásmidos de nivel Ω , que contienen el marcador M2. Los marcadores de selección positiva utilizados pueden ser cualquier tipo de marcador que permita el crecimiento y la selección de aquellos clones que sí llevan el marcador, como son los genes de resistencia a antibióticos como ampicilina, kanamicina, rifampicina, espectinomicina, estreptomycin, tetraciclina, gentamicina, carbenicilina, etc.

- 5 Así, la primera pareja de plásmidos, correspondientes al nivel α (pDGB_A12C y pDGB_C12B), contienen dianas de E2 en posición 5' respecto a las dianas de E1, con orientaciones son invertidas.

1. El plásmido pDGB_A12C contiene un casete de selección que permite selección negativa con la siguiente estructura: 5' - Sitio de reconocimiento de E2-Sitio de corte de E2 tipo A-Sitio de corte de E1 tipo 1- Sitio de reconocimiento de E1-Casete de Selección-Sitio de reconocimiento de E1- Sitio de corte de E1 tipo 2-Sitio de corte de E2 tipo C- Sitio de reconocimiento de E2 -3'. (Figura 2B).

2. El plásmido pDGB_C12B contiene un casete de selección que permite selección negativa con la siguiente estructura: 5' -Sitio de reconocimiento de E2-Sitio de corte de E2 tipo C-Sitio de corte de E1 tipo 1- Sitio de reconocimiento de E1-Casete de Selección-Sitio de reconocimiento de E1- Sitio de corte de E1 tipo 2-Sitio de corte de E2 tipo B- Sitio de reconocimiento de E2 -3'. (Figura 2C)

- 15 La pareja de plásmidos de nivel Ω (pDGB_1AB3 y pDGB_3AB2) contiene dianas de E1 en posición 5' respecto a las dianas de E2, también con orientaciones invertidas.

1. El plásmido pDGB_1AB3 contiene un casete de selección que permite selección negativa con la siguiente estructura: 5' - Sitio de reconocimiento de E1-Sitio de corte de E1 tipo 1-Sitio de corte de E2 tipo A- Sitio de reconocimiento de E2-Casete de Selección-Sitio de reconocimiento de E2- Sitio de corte de E2 tipo B-Sitio de corte de E1 tipo 3- Sitio de reconocimiento de E1-3'. (Figura 2D)

2. El plásmido pDGB_3AB2 contiene un cassette de selección que permite selección negativa con la siguiente estructura: 5'-Sitio de reconocimiento de E1-Sitio de corte de E1 tipo 3-Sitio de corte de E2 tipo A- Sitio de reconocimiento de E2-Casete de Selección-Sitio de reconocimiento de E2- Sitio de corte de E2 tipo B-Sitio de corte de E1 tipo 2- Sitio de reconocimiento de E1 -3. (Figura 2E)'.

- 25 El punto de partida del sistema es un ensamblaje multipartito de partes básicas (piezas) de DNA de doble cadena, flanqueadas por extremos de simple cadena (colas), de forma que la cola en 3' de cada pieza aparee con la cola en 5' de la pieza subsiguiente, la cola en 5' de la primera pieza aparee con el sitio de corte tipo 1, y la cola en 3' de la última pieza aparee con el sitio de corte tipo 2 de los plásmidos tipo α (figura 3A). En una realización particular, una o varias de las piezas pueden presentarse en forma de precursores, bien lineales, bien formando parte de un plásmido circular (plásmido de entrada o pENTR). Cada precursor contiene la pieza original flanqueada por secuencias adicionales que contienen dianas de E1. De esta forma, tras la digestión con el enzima E1, la pieza original se desprende del precursor, quedando flanqueada por extremos protuberantes que constituyen en sí mismos las colas necesarias para el ensamblaje. En el ejemplo ilustrado en la Figura 3A se ensamblan entre sí tres piezas de DNA (PR, CDS y TM), flanqueadas por extremos protuberantes representados con las etiquetas 1, IV, III y 2.
- 30 Será posible ensamblar el número de piezas que se desee siempre que el primer precursor contenga un sitio de corte para la E1 compatible con el sitio 1, el último precursor contenga un sitio de corte para la E1 compatible con el sitio 2 y las piezas adyacentes tengan extremos compatibles. Es recomendable que las piezas a ensamblar no contengan dianas para las enzimas E1 y E2 en su secuencia para aumentar la eficiencia de las clonaciones. También es recomendable que los pENTR contengan un marcador de selección diferente (M3) al de los pDGB.

- 40 En cada reacción de ensamblaje, el plásmido de destino de nivel α (pDGB_A12C o pDGB_C12B) pierde su casete de selección negativa (ej LacZ), incorporando en su lugar el módulo ensamblado mediante una reacción de ligación entre los extremos protuberantes (1 y 2 en los extremos, y tantas ligaciones como partes se quiera ensamblar) dejados tras la digestión con E1. Tras la ligación, el plásmido resultante, que contiene al módulo ensamblado, pierde todas las dianas de E1, pero mantiene las dianas de E2, inherentes al plásmido.

- 45 A continuación, los módulos ensamblados sobre los plásmidos de nivel α pueden ser considerados a su vez como plásmidos de entrada para un nuevo ensamblaje en nivel Ω (Fig 3B). Dos módulos ensamblados sobre pDGB_A12C y pDGB_C12B respectivamente pueden a su vez ser ensamblados entre sí, esta vez utilizando el enzima E2 y un plásmido de nivel Ω . En esta segunda ronda de ensamblaje, se pierden todos los sitios E2, pero se mantienen los sitios E1 del plásmido resultante.

- 50 En una tercera ronda de ensamblaje, y análogamente al caso anterior, los módulos construidos con plásmidos del nivel Ω pueden nuevamente ensamblarse entre sí, utilizando el enzima E1 y un plásmido del nivel α , cerrando un bucle iterativo e indefinido de ensamblajes jerárquicos (ver Figura 1B).

- Análogamente al ejemplo anterior, la incorporación de módulos al sistema del ensamblaje multipartito puede realizarse directamente sobre los plásmidos del nivel Ω . Una vez ensamblado el módulo sobre un plásmido de destino del nivel Ω , el procedimiento de ensamblaje igual al descrito anteriormente. Esta posibilidad no altera el

normal funcionamiento del sistema sino que lo dota de una mayor versatilidad.

El sistema en su conjunto está compuesto por sólo 4 plásmidos de destino y un sencillo conjunto de reglas de ensamblaje que formalmente se pueden definir como sigue:

1. REGLAS EGB para ensamblajes BINARIOS

- 5 1. $pE [1 (X_i) 3] + pE [3 (X_j) 2] + pDGB (A12C) = pE [A (X_i+X_j) C]$
2. $pE [1 (X_i) 3] + pE [3 (X_j) 2] + pDGB (C12B) = pE [C (X_i+X_j) B]$
3. $pE [A (X_i) C] + pE [C (X_j) B] + pDGB (1AB3) = pE [1 (X_i+X_j) 3]$
4. $pE [A (X_i) C] + pE [C (X_j) B] + pDGB (3AB2) = pE [3 (X_i+X_j) 2]$

Donde

- 10 • (X_i) y (X_j) son piezas de DNA a ensamblar, generalmente casetes de expresión.
 - (X_i+X_j) es un ensamblado idempotente de (X_i) y (X_j) , es decir, que (X_i+X_j) puede a su vez ensamblarse con otras piezas siguiendo estas mismas reglas.
 - 1, 2, 3, son secuencias de 4 nucleótidos que flanquean a las piezas X_i y que se convierten en extremos protuberantes tras un corte con BsaI.
- 15 • A, B y C son secuencias que flanquean a las piezas X_i y que se convierten en extremos protuberantes tras un corte con BsmBI.
 - $pE []$ es un plásmido cualquiera (plásmido de entrada) que alberga una pieza de X_i , flanqueada por los sitios de corte y reconocimiento que se indican dentro del corchete.
 - $pDGB []$ es un plásmido binario con un casete de selección que permite una selección negativa (plásmido de destino) flanqueado por los sitios de corte y reconocimiento que se indican dentro del corchete. Sólo hay 4 plásmidos binarios, que son los que aparecen en las reglas de ensamblaje.
- 20

Partiendo de piezas genéticas estandarizadas y mediante la aplicación de estas cuatro reglas de ensamblaje, el sistema de cuatro plásmidos de la invención permite generar nuevos ensamblajes totalmente reciclables de complejidad indefinidamente creciente para su uso en aplicaciones de Biología Sintética.

- 25 Las principales ventajas del sistema frente al estado actual de la técnica son:

- (i) Reciclabilidad/reusabilidad de sus piezas: todos los ensamblajes pueden ser usados directamente para su transformación en células o pueden ser integrados en construcciones más complejas, sin amplificación por PCR o posteriores modificaciones;
- (ii) Velocidad: el punto de partida del sistema es un ensamblaje multipartito de modo que se ve acelerado con los sistemas puramente binarios como los BioBricks.;
- 30 (iii) Precisión: se generan ensamblajes sin costuras gracias al uso de enzimas de tipo IIs.
- (iv) Simplicidad: el sistema objeto de la invención puede, teóricamente, realizar infinitos ensamblajes con solamente cuatro plásmidos y cuatro reglas de ensamblaje.

- 35 La presente invención hace referencia a un plásmido de destino (pDGB) para el ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena, caracterizado porque comprende un esqueleto cualquiera de un plásmido de DNA de doble cadena que comprende:

- a) al menos un origen de replicación,
- b) al menos un marcador de selección, preferiblemente positiva,
- c) al menos un cassette que permite selección, preferiblemente negativa,
- 40 d) al menos 2 sitios de reconocimiento para una primera enzima de restricción de tipo IIS (E1) que dan lugar cada uno de ellos a un sitio de corte de 4 o más nucleótidos seleccionados entre 1, 2 y 3, siendo 1, 2 y 3 preferiblemente secuencias de cuatro nucleótidos cualesquiera distintas entre sí,
- e) al menos 2 sitios de reconocimiento para una segunda enzima de restricción de tipo IIS (E1) que dan lugar cada uno de ellos a un sitio de corte de 4 o más nucleótidos seleccionados entre A, B y C, siendo A, B y C preferiblemente

secuencias de cuatro nucleótidos cualesquiera distintas entre sí, de manera que los sitios de corte y reconocimiento citados en (d) y los sitios de corte y reconocimiento citados en (e) flanquean el cassette de selección citado en (c) en sus extremos 5' y 3' con orientaciones invertidas.

5 En una realización preferente la presente invención hace referencia a un plásmido de destino (pDGB) para el ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena, caracterizado porque las orientaciones invertidas de los sitios de corte y reconocimiento citados en (d) y los sitios de corte y reconocimiento citados en (e) flanqueando el cassette de selección citado en (c) en sus extremos 5' y 3' preferiblemente están seleccionadas entre todas las combinaciones posibles entre 1, 2, 3, A, B, y C que cumplan las características arriba descritas, y más preferentemente están seleccionadas entre: A12C, C12B, 1AB3, y 3AB2;

10 En una realización preferente la presente invención hace referencia a un plásmido de destino (pDGB) para el ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena, caracterizado porque la orientación de los dos sitios de corte y reconocimiento citados en (d) y los dos sitios de corte y reconocimiento citados en (e) es A12C, depositado en la Colección Española de Cultivos Tipo como CECT 7900.

15 En una realización preferente la presente invención hace referencia a un plásmido de destino (pDGB) para el ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena según la reivindicación 2, caracterizado porque la orientación de los dos sitios de corte y reconocimiento citados en (d) y los dos sitios de corte y reconocimiento citados en (e) es C12B, depositado en la Colección Española de Cultivos Tipo como CECT 7899.

20 En una realización preferente la presente invención hace referencia a un plásmido de destino (pDGB) para el ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena, caracterizado porque la orientación de los dos sitios de corte y reconocimiento citados en (d) y los dos sitios de corte y reconocimiento citados en (e) es 1AB3, depositado en la Colección Española de Cultivos Tipo como CECT 7902.

25 En una realización preferente la presente invención hace referencia a un plásmido de destino (pDGB) para el ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena, caracterizado porque la orientación de los dos sitios de corte y reconocimiento citados en (d) y los dos sitios de corte y reconocimiento citados en (e) es 3AB2, depositado en la Colección Española de Cultivos Tipo como CECT 7901.

En una realización preferente la presente invención hace referencia a un método de ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena caracterizado porque comprende un bucle de ensamblaje indefinido que alterna el nivel α y el nivel Ω de ensamblaje binario quasi-idempotentes, donde el nivel α comprende preferentemente las siguientes etapas:

30 i) construcción de los plásmidos de entrada (pE) de nivel α , cada plásmido de entrada (pE) de nivel α comprende una pieza de DNA de doble cadena seleccionada entre (X_i) y/o (X_j) , o (X_i+X_j) , flanqueada en sus extremos 5' y 3' por sendos sitios de corte y reconocimiento seleccionados entre 1, 2 y 3, para una primera enzima de restricción de tipo IIS (E1):

pE [1 (X_i) 3] y pE [3 (X_j) 2]

35 ii) construcción de los plásmidos de destino (pDGB) de nivel α :

pDGB (A12C) (CECT 7900) y pDGB (C12B) (CECT 7899)

iii) digestión enzimática de los plásmidos de entrada obtenidos en i) y los plásmidos de destino obtenidos en ii) en presencia de E1, preferentemente generando en sus extremos 3' y 5' secuencias terminales de cadena sencilla de DNA de al menos 3 o 4 nucleótidos, también denominados extremos protuberantes,

40 iv) ligación con ligasa T4 entre las secuencias terminales de cadena sencilla de los plásmidos de entrada y de destino digeridos en iii) formando los plásmidos ensamblados de nivel α de DNA de doble cadena circular cerrado:

pE [1 (X_i) 3] + pE [3 (X_j) 2] + pDGB (A12C) (CECT 7900) = pE [A (X_i+X_j) C]

pE [1 (X_i) 3] + pE [3 (X_j) 2] + pDGB (C12B) (CECT 7899) = pE [C (X_i+X_j) B];

y donde el nivel Ω comprende las siguientes etapas:

45 v) construcción de los plásmidos de entrada (pE) de nivel Ω cada plásmido de entrada (pE) de nivel Ω comprende una pieza de DNA de doble cadena seleccionada entre (X_i) y/o (X_j) , flanqueada en sus extremos 5' y 3' por sendos sitios de corte y reconocimiento seleccionados entre A, B y C, para una segunda enzima de restricción de tipo IIS (E2):

pE [A (X_i) C] y pE [C (X_j) B]

vi) construcción de los plásmidos de destino (pDGB) de nivel Ω :

pDGB (1AB3) (CECT 7902) y pDGB (3AB2) (CECT 7901)

vii) digestión enzimática de los plásmidos de entrada obtenidos en v) y los plásmidos de destino obtenidos en vi) en presencia de E2, generando en sus extremos 3' y 5' secuencias terminales de cadena sencilla de DNA de al menos 4 nucleótidos, también denominados extremos protuberantes

viii) ligación con ligasa T4 entre las secuencias terminales de cadena sencilla de los plásmidos de entrada y de destino digeridos en vii) formando los plásmidos ensamblados de nivel A de DNA de doble cadena circular cerrado:

$pE [A (X_i) C] + pE [C (X_j) B] + pDGB (1AB3) (CECT 7902) = pE [1 (X_i+X_j) 3]$

$pE [A (X_i) C] + pE [C (X_j) B] + pDGB (3AB2) (CECT 7901) = pE [3 (X_i+X_j) 2];$

10 cuando el método de ensamblaje se inicia en el nivel α y continua con el nivel Ω , los plásmidos de entrada de nivel A $pE [A (X_i) C]$ y $pE [C (X_j) B]$ definidos en v) son sustituidos por los plásmidos ensamblados de nivel 1 $pE [A (X_i+X_j) C]$ y $pE [C (X_i+X_j) B]$ obtenidos en iv); y

15 cuando el método de ensamblaje se inicia en el nivel Ω y continua con el nivel α , los plásmidos de entrada de nivel α $pE [1 (X_i) 3]$ y $pE [3 (X_j) 2]$ definidos en i) son sustituidos por los plásmidos ensamblados de nivel Ω $pE [1 (X_i+X_j) 3]$ y $pE [3 (X_i+X_j) 2]$ obtenidos en viii).

En una realización preferente la presente invención hace referencia a un método de ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena caracterizado porque (X_i) y/o (X_j) se selecciona entre un promotor, una secuencia de localización subcelular, una secuencia codificante, una copia de DNA se secuencia de RNA interferente, una secuencia de terminación, o bien un casete de expresión de proteínas, enzimas, factores de transcripción, marcadores, anticuerpos, proteínas reguladoras, o un casete de expresión de RNAs funcionales o elementos estructurales de cromatina.

En una realización preferente la presente invención hace referencia a un método de ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena caracterizado porque los plásmidos de destino (pDGB) son preferentemente plásmidos binarios para la transformación genética de plantas mediada por *Agrobacterium tumefaciens*.

25 En una realización preferente la presente invención hace referencia a un método de ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena según la reivindicación 7 caracterizado porque (X_i+X_j) está formado preferentemente por un gen de kanamicina, un gen que codifica para la cadena ligera de un anticuerpo y un gen que codifica para la cadena pesada de un anticuerpo.

30 En una realización preferente la presente invención hace referencia a un método de ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena caracterizado porque (X_i+X_j) está formado por cuatro casetes de expresión constitutiva preferentemente de tres genes que codifican tres proteínas fluorescentes y un cuarto gen que codifica la proteína p19.

35 En una realización preferente la presente invención hace referencia a una planta transformada mediante *Agrobacterium tumefaciens* mediante el método de ensamblaje descrito en la invención y caracterizada porque dicha planta expresa un anticuerpo recombinante de tipo IgA.

En una realización preferente la presente invención hace referencia a una planta transformada transitoriamente mediante *Agrobacterium tumefaciens* mediante el método de ensamblaje descrito en la invención y caracterizada porque dicha planta expresa, preferentemente de manera simultánea, las citadas tres proteínas fluorescentes.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

40 **Figura 1. Comparación de topologías entre MoClo y el sistema objeto de la invención.** (A) Topología jerárquica del ensamblaje MoClo. En el nivel 0 se ensamblan de forma flexible las subpartes para formar partes básicas, al tiempo que se permite la domesticación de dichas partes. En el nivel 1 se lleva a cabo el ensamblaje multipartito de partes básicas para dar lugar a unidades transcripcionales. En el nivel 2-1 tiene lugar el ensamblaje multipartito de unidades transcripcionales, dando lugar a una estructura final no reciclable. Alternativamente, el nivel 1 se puede bifurcar hacia el nivel 2-1i (intermedio) mediante la unión de un adaptador de cola, dando lugar a una estructura abierta (aunque no funcional), la cual puede albergar el ensamblaje de nuevas unidades transcripcionales (nivel 2-2). La creación de sucesivos niveles intermedios asegurará el crecimiento indefinido del sistema de clonaje. (B) Estructura de doble bucle del sistema objeto de la invención. Los plásmidos del nivel α reciben los ensamblajes multipartitos de partes básicas dando lugar a unidades transcripcionales. Dos unidades transcripcionales ensambladas en el nivel α pueden ser ensambladas entre sí dando lugar a dos complejos multigénicos alternativos de nivel Ω . A su vez, dos complejos multigénicos de nivel Ω pueden ser ensamblados entre sí en el nivel α . La estructura general del sistema es un bucle doble iterativo que asegura el crecimiento indefinido de los ensamblajes.

Figura 2 (A) Esquema de disposición de los sitios de reconocimiento y corte de las enzimas E1 y E2 en los pDGB. Los sitios de reconocimiento se disponen de forma invertida, de modo que se puede dirigir su acción de restricción conforme se necesita para el desarrollo de la invención. (B) Disposición de sitios de reconocimiento y corte de las enzimas en el plásmido pDGB_A12C. (C) Disposición de sitios de reconocimiento y corte de las enzimas en el plásmido pDGB_C12B (D) Disposición de sitios de reconocimiento y corte de las enzimas en el plásmido pDGB_1AB3 (E) Disposición de sitios de reconocimiento y corte de las enzimas en el plásmido pDGB_3AB2

Figura 3. Mecanismo del sistema objeto de la invención. (A) Ensamblaje multipartito de piezas estándar (PR, promotores; CDS, regiones codificantes; TM, terminadores) flanqueadas por sitios de restricción de E1 (representados con números arábigos y latinos). Los sitios de reconocimiento de E1 desaparecen tras el ensamblaje (representado con un cuadro tachado). El nuevo módulo ensamblado (DEV, representado como una flecha para simplificar el esquema) queda flanqueado por sitios de restricción de BsmBI (representado con círculos y letras mayúsculas). (B) Dos módulos ensamblados en plásmidos complementarios de tipo Ω ya que pueden ser reciclados como vectores de entrada (pEGB) para posteriores ensamblajes binarios en vectores de tipo α ya que tienen un sitio de corte común (etiquetado con el círculo C). De igual manera, las construcciones realizadas sobre plásmidos complementarios de tipo Ω pueden ser usadas para posteriores ensamblajes sobre vectores de tipo α ya que ambas contienen un sitio de corte común (cuadrado 3). Los niveles α y Ω pueden alternarse de forma indefinida según se indica con las flechas que cruzan el bucle, creando estructuras cada vez más compleja. Los genes de resistencia a antibióticos se representan con círculos rallados verticales (resistencia a kanamicina) u horizontales (resistencia a espectinomicina).

Figura 4. Domesticación de plásmidos de destino. Ensamblaje de las piezas que conforman el esqueleto de los plásmidos pDGB del sistema GoldenBraid con los casetes de selección negativa (LacZ flanqueado de sitios BsaI y BsmBI) y positiva (genes de resistencia a kanamicina o espectinomicina). Se muestra un ejemplo de plásmido para cada uno de los niveles del sistema.

Figura 5 Estructura del casete LacZ en el sistema. La colección de plásmidos del sistema comprende cuatro plásmidos de destino (pDGBs), agrupándose en dos niveles, α y Ω . Los vectores incorporan un casete de selección LacZ flanqueado de cuatro sitios de reconocimiento de enzimas de restricción de tipo IIs (BsaI, BsmBI) en posiciones y orientaciones invertidas. Para facilitar la visualización del diseño, se etiqueta cada sitio de corte de 4 nucleótidos de la siguiente manera: los sitios de corte de BsaI con cuadrados y números arábigos (1, 2, 3); los sitios de corte de BsmBI con círculos y letras mayúsculas (A,B,C).

Figura 6 (A) Análisis de restricción del plásmido pDGB_K_A12C con las enzimas de restricción BsaI (carril 2) y BsmBI (carril 3). (B) Análisis de restricción del plásmido pDGB_S_1AB3 con las enzimas de restricción BsmBI (carril 2) y BsaI (carril 3).

Figura 7 Co-transformación de dispositivos fluorescentes. (A) Itinerario seguido para el ensamblaje de las unidades transcripcionales YFP, p19, BFP y DsRED en un único T-DNA. (B) Patrones espaciales de expresión de BFP, YFP y DsRED en hojas de *N. benthamiana* agroinfiltradas con pEGB_A-YFP-P19-BFP-DsRed-C (capturas superiores, 1, 2 y 3) o con una mezcla de dispositivos individuales pEGB_A-YFP-C, pEGB_C-p19-B, pEGB_A-BFP-C y pEGB_C-DsRed-B (capturas inferiores 4, 5 y 6).

Figura 8 Selección de isotipos de una IgA humana construidos con el sistema objeto de la invención. (A) Estrategia seguida en el ensamblaje de diferentes isotipos de la IgA humana. En primer lugar, la fase de ensamblaje multipartito consistió en la combinación de diferentes partes básicas cada una ocupando una posición fija en el ensamblaje (P1-P5). Las cadenas individuales de inmunoglobulinas se ensamblaron en el plásmido pDGB_C12B para generar los cuatro isotipos de la IgA. En la figura, 35S representa el promotor CamV35S; SP representa el péptido señal de una peptidasa de tomate; CH α 1 y CH α 2 son dominios constantes de la cadena pesada; C λ y C κ son dominios constantes de la cadena ligera; VH y VL son regiones variables de las cadenas pesada y ligera de un anticuerpo frente al péptido VP8* de rotavirus. (B) Digestión BglII de dos colonias de cada una de las cuatro construcciones finales: α 1 λ , pEGB_C-Ig α 1-Ig λ -B; α 1 κ , pEGB_C-Ig α 1-Ig κ -B; α 2 λ , pEGB_C-Ig α 2-Ig λ -B, α 2 κ , pEGB_C-Ig α 2-Ig κ -B. (C) Análisis Western Blot de la expresión transitoria de las distintas construcciones en *Nicotiana benthamiana*. Las hojas de la planta se infiltraron con las cuatro construcciones anteriores. Las muestras se resolvieron en condiciones reductoras (izda) y no reductoras (dcha) y se revelaron con anticuerpos frente a la cadena pesada, ligera λ y ligera κ respectivamente. La carrera HS contiene un control de suero humano. (D) Titulado ELISA de punto final de las cuatro combinaciones de IgA ensayadas mediante expresión transitoria. Todas las muestras fueron tituladas frente a VP8* o frente a Albúmina sérica bovina (BSA) y comparadas con muestras equivalentes derivadas de hojas silvestres.

BIBLIOGRAFÍA

- Aslanidis C & PJ de Jong (1990) Ligation-independent cloning of PCR products (LIC-PCR). Nucleic Acids Res 18: 6069-74.
- Berger I (2010) Nuclear acids for Cloning and Expressing Multiprotein Complexes. IN (EMBL), E. L. F. M. (Ed.

- Bieniossek C, Y Nie, D Frey, N Olieric, C Schaffitzel, I Collinson, C Romier, P Berger, TJ Richmond, MO Steinmetz & I Berger (2009) Automated unrestricted multigene recombineering for multiprotein complex production. *Nat Meth* 6: 447-450.
- 5 - Che A (2004) Synthetic Biology:BioBricks/3A assembly. BioBricks++ Assembly Scheme. Tech. rep., MIT Synthetic Biology Working Group Technical Reports
- Chen QJ, HM Zhou, J Chen & XC Wang (2006) A Gateway-based platform for multigene plant transformation. *Plant Mol Biol* 62: 927 - 36.
- Chung SM, EL Frankman & T Tzfira (2005) A versatile vector system for multiple gene expression in plants. *Trends Plant Sci* 10: 357-61.
- 10 - Engler C, R Gruetzner, R Kandzia & S Marillonnet (2009) Golden gate shuffling: a one-pot DNA shuffling method based on type IIs restriction enzymes. *PLoS One* 4: e5553.
- Engler C, R Kandzia & S Marillonnet (2008) A one pot, one step, precision cloning method with high throughput capability. *PLoS One* 3: e3647.
- 15 Gibson DG, L Young, R-Y Chuang, JC Venter, CA Hutchison & HO Smith (2009) Enzymatic assembly of DNA molecules up to several hundred kilobases. *Nat Meth* 6: 343-345.
- Goderis IJWM, MFC De Bolle, IEJA François, PFJ Wouters, WF Broekaert & BPA Cammue (2002) A set of modular plant transformation vectors allowing flexible insertion of up to six expression units. *Plant Molecular Biology* 50: 17-27.
- 20 Hellens RP, EA Edwards, NR Leyland, S Bean & PM Mullineaux (2000) pGreen: a versatile and flexible binary Ti vector for Agrobacterium-mediated plant transformation. *Plant Mol Biol* 42: 819-32.
- Karimi M, D Inze & A Depicker (2002) GATEWAY vectors for Agrobacterium-mediated plant transformation. *Trends Plant Sci* 7: 193-5.
- Knight TF (2003) Idempotent Vector Design for Standard Assembly of BioBricks. Tech. rep., MIT Synthetic Biology Working Group Technical Reports
- 25 - Li MZ & SJ Elledge (2007) Harnessing homologous recombination in vitro to generate recombinant DNA via SLIC. *Nat Meth* 4: 251-256.
- Lin L, Y-G Liu, X Xu & B Li (2003) Efficient linking and transfer of multiple genes by a multigene assembly and transformation vector system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100: 5962-5967.
- 30 - Monedero V, J Rodriguez-Diaz, R Viana, J Buesa & G Perez-Martinez (2004) Selection of single-chain antibodies against the VP8*subunit of rotavirus VP4 outer capsid protein and their expression in *Lactobacillus casei*. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 6936-6939.
- Orzaez D, S Mirabel, WH Wieland & A Granell (2006) Agroinjection of tomato fruits. A tool for rapid functional analysis of transgenes directly in fruit. *Plant Physiol.* 140: 3-11.
- 35 - Qiu WP, JW Park & HB Scholthof (2002) Tombusvirus p19-mediated suppression of virus-induced gene silencing is controlled by genetic and dosage features that influence pathogenicity. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 15: 269-280.
- Quan J & J Tian (2009) Circular Polymerase Extension Cloning of Complex Gene Libraries and Pathways. *PLoS ONE* 4: e6441.
- 40 Weber, E., C. Engler, et al. (2011). "A modular cloning system for standardized assembly of multigene constructs." *PLoS One* 6(2): e16765.
- Wieland WH, A Lammers, A Schots & DV Orzaez (2006) Plant expression of chicken secretory antibodies derived from combinatorial libraries. *J Biotechnol* 122: 382-91.

EJEMPLOS

- 45 Los siguientes ejemplos específicos que se proporcionan en este documento de patente sirven para ilustrar la naturaleza de la presente invención. Estos ejemplos se incluyen solamente con fines ilustrativos y no han de ser interpretados como limitaciones a la invención que aquí se reivindica. En un primer ejemplo, desarrollamos la domesticación de los vectores pDGBs para adaptarlos al sistema objeto de la invención. En un segundo ejemplo,

ensamblamos en un único T-DNA tres proteínas fluorescentes y el supresor de silenciamiento p19, demostrando las ventajas de la construcción multigénica en *cis* al ser ensayada de forma transitoria por agroinfiltración en planta. En un tercer ejemplo, mostramos la versatilidad del sistema para ensayar diferentes isotipos de anticuerpos en una aproximación combinatorial de los mismos.

- 5 Así, los ejemplos descritos más adelante ilustran la invención en el campo de la Biología Sintética de Plantas, sin limitar el campo de aplicación de la misma en otros campos.

EJEMPLO 1: CONSTRUCCIÓN DE LOS VECTORES pDGB

- 10 En este ejemplo se describe la realización de la invención para el caso concreto de un sistema de ensamblaje destinado al ensamblaje de piezas genéticas para la transformación genética de plantas. Se describe la creación de un sistema de cuatro vectores binarios derivados del vector binario pGreenII, que incorporan el esquema descrito en la invención para los plásmidos de destino (pDGB). El esqueleto de cualquier plásmido podría adaptarse, de forma similar a la que se propone en el presente ejemplo, al sistema objeto de la invención.

- 15 Los vectores pDGB se construyeron por ensamblaje, mediante una reacción Golden Gate (Engler, Kandzia et al. 2008) con BbsI, de un número variable de piezas (Figura 4). Cada pieza fue amplificada por PCR incorporando en sus extremos sendos sitios de reconocimiento de BbsI y sitios de corte compatibles con la pieza contigua a ensamblar, generando los precursores de cada pieza. Posteriormente cada precursor fue clonado en un vector TA clonning pGEMT (Promega), generando los denominados vectores de entrada (pENTR) para cada pieza.

- 20 Los precursores necesarios para ensamblar un plásmido son, generalmente, un casete de selección negativa (LacZ, en este caso), un casete de selección positiva (resistencia a antibiótico) y un número variable de piezas que conforman el esqueleto del vector y contienen los orígenes de replicación y los bordes de T-DNA.

Para generar el set de vectores del sistema objeto de la invención, se generaron cuatro piezas de selección negativa (precursores LacZ-A12C, LacZ-C12B, LacZ-1AB3, LacZ-3Ab2), dos genes de resistencia a antibiótico (resistencia a kanamicina –precursores 2KA y 2KB- y espectinomomicina –precursor 2S-) y dos piezas (precursor 1 y precursor 3) que comprenden el esqueleto del plásmido pGreenII. Así, los precursores son:

- 25 a) El precursor 1 (SEQ.ID.NO:1) contiene la pieza 1, que corresponde a los nucleótidos 1296-2169 del esqueleto del plásmido pGreenII (Hellens, Edwards et al. 2000).
- b) El precursor 2KA (SEQ.ID.NO:2) contiene la pieza 2KA, que corresponde a los nucleótidos 2166-2542 del esqueleto del plásmido pGreenII. Incluye una mutación A>T en el nucleótido 2542 para eliminar un sitio de restricción BsmBI. Se corresponde con el fragmento 3' de la resistencia a kanamicina.
- 30 c) El precursor 2KB (SEQ.ID.NO:3) contiene la pieza 2KB, que corresponde a los nucleótidos 2539-2989 del esqueleto del plásmido pGreenII. Incluye una mutación A>T en el nucleótido 2542 para eliminar un sitio de restricción BsmBI. Se corresponde con el fragmento 5' de la resistencia a kanamicina.
- d) El precursor 2S (SEQ.ID.NO:4) contiene la pieza 2S, que corresponde a los nucleótidos 248-1392 del esqueleto del plásmido pCR8 (Invitrogen). Se corresponde con la resistencia a espectinomomicina.
- 35 e) El precursor 3 (SEQ.ID.NO:5) contiene la pieza 3, que corresponde a los nucleótidos 2986-565 del esqueleto del plásmido pGreenII.
- f) Los precursores de las piezas de selección negativa se amplifican a partir del plásmido pUC19 en cuatro versiones distintas. Cada pieza incorpora, junto con el gen lacZ, dianas y sitios de corte de dos ERTIIS en distintas posiciones relativas distintas, según se describe más abajo. Por simplicidad, los sitios de corte concretos de la enzima BsaI se nombran de forma numérica (1, 2, 3) y para los de BsmBI se usa una nomenclatura alfabética (A,B,C). Las secuencias nucleotídicas concretas también se muestran: A (CCAC), B (CGTC), C (GGCA), 1 (GGCA), 2 (CGAC) Y 3 (GATG). La estructura resultante y la composición nucleotídica resultante de cada uno de los precursores de las cuatro piezas de selección negativa son :
- 40
- 45 i. El precursor de la pieza LacZ-A12C (SEQ.ID.NO.6) tiene la siguiente estructura: 5' Sitio de reconocimiento de BsmBI -Sitio de corte de BsmBI tipo A-Sitio de corte de BsaI tipo 1- Sitio de reconocimiento de BsaI -LacZ-Sitio de reconocimiento de BsaI- Sitio de corte de BsaI tipo 2-Sitio de corte de BsmBI tipo C- Sitio de reconocimiento de BsmBI 3'. (Figura 5)

ii. El precursor de la pieza LacZ-C12B (SEQ.ID.NO.7) tiene la siguiente estructura: 5' Sitio de reconocimiento de BsmBI-Sitio de corte de BsmBI tipo C-Sitio de corte de Bsal tipo 1- Sitio de reconocimiento de Bsal-LacZ-Sitio de reconocimiento de Bsal- Sitio de corte de Bsal tipo 2-Sitio de corte de BsmBI tipo B- Sitio de reconocimiento de BsmBI 3'. (Figura 5)

iii. El precursor de la pieza LacZ-1AB3 (SEQ.ID.NO.8) tiene la siguiente estructura: 5' Sitio de reconocimiento de Bsal -Sitio de corte de Bsal tipo 1-Sitio de corte de BsmBI tipo A- Sitio de reconocimiento de BsmBI -LacZ-Sitio de reconocimiento de BsmBI- Sitio de corte de BsmBI B- Sitio de corte de BsmBI tipo 3- Sitio de reconocimiento de Bsal 3'. (Figura 5).

iv. El precursor de la pieza LacZ-3AB2 (SEQ.ID.NO.9) tiene la siguiente estructura: 5' Sitio de reconocimiento de Bsal -Sitio de corte de Bsal tipo 3-Sitio de corte de BsmBI tipo A- Sitio de reconocimiento de BsmBI-LacZ-Sitio de reconocimiento de BsmBI- Sitio de corte de BsmBI B- Sitio de corte de BsmBI tipo 2- Sitio de reconocimiento de Bsal 3' (Figura 5).

Todos los precursores se obtuvieron por amplificación PCR y se clonaron en el vector pGEMT, generando los correspondientes plásmidos de entrada pENTR_Pieza. Como se indica, el ensamblaje de los vectores pDGBs se realiza mediante una reacción Golden Gate en un solo tubo (Engler, Kandzia et al. 2008) que contenía los distintos pENTRs, BbsI y ligasa T4 en 25 ciclos de 37°C y 14°C. Para eliminar falsos positivos, se realiza una digestión final adicional a la descrita por Engler et al.(2008) Las combinaciones de pENTRs para cada reacción fueron:

1. pENTR_1, pENTR_2KA, pENTR_2KB, pENTR_3 y pENTR_LacZ-A12C para construir el plásmido pDGB_K_A12C (SEQ.ID.NO:10).

2. pENTR_1, pENTR_2KA, pENTR_2KB, pENTR_3 y pENTR_LacZ-C12B para construir el plásmido pDGB_K_C12B (SEQ.ID.NO:11).

3. pENTR_1, pENTR_2S, pENTR_3 y pENTR_LacZ-1AB3 para construir el plásmido pDGB_S_1AB3 (SEQ.ID.NO:12).

4. pENTR_1, pENTR_2S, pENTR_3 y pENTR_LacZ-3AB2 para construir el plásmido pDGB_S_3AB2 (SEQ.ID.NO:13).

Tras realizar el ensamblaje Golden Gate, se utilizó un microlitro de cada reacción para transformar *E. coli*. Las células transformadas se sembraron en placas de LB con kanamicina y X-gal en el caso de las reacciones 1 y 2, y en placas de LB con espectinomicina y X-gal para las transformaciones resultantes de las reacciones 3 y 4. De cada reacción se seleccionaron cuatro colonias de color azul, se crecieron en medio líquido y se procedió a aislar y analizar el plásmido correspondiente mediante análisis de digestión y posterior secuenciación. Ambos análisis mostraron ensamblajes correctos en al menos tres de las cuatro colonias analizadas para cada reacción. La Figura 6 muestra los análisis de restricción obtenidos para las reacciones 1 y 3.

EJEMPLO PRÁCTICO 2

La expresión de genes de forma transitoria en *N. benthamiana* mediada por *Agrobacterium* (agroinfiltración) es una tecnología eficiente para la producción de proteínas recombinantes en plantas. Un punto interesante del sistema es la alta eficiencia de co-transformación conseguida por combinación de dos o más cultivos independientes de *Agrobacterium* con distintos genes de interés (co-transformación *en trans*). El complicado ensamblaje de múltiples unidades transcripcionales en un único T-DNA conlleva el uso de la co-transformación *en trans* cuando se persigue la expresión coordinada de dos o más proteínas en una misma célula/tejido. El sistema objeto de la invención permite un clonaje eficiente y sencillo de varias unidades transcripcionales en un mismo T-DNA (*en cis*). Para testar si esto es así y si la co-transformación *en cis* mejora una aproximación similar *en trans*, se ensamblan tres módulos fluorescentes junto con una proteína supresora de silenciamiento en un mismo T-DNA y se compara su resultado con una aproximación *en trans*.

De este modo, en el presente ejemplo se demuestra la funcionalidad de la presente invención para la construcción de estructuras multigénicas para la transformación genética de plantas. Se muestra el ensamblaje ordenado de un total 12 fragmentos consecutivos a partir de 7 piezas básicas distintas, incluyendo el vector binario. Las piezas estándar se agrupan de tres en tres (promotor, región codificante y terminador), dando lugar a cuatro módulos funcionales distintos (casetes de expresión) correspondientes a tres proteínas fluorescentes distintas (verde, roja y azul) y un supresor de silenciamiento p19 del TBSV (Qiu, Park et al. 2002) para potenciar los niveles de expresión transitoria. El ensayo de la construcción mediante transformación transitoria de hojas de *N. benthamiana* demuestra que el ensamblaje multigénico resultante es totalmente funcional.

Para el ensamblaje se construyen los correspondientes plásmidos de entrada (pENTR), mediante clonaje TA de los distintos precursores en pGEM-T. Los precursores se obtuvieron por amplificación por PCR de cada pieza,

incluyendo los correspondientes sitios de corte y reconocimiento del enzima Bsal en las secuencias de los cebadores empleados en la amplificación, según se detalla a continuación:

- a) Precursor del Promotor 35s (SEQ.ID.NO 14): el promotor 35S está flanqueado por dos sitios de restricción Bsal siendo los sitios de corte de tipo 1 en el extremo 5' y de tipo IV (GATG) en 3'. Se amplifica del vector pK2GW,0 (Karimi, Inze et al. 2002) e incluye una mutación C>G en el nucleótido 206 para eliminar un sitio de restricción Bsal.
- b) Precursor del Terminador Tnos (SEQ.ID.NO 15): el terminador está flanqueado por dos sitios de restricción Bsal siendo los sitios de corte de tipo III (TGAG) en el extremo 5' y de tipo 2 en 3'. Se amplifica del vector pBIN-YFP/GUS (Orzaez, Mirabel et al. 2006).
- c) Precursores de los distintos CDS: los CDS están flanqueados por dos sitios de restricción Bsal, siendo estos sitios de corte tipo IV en el extremo 5' y de tipo III en el extremo 3'. Se construyen los siguientes módulos CDS:
 - i. YFP (SEQ.ID.NO 16): amplificado del vector pBIN-YFP/GUS (Orzaez, Mirabel et al. 2006).
 - ii. DsRed (SEQ.ID.NO 17): Contiene la secuencia de la proteína fluorescente DsRed en la que se realiza una mutación silenciosa C>A en el nucleótido 491 para eliminar un sitio de restricción Bsal.
 - iii. BFP (SEQ.ID.NO 18): contiene la secuencia de la proteína fluorescente BFP en la que se realizan dos mutaciones silenciosas, ambas G>A, en los nucleótidos 443 y 632 para eliminar sendos sitios de restricción BsmBI y Bsal.
 - iv. P19 (SEQ.ID.NO 19): amplificado del vector pBINp19. Se realizan tres mutaciones silenciosas para eliminar dos sitios Bsal (G>C en el nucleótido 386 y G>A en el nucleótido 503) y un sitio BsmBI (G>T en el nucleótido 155).

El ensamblaje de las distintas piezas para generar módulos (casetes de expresión) se realizó mediante una reacción Golden Gate en un solo tubo (Engler, Kandzia et al. 2008) que contenía los distintos pENTR_pieza, enzima Bsal y ligasa T4 en 25 ciclos de 37°C y 14°C. Las combinaciones de pENTR_pieza para los ensamblajes de esta estrategia se esquematizan en la figura 7.A y fueron:

- a. Ensamblaje tripartito de pENTR_35S, pENTR_YFP y pENTR_terminador en el vector de destino pDGB_K_A12C, para dar lugar al vector de expresión pEGB_K_A-YFP-C (SEQ.ID.NO 20)
- b. Ensamblaje tripartito del pENTR_35S, el pENTR_p19 y pENTR_terminador en el vector de destino pDGB_K_C12B, para dar lugar al vector de expresión pEGB_K_C-p19-B. (SEQ.ID.NO 21)
- c. Ensamblaje tripartito del pENTR_35S, el pENTR_BFP y el pENTR_terminador en el vector de destino pDGB_K_A12C, para dar lugar al vector de expresión pEGB_K_A-BFP-C. (SEQ.ID.NO 22)
- d. Ensamblaje tripartito del pENTR_35S, el pENTR_DsRed y el pENTR_terminador el vector de destino pDGB_K_C12B, para dar lugar al vector de expresión pEGB_K_C-DsRed-B. (SEQ.ID.NO 23)

Tras realizar el ensamblaje, se utilizó un microlitro de cada reacción para transformar *E. coli*. Las células transformadas se sembraron en placas de LB con kanamicina y X-gal. De cada reacción se seleccionaron cuatro colonias de color blanco, se crecieron en medio líquido y se procedió a aislar y analizar el plásmido correspondiente mediante análisis de digestión y posterior secuenciación. Ambos análisis mostraron ensamblajes correctos en al menos tres de las cuatro colonias analizadas para cada reacción.

Los cuatro vectores pEGB resultantes pueden a su vez funcionar como plásmidos de entrada ya que en ellos los nuevos módulos genéticos están flanqueados por sitios de restricción BsmBI de tipo A, B o C. De este modo se pueden ensamblar módulos dos a dos sobre los vectores de destino pDGB de nivel Ω , mediante reacciones Golden Gate con BsmBI como enzima de restricción.

El ensamblaje de los distintos módulos sencillos para generar módulos de orden superior (doble transgénico) se realizó mediante una reacción Golden Gate en un solo tubo (Engler, Kandzia et al. 2008) que contenía los distintos pEGB_MODULO, el enzima BsmBI y ligasa T4 en 25 ciclos de 37°C y 14°C. Las combinaciones de pEGB_MODULO para cada reacción fueron:

- a. Ensamblaje bipartito de pEGB_K_A-YFP-C y pEGB_K_C-p19-B en el vector de destino pDGB_S_1AB3, para dar lugar al vector de expresión pEGB_S_1-YFP-p19-3 (SEQ.ID.NO 24)
- b. Ensamblaje bipartito de los módulos pEGB_K_A-BFP-C y pEGB_K_C-DsRed-B en el vector de destino pDGB_S_3AB2, para dar lugar al vector de expresión pEGB_S_3-BFP-DsRed-2 (SEQ.ID.NO 25)

Tras realizar el ensamblaje, se utilizó un microlitro de cada reacción para transformar *E. coli*. Las células transformadas se sembraron en placas de LB con espectinomicina y X-gal. De cada reacción se seleccionaron cuatro colonias de color blanco, se crecieron en medio líquido y se procedió a aislar y analizar el plásmido correspondiente mediante análisis de digestión y posterior secuenciación. Ambos análisis mostraron ensamblajes correctos en al menos tres de las cuatro colonias analizadas para cada reacción.

Los dos vectores pEGB doble transgénicos resultantes pueden funcionar como plásmidos de entrada por la presencia de sitios de restricción BsaI de tipo 1, 2 ó 3. De este modo, para ensamblar un el cassette de expresión cuádruple pEGB_K_A-YFP-P19-BFP-DsRed-C (SEQ.ID.NO 26), se incubaron en un solo tubo el vector de destino pDGB_K_A12C, y los plásmidos pEGB_S_1-YFP-p19-3 y pEGB_S_3-BFP-DsRed-2 en presencia de BsaI y T4 ligasa en 50 ciclos de 37°C y 14°C

Tras realizar el ensamblaje, se utilizó un microlitro de cada reacción para transformar *E. coli*. Las células transformadas se sembraron en placas de LB con kanamicina y X-gal. Posteriormente se seleccionaron cuatro colonias de color blanco, se crecieron en medio líquido y se procedió a aislar y analizar el plásmido correspondiente mediante análisis de digestión y posterior secuenciación. Ambos análisis mostraron ensamblajes correctos en las cuatro colonias analizadas (Figura 7B).

Se seleccionó una de las colonias correctas de la construcción final pEGB_K_A-YFP-P19-BFP-DsRed-C y se co-transformó con el vector pSOUP en *Agrobacterium tumefaciens* C58. Se comprobó la integridad del plásmido aislado de *Agrobacterium* mediante análisis de restricción de los clones seleccionados en placas de LB rifampicina, kanamicina, tetraciclina y gentamicina. Un clon de *Agrobacterium* que contenía la construcción correcta fue crecido en medio líquido y utilizado para transformar transitoriamente hojas de *Nicotiana benthamiana* (Wieland, Lammers et al. 2006). Tras cuatro días de incubación, se observaron las hojas infiltradas en la lupa de fluorescencia y, con filtros correspondientes, se comprobó la correcta expresión de las tres proteínas fluorescentes. En paralelo, se agroinfiltró *en trans* una mezcla de cultivos de *Agrobacterium* que expresaban por separado las tres proteínas fluorescentes y p19. Como se muestra en la figura 7C, las proteínas ensambladas en un mismo T-DNA mostraron una expresión coordinada en *N. benthamiana* como se deduce de la similar intensidad de fluorescencia observada en los tres canales. En cambio, cuando los módulos fluorescentes se agroinfiltraron *en trans*, cada canal mostró una distribución diferente en cuanto a las intensidades, evidenciando niveles de expresión heterogéneos para las diferentes proteínas. Además, demostramos como el sistema es permisivo, al menos en lo que se refiere a expresión transitoria, con la introducción de cuatro copias del promotor 35s en un único T-DNA sin afectar a la expresión de las proteínas fluorescentes. Según los resultados obtenidos, un ensamblaje de varias unidades transcripcionales asistido por la presente invención mejora la expresión de las mismas *en cis* frente al resultado obtenido por su agroinfiltración *en trans*.

EJEMPLO PRÁCTICO 3

La producción de anticuerpos para uso terapéutico en plantas es un campo que requiere estrategias de clonajes muy flexibles. En el presente ejemplo se muestra una realización de la invención para la construcción de diferentes versiones de anticuerpos recombinantes y comparar los resultados obtenidos tras expresar las proteínas *in planta*. Se ensamblan, en primer lugar, piezas básicas para formar módulos de expresión de cadenas de inmunoglobulinas humanas. Posteriormente, se ensamblan dos módulos inmunoglobulina (ligera y pesada) para formar un dispositivo de expresión de una inmunoglobulina A completa, evaluándose cuál de todas ellas resulta en una mejor expresión. Finalmente, se ensambla un módulo de expresión de resistencia a kanamicina como marcador de selección a la combinación de cadena pesada y ligera que resulta más eficiente. En total se ensamblaron 8 piezas básicas incluyendo el vector binario. El resultado final es una construcción funcional de tres genes, lista para ser transformada en la planta.

Este ejemplo tiene la peculiaridad de que uno de los módulos se ensambla sobre un plásmido pDGB_K (nivel α) y los dos restantes se ensamblan sobre los plásmidos pDGB_S (nivel Ω), demostrando así la versatilidad de puntos de entrada que puede tener el sistema objeto de invención. Además, muestra la versatilidad y flexibilidad del sistema objeto de la invención para ensamblar construcciones combinatoriales a partir de unas piezas prefijadas.

En primer lugar se construyen los distintos plásmidos de entrada, amplificándose por PCR las secuencias de los precursores de los módulos, y clonándose en pGEM-T (Promega):

- a) Precursor Módulo KanR (SEQ.ID.NO 27): el módulo Resistencia a Kanamicina está flanqueado por dos sitios de restricción BsaI siendo los sitios de corte de tipo 1 en el extremo 5' y de tipo III en 3'. Se amplifica del vector pK2GW,0 (Karimi, Inze et al. 2002).
- b) Precursor Pieza 35sSP (SEQ.ID.NO 28): este módulo comprende el promotor 35s del vector pK2GW,0 (Karimi, Inze et al. 2002) junto con el péptido señal de la pectato liasa de *Solanum lycopersicum*. El módulo está flanqueado por dos sitios de restricción BsmBI, siendo los sitios de corte de tipo A en el extremo 5' y de tipo β (TGCC) en el extremo 3'.
- c) Precursor Pieza CL.Tnos (SEQ.ID.NO 29): incluye las secuencias de la región constante de la cadena ligera lambda de la IgA (Uniprot #P0CG04) y del terminador Tnos del vector pBIN-YFP/GUS (Orzaez, Mirabel et al. 2006). El módulo está flanqueado por dos sitios de restricción BsmBI, siendo los sitios de corte de tipo γ (GGTC) en el extremo 5' y de tipo B en el extremo 3'.
- d) Precursor Pieza CK.Tnos (SEQ.ID.NO 30): incluye las secuencias de la región constante de la cadena ligera kappa de la IgA (GenBank AAH62704.1) y del terminador Tnos del vector pBIN-YFP/GUS

(Orzaez, Mirabel et al. 2006). El módulo está flanqueado por dos sitios de restricción BsmBI, siendo los sitios de corte de tipo γ (GGTC) en el extremo 5' y de tipo B en el extremo 3'.

e) Precursor Pieza CH α 1.Tnos (SEQ.ID.NO 31): incluye las secuencias de la región constante de la cadena pesada de la IgA (Uniprot #P01876) y del terminador Tnos del vector pBIN-YFP/GUS (Orzaez, Mirabel et al. 2006). El módulo está flanqueado por dos sitios de restricción BsmBI, siendo los sitios de corte de tipo γ (GCAT) en el extremo 5' y de tipo B en el extremo 3'.

f) Precursor Pieza CH α 2.Tnos (SEQ.ID.NO 32): incluye las secuencias de la región constante de la cadena pesada de la IgA (Uniprot # P01877) y del terminador Tnos del vector pBIN-YFP/GUS (Orzaez, Mirabel et al. 2006). El módulo está flanqueado por dos sitios de restricción BsmBI, siendo los sitios de corte de tipo γ (GCAT) en el extremo 5' y de tipo B en el extremo 3'.

g) Precursor Pieza VL (SEQ.ID.NO 33): región variable de la cadena ligera del scFv_2A1 (Monedero, Rodríguez-Díaz et al. 2004). El módulo está flanqueado por dos sitios de restricción BsmBI, siendo los sitios de corte de tipo β en el extremo 5' y de tipo γ en el extremo 3'.

h) Precursor Pieza VH (SEQ.ID.NO 34): región variable de la cadena pesada del scFv_2A1 (Monedero, Rodríguez-Díaz et al. 2004). El módulo está flanqueado por dos sitios de restricción BsmBI, siendo los sitios de corte de tipo β en el extremo 5' y de tipo γ en el extremo 3'.

Una vez contruidos los plásmidos de entrada de las distintas piezas (pENTR_PIEZA), se realizan los ensamblajes esquematizados en la figura 8A para generar los siguientes módulos:

- 1 Los módulos de expresión de las cadenas pesada de la inmunoglobulina A humana (IgH α 1 e IgH α 2) se ensamblaron mediante sendas reacciones Golden Gate con BsmBI y ligasa T4 los plásmidos de entrada pENTR_35sSP, pENTR_VH y pENTR_CH α 1.Tnos ó pENTR_CH α 2 con el vector de destino pDGB_S_1AB3, dando lugar a los vectores de expresión pEGB_S_1-IgH α 1-3 (SEQ.ID.NO 35) y pEGB_S_1-IgH α 2-3 (SEQ.ID.NO 36).
- 2 Los módulos de expresión de las cadenas ligeras de la inmunoglobulina A humana (Ig λ e Igk) se ensamblaron combinando en un solo tubo, en presencia de BsmBI y ligasa T4 los plásmidos de entrada pENTR_35sSP, pENTR_VL y pENTR_C λ .Tnos ó pENTR_Ck.Tnos con el vector de destino pDGB_S_3AB2, dando lugar a los vectores de expresión pEGB_S_3-Ig λ -2 (SEQ.ID.NO 37) y pEGB_S_3-Igk-2 (SEQ.ID.NO 38).
- 3 El módulo de resistencia a kanamicina se ensambló combinando en un solo tubo en presencia de BsaI y ligasa T4 los plásmidos de entrada PENTR_KanR, PENTR_Tnos con el vector de destino pDGB_K_A12C, dando lugar al vector de pEGB_S_A-KanR-C (SEQ.ID.NO 39)

Tras realizar los ensamblajes descritos, se utilizó un microlitro de cada reacción para transformar *E. coli*. Las células transformadas se sembraron en placas de LB con espectinomicina y X-gal. De cada reacción se seleccionaron cuatro colonias de color blanco, se crecieron en medio líquido y se procedió a aislar y analizar el plásmido correspondiente mediante análisis de digestión y posterior secuenciación. Ambos análisis mostraron ensamblajes correctos en al menos tres de las cuatro colonias analizadas para cada reacción.

Seguidamente los cuatro vectores que contienen las cadenas pesadas y ligeras de la IgA se ensamblaron entre sí en las cuatro combinaciones posibles mediante reacciones Golden Gate con BsaI sobre el vector de destino pDGB_K_C12B para dar lugar a los vector de expresión pEGB_K_C-IgH α 1-Ig λ -B (SEQ.ID.NO 40), pEGB_K_C-IgH α 2-Ig λ -B (SEQ.ID.NO 41), pEGB_K_C-IgH α 1-Igk-B (SEQ.ID.NO 42) y pEGB_K_C-IgH α 2-Igk-B (SEQ.ID.NO 43) con los cuales se pueden expresar cuatro isotipos de la IgA_2A1.

Los cuatro vectores anteriores, una vez comprobados por digestión (se seleccionaron dos colonias en cada caso, resultando las dos correctas –Figura 8B–), se emplearon para transformar células de *Agrobacterium tumefaciens* C58. Se comprobó la integridad del plásmido aislado de *Agrobacterium* mediante análisis de restricción seleccionadas en placas de LB Rifampicina y Spectinomicina. Un clon de *Agrobacterium* que contenía la construcción correcta en cada uno de los casos fue crecido en medio líquido y utilizado para transformar transitoriamente hojas de *Nicotiana benthamiana* (Wieland, Lammers et al. 2006). Tras cinco días de incubación, la presencia de una IgA recombinante correctamente ensamblada se comprobó mediante western blot en condiciones reductoras y no reductoras (Figura 8C) con los anticuerpos adecuados anti IgH, anti Ig λ y anti Igk. Adicionalmente, se realizaron tests antígeno ELISA con titulado a punto final. Brevemente, los pocillos se tapizaron con antígeno VP8* recombinante o BSA como control negativo (10 ug/mL). Tras bloquear los pocillos, éstos se incubaron con extracto crudo de plantas transformadas en diluciones seriadas y se lavaron 5 veces con PBS. Posteriormente se incubaron con un anticuerpo secundario anti-IgA (SIGMA) conjugado con peroxidasa y el resultado de la reacción colorimétrica se cuantificó en un espectrofotómetro. Los resultados del ensayo de actividad anti-VP8 de los extractos transgénicos pueden verse en la Figura 8D. Del test antígeno ELISA y del Western Blot se puede concluir que las cuatro construcciones son funcionales si bien la versión IgH α 1-Ig λ muestra una mejor expresión *in planta*.

Dado que el vector pEGB_K_C-IgH α 1-Ig λ -B puede funcionar como plásmido de entrada por la presencia de los sitios de restricción BsmBI de tipo C y B, los dispositivos A-KanR-C y C-IgH α 1-Ig λ -B se ensamblaron binariamente,

mediante una reacción Golden Gate con BsmBI como enzima de restricción, sobre el vector de destino pDGB_S_1AB3 para dar lugar al vector de expresión pEGB_S_1-KanR-IgH α 1-Ig λ -3 (SEQ.ID.NO 44).

- 5 Tras el ensamblaje enzimático, se utilizó un microlitro de cada reacción para transformar *E. coli*. Las células transformadas se sembraron en placas de LB con espectinomicina y X-gal. De cada reacción se seleccionaron cuatro colonias de color blanco, se crecieron en medio líquido y se procedió a aislar y analizar el plásmido correspondiente mediante análisis de digestión y posterior secuenciación. Ambos análisis mostraron ensamblajes correctos en al menos tres de las cuatro colonias analizadas para cada reacción. El vector resultante pEGB_S_1-KanR-IgH α 1-Ig λ -3 está listo para ser transformado establemente en planta.

REIVINDICACIONES

1. Un plásmido de destino (pDGB) para el ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena, **caracterizado porque** comprende un esqueleto de un plásmido de DNA de doble cadena que comprende:

a) al menos un origen de replicación,

5 b) al menos un marcador de selección positiva,

c) al menos un cassette que permite selección negativa,

d) al menos 2 sitios de reconocimiento para una primera enzima de restricción de tipo IIS (E1) que dan lugar cada uno de ellos a un sitio de corte de 4 o más nucleótidos seleccionados entre 1, 2 y 3, siendo 1, 2 y 3 secuencias de cuatro nucleótidos cualesquiera distintas entre sí, y

10 e) al menos 2 sitios de reconocimiento para una segunda enzima de restricción de tipo IIS (E1) que dan lugar cada uno de ellos a un sitio de corte de 4 o más nucleótidos seleccionados entre A, B y C, siendo A, B y C secuencias de cuatro nucleótidos cualesquiera distintas entre sí de manera que los sitios de corte y reconocimiento citados en (d) y los sitios de corte y reconocimiento citados en (e) flanquean el cassette de selección citado en (c) en sus extremos 5' y 3' con orientaciones invertidas.

15 2. El plásmido de destino (pDGB) para el ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena según la reivindicación 1, **caracterizado porque** las orientaciones invertidas de los sitios de corte y reconocimiento citados en (d) y los sitios de corte y reconocimiento citados en (e) flanqueando el cassette de selección citado en (c) en sus extremos 5' y 3' están seleccionadas entre: A12C, C12B, 1AB3, y 3AB2.

20 3. El plásmido de destino (pDGB) para el ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena según la reivindicación 2, **caracterizado porque** la orientación de los dos sitios de corte y reconocimiento citados en (d) y los dos sitios de corte y reconocimiento citados en (e) es A12C, depositado en la Colección Española de Cultivos Tipo como CECT 7900.

25 4. El plásmido de destino (pDGB) para el ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena según la reivindicación 2, **caracterizado porque** la orientación de los dos sitios de corte y reconocimiento citados en (d) y los dos sitios de corte y reconocimiento citados en (e) es C12B, depositado en la Colección Española de Cultivos Tipo como CECT 7899.

30 5. El plásmido de destino (pDGB) para el ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena según la reivindicación 2, **caracterizado porque** la orientación de los dos sitios de corte y reconocimiento citados en (d) y los dos sitios de corte y reconocimiento citados en (e) es 1AB3, depositado en la Colección Española de Cultivos Tipo como CECT 7902.

6. El plásmido de destino (pDGB) para el ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena según la reivindicación 2, **caracterizado porque** la orientación de los dos sitios de corte y reconocimiento citados en (d) y los dos sitios de corte y reconocimiento citados en (e) es 3AB2, depositado en la Colección Española de Cultivos Tipo como CECT 7901.

35 7. Un método de ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena **caracterizado porque** comprende un bucle de ensamblaje indefinido que alterna el nivel α y el nivel Ω de ensamblaje binario quasi-idempotentes, donde el nivel α comprende las siguientes etapas:

40 i) construcción de los plásmidos de entrada (pE) de nivel α , cada plásmido de entrada (pE) de nivel α comprende una pieza de DNA de doble cadena seleccionada entre (X_i) y/o (X_j), flanqueada en sus extremos 5' y 3' por sendos sitios de corte y reconocimiento seleccionados entre 1, 2 y 3, para una primera enzima de restricción de tipo IIS (E1):

pE [1 (X_i) 3] y pE [3 (X_j) 2]

ii) construcción de los plásmidos de destino (pDGB) de nivel α definidos en las reivindicaciones 3 y 4:

pDGB (A12C) (CECT 7900) y pDGB (C12B) (CECT 7899)

45 iii) digestión enzimática de los plásmidos de entrada obtenidos en i) y los plásmidos de destino obtenidos en ii) en presencia de E1, generando en sus extremos 3' y 5' secuencias terminales de cadena sencilla de DNA de al menos 3 nucleótidos,

iv) ligación con ligasa T4 entre las secuencias terminales de cadena sencilla de los plásmidos de entrada y de destino digeridos en iii) formando los plásmidos ensamblados de nivel α de DNA de doble cadena circular cerrado:

pE [1 (X_i) 3] + pE [3 (X_j) 2] + pDGB (A12C) (CECT 7900) = pE [A (X_i+X_j) C]

$pE [1 (X_i) 3] + pE [3 (X_j) 2] + pDGB (C12B) (CECT 7899) = pE [C (X_i+X_j) B];$

y donde el nivel Ω comprende las siguientes etapas:

- 5 v) construcción de los plásmidos de entrada (pE) de nivel Ω cada plásmido de entrada (pE) de nivel Ω comprende una pieza de DNA de doble cadena seleccionada entre (X_i) y/o (X_j) , flanqueada en sus extremos 5' y 3' por sendos sitios de corte y reconocimiento seleccionados entre A, B y C, para una segunda enzima de restricción de tipo IIS (E2):

$pE [A (X_i) C]$ y $pE [C (X_j) B]$

vi) construcción de los plásmidos de destino (pDGB) de nivel Ω definidos en las reivindicaciones 5 y 6:

$pDGB (1AB3) (CECT 7902)$ y $pDGB (3AB2) (CECT 7901)$

- 10 vii) digestión enzimática de los plásmidos de entrada obtenidos en v) y los plásmidos de destino obtenidos en vi) en presencia de E2, generando en sus extremos 3' y 5' secuencias terminales de cadena sencilla de DNA de al menos 3 nucleótidos,

viii) ligación con ligasa T4 entre las secuencias terminales de cadena sencilla de los plásmidos de entrada y de destino digeridos en vii) formando los plásmidos ensamblados de nivel A de DNA de doble cadena circular cerrado:

- 15 $pE [A (X_i) C] + pE [C (X_j) B] + pDGB (1AB3) (CECT 7902) = pE [1 (X_i+X_j) 3]$

$pE [A (X_i) C] + pE [C (X_j) B] + pDGB (3AB2) (CECT 7901) = pE [3 (X_i+X_j) 2];$

cuando el método de ensamblaje se inicia en el nivel α y continua con el nivel Ω , los plásmidos de entrada de nivel A $pE [A (X_i) C]$ y $pE [C (X_j) B]$ definidos en v) son sustituidos por los plásmidos ensamblados de nivel 1 $pE [A (X_i+X_j) C]$ y $pE [C (X_i+X_j) B]$ obtenidos en iv); y

- 20 cuando el método de ensamblaje se inicia en el nivel Ω y continua con el nivel α , los plásmidos de entrada de nivel α $pE [1 (X_i) 3]$ y $pE [3 (X_j) 2]$ definidos en i) son sustituidos por los plásmidos ensamblados de nivel Ω $pE [1 (X_i+X_j) 3]$ y $pE [3 (X_i+X_j) 2]$ obtenidos en viii).

- 25 8. El método de ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena según la reivindicación 7 **caracterizado porque** (X_i) y/o (X_j) se selecciona entre un promotor, una secuencia de localización subcelular, una secuencia codificante, una copia de DNA se secuencia de RNA interferente, y una secuencia de terminación, un casete de expresión de proteínas, enzimas, factores de transcripción, marcadores, anticuerpos, proteínas reguladoras, o un casete de expresión de RNAs funcionales o elementos estructurales de cromatina.

- 30 9. El método de ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena según la reivindicación 7 **caracterizado porque** los plásmidos de destino (pDGB) son plásmidos binarios para la transformación genética de plantas mediada por *Agrobacterium tumefaciens*.

10. El método de ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena según la reivindicación 7 **caracterizado porque** (X_i+X_j) está formado por un gen de kanamicina, un gen que codifica para la cadena ligera de un anticuerpo y un gen que codifica para la cadena pesada de un anticuerpo.

- 35 11. El método de ensamblaje *in vitro* de piezas de DNA de doble cadena según la reivindicación 7 **caracterizado porque** (X_i+X_j) está formado por cuatro casetes de expresión constitutiva de tres genes que codifican tres proteínas fluorescentes y un cuarto gen que codifica la proteína p19.

12. Una planta transformada mediante *Agrobacterium tumefaciens* mediante el método de ensamblaje descrito en la reivindicación 11 y **caracterizada porque** dicha planta expresa un anticuerpo recombinante de tipo IgA.

- 40 13. Una planta transformada transitoriamente mediante *Agrobacterium tumefaciens* mediante el método de ensamblaje descrito en la reivindicación 12 y **caracterizada porque** dicha planta expresa simultáneamente las citadas tres proteínas fluorescentes.

FIGURA 1

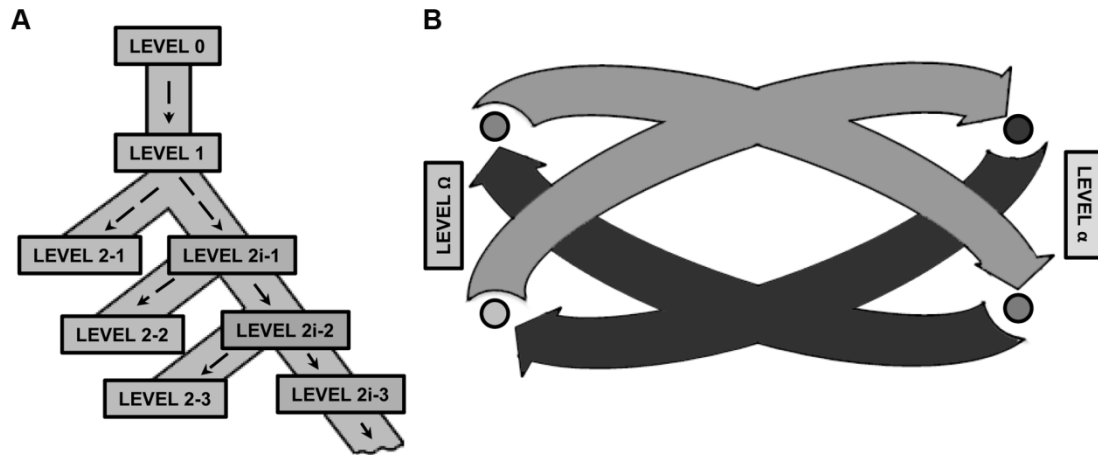


FIGURA 2

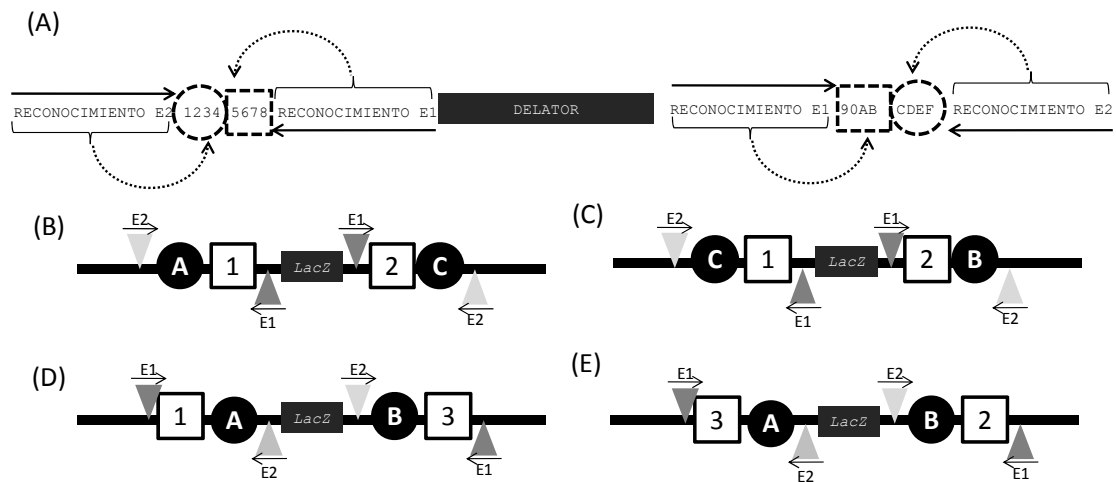


FIGURA 3

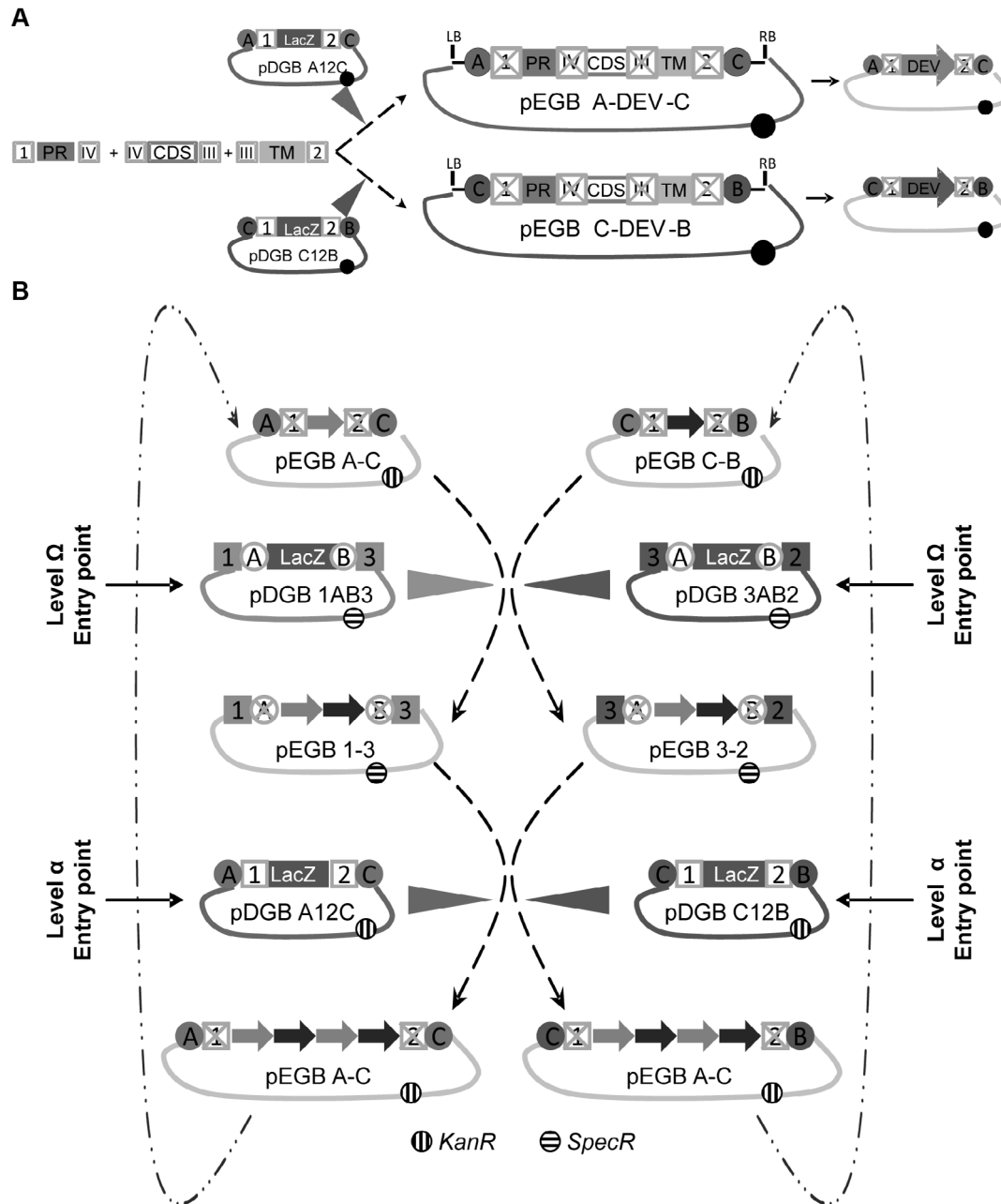


FIGURA 4

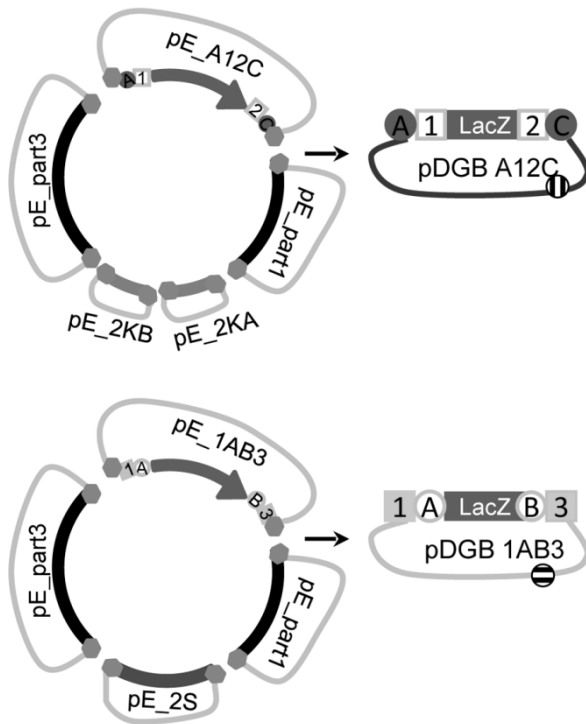
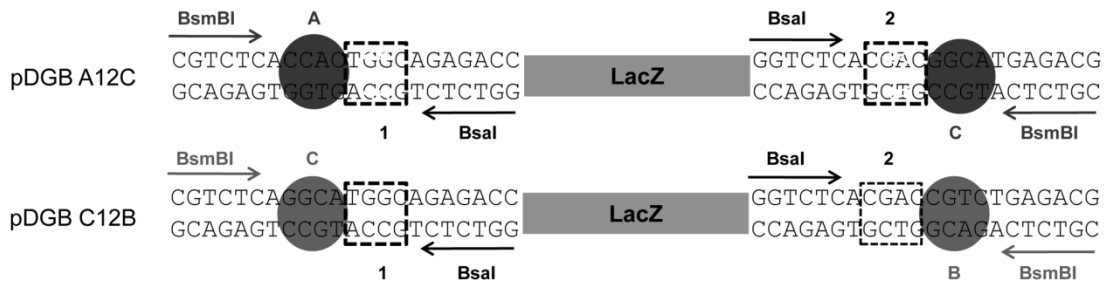


FIGURA 5

LEVEL α PLASMIDS



LEVEL Ω PLASMIDS

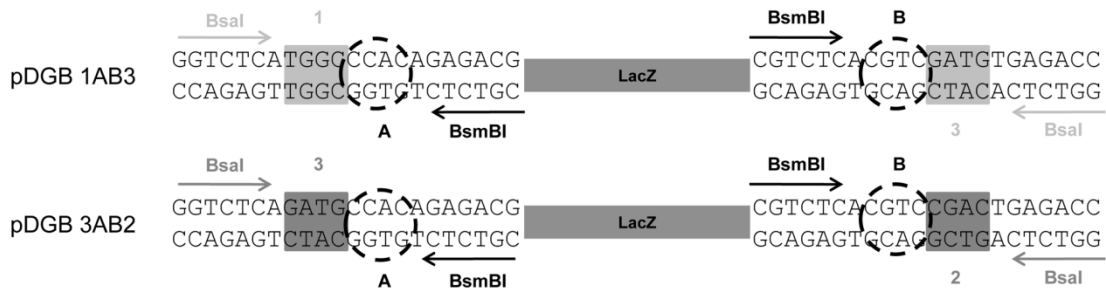


FIGURA 6

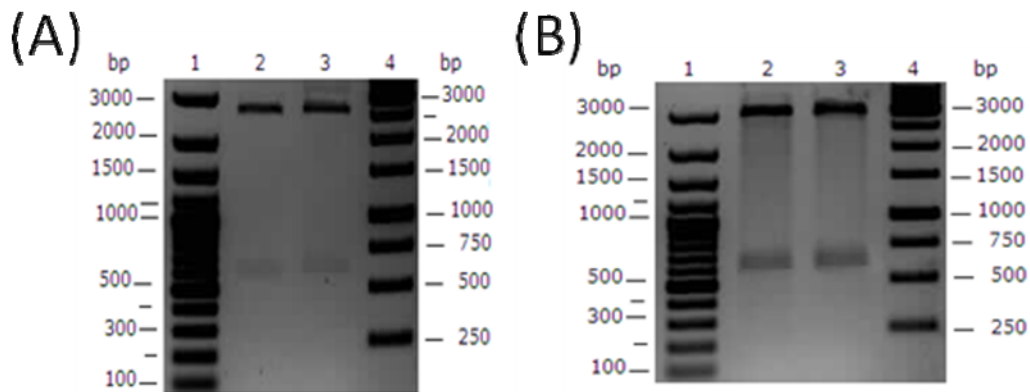


FIGURA 7

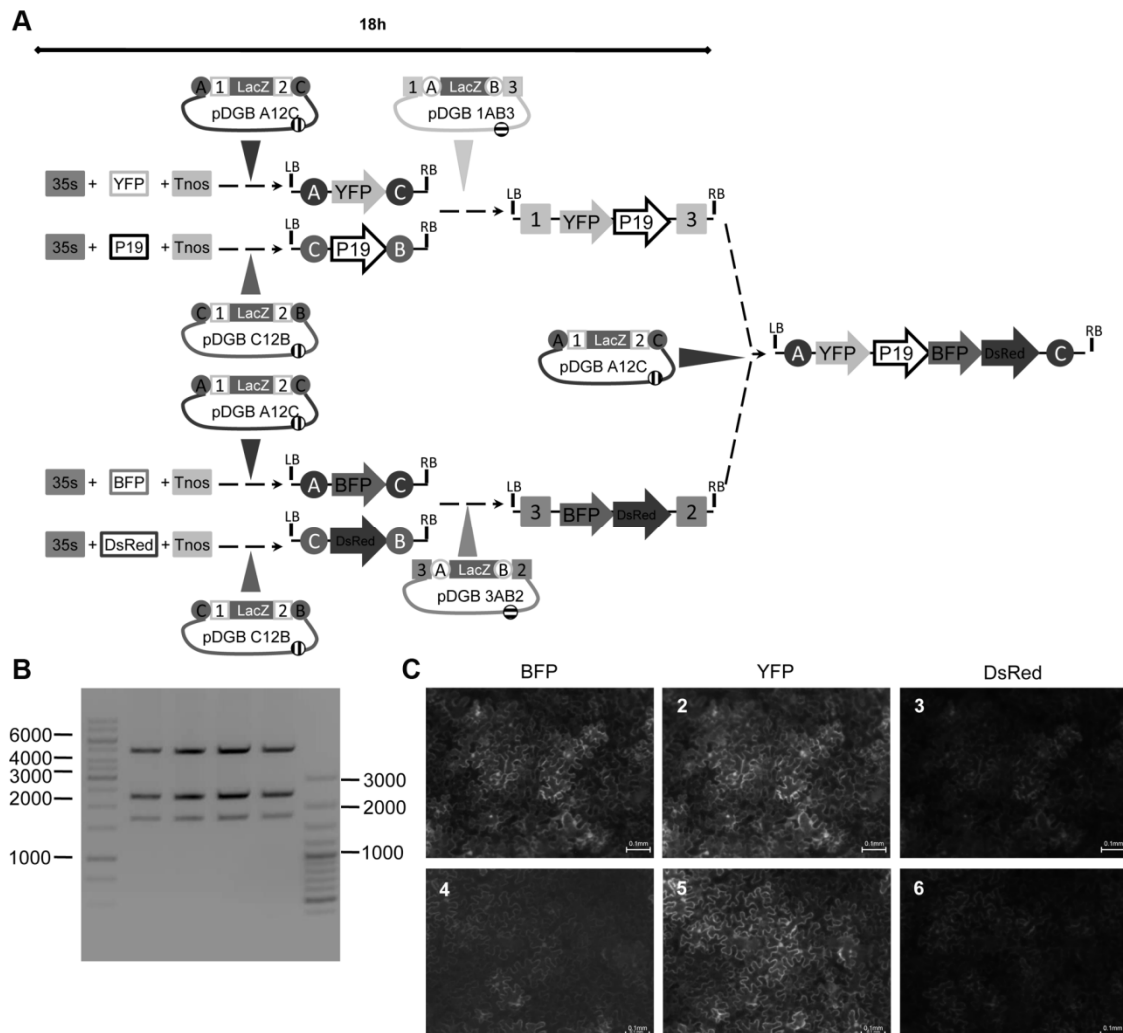
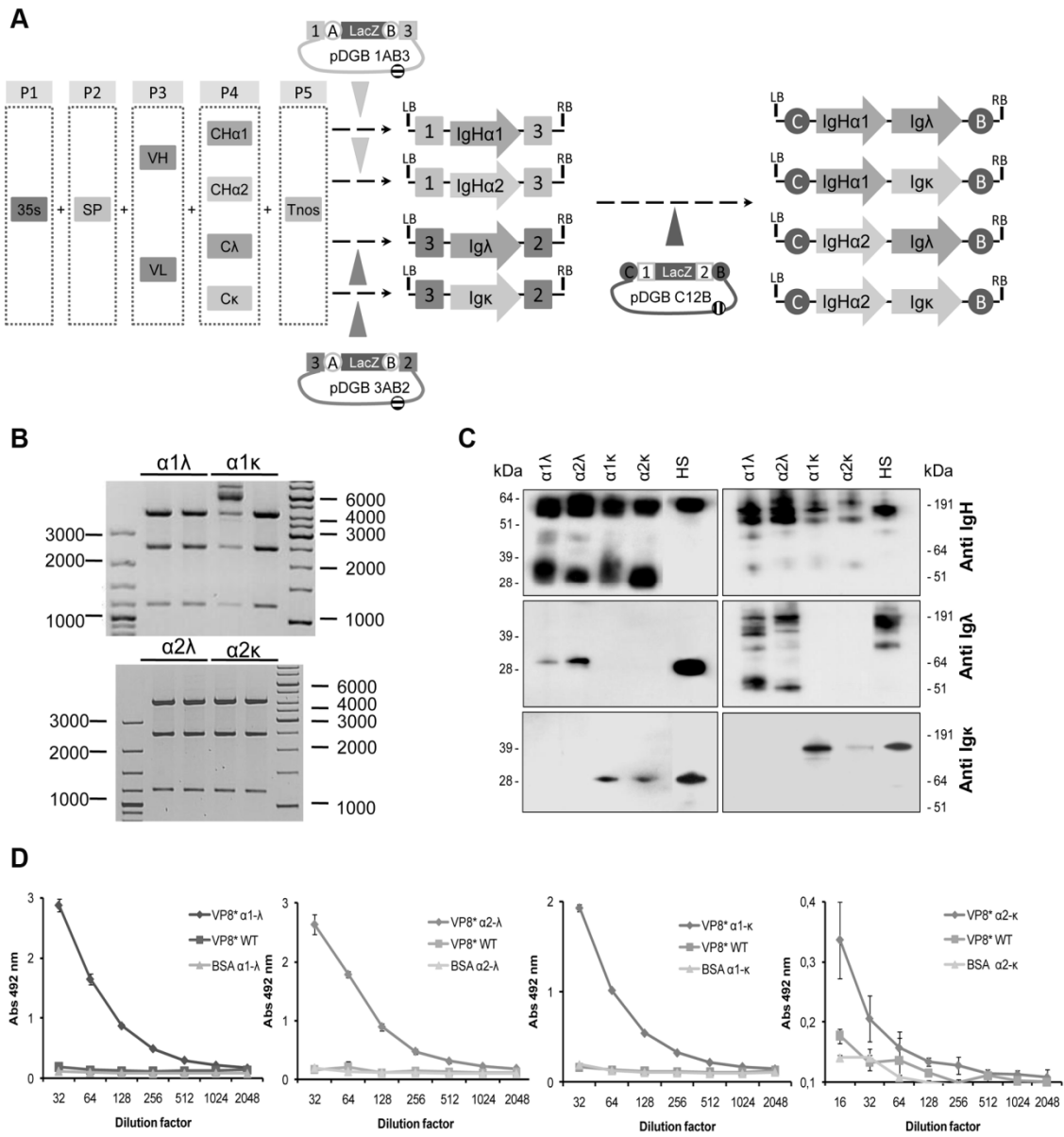


FIGURA 8



ES 2 389 792 A1

Listado de secuencias

<110> CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS Y UNIVERSIDAD
POLITECNICA DE VALENCIA

<120> SISTEMA PARA ENSAMBLADO DE PIEZAS GENETICAS

<130> SISTEMA PARA ENSAMBLADO DE PIEZAS GENETICAS

<160> 44

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 890

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Nucleotidos 1296-2169 del esqueleto del plasmido pGreenII

<400> 1

gaagacaatg acaggatata ttggcgggta aactaagtcg ctgtatgtgt ttgtttgaga
60

tctcatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg cgttgctggc
120

gtttttccat aggctccgcc cccctgacga gcatcacaaa aatcgacgct caagtcagag
180

gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcgttt cccctggaa gctccctcgt
240

gcgctctcct gttccgaccc tgccgcttac cggatacctg tccgccttc tcccttcggg
300

aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg taggtatctc agttcggtgt aggtcggtcg
360

ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc cgttcagccc gaccgctgcg ccttatccgg
420

taactatcgt cttgagtcca acccggttaag acacgactta tcgccactgg cagcagccac
480

tggtaacagg attagcagag cgaggtatgt aggcgggtgct acagagttct tgaagtgggtg
540

gcctaactac ggctacacta gaagaacagt atttggtatc tgcgctctgc tgaagccagt
600

taccttcgga agaagagttg gtagctcttg atccggcaaa caaaccaccg ctggtagcgg
660

tggttttttt gtttgcaagc agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc
720

tttgatcttt tctacggggc ctgacgctca gtggaacgaa aactcacggt aagggatttt
780

ggcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac ctagatcctt ttaaattaaa aatgaagttt
840

taaatcaatc taaagtatat atgtgtaaca ttggtctagt gattgtcttc
890

ES 2 389 792 A1

<210> 2
 <211> 393
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Nucleotidos 2166-2542 del esqueleto del plasmido pGreenII.
 Incluye una mutacion A>T en el nucleotido 2542

<400> 2
 gaagacaagt gattagaaaa actcatcgag catcaaatga aactgcaatt tattcatatc
 60
 aggattatca ataccatatt tttagaaaaag ccgtttctgt aatgaaggag aaaactcacc
 120
 gaggcagttc cataggatgg caagatcctg gtatcgggtct gcgattccga ctcgccaac
 180
 atcaatacaa cctattaatt tcccctcgtc aaaaataagg ttatcaagtg agaaatcacc
 240
 atgagtgacg actgaatccg gtgagaatgg caaaagttaa tgcatttctt tccagacttg
 300
 ttcaacaggc cagccattac gctcgtcatc aaaatcactc gcatcaacca aaccgttatt
 360
 cattcgtgat tgcgcctgag cgagtttgtc ttc
 393

<210> 3
 <211> 467
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Nucleotidos 2539-2989 del esqueleto del plasmido pGreenII.
 Incluye una mutacion A>T en el nucleotido 2542

<400> 3
 gaagacaaga gtcgaaatac gcgatcgctg ttaaaaggac aattacaaac aggaatcgaa
 60
 tgcaaccggc gcaggaacac tgccagcgca tcaacaatat ttacaccta atcaggatat
 120
 tcttctaata cctggaatgc tgttttcctt gggatcgagc tggtagtaa ccatgcatca
 180
 tcaggagtac ggataaaatg cttgatggc ggaagaggca taaattccgt cagccagttt
 240
 agtctgacca tctcatctgt aacaacattg gcaacgctac ctttgccatg ttccagaaac
 300
 aactctggcg catcgggctt cccatacaat cggtagattg tcgcacctga ttgcccagaca
 360
 ttatcgcgag cccatttata cccatataaa tcagcatcca tgttgaatt taatcgcggc
 420
 cttgagcaag acgtttcccg ttgaatatgg ctcataacat tgtcttc

467

<210> 4
 <211> 1169
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Nucleotidos 248-1392 del esqueleto del plasmido pCR8.
 Resistencia
 Espectinomycin

<400> 4
 gaagacaatg ttccagccag gacagaaatg cctcgacttc gctgctgccc aaggttgccg
 60
 ggtgacgcac accgtggaaa cggatgaagg cacgaacca gtggacataa gcctgttcgg
 120
 ttcgtaagct gtaatgcaag tagcgtatgc gtcacgcaa ctggtccaga accttgaccg
 180
 aacgcagcgg tggtaacggc gcagtggcgg ttttcatggc ttgttatgac tgtttttttg
 240
 gggtagctc tatgcctcgg gcatccaagc agcaagcgcg ttacgccgtg ggtcgatggt
 300
 tgatgttatg gagcagcaac gatgttacgc agcagggcag tcgccctaaa acaaagttaa
 360
 acatcatgag ggaagcgggt atcgccgaag tatcgactca actatcagag gtagttggcg
 420
 tcatcgagcg ccatctcgaa ccgacgttgc tggccgtaca tttgtacggc tccgcagtgg
 480
 atggcggcct gaagccacac agtgatattg atttgctggt tacggtgacc gtaaggcttg
 540
 atgaaacaac gggcgagct ttgatcaacg accttttgga aacttcggct tcccctggag
 600
 agagcgagat tctccgcgt gtagaagtca ccattgttgt gcacgacgac atcattccgt
 660
 ggcgttatcc agctaagcgc gaactgcaat ttggagaatg gcagcgcaat gacattcttg
 720
 caggtatctt cgagccagcc acgatcgaca ttgatctggc tatcttgctg acaaaagcaa
 780
 gagaacatag cgttgcttg gtaggtccag cggcggagga actctttgat ccggttcctg
 840
 aacaggatct atttgaggcg ctaaagaaa ccttaacgct atggaactcg ccgcccgact
 900
 gggctggcga tgagcgaaat gtagtgctta cgttgctccg catttggtac agcgcagtaa
 960
 ccggcaaaat cgcgccgaag gatgtcgctg ccgactgggc aatggagcgc ctgccggccc
 1020
 agtatcagcc cgtcatactt gaagctagac aggcttatct tggacaagaa gaagatcgct

1080

tggcctcgcg cgcagatcag ttggaagaat ttgtccacta cgtgaaaggc gagatcacca
1140

aggtagtcgg caaataatca cttgtcttc
1169

<210> 5
<211> 900
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Nucleotidos 2986-565 del esqueleto del plasmido pGreenII

<400> 5
gaagacaaaa cacccttgtg attactgttt atgtaagcag acagttttat tgttcacgat
60

gatataatatt tatcttgtgc aatgtaacat cagagatttt gagacacaac gtggctttgt
120

tgaataaatc gaacttttgc tgagttgaag gatcagatca cgcattctcc cgacaacgca
180

gaccgttccg tggcaaagca aaagttcaaa atcaccaact ggtccaccta caacaaagct
240

ctcatcaacc gtggctccct cactttctgg ctggatgatg gggcgattca ggcgatcccc
300

atccaacagc ccgccgtcga gcgggctttt ttatccccgg aagcctgtgg atagagggta
360

gttatccacg tgaaacccgt aatgccccgc aaagccttga ttcacggggc tttccggccc
420

gctccaaaaa ctatccacgt gaaatcgcta atcaggggtac gtgaaatcgc taatcggagt
480

acgtgaaatc gctaataagg tcacgtgaaa tcgctaataa aaaaggcacg tgagaacgct
540

aatagccctt tcagatcaac agcttgcaaa caccctcgc tccggcaagt agttacagca
600

agtagtatgt tcaattagct tttcaattat gaatatatat atcaattatt ggtcgccctt
660

ggcttgtgga caatgcgcta cgcgcaccgg ctccgcccgt ggacaaccgc aagcgggtgc
720

ccaccgtcga gcgccagcgc ctttgccac aaccggcgcg ccggccgcaa cagatcgttt
780

tataaatttt tttttttgaa aaagaaaaag cccgaaaggc ggcaacctct cgggcttctg
840

gatttccgat ccccggaatt agagatcttg gcaggatata ttgtggtgta acttgtcttc
900

<210> 6
<211> 623

ES 2 389 792 A1

<212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Precursor pieza LacZ A12C

<400> 6
 gacgtctcac cactggcaga gacccacagc ttgtctgtaa gcggatgccg ggagcagaca
 60
 agcccgctcag ggcgcgtcag cgggtgttgg cgggtgtcgg ggctggctta actatgcggc
 120
 atcagagcag attgtactga gagtgcacca tatgcggtgt gaaataccgc acagatgcgt
 180
 aaggagaaaa taccgcatca ggcgccattc gccattcagg ctgcgcaact gttgggaagg
 240
 gcgatcgggtg cgggcctctt cgctattacg ccagctggcg aaagggggat gtgctgcaag
 300
 gcgattaagt tgggtaacgc cagggttttc ccagtcacga cgttgtaaaa cgacggccag
 360
 tgaattcgag ctcggtaccc ggggatcctc tagagtcgac ctgcaggcat gcaagcttgg
 420
 cgtaatcatg gtcatactgt tttcctgtgt gaaattgtta tccgctcaca attccacaca
 480
 acatacgagc cggaagcata aagtgtaaag cctgggggtgc ctaatgagt agctaactca
 540
 cattaattgc gttgcgctca ctgcccgctt tccagtcggg aaacctgtcg tgccagctgg
 600
 gtctctcgac ggcatgagac gtc
 623

<210> 7
 <211> 623
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Precursor pieza LacZ C12B

<400> 7
 gacgtctcag gcatggcaga gacccacagc ttgtctgtaa gcggatgccg ggagcagaca
 60
 agcccgctcag ggcgcgtcag cgggtgttgg cgggtgtcgg ggctggctta actatgcggc
 120
 atcagagcag attgtactga gagtgcacca tatgcggtgt gaaataccgc acagatgcgt
 180
 aaggagaaaa taccgcatca ggcgccattc gccattcagg ctgcgcaact gttgggaagg
 240
 gcgatcgggtg cgggcctctt cgctattacg ccagctggcg aaagggggat gtgctgcaag
 300
 gcgattaagt tgggtaacgc cagggttttc ccagtcacga cgttgtaaaa cgacggccag

ES 2 389 792 A1

360

tgaattcgag ctccggtaccc ggggatacctc tagagtcgac ctgcaggcat gcaagcttgg
420

cgtaatcatg gtcatactgtg tttcctgtgt gaaattgtta tccgctcaca attccacaca
480

acatacgagc cggaagcata aagtgtaaag cctgggggtgc ctaatgagtg agctaactca
540

cattaattgc gttgcgctca ctgcccgtt tccagtcggg aaacctgtcg tgccagctgg
600

gtctctcgac cgtctgagac gtc
623

<210> 8

<211> 643

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Precursor pieza LacZ 1AB3

<400> 8

gaagacaata acggtctctt ggcccaactga gacgcacagc ttgtctgtta gcggatgccg
60

ggagcagaca agcccgtcag ggcgcgtcag cgggtgttgg cgggtgtcgg ggctggctta
120

actatgcggc atcagagcag attgtactga gagtgcacca tatgcggtgt gaaataccgc
180

acagatgcgt aaggagaaaa taccgcatca ggcgccattc gccattcagg ctgcgcaact
240

gttgggaagg gcgacgggtg cgggcctctt cgtattacg ccagctggcg aaagggggat
300

gtgctgcaag gcgattaagt tgggtaacgc cagggttttc ccagtcacga cgttgtaaaa
360

cgacggccag tgaattcgag ctccggtaccc ggggatacctc tagagtcgac ctgcaggcat
420

gcaagcttgg cgtaatcatg gtcatactgtg tttcctgtgt gaaattgtta tccgctcaca
480

attccacaca acatacgagc cggaagcata aagtgtaaag cctgggggtgc ctaatgagtg
540

agctaactca cattaattgc gttgcgctca ctgcccgtt tccagtcggg aaacctgtcg
600

tgccagctgc gtctcagtag gatgagagac ctgacttgtc ttc
643

<210> 9

<211> 649

<212> DNA

<213> Artificial sequence

ES 2 389 792 A1

<220>

<223> Precursor pieza LacZ 3AB2

<400> 9

gaagacaata acggtctctg atgccactga gacgcacagc ttgtctgtaa gcggatgccg
60

ggagcagaca agcccgtcag ggcgcgtcag cgggtgttgg cgggtgtcgg ggctggctta
120

actatgcggc atcagagcag attgtactga gagtgcacca tatgcggtgt gaaataaccg
180

acagatgcgt aaggagaaaa taccgcatca ggcgccattc gccattcagg ctgcgcaact
240

gttgggaagg gcgatcgggtg cgggcctctt cgtattacg ccagctggcg aaagggggat
300

gtgctgcaag gcgattaagt tgggtaacgc cagggttttc ccagtcacga cgttgtaaaa
360

cgacggccag tgaattggag cttggtaccc gtggatcttc tagtgcgat ctgcacgcat
420

gtaagctggg cgtaatcatg gtcatactg tttcctgtgt gaaattgtta tccgctcaca
480

attccacaca acatacgagc cggaagcata aagtgtaaag cctgggggtgc ctaatgagtg
540

agctaactca cattaattgc gttgcgtca ctgcccgctt tccagtcggg aaacctgtcg
600

tgccagctgc agctgcgtct cagctccgac agagacctga cttgtcttc
649

<210> 10

<211> 3194

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Plasmido de destino Golden Braid con casete LacZ A12C y
resistencia a kanamicina

<400> 10

taaccgtctc accactggca gagaccaca gcttgtctgt aagcggatgc cgggagcaga
60

caagcccgtc agggcgcgtc agcgggtgtt ggcgggtgtc ggggctggct taactatgcg
120

gcacagagc agattgtact gagagtgcac catatgcggt gtgaaatacc gcacagatgc
180

gtaaggagaa aataccgcat caggcgccat tcgccattca ggctgcgcaa ctgttgggaa
240

ggcgatcgg tgcgggcctc ttcgctatta cgccagctgg cgaaagggg atgtgctgca
300

aggcgattaa gttgggtaac gccagggttt tcccagtcac gacgttgtaa aacgacggcc
360

ES 2 389 792 A1

agtgaattcg agctcggtac ccggggatcc tctagagtcg acctgcaggc atgcaagctt
420

ggcgtaatca tggcatagc tgtttcctgt gtgaaattgt tatccgctca caattccaca
480

caacatacga gccggaagca taaagtgtaa agcctggggg gcctaataag tgagctaact
540

cacattaatt gcgttcgct cactgcccgc tttccagtcg ggaaacctgt cgtgccagct
600

ggggtctctc gacggcatga gacgtgacag gatataattg cgggtaaact aagtcgctgt
660

atgtgtttgt ttgagatctc atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa
720

aggccgcggt gctggcggtt ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc
780

gacgtcaag tcagaggtgg cgaaaccga caggactata aagataccag gcgtttcccc
840

ctggaagctc cctcgtgcgc tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg
900

cctttctccc ttccggaagc gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt
960

cggtgtaggt cgttcgctcc aagctgggct gtgtgcaaga acccccgtt cagcccgacc
1020

gctgcgcctt atccggtaac tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc
1080

cactggcagc agccactggt aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag
1140

agttcttgaa gtgggtggcct aactacggct aactagaag aacagtattt ggtatctgcg
1200

ctctgctgaa gccagttacc ttccggaagaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa
1260

ccaccgctgg tagcgggtgt ttttttggtt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaag
1320

gatctcaaga agatcctttg atcttttcta cggggtctga cgctcagtgg aacgaaaact
1380

cacgttaagg gatcttggtc atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa
1440

attaaaaatg aagtttttaa tcaatctaaa gtatatatgt gtaacattgg tctagtgatt
1500

agaaaaactc atcgagcatc aaatgaaact gcaatttatt catatcagga ttatcaatac
1560

catatctttg aaaaagccgt ttctgtaatg aaggagaaaa ctaccgagg cagttccata
1620

ggatggcaag atcctggtat cggctctgca ttccgactcg tccaacatca atacaaccta
1680

ES 2 389 792 A1

ttaatttccc ctcgtcaaaa ataaggttat caagtgagaa atcaccatga gtgacgactg
 1740
 aatccggtga gaatggcaaa agtttatgca tttctttcca gacttggtca acaggccagc
 1800
 cattacgctc gtcatacaaaa tcaactcgcat caaccaaacc gttattcatt cgtgattgcg
 1860
 cctgagcgag tcgaaatacg cgatcgctgt taaaaggaca attacaaaca ggaatcgaat
 1920
 gcaaccggcg caggaacact gccagcgcat caacaatatt ttcacctgaa tcaggatatt
 1980
 cttctaatac ctggaatgct gttttccctg ggatcgagc ggtgagtaac catgcatcat
 2040
 caggagtacg gataaaatgc ttgatggcgc gaagaggcat aaattccgctc agccagttta
 2100
 gtctgaccat ctcatctgta acaacattgg caacgctacc tttgccatgt ttcagaaaca
 2160
 actctggcgc atcgggcttc ccatacaatc ggtagattgt cgcacctgat tgcccagacat
 2220
 tatcgcgagc ccattttatac ccataataat cagcatccat gttggaatth aatcgcgcc
 2280
 ttgagcaaga cgtttcccgct tgaatatggc tcataacacc ccttgattta ctgtttatgt
 2340
 aagcagacag ttttattggt catgatgata tattttttatc ttgtgcaatg taacatcaga
 2400
 gattttgaga cacaacgtgg ctttggtgaa taaatcgaac ttttgctgag ttgaaggatc
 2460
 agatcacgca tcttcccgac aacgcagacc gttccgtggc aaagcaaaag ttcaaaatca
 2520
 ccaactggtc cacctacaac aaagctctca tcaaccgtgg ctccctcact ttctggctgg
 2580
 atgatggggc gattcaggcg atcccatcc aacagccgcg cgtcgagcgg gcttttttat
 2640
 ccccggaagc ctgtggatag agggtagtta tccacgtgaa accgctaatag ccccgcaaag
 2700
 ccttgattca cggggctttc cggcccgtc caaaaactat ccacgtgaaa tcgctaataca
 2760
 gggtagtgta aatcgctaata cggagtacgt gaaatcgcta ataaggtcac gtgaaatcgc
 2820
 taatcaaaaa ggcacgtgag aacgctaata gccctttcag atcaacagct tgcaaacacc
 2880
 cctcgctccg gcaagtagtt acagcaagta gtatgttcaa ttagcttttc aattatgaat
 2940
 atatatatca attattggct gcccttggct tgtggacaat gcgctacgcg caccggctcc
 3000

ES 2 389 792 A1

gcccgtggac aaccgcaagc ggttgccac cgtcgagcgc cagcgccttt gccacaacc
3060

cggcggccgg ccgcaacaga tcgttttata aatTTTTTTT tttgaaaaag aaaaagcccg
3120

aaaggcggca acctctcggg cttctggatt tccgatcccc ggaattagag atcttggcag
3180

gatatatgt ggtg
3194

<210> 11

<211> 3193

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Plasmido de destino Golden Braid con casete LacZ C12B y
resistencia a kanamicina

<400> 11

tgacaggata tattggcggg taaactaagt cgctgtatgt gtttgttga gatctcatgt
60

gagcaaaagg ccagcaaaag gccaggaacc gtaaaaaggc cgcgttgctg gcgtttttcc
120

ataggctccg ccccccctgac gagcatcaca aaaatcgacg ctcaagtcag aggtggcgaa
180

acccgacagg actataaaga taccaggcgt tccccctgg aagctccctc gtgcgctctc
240

ctgttccgac cctgccgctt accggatacc tgtccgcctt tctcccttcg ggaagcgtgg
300

cgcttttctca tagctcacgc tgtaggtatc tcagttcggg taggtcggt cgctccaagc
360

tgggctgtgt gcacgaaccc cccgttcagc ccgaccgctg cgccttatcc ggtaactatc
420

gtcttgagtc caaccggta agacacgact tatcgccact ggcagcagcc actggtaaca
480

ggattagcag agcgaggatg gtaggcgggtg ctacagagtt cttgaagtgg tggcctaact
540

acggctacac tagaagaaca gtatttggtg tctgcgctct gctgaagcca gttaccttcg
600

gaagaagagt tggtagctct tgatccggca aacaaaccac cgctggtagc ggtgggtttt
660

ttgtttgcaa gcagcagatt acgcgcagaa aaaaaggatc tcaagaagat cctttgatct
720

tttctacggg gtctgacgct cagtggaacg aaaactcacg ttaagggatt ttggatcatg
780

gattatcaaa aaggatcttc acctagatcc ttttaaatta aaaatgaagt tttaaatcaa
840

tctaaagtat atatgtgtaa cattgggtcta gtgattagaa aaactcatcg agcatcaaat

ES 2 389 792 A1

900

gaaactgcaa tttattcata tcaggattat caataccata tttttgaaaa agccgtttct
960

gtaatgaagg agaaaaactca ccgaggcagt tccataggat ggcaagatcc tggatatcgg
1020

ctgcgattcc gactcgtcca acatcaatac aacctattaa tttcccctcg tcaaaaataa
1080

ggttatcaag tgagaaatca ccatgagtga cgactgaatc cggtgagaat ggcaaaagtt
1140

tatgcatttc tttccagact tgttcaacag gccagccatt acgctcgtca tcaaaatcac
1200

tcgcatcaac caaaccgtta ttcattcgtg attgcgcctg agcgagtcga aatacgcgat
1260

cgctgttaaa aggacaatta caaacaggaa tcgaatgcaa ccggcgcagg aacactgcc
1320

gcgcatcaac aatattttca cctgaatcag gatattcttc taatacctgg aatgctgttt
1380

tcctgggat cgcagtgggtg agtaaccatg catcatcagg agtacggata aaatgcttga
1440

tggtcggaag aggcataaat tccgtcagcc agtttagtct gaccatctca tctgtaacaa
1500

cattggcaac gctacctttg ccatgtttca gaaacaactc tggcgcacgc ggcttcccat
1560

acaatcggtg gattgtcgca cctgattgcc cgacattatc gcgagcccat ttatacccat
1620

ataaatcagc atccatgttg gaatttaatc gcggccttga gcaagacgtt tccogttgaa
1680

tatggctcat aacacccctt gtattactgt ttatgtaagc agacagtttt attgttcag
1740

atgatataat tttatcttgt gcaatgtaac atcagagatt ttgagacaca acgtggcttt
1800

gttgaataaa tcgaactttt gctgagttga aggatcagat cacgcatctt cccgacaacg
1860

cagaccgttc cgtggcgaag caaaagttca aaatcaccaa ctggtccacc tacaacaaag
1920

ctctcatcaa ccgtgggtcc ctcactttct ggctggatga tggggcgatt caggcgatcc
1980

ccatccaaca gcccgccgtc gagcgggctt ttttatcccc ggaagcctgt ggatagaggg
2040

tagttatcca cgtgaaaccg ctaatgcccc gcaaagcctt gattcacggg gctttccggc
2100

ccgctccaaa aactatccac gtgaaatcgc taatcagggt acgtgaaatc gctaatacga
2160

gtacgtgaaa tcgctaataa ggtcacgtga aatcgctaata caaaaaggca cgtgagaacg

2220

ctaatagccccc tttcagatca acagcttgca aacaccccctc gctccggcaa gtagttacag
2280

caagtagtat gttcaattag cttttcaatt atgaatatat atatcaatta ttggtcgccc
2340

ttggcttggtg gacaatgcgc tacgcgcacc ggctccgccc gtggacaacc gcaagcgggtt
2400

gccacccgctc gagcgccagc gcctttgccc acaacccggc ggccggccgc aacagatcgt
2460

tttataaatt tttttttttg aaaaagaaaa agcccgaag gcggcaacct ctccggcttc
2520

tggatttccg atccccggaa ttagagatct tggcaggata tattgtggtg taaccgtctc
2580

aggcatggca gagaccaca gcttgtctgt aagcggatgc cgggagcaga caagcccgtc
2640

agggcgcgctc agcgggtggt ggccgggtgtc ggggctggct taactatgcg gcacagagc
2700

agattgtact gagagtgcac catatgcggt gtgaaatacc gcacagatgc gtaaggagaa
2760

aataccgcat caggcgccat tcgccattca ggctgcgcaa ctgttgggaa gggcgatcgg
2820

tgccggccctc ttccgtatta cgcagctgg cgaaagggg atgtgctgca aggcgattaa
2880

gttgggtaac gccagggttt tcccagtcac gacgttgtaa aacgacggcc agtgaattcg
2940

agctcggtag ccgggggatcc tctagagtcg acctgcaggc atgcaagctt ggcgtaatca
3000

tggatcatagc tggttccctgt gtgaaattgt tatccgctca caattccaca caacatacga
3060

gccggaagca taaagtgtaa agcctggggt gcctaataag tgagctaact cacattaatt
3120

gcgttgcgct cactgcccgc tttccagtcg ggaaacctgt cgtgccagct ggggtctctc
3180

accgtctgag acg
3193

<210> 12
<211> 3523
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Plasmido de destino Golden Braid con casete LacZ 1AB3 y
resistencia a espectinomicina

<400> 12
taacgggtctc ttggcccaact gagacgcaca gcttgtctgt aagcggatgc cgggagcaga
60

ES 2 389 792 A1

caagcccgctc agggcgcgctc agcgggtgtt ggcgggtgtc ggggctggct taactatgcg
 120
 gcatcagagc agattgtact gagagtgcac catatgcggt gtgaaatacc gcacagatgc
 180
 gtaaggagaa aataccgcat caggcgccat tcgccattca ggctgcgcaa ctggtgggaa
 240
 gggcgatcgg tgcgggcctc ttcgctatta cgccagctgg cgaaaggggg atgtgctgca
 300
 aggcgattaa gttgggtaac gccagggttt tcccagtcac gacgttgtaa aacgacggcc
 360
 agtgaattcg agctcggtac ccggggatcc tctagagtcg acctgcaggc atgcaagctt
 420
 ggcgtaatca tggatcatagc tgtttcctgt gtgaaattgt tatccgctca caattccaca
 480
 caacatacga gccggaagca taaagtgtaa agcctggggg gcctaagtga tgagctaact
 540
 cacattaatt gcgttgcgct cactgcccgc tttccagtcg ggaaacctgt cgtgccagct
 600
 gcgtctcacg tcgatgagag acctgacagg atatattggc gggtaaaacta agtcgctgta
 660
 tgtgtttgtt tgagatctca tgtgagcaaa aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa
 720
 ggccgcgttg ctggcggttt tccataggct ccgccccct gacgagcatc aaaaaatcg
 780
 acgtcaagt cagaggtggc gaaaccgac aggactataa agataccagg cgtttccccc
 840
 tggaagctcc ctgctgcgct ctctgttcc gacctgccg cttaccggat acctgtccgc
 900
 ctttctccct tcgggaagcg tggcgctttc tcatagctca cgctgtaggt atctcagttc
 960
 ggtgtaggtc gtctgctcca agctgggctg tgtgcacgaa cccccgttc agcccagccg
 1020
 ctgcgcctta tccggtaact atcgtcttga gtccaaccg gtaagacacg acttatcgcc
 1080
 actggcagca gccactggta acaggattag cagagcgagg tatgtaggcg gtgctacaga
 1140
 gttcttgaag tgggtggccta actacggcta cactagaaga acagtatttg gtatctgcgc
 1200
 tctgctgaag ccagttacct tcggaagaag agttggtagc tcttgatccg gcaaacaaac
 1260
 caccgctggt agcgggtggt tttttgtttg caagcagcag attacgcgca gaaaaaaagg
 1320
 atctcaagaa gatcctttga tcttttctac ggggtctgac gctcagtgga acgaaaactc
 1380

ES 2 389 792 A1

acgttaaggg atttttgtca tgagattatc aaaaaggatc ttcacctaga tcctttttaa
1440

ttaaaaatga agtttttaaat caatctaaag tatatatgtg taacatttggc ctagtgatta
1500

tttgccgact accttggtga tctcgccttt cacgtagtgg acaaattctt ccaactgac
1560

tgcgcgcgag gccaaagcat cttcttcttg tccaagataa gcctgtctag cttcaagtat
1620

gacgggctga tactgggccc gcaggcgctc cattgccag tcggcagcga catccttcgg
1680

cgcgattttg ccggttactg cgctgtacca aatgcgggac aacgtaagca ctacatttcg
1740

ctcatcgcca gccagtcgg gcggcgagtt ccatagcgtt aaggtttcat ttagcgctc
1800

aaatagatcc tggtcaggaa ccgatcaaa gagttcctcc gccgctggac ctaccaaggc
1860

aacgctatgt tctcttgctt ttgtcagcaa gatagccaga tcaatgtcga tcgtggctgg
1920

ctcgaagata cctgcaagaa tgtcattgcg ctgccattct ccaaattgca gttcgcgctt
1980

agctggataa cgccacggaa tgatgtcgtc gtgcacaaca atggtgactt ctacagcgcg
2040

gagaatctcg ctctctccag gggaagccga agtttccaaa aggtcgttga tcaaagctcg
2100

ccgcgttggt tcatcaagcc ttacggtcac cgtaaccagc aaatcaatat cactgtgtgg
2160

cttcaggccc ccatccactg cggagccgta caaatgtacg gccagcaacg tcggttcgag
2220

atggcgctcg atgacgcaa ctaccttga tagttgagtc gatacttcgg cgatcaccgc
2280

ttccctcatg atgtttaact ttgttttagg gcgactgcc tgctgcgtaa catcgttgct
2340

gctccataac atcaaacatc gaccacggc gtaacgcgct tgctgcttgg atgccgagg
2400

catagactgt aaaaaaaaa aacagtcata acaagccatg aaaaccgcca ctgcgccgtt
2460

accaccgctg cgttcggtca aggttctgga ccagttgcgt gagcgcatat gctacttgca
2520

ttacagctta cgaaccgaac aggttatgt ccaactgggtt cgtgccttca tccgtttcca
2580

cggtgtgcgt caccgggcaa ccttgggcag cagcgaagtc gaggcatttc tgtcctggct
2640

gggaacaccc cttgtattac tgtttatgta agcagacagt tttattgttc atgatgat
2700

atttttatct tgtgcaatgt aacatcagag attttgagac acaacgtggc tttgttgaat
 2760
 aaatcgaact tttgctgagt tgaaggatca gatcacgcat cttcccgaca acgcagaccg
 2820
 ttccgtggca aagcaaaagt tcaaaatcac caactgggtcc acctacaaca aagctctcat
 2880
 caaccgtggc tccctcactt tctggctgga tgatggggcg attcaggcga tccccatcca
 2940
 acagcccgcc gtcgagcggg cttttttatc cccggaagcc tgtggataga gggtagttat
 3000
 ccacgtgaaa ccgctaatgc cccgcaaagc cttgattcac ggggctttcc ggcccgtcc
 3060
 aaaaactatc cacgtgaaat cgctaatacag ggtacgtgaa atcgctaatac ggagtacgtg
 3120
 aaatcgctaa taaggtcacg tgaaatcgct aatcaaaaag gcacgtgaga acgctaatac
 3180
 ccttttcaga tcaacagctt gcaaacaccc ctgctccgg caagtagtta cagcaagtag
 3240
 tatgttcaat tagcttttca attatgaata tatatatcaa ttattggtcg cccttggctt
 3300
 gtggacaatg cgctacgcgc accggctccg cccgtggaca accgcaagcg gttgccacc
 3360
 gtcgagcgcc agcgcccttg cccacaaccc ggcgccggc cgcaacagat cgttttataa
 3420
 attttttttt ttgaaaaaga aaaagcccg aaggcgcaa cctctcgggc ttctggattt
 3480
 ccgatccccg gaattagaga tcttggcagg atatattgtg gtg
 3523

<210> 13
 <211> 3528
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Plasmido de destino Golden Braid con casete LacZ 3AB2 y
 resistencia a espectinomicina

<400> 13
 taacggtctc tgatgccact gagacgcaca gcttgtctgt aagcggatgc cgggagcaga
 60
 caagcccgtc agggcgcgtc agcgggtgtt ggcggtgtc ggggctggct taactatgcg
 120
 gcatcagagc agattgtact gagagtgcac catatgcggg gtgaaatacc gcacagatgc
 180
 gtaaggagaa aataccgcat caggcgccat tcgccattca ggctgcgcaa ctgttgggaa
 240

ES 2 389 792 A1

gggcgatcgg tgcgggcctc ttcgctatta cgccagctgg cgaaaggggg atgtgctgca
 300
 aggcgattaa gttgggtaac gccagggttt tcccagtcac gacgttgtaa aacgacggcc
 360
 agtgaattgg agcttggtac ccgtggatct tctagtgtcg atctgcacgc atgtaagctg
 420
 ggcgtaatca tggtcatagc tgtttcctgt gtgaaattgt tatccgctca caattccaca
 480
 caacatacga gccggaagca taaagtgtaa agcctggggg gcctaagag tgagctaact
 540
 cacattaatt gcgttgogct cactgcccgc tttccagtcg ggaaacctgt cgtgccagct
 600
 gcagctgogt ctacgctccg acagagacct gacaggatat attggcgggt aaactaagtc
 660
 gctgtatgtg tttgtttgag atctcatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg
 720
 taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc cccctgacg agcatcacia
 780
 aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcggt
 840
 tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc ctgccgctta ccggatacct
 900
 gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct gtaggtatct
 960
 cagttcgggt taggtcggtc gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc
 1020
 cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tottgagtcc aaccggtaa gacacgactt
 1080
 atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc
 1140
 tacagagttc ttgaagtggg ggcctaacta cggctacact agaagaacag tatttggtat
 1200
 ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aagaagagtt ggtagctctt gatccggcaa
 1260
 acaaaccacc gctggtagcg gtgggttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgagaaa
 1320
 aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg tctgacgctc agtggaacga
 1380
 aaactcacgt taagggattt tggtcatgag attatcaaaa aggatcttca cctagatcct
 1440
 tttaaattaa aaatgaagtt ttaaataaat ctaaagtata tatgtgtaac attgggtctag
 1500
 tgattatttg ccgactacct tggatgatct gcctttcacg tagtggacaa attcttccaa
 1560

ES 2 389 792 A1

ctgatctgcg cgcgaggcca agcgatcttc ttcttgtcca agataagcct gtctagcttc
 1620
 aagtatgacg ggctgatact gggccggcag gcgctccatt gcccagtcgg cagcgacatc
 1680
 cttcggcgcg attttgccgg ttactgcgct gtaccaaagtg cgggacaacg taagcactac
 1740
 atttcgctca tcgccagccc agtcggggcg cgagttccat agcgttaagg ttctatttag
 1800
 cgcctcaaag agatcctggt caggaaccgg atcaaagagt tcctccgccc ctggacctac
 1860
 caaggcaacg ctatgtttctc ttgcttttgt cagcaagata gccagatcaa tgtcgatcgt
 1920
 ggctggctcg aagataacctg caagaatgtc attgcgctgc cattctccaa attgcagttc
 1980
 gcgcttagct ggataacgcc acggaatgat gtcgtcgtgc acaacaatgg tgacttctac
 2040
 agcgcggaga atctcgctct ctccagggga agccgaagtt tccaaaaggt cggtgatcaa
 2100
 agctcgccgc gttgtttcat caagccttac ggtcacccga accagcaaag caatatcact
 2160
 gtgtggcttc aggcggccat ccactgcgga gccgtacaaa tgtacggcca gcaacgctcg
 2220
 ttcgagatgg cgctcgatga cgccaactac ctctgatagt tgagtcgata cttcggcgat
 2280
 caccgcttcc ctcatgatgt ttaactttgt tttagggcga ctgccctgct gcgtaacatc
 2340
 gttgctgctc cataacatca aacatcgacc cacggcgtaa cgcgcttgct gcttggatgc
 2400
 ccgaggcata gactgtaccc caaaaaaaca gtcataacaa gccatgaaaa ccgccactgc
 2460
 gccgttacca ccgctgcgtt cgggtcaagg tctggaccag ttgcgtgagc gcatacgcta
 2520
 cttgcattac agcttacgaa ccgaacaggc ttatgtccac tgggttcgtg ccttcacccg
 2580
 tttccacggt gtgcgtcacc cggcaacctt gggcagcagc gaagtcgagg catttctgtc
 2640
 ctggctggaa cacccttgt attactgttt atgtaagcag acagttttat tgttcatgat
 2700
 gatataatct tatcttgtgc aatgtaacat cagagatctt gagacacaac gtggctttgt
 2760
 tgaataaatc gaacttttgc tgagttgaag gatcagatca cgcattcttc cgacaacgca
 2820
 gaccgttccg tggcaaagca aaagttcaaa atcaccaact ggtccaccta caacaaagct
 2880

ES 2 389 792 A1

ctcatcaacc gtggctccct cactttctgg ctggatgatg gggcgattca ggcgatcccc
2940

atccaacagc ccgccgtcga gcgggctttt ttatccccgg aagcctgtgg atagagggta
3000

gttatccacg tgaaaccgct aatgccccgc aaagccttga ttcacggggc tttccggccc
3060

gctccaaaaa ctatccacgt gaaatcgcta atcagggtac gtgaaatcgc taatcggagt
3120

acgtgaaatc gctaataagg tcacgtgaaa tcgctaataa aaaaggcacg tgagaacgct
3180

aatagccctt tcagatcaac agcttgcaaa caccctcgc tccggcaagt agttacagca
3240

agtagtatgt tcaattagct tttcaattat gaatatatat atcaattatt ggtcgccctt
3300

ggcttgtgga caatgcgcta cgcgccaccg ctccgcccggt ggacaaccgc aagcggttgc
3360

ccaccgtcga gcgccagcgc ctttgcccac aaccggcgg cgggccgcaa cagatcgttt
3420

tataaatttt tttttttgaa aaagaaaaag cccgaaaggc ggcaacctct cgggcttctg
3480

gatttccgat ccccggaatt agagatcttg gcaggatata ttgtggtg
3528

<210> 14
<211> 1049
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Precursor pieza Promotor 35S del CAMV

<400> 14
ggtctcatgg cactagagcc aagctgatct cctttgcccc ggagatcacc atggacgact
60

ttctctatct ctacgatcta ggaagaaagt tcgacggaga aggtgacgat accatgttca
120

ccaccgataa tgagaagatt agcctcttca atttcagaaa gaatgctgac ccacagatgg
180

ttagagaggc ctacgoggca ggtctgatca agacgatcta cccgagtaat aatctccagg
240

agatcaaata ccttcccaag aagggttaaag atgcagtcaa aagattcagg actaactgca
300

tcaagaacac agagaaagat atattttctca agatcagaag tactattcca gtatggacga
360

ttcaaggctt gcttcataaa ccaaggcaag taatagagat tggagtctct aagaaagtag
420

ttcctactga atcaaaggcc atggagtcaa aaattcagat cgaggatcta acagaactcg
480

ccgtgaagac tggcgaacag ttcatacaga gtcttttacg actcaatgac aagaagaaaa
540

tcttcgtcaa catggtggag cactgacctc tcgtctactc caagaatatc aaagatacag
600

tctcagaaga ccaaagggct attgagactt ttcaacaaag ggtaatatcg ggaaacctcc
660

tcggattcca ttgcccagct atctgtcact tcatcaaaag gacagtagaa aaggaagggtg
720

gcacctacaa atgccatcat tgcgataaag gaaaggctat cgttcaagat gcctctgccg
780

acagtgggtcc caaagatgga cccccacca cgaggagcat cgtggaaaaa gaagacgttc
840

caaccacgtc ttcaaagcaa gtggattgat gtgatattct cactgacgta agggatgacg
900

cacaatccca ctatccttcg caagaccctt cctctatata aggaagttca tttcatttgg
960

agaggactcc ggtattttta caacaatacc acaacaaaac aaacaacaaa caacattaca
1020

atttactatt ctagtcgaga tgtgagacc
1049

<210> 15

<211> 514

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Precursor pieza Terminador de la Nopalina Sintasa

<400> 15

ggtctcatga gggaatggat cttcgatccc gatcgttcaa acatttggca ataaagtttc
60

ttaagattga atcctgttgc cggctcttgcg atgattatca tataatttct gttgaattac
120

gttaagcatg taataattaa catgtaatgc atgacgttat ttatgagatg gggtttttatg
180

attagagtcc cgcaattata catttaatac gcgatagaaa acaaaatata gcgcgcaaac
240

taggataaat tatcgcgcdc ggtgtcatct atgttactag atcggaatt gccaaagctaa
300

ttcttgaaga cgaaagggcc tcgtgatacg cctattttta taggttaatg tcatgataat
360

aatggtttct tagacgtcag gtggcacttt tcggggaaat gtgcgcggaa cccctatttg
420

tttatttttc taaatacatt caaatatgta tccgctcatg agacaataac cctgataaat
480

gcttcaataa tgggaccgac tcggccatga gacc

514

<210> 16
<211> 748
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Precursor pieza CDS de la yellow fluorescent protein

<400> 16
ggctctcagat ggtgagcaag ggcgaggagc tgttcaccgg ggtggtgccc atcctgggtcg
60

agctggacgg cgacgtaaag ggccacaagt tcagcgtgtc cggcgagggc gagggcgatg
120

ccacctacgg caagctgacc ctgaagttca tctgcaccac cggcaagctg cccgtgccct
180

ggcccaccct cgtgaccacc ttgggtacg gcctgaagtg cttcgcccg caccgacc
240

acatgaagca gcacgacttc ttcaagtccg ccatgccga aggctacgtc caggagcgca
300

ccatcttctt caaggacgac ggcaactaca agaccgccc cggagtgaag ttcgagggcg
360

acaccctggt gaaccgcatc gagctgaagg gcatcgactt caaggaggac ggcaacatcc
420

tggggcacia gctggagtac aactacaaca gccacaacgt ctatatcatg gccgacaagc
480

agaagaacgg catcaagggtg aacttcaaga tccgccacia catcgaggac ggcagcgtgc
540

agctcgccga ccaactaccag cagaacaccc ccatcgccga cggccccgtg ctgctgcccg
600

acaaccacta cctgagctac cagtccgcc tgagcaaaga cccaacgag aagcgcgac
660

acatggctct gctggagtgc gtgaccgcc cggggtcac tctcgcatg gacgagctct
720

acaagtcagt catgagctga gtgagacc
748

<210> 17
<211> 694
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Precursor pieza CDS de la Discosoma sp. Red Fluorescent Protein

<400> 17
ggctctcagat ggctctctcc gagaacgtca tcaccgagtt catgcgcttc aagggtgcgca
60

tggagggcac cgtgaacggc cagagttcg agatcgaggg cgagggcgag ggccgcccct

ES 2 389 792 A1

120

acgagggcca caacaccgtg aagctgaagg tgaccaaggg cggccccctg cccttcgect
180

gggacatcct gtccccccag ttccagtacg gctccaaggt gtacgtgaag cccccgccc
240

acatccccga ctacaagaag ctgtccttcc ccgagggcct caagtgggag cgcgtgatga
300

acttcgagga cggcggcgtg gcgaccgtga ccaggactc ctccctgcag gacggctgct
360

tcattctaaa ggtgaagttc atcggcgtga acttcccctc cgacggcccc gtgatgcaga
420

agaagacgat gggctgggag gcctccaccg agcgcctgta cccccgcgac ggcgtgctga
480

agggcgagac acacaaggcc ctgaagctga aggacggcgg ccactacctg gtggagtcca
540

agtccatcta catggccaag aagcccgtgc agctgcccg ctactactac gtggacgcca
600

agctggacat cacctcccac aacgaggact acaccatcgt ggagcagtag gagcgcaccg
660

agggccgcca ccacctgttc ctgtgagtga gacc
694

<210> 18

<211> 718

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Precursor pieza CDS de la Blue Fluorescent Protein

<400> 18

ggtctcagat gagcgagctg attaaggaga acatgcacat gaagctgtac atggagggga
60

ccgtggacaa ccatcacttc aagtgcacat ccgagggcga aggcaagccc tacgagggga
120

cccagaccat gagaatcaag gtggtcgagg gcggccctct ccccttcgcc ttgcacatcc
180

tggctactag ctctctctac ggcagcaaga ccttcatcaa ccacaccag ggcacccccg
240

acttcttcaa gcagtccttc cctgagggct tcacatggga gagagtcacc acatacgaag
300

acggggggcgt gctgaccgct acccaggaca ccagcctcca ggacggctgc ctcatctaca
360

acgtcaagat cagaggggtg aacttcacat ccaacggccc tgtgatgcag aagaaaacac
420

tcggctggga ggccttcacc gaaacgctgt accccgctga cggcggcctg gaaggcagaa
480

ES 2 389 792 A1

acgacatggc cctgaagctc gtgggcggga gccatctgat cgcaaacatc aagaccacat
540

atagatccaa gaaacccgct aagaacctca agatgcctgg cgtctactat gtggactaca
600

gactggaaag aatcaaggag gccaacaacg aaacctacgt cgagcagcac gaggtggcag
660

tggccagata ctgcgacctc cctagcaaac tggggcacaa gcttaattga gtgagacc
718

<210> 19

<211> 535

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Precursor pieza CDS del supresor de silenciamiento p19 del
TBSV

<400> 19

ggtctcagat ggaacgagct atacaaggaa acgacgctag ggaacaagct aacagtgaac
60

gttgggatgg aggatcagga ggtaccactt ctcccttcaa acttcctgac gaaagtccga
120

gttggactga gtggcggcta cataacgatg agactaattc gaatcaagat aatccccttg
180

gtttcaagga aagctgggggt ttcgggaaag ttgtatttaa gagatatctc agatacgaca
240

ggacggaagc ttcactgcac agagtccttg gatcttggac gggagattcg gttaactatg
300

cagcatctcg atttttcgggt ttcgaccaga tcggatgtac ctatagtatt cggtttcgag
360

gagttagtat caccgtttct ggaggctctc gaactcttca gcatctctgt gagatggcaa
420

ttcgggtctaa gcaagaactg ctacagcttg cccaatcga agtggaaagt aatgtatcaa
480

gaggatgccc tgaagggtact gaaaccttcg aaaaagaaaag cgagtgagtg agacc
535

<210> 20

<211> 4857

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Vector de expresion de YFP bajo el promotor 35s

<400> 20

tggcactaga gccaaagtga tctcctttgc cccggagatc accatggacg actttctcta
60

tctctacgat ctaggaagaa agttcgacgg agaaggtgac gataccatgt tcaccaccga
120

ES 2 389 792 A1

taatgagaag attagcctct tcaatttcag aaagaatgct gaccacaga tggtagaga
 180
 ggcctacgcg gcaggtctga tcaagacgat ctacccgagt aataatctcc aggagatcaa
 240
 ataccttccc aagaaggtta aagatgcagt caaaagattc aggactaact gcatcaagaa
 300
 cacagagaaa gatataatttc tcaagatcag aagtactatt ccagtatgga cgattcaagg
 360
 cttgcttcat aaaccaaggc aagtaataga gattggagtc tctaagaaag tagttcctac
 420
 tgaatcaaag gccatggagt caaaaattca gatcgaggat ctaacagaac tcgccgtgaa
 480
 gactggcgaa cagttcatac agagtctttt acgactcaat gacaagaaga aaatcttcgt
 540
 caacatgggtg gagcacgaca ctctcgtcta ctccaagaat atcaaagata cagtctcaga
 600
 agaccaaagg gctattgaga cttttcaaca aagggttaata tcgggaaacc tcctcggatt
 660
 ccattgcccga gctatctgtc acttcatcaa aaggacagta gaaaaggaag gtggcaccta
 720
 caaatgccat cattgcgata aaggaaaggc tatcgttcaa gatgcctctg ccgacagtgg
 780
 tcccaaagat ggacccccac ccacgaggag catcgtggaa aaagaagacg ttccaaccac
 840
 gtcttcaaag caagtggatt gatgtgatat ctccactgac gtaagggatg acgcacaatc
 900
 ccactatcct tcgcaagacc cttcctctat ataaggaagt tcatttcatt tggagaggac
 960
 tccggtattt ttacaacaat accacaacaa aacaaacaac aaacaacatt acaatttact
 1020
 attctagtcg agatggtgag caagggcgag gagctgttca ccggggtggt gccatcctg
 1080
 gtcgagctgg acggcgacgt aaacggccac aagttcagcg tgtccggcga gggcgagggc
 1140
 gatgccacct acggcaagct gaccctgaag ttcatctgca ccaccggcaa gctgcccgctg
 1200
 ccctggcccga ccctcgtgac caccttcggc tacggcctga agtgcttcgc ccgctacccc
 1260
 gaccacatga agcagcacga cttcttcaag tccgccatgc ccgaaggcta cgtccaggag
 1320
 cgcaccatct tcttcaagga cgacggcaac tacaagacc gcgccgaggt gaagttcgag
 1380
 ggcgacaccc tggatgaacc catcgagctg aagggcacgc acttcaagga ggacggcaac
 1440

ES 2 389 792 A1

atcctggggc acaagctgga gtacaactac aacagccaca acgtctatat catggccgac
 1500
 aagcagaaga acggcatcaa ggtgaacttc aagatccgcc acaacatcga ggacggcagc
 1560
 gtgcagctcg ccgaccacta ccagcagaac acccccatcg gcgacggccc cgtgctgctg
 1620
 cccgacaacc actacctgag ctaccagtcc gccctgagca aagaccccaa cgagaagcgc
 1680
 gatcacatgg tcttctgga gttcgtgacc gccgccggga tcaactctcg catggacgag
 1740
 ctctacaagt cagtcatgag ctgagggaaat ggatcttcga tcccgatcgt tcaaacattt
 1800
 ggcaataaag tttcttaaga ttgaatcctg ttgccggtct tgcgatgatt atcatataat
 1860
 ttctgttgaa ttacgttaag catgtaataa ttaacatgta atgcatgacg ttatttatga
 1920
 gatgggtttt tatgattaga gtcccgcaat tatacattta atacgcgata gaaaacaaaa
 1980
 tatagcgcgc aaactaggat aaattatcgc gdcgggtgtc atctatgtta ctagatcggg
 2040
 aattgccaaag ctaattcttg aagacgaaag ggccctcgtga tacgcctatt tttataggtt
 2100
 aatgtcatga taataatggg ttcttagacg tcaggtggca cttttcgggg aaatgtgcgc
 2160
 ggaacccta tttgtttatt tttctaaata cattcaaata tgtatccgct catgagacaa
 2220
 taaccctgat aaatgcttca ataatgggac cgactcgcga cggcatgaga cgtgacagga
 2280
 tatattggcg ggtaaaactaa gtcgctgtat gtgtttgttt gagatctcat gtgagcaaaa
 2340
 ggccagcaaa aggccaggaa ccgtaaaaag gccgcgttgc tggcgttttt ccataggctc
 2400
 cgccccctg acgagcatca caaaaatcga cgctcaagtc agaggtggcg aaacccgaca
 2460
 ggactataaa gataccaggc gtttccccct ggaagctccc tcgtgcgctc tctgttccg
 2520
 accctgccgc ttaccggata cctgtccgcc tttctccctt cgggaagcgt ggcgctttct
 2580
 catagctcac gctgtaggta tctcagttcg gtgtaggtcg ttcgctccaa gctgggctgt
 2640
 gtgcacgaac cccccgttca gcccgaccgc tgcgccttat ccgtaacta tcgtcttgag
 2700
 tccaacccgg taagacacga cttatcgcca ctggcagcag cactggtaa caggattagc
 2760

ES 2 389 792 A1

agagcgcggt atgtaggcgg tgctacagag ttcttgaagt ggtggcctaa ctacggctac
 2820
 actagaagaa cagtatttgg tatctgcgct ctgctgaagc cagttacctt cggaagaaga
 2880
 gttggtagct cttgatccgg caaacaacc accgctggta gcggtggttt ttttgtttgc
 2940
 aagcagcaga ttacgcgcag aaaaaaagga tctcaagaag atcctttgat cttttctacg
 3000
 gggctctgacg ctcaagtggaa cgaaaactca cgttaaggga ttttggtcat gagattatca
 3060
 aaaaggatct tcacctagat ccttttaaat taaaaatgaa gttttaaatc aatctaaagt
 3120
 atatattgtt aacattgggt tagtgattag aaaaactcat cgagcatcaa atgaaactgc
 3180
 aatttattca tatcaggatt atcaatacca tttttttgaa aaagccgttt ctgtaatgaa
 3240
 ggagaaaact caccgaggca gttccatagg atggcaagat cctggtatcg gtctgcgatt
 3300
 ccgactcgtc caacatcaat acaacctatt aatttcccct cgtcaaaaat aaggttatca
 3360
 agtgagaaat caccatgagt gacgactgaa tccggtgaga atggcaaaag tttatgcatt
 3420
 tctttccaga cttgttcaac aggccagcca ttacgctcgt catcaaaatc actcgcacatca
 3480
 accaaaccgt tattcattcg tgattgcgcc tgagcgcgagc gaaatacgcg atcgcgtgta
 3540
 aaaggacaat taaaaacagg aatcgaatgc aaccggcgca ggaacactgc cagcgcacatca
 3600
 acaatatttt cacctgaatc aggatattct tctaatacct ggaatgctgt tttccctggg
 3660
 atcgcagtgg tgagtaacca tgcacatca ggagtacgga taaaatgctt gatggtcgga
 3720
 agaggcataa attccgctcag ccagtttagt ctgaccatct catctgtaac aacattggca
 3780
 acgctacctt tgccatgttt cagaaacaac tctggcgcat cgggcttccc atacaatcgg
 3840
 tagattgtcg cacctgattg cccgacatta tcgcgagccc atttataccc atataaatca
 3900
 gcatccatgt tggaatttaa tcgcggcctt gagcaagacg tttcccggtg aatatggctc
 3960
 ataacacccc ttgtattact gtttatgtaa gcagacagtt ttattgttca tgatgatata
 4020
 tttttatctt gtgcaatgta acatcagaga ttttgagaca caacgtggct ttgttgaata
 4080

aatcgaactt ttgctgagtt gaaggatcag atcacgcac ttcccgacaa cgcagaccgt
4140

tccgtggcaa agcaaaagtt caaaatcacc aactgggtcca cctacaacaa agctctcatc
4200

aaccgtggct ccctcacttt ctggctggat gatggggcga ttcaggcgat ccccatccaa
4260

cagcccgccg tcgagcgggc ttttttatcc ccggaagcct gtggatagag ggtagttatc
4320

cacgtgaaac cgctaatacc ccgcaaagcc ttgattcacg gggctttccg gcccgctcca
4380

aaaactatcc acgtgaaatc gctaatacagg gtacgtgaaa tcgctaatac gagtacgtga
4440

aatcgctaata aggtcacgt gaaatcgcta atcaaaaagg cacgtgagaa cgctaatagc
4500

cctttcagat caacagcttg caaacacccc tcgctccggc aagtagttac agcaagtagt
4560

atgttcaatt agcttttcaa ttatgaatat atatatcaat tattggtcgc ccttggcttg
4620

tggacaatgc gctacgcgca ccggctccgc ccgtggacaa ccgcaagcgg ttgcccaccg
4680

tcgagcgcca gcgcctttgc ccacaacccg gcggccggcc gcaacagatc gttttataaa
4740

tttttttttt tgaaaaagaa aaagcccgaa agggcggaac ctctcgggct totggatttc
4800

cgatccccgg aattagagat cttggcagga tatattgtgg tgtaaccgtc tcaccac
4857

<210> 21
<211> 4644
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Vector de expresion de p19 bajo el promotor 35s

<400> 21
gatggaacga gctatacaag gaaacgacgc tagggaacaa gctaacagtg aacgttggga
60

tggaggatca ggaggtacca cttctccctt caaacttcct gacgaaagtc cgagttggac
120

tgagtggcgg ctacataacg atgagactaa ttogaatcaa gataatcccc ttggtttcaa
180

ggaaagctgg ggtttcggga aagttgtatt taagagatat ctgagatagc acaggacgga
240

agcttcactg cacagagtc ttggatcttg gacgggagat tcggttaact atgcagcatc
300

tcgatttttc ggtttcgacc agatcggatg tacctatagt attcggtttc gaggagttag
360

tatcacggtt tctggaggct ctggaactct tcagcatctc tgtgagatgg caattcggtc
420

taagcaagaa ctgctacagc ttgccccaat cgaagtggaa agtaatgtat caagaggatg
480

ccctgaaggt actgaaacct tcgaaaaaga aagcgagtga gggaatggat cttcgatccc
540

gatcggtcaa acatttggca ataaagtctt ttaagattga atcctgttgc cggctcttgcg
600

atgattatca tataatttct gttgaattac gttaagcatg taataattaa catgtaatgc
660

atgacgttat ttatgagatg ggtttttatg attagagtcc cgcaattata catttaatac
720

gcgatagaaa acaaaatata gcgcgcaaac taggataaat tatcgcgcgc ggtgtcatct
780

atgttactag atcgggaatt gccaaagctaa ttcttgaaga cgaaagggcc tcgtgatacg
840

cctattttta taggttaatg tcatgataat aatgggttct tagacgtcag gtggcacttt
900

tcggggaaat gtgcgcggaa cccctatttg tttatttttc taaatacatt caaatatgta
960

tccgctcatg agacaataac cctgataaat gcttcaataa tgggaccgac tcgcgaccgt
1020

ctgagacgtg acaggatata ttggcgggta aactaagtcg ctgtatgtgt ttgtttgaga
1080

tctcatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg cgttgctggc
1140

gtttttccat aggctccgcc cccctgacga gcatcacaaa aatcgacgct caagtcagag
1200

gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcggtt cccctggaa gctccctcgt
1260

gcgctctcct gttccgaccc tgccgcttac cggataacctg tccgcctttc tcccttcggg
1320

aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg taggtatctc agttcgggtg aggtcggtcg
1380

ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc cgttcagccc gaccgctgcg ccttatccgg
1440

taactatcgt cttgagtcca acccggttaag acacgactta tcgccactgg cagcagccac
1500

tggtaacagg attagcagag cgaggtatgt aggcggtgct acagagttct tgaagtgggt
1560

gcctaactac ggctacacta gaagaacagt atttgggtatc tgcgctctgc tgaagccagt
1620

taccttcgga agaagagttg gtagctcttg atccggcaaa caaaccaccg ctggtagcgg
1680

tgggtttttt gtttgcaagc agcagattac ggcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc
 1740
 tttgatcttt tctacggggt ctgacgctca gtggaacgaa aactcacggt aagggatttt
 1800
 ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac ctagatcctt ttaaattaaa aatgaagttt
 1860
 taaatcaatc taaagtatat atgtgtaaca ttgggtctagt gattagaaaa actcatcgag
 1920
 catcaaatga aactgcaatt tattcatatc aggattatca ataccatatt tttgaaaaag
 1980
 ccgtttctgt aatgaaggag aaaactcacc gaggcagttc cataggatgg caagatcctg
 2040
 gtatcgggtc gcgattccga ctctccaac atcaatacaa cctattaatt tcccctcgtc
 2100
 aaaaataagg ttatcaagtg agaaatcacc atgagtgacg actgaatccg gtgagaatgg
 2160
 caaaagttta tgcatttctt tccagacttg ttcaacaggc cagccattac gctcgtcatc
 2220
 aaaatcactc gcatcaacca aaccgttatt cattcgtgat tgcgcctgag cgagtcgaaa
 2280
 tacgcatcg ctgttaaaag gacaattaca aacaggaatc gaatgcaacc ggcgcaggaa
 2340
 cactgccagc gcatcaacaa tattttcacc tgaatcagga tattcttcta atacctggaa
 2400
 tgctgttttc cctgggatcg cagtggtag taaccatgca tcatcaggag tacggataaa
 2460
 atgcttgatg gtccgaagag gcataaattc cgtcagccag ttagtctga ccatctcatc
 2520
 tgtaacaaca ttggcaacgc tacctttgcc atgtttcaga aacaactctg ggcgatcggg
 2580
 cttcccatc aatcggtaga ttgtcgacc tgattgccc acattatcgc gagccattt
 2640
 ataccatat aaatcagcat ccatgttga atttaatcg gcccttgagc aagacgtttc
 2700
 ccgttgaata tggctcataa cacccttgt attactgtt atgtaagcag acagttttat
 2760
 tgttcatgat gatataat tttctgtgc aatgtaacat cagagatttt gagacacaac
 2820
 gtggctttgt tgaataaatc gaacttttgc tgagttgaag gatcagatca cgcattctcc
 2880
 cgacaacgca gaccgttccg tggcaaagca aaagttcaaa atcaccaact ggtccaccta
 2940
 caacaaagct ctcatcaacc gtggctccct cactttctgg ctggatgatg gggcgattca
 3000

ES 2 389 792 A1

ggcatcccc atccaacagc ccgccgtcga gggggctttt ttatccccgg aagcctgtgg
 3060
 atagagggtta gttatccacg tgaaaccgct aatgccccgc aaagccttga ttcacggggc
 3120
 tttccggccc gctccaaaaa ctatccacgt gaaatcgcta atcagggtac gtgaaatcgc
 3180
 taatcggagt acgtgaaatc gctaataagg tcacgtgaaa tcgctaataa aaaaggcacg
 3240
 tgagaacgct aatagccctt tcagatcaac agcttgcaaa caccctcgc tccggcaagt
 3300
 agttacagca agtagtatgt tcaattagct tttcaattat gaatatatat atcaattatt
 3360
 ggtcgccctt ggcttgtgga caatgcgcta cgcgcaccgg ctccgcccgt ggacaaccgc
 3420
 aagcgggttc ccaccgtcga ggcgcagcgc ctttgccac aaccggcgg ccggccgcaa
 3480
 cagatcgttt tataaatttt tttttttgaa aaagaaaaag cccgaaaggc ggcaacctct
 3540
 cgggcttctg gatttccgat ccccggaatt agagatcttg gcaggatata ttgtggtgta
 3600
 accgtctcag gcatggcact agagccaagc tgatctcctt tgccccggag atcaccatgg
 3660
 acgactttct ctatctctac gatctaggaa gaaagttcga cggagaaggc gacgatacca
 3720
 tgttcaccac cgataatgag aagattagcc tcttcaattt cagaaagaat gctgaccac
 3780
 agatggttag agaggcctac ggcgcaggtc tgatcaagac gatctaccg agtaataatc
 3840
 tccaggagat caaatacctt cccaagaagg ttaaagatgc agtcaaaaga ttcaggacta
 3900
 actgcatcaa gaacacagag aaagatatat ttctcaagat cagaagtact attocagtat
 3960
 ggacgattca aggcttgctt cataaaccaa ggcaagtaat agagattgga gtctctaaga
 4020
 aagtagttcc tactgaatca aaggccatgg agtcaaaaat tcagatcgag gatctaacag
 4080
 aactcgccgt gaagactggc gaacagttca tacagagtct tttacgactc aatgacaaga
 4140
 agaaaatctt cgtcaacatg gtggagcacg acactctcgt ctactccaag aatatcaaag
 4200
 atacagtctc agaagaccaa agggctattg agacttttca acaaagggtta atatcgggaa
 4260
 acctcctcgg attccattgc ccagctatct gtcacttcat caaaaggaca gtagaaaagg
 4320

ES 2 389 792 A1

aaggtggcac ctacaaatgc catcattgcg ataaaggaaa ggctatcggt caagatgcct
4380

ctgccgacag tgggtccaaa gatggacccc caccacgag gagcatcggt gaaaaagaag
4440

acgttccaac cacgtcttca aagcaagtgg attgatgtga tatctccact gacgtaaggg
4500

atgacgcaca atcccactat ccttcgcaag acccttcctc tatataagga agttcatttc
4560

atttgagag gactccggt tttttacaac aataccacaa caaaacaaac aacaaacaac
4620

attacaattt actattctag tcga
4644

<210> 22

<211> 4827

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Vector de expresion de BFP bajo el promotor 35s

<400> 22

tggcactaga gccaaagtga tctcctttgc cccggagatc accatggacg actttctcta
60

tctctacgat ctaggaagaa agttcgacgg agaaggtgac gataccatgt tcaccaccga
120

taatgagaag attagcctct tcaatttcag aaagaatgct gaccacaga tggtagaga
180

ggcctacgag gcaggtctga tcaagacgat ctaccgagt aataatctcc aggagatcaa
240

ataccttccc aagaaggtaa aagatgcagt caaaagattc aggactaact gcatcaagaa
300

cacagagaaa gatataattc tcaagatcag aagtactatt ccagtatgga cgattcaagg
360

cttgcttcat aaaccaaggc aagtaataga gattggagtc tctaagaaag tagttcctac
420

tgaatcaaag gccatggagt caaaaattca gatcgaggat ctaacagaa tcgccgtgaa
480

gactggcgaa cagttcatat agagtctttt acgactcaat gacaagaaga aaatcttcgt
540

caacatggtg gagcacgaca ctctcgtcta ctccaagaat atcaaagata cagtctcaga
600

agaccaaagg gctattgaga cttttcaaca aagggttaata tcgggaaacc tcctcgatt
660

ccattgcca gctatctgtc acttcatcaa aaggacagta gaaaaggaag gtggcaccta
720

caaatgccat cattgcgata aaggaaaggc tatcgttcaa gatgcctctg ccgacagtgg

ES 2 389 792 A1

780

tcccaaagat ggacccccac ccacgaggag catcgtggaa aaagaagacg ttccaaccac
840

gtcttcaaag caagtggatt gatgtgatat ctccactgac gtaagggatg acgcacaatc
900

ccactatcct tcgcaagacc cttcctctat ataaggaagt tcatttcatt tggagaggac
960

tccggtatatt ttacaacaat accacaacaa aacaaacaac aaacaacatt acaatttact
1020

attctagtcg agatgagcga gctgattaag gagaacatgc acatgaagct gtacatggag
1080

ggcaccgtgg acaaccatca cttcaagtgc acatccgagg gcgaaggcaa gccctacgag
1140

ggcaccacga ccatgagaat caaggtggtc gagggcgcc ctctccctt cgccttcgac
1200

atcctggcta ctagcttctt ctacggcagc aagaccttca tcaaccacac ccagggcatc
1260

cccgaacttct tcaagcagtc cttccctgag ggcttcacat gggagagagt caccacatac
1320

gaagacgggg gcgtgctgac cgctaccag gacaccagcc tccaggacgg ctgcctcatc
1380

tacaacgtca agatcagagg ggtgaacttc acatccaacg gccctgtgat gcagaagaaa
1440

acactcggct gggaggcctt caccgaaacg ctgtaccccg ctgacggcgg cctggaaggc
1500

agaaaacgaca tggccctgaa gctcgtgggc gggagccatc tgatcgcaaa catcaagacc
1560

acatatagat ccaagaaacc cgctaagaac ctcaagatgc ctggcgtcta ctatgtggac
1620

tacagactgg aaagaatcaa ggaggccaac aacgagacct acgtcgagca gcacgaggtg
1680

gcagtggcca gatactgcga cctccctagc aaactggggc acaagcttaa ttgaggaat
1740

ggatcttcga tcccgatcgt tcaaacattt ggcaataaag tttottaaga ttgaatcctg
1800

ttgccggctt tgcatgatt atcatataat ttctgttgaa ttacgttaag catgtaataa
1860

ttaacatgta atgcatgacg ttatttatga gatgggtttt tatgattaga gtcccgaat
1920

tatacattta atacgcgata gaaaacaaaa tatagcgcgc aaactaggat aaattatcgc
1980

gcdcggtgtc atctatgtta ctagatcggg aattgccaaag ctaattcttg aagacgaaag
2040

ggcctcgtga tacgcctatt tttataggtt aatgtcatga taataatggt ttcttagacg

2100

tcagggtggca cttttcgggg aaatgtgccc ggaaccacct tttgtttatt tttctaaata
2160

cattcaaata tgtatccgct catgagacaa taaccctgat aaatgcttca ataatgggac
2220

cgactcgcga cggcatgaga cgtgacagga tatattggcg ggtaaaactaa gtcgctgtat
2280

gtgtttgttt gagatctcat gtgagcaaaa ggccagcaaa aggccaggaa ccgtaaaaag
2340

gccgcgttgc tggcgttttt ccataggctc cgccccctg acgagcatca caaaaatcga
2400

cgctcaagtc agaggtggcg aaacccgaca ggactataaa gataccaggc gtttccccct
2460

ggaagctccc tcgtgcgctc tcctgttccg accctgccgc ttaccggata cctgtccgcc
2520

tttctccctt cgggaagcgt ggcgctttct catagctcac gctgtaggta tctcagttcg
2580

gtgtaggtcg ttcgctccaa gctgggctgt gtgcacgaac cccccgttca gcccgaccgc
2640

tgcgccttat ccggtaaacta tcgtcttgag tccaaccgg taagacacga cttatcgcca
2700

ctggcagcag ccaactggtaa caggattagc agagcgaggt atgtaggcgg tgctacagag
2760

ttcttgaagt ggtggcctaa ctacggctac actagaagaa cagtatttgg tatctgcgct
2820

ctgctgaagc cagttacctt cggaagaaga gttggtagct cttgatccgg caaacaacc
2880

accgctggta gcggtgggtt ttttgtttgc aagcagcaga ttacgcgcag aaaaaagga
2940

tctcaagaag atcctttgat cttttctacg gggctctgacg ctgagtgga cgaaaactca
3000

cgtaagggga ttttggcat gagattatca aaaaggatct tcacctagat ctttttaaat
3060

taaaaatgaa gttttaaatc aatctaaagt atatatgtgt aacattggtc tagtgattag
3120

aaaaactcat cgagcatcaa atgaaactgc aatttattca tatcaggatt atcaatacca
3180

tatttttgaa aaagccgttt ctgtaatgaa ggagaaaact caccgaggca gttccatagg
3240

atggcaagat cctggtatcg gtctgcgatt ccgactcgtc caacatcaat acaacctatt
3300

aatttccctt cgtcaaaaat aaggttatca agtgagaaat caccatgagt gacgactgaa
3360

tccggtgaga atggcaaaaag tttatgcatt tctttccaga cttgttcaac aggccagcca

3420

ttacgctcgt catcaaaatc actcgcatca accaaaccgt tattcattcg tgattgcgcc
3480

tgagcgagtc gaaatacgcg atcgctgtta aaaggacaat taaaaacagg aatcgaatgc
3540

aaccggcgca ggaacactgc cagcgcatca acaatatttt cacctgaatc aggatattct
3600

tctaatacct ggaatgctgt tttccctggg atcgcagtgg tgagtaacca tgcacatca
3660

ggagtacgga taaaatgctt gatggtcgga agaggcataa attccgtcag ccagtttagt
3720

ctgaccatct catctgtaac aacattggca acgctacctt tgccatgttt cagaaacaac
3780

tctggcgcat cgggcttccc atacaatcgg tagattgtcg cacctgattg cccgacatta
3840

tcgcgagccc atttataccc atataaatca gcatccatgt tggaatttaa tcgcggcctt
3900

gagcaagacg tttcccgctt aatatggctc ataacacccc ttgtattact gtttatgtaa
3960

gcagacagtt ttattgttca tgatgatata tttttatctt gtgcaatgta acatcagaga
4020

ttttgagaca caacgtggct ttgttgaata aatcgaactt ttgctgagtt gaaggatcag
4080

atcacgcata tttccgacaa cgcagaccgt tccgtggcaa agcaaaagt caaaatcacc
4140

aactgggtcca cctacaacaa agctctcacc aaccgtggct cctcacttt ctggctggat
4200

gatggggcga ttcaggcgat ccccatccaa cagcccgcg tcgagcgggc ttttttatcc
4260

ccggaagcct gtggatagag ggtagttatc cacgtgaaac cgctaatagcc ccgcaaagcc
4320

ttgattcacg gggctttccg gcccgctcca aaaactatcc acgtgaaatc gctaatacag
4380

gtacgtgaaa tcgctaatac gagtacgtga aatcgctaata aaggtcacgt gaaatcgcta
4440

atcaaaaagg cacgtgagaa cgctaatagc cttttcagat caacagcttg caaacacccc
4500

tcgctccggc aagtagttac agcaagtagt atgttcaatt agcttttcaa ttatgaatat
4560

atatatcaat tattggctgc ccttggttg tggacaatgc gctacgcgca ccggctccgc
4620

ccgtggacaa ccgcaagcgg ttgccaccg tcgagcgcca gcgcctttgc ccacaaccg
4680

gcggccggcc gcaacagatc gttttataaa tttttttttt tgaaaaagaa aaagcccga

4740

aggcggcaac ctctcgggct tctggatttc cgatccccgg aattagagat cttggcagga
4800

tatattgtgg tgtaaccgtc tcaccac
4827

<210> 23

<211> 4806

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Vector de expresion de DsRed bajo el promotor 35s

<400> 23

tggcactaga gccaaagctga tctcctttgc cccggagatc accatggacg actttctcta
60

tctctacgat ctaggaagaa agttcgacgg agaaggtgac gataccatgt tcaccaccga
120

taatgagaag attagcctct tcaatttcag aaagaatgct gaccacaga tggtagaga
180

ggcctacgcg gcagggtctga tcaagacgat ctacccgagt aataatctcc aggagatcaa
240

ataccttccc aagaagggtta aagatgcagt caaaagattc aggactaact gcatcaagaa
300

cacagagaaa gatataatttc tcaagatcag aagtactatt ccagtatgga cgattcaagg
360

cttgcttcat aaaccaaggc aagtaataga gattggagtc tctaagaaag tagttcctac
420

tgaatcaaag gccatggagt caaaaattca gatcgaggat ctaacagaac tcgccgtgaa
480

gactggcgaa cagttcatatc agagtctttt acgactcaat gacaagaaga aaatcttcgt
540

caacatgggtg gagcacgaca ctctcgtcta ctccaagaat atcaaagata cagtctcaga
600

agaccaaagg gctattgaga cttttcaaca aagggttaata tcgggaaacc tctcggatt
660

ccattgccca gctatctgtc acttcatcaa aaggacagta gaaaaggaag gtggcaccta
720

caaatgccat cattgcgata aaggaaaggc tatcgttcaa gatgcctctg ccgacagtgg
780

tcccaaagat ggacccccac ccacgaggag catcgtggaa aaagaagacg ttccaaccac
840

gtcttcaaag caagtggatt gatgtgatat ctccactgac gtaagggatg acgcacaatc
900

ccactatcct tcgcaagacc cttcctctat ataaggaagt tcatttcatt tggagaggac
960

ES 2 389 792 A1

tccggtatTT ttacaacaat accacaacaa aacaaacaac aaacaacatt acaatttact
1020

attctagtcg agatggcctc ctccgagaac gtcattcaccg agttcatgcg cttcaaggTg
1080

cgcattggagg gcaccgtgaa cggccacgag ttcgagatcg agggcgaggg cgagggccgc
1140

ccctacgagg gccacaacac cgtgaagctg aaggTgacca agggcgggcc cctgcccttc
1200

gcctgggaca tctgttcccc ccagttccag tacgggtcca aggtgtacgt gaagcacccc
1260

gccgacatcc ccgactacaa gaagctgtcc tccccgagg gcttcaagtg ggagcgcgTg
1320

atgaacttcg aggacggcgg cgtggcgacc gtgaccacagg actcctccct gcaggacggc
1380

tgcttcatct acaaggTgaa gttcatcggc gtgaacttcc cctccgacgg ccccgTgatg
1440

cagaagaaga cgatgggctg ggaggcctcc accgagcgcc tgtacccccg cgacggcgTg
1500

ctgaaggggc agacacacaa ggccctgaag ctgaaggacg gcggccacta cctggTggag
1560

ttcaagtcca tctacatggc caagaagccc gtgcagctgc ccggctacta ctacgtggac
1620

gccaaGctgg acatcacctc ccacaacgag gactacacca tcgtggagca gtacgagcgC
1680

accgagggcc gccaccacct gttcctgtag tgagggaatg gatcttcgat cccgatcgTt
1740

caaacatttg gcaataaagt ttcttaagat tgaatcctgt tgccggTctt gcgatgatta
1800

tcatataatt tctgttgaat tacgttaagc atgtaataat taacatgtaa tgcattgacgt
1860

tatttatgag atgggttttt atgattagag tcccGcaatt atacatttaa tacgcgatag
1920

aaaacaaaat atagcgcgca aactaggata aattatcgcg cdcggtgtca tctatgttac
1980

tagatcgTga attgccaagc taattcttga agacgaaagg gcctcgTgat acgcctattt
2040

ttataggTta atgtcatgat aataatggtt tcttagacgt caggTggcac ttttcgggga
2100

aatgtgcgCg gaacccttat ttgtttattt ttctaaatac attcaaatat gtatccgctc
2160

atgagacaat aaccctgata aatgcttcaa taatgggacc gactcgcgac cgtctgagac
2220

gtgacaggat atattggcgg gtaaactaag tcgctgtatg tgtttgTttg agatctcatg
2280

tgagcaaaag gccagcaaaa ggccaggaac cgtaaaaagg ccgcgttgct ggcgtttttc
 2340
 cataggtccc gccccctga cgagcatcac aaaaatcgac gctcaagtca gaggtggcga
 2400
 aaccgcacag gactataaag ataccaggcg tttccccctg gaagctccct cgtgcgctct
 2460
 cctgttccga ccctgccgt taccggatac ctgtccgcct ttctccctc gggaagcgtg
 2520
 gcgctttctc atagctcacg ctgtaggat ctcagttcgg tgtaggtcgt tcgctccaag
 2580
 ctgggctgtg tgcacgaacc ccccgttcag cccgaccgt gcgccttacc cggtaactat
 2640
 cgtcttgagt ccaaccggg aagacacgac ttatcgccac tggcagcagc cactggtaac
 2700
 aggattagca gagcgaggta tgtaggcggg gctacagagt tcttgaagtg gtggcctaac
 2760
 tacggctaca ctagaagaac agtatttggg atctgcgctc tgctgaagcc agttacctc
 2820
 ggaagaagag ttggtagctc ttgatccggc aaacaaacca ccgctggtag cgggtggttt
 2880
 tttgtttgca agcagcagat tacgcgcaga aaaaaaggat ctcaagaaga tcctttgatc
 2940
 ttttctacgg ggtctgacgc tcagtgggaa gaaaactcac gttaagggat tttggtcatg
 3000
 agattatcaa aaaggatctt cacctagatc cttttaaatt aaaaatgaag ttttaaatca
 3060
 atctaaagta tatatgtgta acattgggtc agtgattaga aaaactcatc gagcatcaaa
 3120
 tgaaactgca atttattcat atcaggatta tcaataccat atttttgaaa aagccgttcc
 3180
 tgtaatgaag gagaaaactc accgaggcag ttccatagga tggcaagatc ctggtatcgg
 3240
 tctgcgattc cgactcgtcc aacatcaata caacctatta atttcccctc gtcaaaaata
 3300
 aggttatcaa gtgagaaatc accatgagtg acgactgaat ccggtgagaa tggcaaaagt
 3360
 ttatgcattt ctttccagac ttgttcaaca ggccagccat tacgctcgtc atcaaaatca
 3420
 ctcgcatcaa ccaaaccgtt attcattcgt gattgcgcct gagcgagtcg aaatacgcca
 3480
 tcgctgttaa aaggacaatt acaaacagga atcgaatgca accggcgcag gaacactgcc
 3540
 agcgcatcaa caatattttc acctgaatca ggatattctt ctaataacctg gaatgctgtt
 3600

ES 2 389 792 A1

ttccctggga tcgcagtggg gagtaacat gcatcatcag gactacggat aaaatgcttg
 3660
 atgggtcgga gaggcataaa ttccgtcagc cagtttagtc tgaccatctc atctgtaaca
 3720
 acattggcaa cgctaccttt gccatgtttc agaaacaact ctggcgcatc gggcttccca
 3780
 tacaatcggg agattgtcgc acctgattgc ccgacattat cgcgagccca ttataacca
 3840
 tataaatcag catccatggt ggaatttaac cgcggccttg agcaagacgt ttcccgttga
 3900
 atatggctca taacaccctt tgtattactg tttatgtaag cagacagttt tattgttcat
 3960
 gatgatatat ttttatcttg tgcaatgtaa catcagagat tttgagacac aacgtggctt
 4020
 tgttgaataa atcgaacttt tgctgagttg aaggatcaga tcacgcatct tcccgacaac
 4080
 gcagaccgtt ccgtggcaaa gcaaaagttc aaaatcacca actggtccac ctacaacaaa
 4140
 gctctcatca accgtggctc cctcactttc tggttgatg atggggcgat tcaggcgatc
 4200
 cccatccaac agcccgccgt cgagcgggct tttttatccc cggaagcctg tggatagagg
 4260
 gtagttatcc acgtgaaacc gctaataccc cgcaaagcct tgattcacgg ggctttccgg
 4320
 cccgtccaa aaactatcca cgtgaaatcg ctaatcaggg tacgtgaaat cgctaacgg
 4380
 agtacgtgaa atcgctaata aggtcacgtg aaatcgctaa tcaaaaaggc acgtgagaac
 4440
 gctaatagcc ctttcagatc aacagcttgc aaacaccctc cgctccggca agtagttaca
 4500
 gcaagtagta tgttcaatta gcttttcaat tatgaatata tatatcaatt attggtcgcc
 4560
 cttggcttgt ggacaatgag ctacgcgac cggtccgcc cgtggacaac cgcaagcgg
 4620
 tgcccaccgt cgagcgccag cgcttttgcc cacaaccggg cggccggccg caacagatcg
 4680
 ttttataaat tttttttttt gaaaaagaaa aagcccgaag ggcggcaacc tctcgggctt
 4740
 ctggatttcc gatccccgga attagagatc ttggcaggat atattgtggg gtaaccgtct
 4800
 caggca
 4806

<210> 24
 <211> 7247

ES 2 389 792 A1

<212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Vector de expresion de YFP y p19 bajo sendos promotores 35s

<400> 24
 ccactggcac tagagccaag ctgatctcct ttgccccgga gatcaccatg gacgactttc
 60
 tctatctcta cgatctagga agaaagttcg acggagaagg tgacgatacc atgttcacca
 120
 ccgataatga gaagattagc ctcttcaatt tcagaaagaa tgctgaccca cagatggtta
 180
 gagaggccta cgcggcaggt ctgatcaaga cgatctaccc gagtaataat ctccaggaga
 240
 tcaaatacct tccaagaag gttaaagatg cagtcaaaag attcaggact aactgcatca
 300
 agaacacaga gaaagatata tttctcaaga tcagaagtac tattccagta tggacgattc
 360
 aaggcttgct tcataaacca aggcaagtaa tagagattgg agtctctaag aaagtagttc
 420
 ctactgaatc aaaggccatg gagtcaaaaa ttcagatcga ggatctaaca gaactcgccg
 480
 tgaagactgg cgaacagttc atacagagtc ttttacgact caatgacaag aagaaaatct
 540
 tcgtcaacat ggtggagcac gacactctcg tctactccaa gaatatcaaa gatacagtct
 600
 cagaagacca aagggctatt gagacttttc aacaaagggt aatatcgggg aacctcctcg
 660
 gattccattg ccagctatc tgtcacttca tcaaaaggac agtagaaaag gaaggtggga
 720
 cctacaaatg ccatcattgc gataaaggaa aggctatcgt tcaagatgcc tctgccgaca
 780
 gtggtcccaa agatggaccc ccaccacga ggagcatcgt ggaaaaagaa gacgttccaa
 840
 ccacgtcttc aaagcaagtg gattgatgtg atatctccac tgacgtaagg gatgacgcac
 900
 aatcccacta tccttcgcaa gacccttcct ctatataagg aagttcattt catttggaga
 960
 ggactccggt atttttacaa caataccaca acaaaacaaa caacaaacaa cattacaatt
 1020
 tactattcta gtcgagatgg tgagcaaggg cgaggagctg ttcaccgggg tggtgcccat
 1080
 cctggtcgag ctggacggcg acgtaaacgg ccacaagttc agcgtgtccg gcgagggcga
 1140
 gggcgatgcc acctacggca agctgaccct gaagttcatc tgcaccaccg gcaagctgcc
 1200

ES 2 389 792 A1

cgtgccctgg cccaccctcg tgaccacctt cggctacggc ctgaagtgct tcgcccgcta
 1260
 ccccgaccac atgaagcagc acgacttctt caagtccgcc atgcccgaag gctacgtcca
 1320
 ggagcgcacc atcttcttca aggacgacgg caactacaag acccgcgccg aggtgaagtt
 1380
 cgagggcgac accctggtga accgcatcga gctgaagggc atcgacttca aggaggacgg
 1440
 caacatcctg gggcacaagc tggagtacaa ctacaacagc cacaacgtct atatcatggc
 1500
 cgacaagcag aagaacggca tcaagggtgaa cttcaagatc cgccacaaca tcgaggacgg
 1560
 cagcgtgcag ctcgccgacc actaccagca gaacaccccc atcggcgacg gccccgtgct
 1620
 gctgcccga c aaccactacc tgagctacca gtccgccctg agcaaagacc ccaacgagaa
 1680
 gcgcgatcac atggctctgc tggagttcgt gaccgccgcc gggatcactc tcggcatgga
 1740
 cgagctctac aagtcagtca tgagctgagg gaatggatct tcgatccga tcgttcaaac
 1800
 atttggaat aaagtttctt aagattgaat cctgttgccg gtcttgcat gattatcata
 1860
 taatttctgt tgaattacgt taagcatgta ataattaaca tgtaatgcat gacgttattt
 1920
 atgagatggg tttttatgat tagagtcccg caattatata tttaatacgc gatagaaaac
 1980
 aaaatatagc gcgcaaaacta ggataaatta tcgcgdcgg tgtcatctat gttactagat
 2040
 cgggaattgc caagctaatt cttgaagacg aaagggcctc gtgatacgcc tatttttata
 2100
 ggtaaatgtc atgataataa tggtttctta gacgtcaggt ggcacttttc ggggaaatgt
 2160
 gcgcggaacc cctatttggt tatttttcta aatacattca aatatgtatc cgctcatgag
 2220
 acaataaacc tgataaatgc ttcaataatg ggaccgactc gcgacggcat ggcactagag
 2280
 ccaagctgat ctcttttgcc ccggagatca ccatggacga ctttctctat ctctacgatc
 2340
 taggaagaaa gttcgacgga gaaggtgacg ataccatgtt caccaccgat aatgagaaga
 2400
 ttagcctctt caatttcaga aagaatgctg acccacagat ggtagagag gcctacgagg
 2460
 caggtctgat caagacgatc taccgagta ataatctcca ggagatcaaa taccttccca
 2520

ES 2 389 792 A1

agaaggttaa agatgcagtc aaaagattca ggactaactg catcaagaac acagagaaag
 2580
 atatatttct caagatcaga agtactattc cagtatggac gattcaaggc ttgcttcata
 2640
 aaccaaggca agtaatagag attggagtct ctaagaaagt agttcctact gaatcaaagg
 2700
 ccatggagtc aaaaattcag atcgaggatc taacagaact cgccgtgaag actggcgaac
 2760
 agttcataca gagtctttta cgactcaatg acaagaagaa aatcttcgtc aacatggtgg
 2820
 agcacgacac tctcgtctac tccaagaata tcaaagatac agtctcagaa gaccaaaggg
 2880
 ctattgagac ttttcaacaa agggtaatat cgggaaacct cctcggattc cattgcccag
 2940
 ctatctgtca cttcatcaaa aggacagtag aaaaggaagg tggcacctac aaatgccatc
 3000
 attgcgataa aggaaaggct atcgttcaag atgcctctgc cgacagtggc cccaaagatg
 3060
 gacccccacc cacgaggagc atcgtggaaa aagaagacgt tccaaccacg tcttcaaagc
 3120
 aagtggattg atgtgatatc tccactgacg taagggatga cgcacaatcc cactatcctt
 3180
 cgcaagaccc ttctctata taaggaagtt catttcattt ggagaggact ccggtatttt
 3240
 tacaacaata ccacaacaaa acaaacaaca aacaacatta caatttacta ttctagtcca
 3300
 gatggaacga gctatacaag gaaacgacgc tagggaacaa gctaacagtg aacgttggga
 3360
 tggaggatca ggaggtacca cttctccctt caaacttcct gacgaaagtc cgagttggac
 3420
 tgagtggcgg ctacataacg atgagactaa ttcgaatcaa gataatcccc ttggtttcaa
 3480
 ggaaagctgg gggttcggga aagttgtatt taagagatat ctgagatacg acaggacgga
 3540
 agcttcactg cacagagtcc ttggatcttg gacgggagat tcggttaact atgcagcatc
 3600
 tcgatttttc gggttcgacc agatcggatg tacctatagt attcggtttc gaggagttag
 3660
 tatcacggtt tctggaggct ctcgaaactct tcagcatctc tgtgagatgg caattcggtc
 3720
 taagcaagaa ctgctacagc ttgccccaat cgaagtggaa agtaatgtat caagaggatg
 3780
 ccctgaaggt actgaaacct tcgaaaaaga aagcgagtga gggaatggat cttcgatccc
 3840

gatcgttcaa acatttggca ataaagtttc ttaagattga atcctgttgc cggctcttgcg
3900
atgattatca tataatttct gttgaattac gttaagcatg taataattaa catgtaatgc
3960
atgacgttat ttatgagatg ggtttttatg attagagtcc cgcaattata catttaatac
4020
gcgatagaaa acaaaatata gcgcgcaaac taggataaat tatcgcgcdc ggtgtcatct
4080
atgttactag atcgggaatt gccaaagctaa ttcttgaaga cgaaagggcc tcgtgatacg
4140
cctattttta taggttaatg tcatgataat aatggtttct tagacgtcag gtggcacttt
4200
tcggggaaat gtgcgcggaa cccctatttg tttattttct taaatacatt caaatatgta
4260
tccgctcatg agacaataac cctgataaat gcttcaataa tgggaccgac tcgcgaccgt
4320
cgatgagaga cctgacagga tatattggcg ggtaaactaa gtcgctgtat gtgtttgttt
4380
gagatctcat gtgagcaaaa ggccagcaaa aggccaggaa ccgtaaaaag gccgcgttgc
4440
tggcggtttt ccataggctc cgccccctg acgagcatca caaaaatcga cgctcaagtc
4500
agaggtggcg aaacccgaca ggactataaa gataccaggc gtttccccct ggaagctccc
4560
tcgtgcgctc tcctgttccg accctgccgc ttaccggata cctgtccgcc tttctccctt
4620
cggaagcgt ggcgctttct catagctcac gctgtaggta tctcagttcg gtgtaggtcg
4680
ttcgctccaa gctgggctgt gtgcacgaac cccccgttca gcccgaccgc tgcgccttat
4740
ccggttaacta tcgtcttgag tccaaccggg taagacacga cttatcgcca ctggcagcag
4800
ccactggtaa caggattagc agagcgaggt atgtaggcgg tgctacagag ttcttgaagt
4860
ggtggcctaa ctacggctac actagaagaa cagtatttgg tatctgcgct ctgctgaagc
4920
cagttacott cggaagaaga gttggtagct cttgatccgg caaacaacc accgctggta
4980
gcggtggttt ttttgtttgc aagcagcaga ttacgcgcag aaaaaaagga tctcaagaag
5040
atcctttgat cttttctacg gggctctgacg ctcaagtggaa cgaaaactca cgttaagggg
5100
ttttggtcat gagattatca aaaaggatct tcacctagat ctttttaaatt taaaaatgaa
5160

gttttaaatac aatctaaagt atatatgtgt aacattgggc tagtgattat ttgccgacta
5220

ccttggatgat ctgcgcttcc acgtagtggg caaattcttc caactgatct gcgcgcgagg
5280

ccaagcgatc ttcttcttgt ccaagataag cctgtctagc ttcaagtatg acgggctgat
5340

actgggccgg caggcgctcc attgcccagt cggcagcgac atccttcggc gcgattttgc
5400

cggttactgc gctgtaccaa atgcgggaca acgtaagcac tacatttcgc tcatcgccag
5460

cccagtcggg cggcgagtcc catagcggtt aggtttcatt tagcgccctc aatagatcct
5520

gttcaggaac cggatcaaag agttcctccg ccgctggacc taccaaggca acgctatgtt
5580

ctcttgcttt tgcagcaag atagccagat caatgtcgat cgtggctggc tcgaagatac
5640

ctgcaagaat gtcattgcgc tgccattctc caaattgcag ttgcgcgtta gctggataac
5700

gccacggaat gatgtcgtcg tgcacaacaa tgggtgacttc tacagcgagg agaatctcgc
5760

tctctccagg ggaagccgaa gtttccaaaa ggtcgttgat caaagctcgc cgcgttgctt
5820

catcaagcct tacggtcacc gtaaccagca aatcaatatc actgtgtggc ttcaggccgc
5880

catccactgc ggagccgtac aaatgtacgg ccagcaacgt cggttcgaga tggcgctcga
5940

tgacgccaac tacctctgat agttgagtcg atacttcggc gatcacgct tccctcatga
6000

tgtttaactt tgttttaggg cgactgcctt gctgcgtaac atcgttgctg ctccataaca
6060

tcaaacatcg acccagggcg taacgcgctt gctgcttgga tgcccgaggc atagactgta
6120

ccccaaaaa acagtcataa caagccatga aaaccgccac tgcgccgtta ccaccgctgc
6180

gttcggtcaa gggtctggac cagttgcgtg agcgcatagc ctacttgcac tacagcttac
6240

gaaccgaaca ggcttatgtc cactgggttc gtgccttcac ccgtttccac ggtgtgcgtc
6300

accggaac cttgggcagc agcgaagtcg aggcatttct gtcctggctg ggaacacccc
6360

ttgtattact gtttatgtaa gcagacagtt ttattgttca tgatgatata ttttatctt
6420

gtgcaatgta acatcagaga ttttgagaca caacgtggct ttgttgaata aatcgaactt
6480

ttgctgagtt gaaggatcag atcacgcac ttcccgacaa cgcagaccgt tccgtggcaa
6540

agcaaaagtt caaaatcacc aactgggtcca cctacaacaa agctctcatc aaccgtgggt
6600

ccctcacttt ctggctggat gatggggcga ttcaggcgat ccccatccaa cagcccgcg
6660

tcgagcgggc ttttttatcc ccggaagcct gtggatagag ggtagttatc cacgtgaaac
6720

cgctaatagcc ccgcaaagcc ttgattcacg gggctttccg gcccgctcca aaaactatcc
6780

acgtgaaatc gctaatacagg gtacgtgaaa tcgctaatacg gagtacgtga aatcgcta
6840

aaggtcacgt gaaatcgcta atcaaaaagg cacgtgagaa cgctaatagc cttttcagat
6900

caacagcttg caaacacccc tcgctccggc aagtagttac agcaagtagt atgttcaatt
6960

agcttttcaa ttatgaatat atatatcaat tattggctgc cttggcttg tggacaatgc
7020

gctacgcgca ccggctccgc ccgtggacaa ccgcaagcgg ttgccaccg tcgagcgcca
7080

gcgcctttgc ccacaacccg gcggccggcc gcaacagatc gttttataaa ttttttttt
7140

tgaaaaagaa aaagcccgaa aggcggcaac ctctcgggct tctggatttc cgatccccgg
7200

aattagagat cttggcagga tatattgtgg tgtaacggtc tcttggc
7247

<210> 25

<211> 7378

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Vector de expresion de BFP y DsRed bajo sendos promotores 35s

<400> 25

ccactggcac tagagccaag ctgatctcct ttgccccgga gatcaccatg gacgactttc
60

tctatctcta cgatctagga agaaagtctg acggagaagg tgacgatacc atgttcacca
120

ccgataatga gaagattagc ctcttcaatt tcagaaagaa tgctgacca cagatgggta
180

gagaggccta cgcggcaggt ctgatcaaga cgatctaccc gagtaataat ctccaggaga
240

tcaaatacct tccaagaag gttaaagatg cagtcaaaag attcaggact aactgcatca
300

agaacacaga gaaagatata tttctcaaga tcagaagtac tattccagta tggacgattc

360

aaggcttgct tcataaacca aggcaagtaa tagagattgg agtctctaag aaagtagttc
420

ctactgaatc aaaggccatg gagtcaaaaa ttcagatcga ggatctaaca gaactcgccg
480

tgaagactgg cgaacagttc atacagagtc ttttacgact caatgacaag aagaaaatct
540

tctgcaacat ggtggagcac gacactctcg tctactccaa gaatatcaaa gatacagtct
600

cagaagacca aagggctatt gagacttttc aacaaagggc aatatcgga aacctcctcg
660

gattccattg cccagctatc tgtcaattca tcaaaaggac agtagaaaag gaaggtggca
720

cctacaaatg ccatcattgc gataaaggaa aggctatcgt tcaagatgcc tctgccgaca
780

gtgggtccaa agatggaccc ccaccacga ggagcatcgt ggaaaaagaa gacgttccaa
840

ccacgtcttc aaagcaagtg gattgatgtg atatctccac tgacgtaagg gatgacgcac
900

aatcccacta tccttcgcaa gacccttctt ctatataagg aagttcattt catttgagga
960

ggactccggt atttttacaa caataccaca acaaaacaaa caacaaacaa cattacaatt
1020

tactattcta gtcgagatga gcgagctgat taaggagaac atgcacatga agctgtacat
1080

ggagggcacc gtggacaacc atcacttcaa gtgcacatcc gagggcgaag gcaagcccta
1140

cgagggcacc cagaccatga gaatcaaggt ggtcgagggc ggccctctcc ccttcgcctt
1200

cgacatcctg gctactagct tcctctacgg cagcaagacc ttcacatcaacc acaccaggg
1260

catccccgac ttcttcaagc agtccttccc tgagggcttc acatgggaga gagtcaccac
1320

atacgaagac gggggcgctg tgaccgctac ccaggacacc agcctccagg acggctgcct
1380

catctacaac gtcaagatca gagggtgaa cttcacatcc aacggccctg tgatgcagaa
1440

gaaaacactc ggctgggagg ccttcaccga aacgctgtac cccgctgacg ggggctgga
1500

aggcagaaac gacatggccc tgaagctcgt gggcgggagc catctgatcg caaacatcaa
1560

gaccacatat agatccaaga aaccgctaa gaacctcaag atgcctggcg tctactatgt
1620

ggactacaga ctggaaagaa tcaaggaggc caacaacgag acctacgtcg agcagcacga

ES 2 389 792 A1

1680

ggtggcagtg gccagatact gcgacctccc tagcaaactg gggcacaagc ttaattgagg
1740

gaatggatct tcgatcccgga tcgttcaaac atttggcaat aaagtttctt aagattgaat
1800

cctgttgccg gtcttgccgat gattatcata taatttctgt tgaattacgt taagcatgta
1860

ataattaaca tgtaatgcat gacgttatatt atgagatggg tttttatgat tagagtcccg
1920

caattataca ttttaatacgc gatagaaaac aaaatatagc gcgcaaacta ggataaatta
1980

tcgcgcgcgg tgatcatctat gttactagat cgggaattgc caagctaatt cttgaagacg
2040

aaagggcctc gtgatacgcc tatttttata ggtaaatgtc atgataataa tggtttctta
2100

gacgtcaggt ggcacttttc ggggaaatgt gcgcggaacc cctatttggt tatttttcta
2160

aatacattca aatatgtatc cgctcatgag acaataaccc tgataaatgc ttcaataatg
2220

ggaccgactc gcgacggcat ggcactagag ccaagctgat ctcttttgcc ccggagatca
2280

ccatggacga ctttctctat ctctacgatc taggaagaaa gttcgacgga gaaggtgacg
2340

atacatggt caccaccgat aatgagaaga ttagcctctt caatttcaga aagaatgctg
2400

accacagat ggtagagag gcctacgcgg caggtctgat caagacgatc taccgagta
2460

ataatctcca ggagatcaaa taccttccca agaaggtaa agatgcagtc aaaagattca
2520

ggactaactg catcaagaac acagagaaaag atatatttct caagatcaga agtactattc
2580

cagtatggac gattcaaggc ttgcttcata aaccaaggca agtaatagag attggagtct
2640

ctaagaaagt agttcctact gaatcaaagg ccatggagtc aaaaattcag atcgaggatc
2700

taacagaact cgccgtgaag actggcgaac agttcataca gagtctttta cgactcaatg
2760

acaagaagaa aatcttcgtc aacatgggtg agcacgacac tctcgtctac tccaagaata
2820

tcaaagatac agtctcagaa gaccaaaggg ctattgagac ttttcaacaa agggtaatat
2880

cgggaaacct cctcggattc cattgcccag ctatctgtca cttcatcaaa aggacagtag
2940

aaaaggaagg tggcacctac aaatgccatc attgcgataa aggaaaggct atcgttcaag

3000

atgcctctgc cgacagtggc cccaaagatg gacccccacc cacgaggagc atcgtggaaa
3060

aagaagacgt tccaaccacg tcttcaaagc aagtggattg atgtgatatc tccactgacg
3120

taagggatga cgcacaatcc cactatcctt cgcaagaccc ttctctata taaggaagtt
3180

catttcattt ggagaggact ccggtatttt tacaacaata ccacaacaaa acaaacaaca
3240

aacaacatta caatttacta ttctagtcca gatggcctcc tccgagaacg tcatcaccga
3300

gttcatgcgc ttcaaggcgc gcatggaggc caccgtgaac ggccacgagt tgcagatcca
3360

ggcgaggggc gaggggccgc cctacgaggc ccacaacacc gtgaagctga aggtgaccaa
3420

ggcgggcccc ctgcccttcg cctgggacat cctgtcccc cagttccagt acggctccaa
3480

ggtgtacgtg aagcaccgcc ccgacatccc cgactacaag aagctgtcct tccccgaggc
3540

cttcaagtgg gagcgcgta tgaacttcca ggacggcggc gtggcgaccg tgaccagga
3600

ctctccctg caggacggct gcttcatcta caagggtgaag ttcatcggcg tgaacttccc
3660

ctccgacggc ccggtgatgc agaagaagac gatgggctgg gaggcctcca ccgagcgctt
3720

gtacccccgc gacggcgctg tgaaggcgca gacacacaag gcctgaagc tgaaggacgg
3780

cgccactac ctgggtggagt tcaagtccat ctacatggcc aagaagcccg tgcagctgcc
3840

cggtactac tacgtggacg ccaagctgga catcacctcc cacaacgagg actacaccat
3900

cgtggagcag tacgagcgca ccgagggccg ccaccacctg ttctgtagt gagggaatgg
3960

atcttcgatc ccgatcgctt aaacatttgg caataaagtt tcttaagatt gaatcctgtt
4020

gccgtcttg cgatgattat catataattt ctgttgaatt acgttaagca tgtaataatt
4080

aacatgtaat gcatgacgtt atttatgaga tgggttttta tgattagagt cccgcaatta
4140

tacatttaac acgcgataga aaacaaaata tagcgcgcaa actaggataa attatcgcg
4200

dccgtgtcat ctatgttact agatcgggaa ttgccaagct aattcttgaa gacgaaaggg
4260

cctcgtgata cgcctatttt tatagggtta tgcctatgata ataatggttt cttagacgtc

4320

aggtggcact ttccggggaa atgtgcgcgg aaccctatt tgtttatttt tctaaataca
4380

ttcaaatatg tatccgctca tgagacaata accctgataa atgcttcaat aatgggaccg
4440

actcgcgacc gtccgacaga gacctgacag gatataattgg cgggtaaact aagtcgctgt
4500

atgtgtttgt ttgagatctc atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa
4560

aggccgcgtt gctggcggtt ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc
4620

gacgctcaag tcagaggtgg cgaaaccoga caggactata aagataccag gcgtttcccc
4680

ctggaagctc cctcgtgcgc tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg
4740

cctttctccc ttccggaagc gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt
4800

cggtgtaggt cgttcgctcc aagctgggct gtgtgcacga acccccgtt cagcccgacc
4860

gtcgcgcctt atccggtaac tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc
4920

cactggcagc agccactggt aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag
4980

agttcttgaa gtgggtggcct aactacggct acactagaag aacagtattt ggtatctgcg
5040

ctctgctgaa gccagttacc ttccggaagaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa
5100

ccaccgctgg tagcgggtgt ttttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag
5160

gatctcaaga agatcctttg atcttttcta cggggctctga cgctcagtggt aacgaaaact
5220

cacgttaagg gattttggtc atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa
5280

attaaaaatg aagtttttaa tcaatctaaa gtatatatgt gtaacattgg tctagtgtt
5340

atttgccgac taccttggtg atctcgcctt tcacgtagtg gacaaattct tccaaactgat
5400

ctgcgcgcga ggccaagcga tcttcttctt gtccaagata agcctgtcta gcttcaagta
5460

tgacgggctg atactgggcc ggcaggcgct ccattgccca gtcggcagcg acatccttcg
5520

gcgcgatttt gccggttact gcgctgtacc aaatgcggga caacgtaagc actacatttc
5580

gctcatcgcc agcccagtcg ggcggcgagt tccatagcgt taagggttca tttagcgcct

5640

caaatagatc ctgttcagga accggatcaa agagttcctc cgccgctgga cctaccaagg
5700

caacgctatg ttctcttgc tttgtcagca agatagccag atcaatgtcg atcgtggctg
5760

gctcgaagat acctgcaaga atgtcattgc gctgccattc tccaaattgc agttcgcgct
5820

tagctggata acgccacgga atgatgtcgt cgtgcacaac aatggtgact tctacagcgc
5880

ggagaatctc gctctctcca ggggaagccg aagtttccaa aaggctcgtg atcaaagctc
5940

gccgcttgtt ttcataaagc cttacgggtca ccgtaaccag caaatcaata tcaactgtgtg
6000

gcttcaggcc gccatccact gcggagccgt acaaattgtac ggccagcaac gtcggttcga
6060

gatggcgctc gatgacgcca actacctctg atagttgagt cgatacttcg gcgatcaccg
6120

cttcctcat gatgtttaac tttgttttag ggcgactgcc ctgctgcgta acatcgttgc
6180

tgctccataa catcaaacaat cgaccacgag cgtaacgcgc ttgctgcttg gatgcccag
6240

gcatagactg taccocaaaa aaacagtcac aacaagccat gaaaaccgcc actgcccgt
6300

taccaccgct gcgttcggtc aaggttcttg accagttgcg tgagcgcata cgctacttgc
6360

attacagctt acgaaccgaa caggcttatg tccactgggt tcgtgccttc atccgtttcc
6420

acggtgtgcg tcacccggca accttgggca gcagcgaagt cgaggcattt ctgtcctggc
6480

tggaacaccc cttgtattac tgtttatgta agcagacagt tttattgttc atgatgatat
6540

atTTTTatct tgtgcaatgt aacatcagag atTTTgagac acaacgtggc tttgttgaat
6600

aaatcgaact tttgtgagt tgaaggatca gatcacgcat cttcccgaca acgcagaccg
6660

ttccgtggca aagcaaaagt tcaaaatcac caactgggtc acctacaaca aagctctcat
6720

caaccgtggc tccctcaatt tctggctgga tgatggggcg attcaggcga tccccatcca
6780

acagcccgcc gtgcagcggg cttttttatc cccggaagcc tgtggataga gggtagttat
6840

ccacgtgaaa ccgctaattgc cccgcaaagc cttgattcac ggggctttcc ggcccgtcc
6900

aaaaactatc cacgtgaaat cgctaatac ggtacgtgaa atcgctaata ggagtacgtg

ES 2 389 792 A1

6960

aaatcgctaa taaggtcacg tgaaatcgct aatcaaaaag gcacgtgaga acgctaatag
7020

ccctttcaga tcaacagctt gcaaacaacc ctcgctccgg caagtagtta cagcaagtag
7080

tatgttcaat tagcttttca attatgaata tatatatcaa ttattgggtcg cccttggctt
7140

gtggacaatg cgctacgcgc accgggtccg cccgtggaca accgcaagcg gttgccacc
7200

gtcgagcgcc agcgcttttg cccacaacc ggcgccggc cgcaacagat cgttttataa
7260

atTTTTTTTT ttgaaaaaga aaaagccga aaggcggcaa cctctcgggc ttctggattt
7320

ccgatccccg gaattagaga tcttggcagg atatattgtg gtgtaacggt ctctgatg
7378

<210> 26

<211> 11382

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Vector de expresion de YFP, p19, BFP y DsRed bajo promotores
35s

<400> 26

tggccactg gcactagagc caagctgac tcctttgccc cgagatcac catggacgac
60

ttctctatc tctacgatc aggaagaaag ttcgacggag aaggtgacga taccatgttc
120

accaccgata atgagaagat tagcctcttc aatttcagaa agaatgctga cccacagatg
180

gttagagagg cctacgcggc aggtctgac aagacgatct acccgagtaa taatctccag
240

gagatcaa atccttccaa gaagggttaa gatgcagtca aaagattcag gactaactgc
300

atcaagaaca cagagaaaga tatatttctc aagatcagaa gtactattcc agtatggacg
360

attcaaggct tgcttcataa accaaggcaa gtaatagaga ttggagtctc taagaaagta
420

gttcctactg aatcaaaggc catggagtca aaaattcaga tcgaggatct aacagaactc
480

gccgtgaaga ctggcgaaca gttcatacag agtcttttac gactcaatga caagaagaaa
540

atcttcgtca acatgggtga gcacgacact ctcgtctact ccaagaatat caaagatata
600

gtctcagaag accaaagggc tattgagact tttcaacaaa gggtaatatc gggaaacctc
660

ctcggattcc attgcccagc tatctgtcac ttcataaaaa ggacagtaga aaaggaaggt
720

ggcacctaca aatgccatca ttgcgataaa ggaaaggcta tcgttcaaga tgcctctgcc
780

gacagtggtc ccaaagatgg acccccaccc acgaggagca tcgtggaaaa agaagacgtt
840

ccaaccacgt cttcaaagca agtggattga tgtgatattc ccactgacgt aagggatgac
900

gcacaatccc actatccttc gcaagaccct tcctctatat aaggaagttc atttcatttg
960

gagaggactc cgggtattttt acaacaatac cacaacaaaa caaacaacaa acaacattac
1020

aatttactat tctagtcgag atggtgagca agggcgagga gctgttcacc ggggtggtgc
1080

ccatcctggt cgagctggac ggcgacgtaa acggccacaa gttcagcgtg tccggcgagg
1140

gcgagggcga tgccacctac ggcaagctga ccctgaagtt catctgcacc accggcaagc
1200

tgcccgtgcc ctggcccacc ctctgaccca ccttcggcta cggcctgaag tgcttcgccc
1260

gctaccccga ccacatgaag cagcacgact tcttcaagtc cgccatgccc gaaggctacg
1320

tccaggagcg caccatcttc ttcaaggacg acggcaacta caagaccgcg gccgaggtga
1380

agttcgaggg cgacaccctg gtgaaccgca tcgagctgaa gggcatcgac ttcaaggagg
1440

acggcaacat cctggggcac aagctggagt acaactacaa cagccacaac gtctatatca
1500

tggccgacaa gcagaagaac ggcatcaagg tgaacttcaa gatccgccac aacatcgagg
1560

acggcagcgt gcagctcgcc gaccactacc agcagaacac ccccatcggc gacggccccg
1620

tgctgctgcc cgacaaccac tacctgagct accagtccgc cctgagcaaa gaccccaacg
1680

agaagcgcga tcacatggtc ctgctggagt tcgtgaccgc cgccgggata actctcgga
1740

tggacgagct ctacaagtca gtcatgagct gagggaatgg atcttcgata ccgatcgttc
1800

aaacatttgg caataaagtt tcttaagatt gaatcctgtt gccggtcttg cgatgattat
1860

catataatct ctgttgaatt acgttaagca tgtaataatt aacatgtaat gcatgacgtt
1920

atztatgaga tgggttttta tgattagagt cccgcaatta tacatttaac acgcgataga
1980

ES 2 389 792 A1

aaacaaaata tagcgcgcaa actaggataa attatcgcgc dcggtgtcat ctatgttact
 2040
 agatcgggaa ttgccaagct aattcttgaa gacgaaaggg cctcgtgata cgcctathtt
 2100
 tataggttaa tgtcatgata ataatggttt cttagacgtc aggtggcact tttcggggaa
 2160
 atgtgcgcgg aacccttatt tgtttathtt tctaaataca ttcaaataatg tatccgctca
 2220
 tgagacaata accctgataa atgcttcaat aatgggaccg actcgcgacg gcatggcact
 2280
 agagccaagc tgatctcctt tgccccggag atcaccatgg acgactttct ctatctctac
 2340
 gatctaggaa gaaagttcga cggagaaggt gacgatacca tggtcaccac cgataatgag
 2400
 aagattagcc ttttcaatht cagaaagaat gctgaccac agatgggttag agaggcctac
 2460
 gcggcaggtc tgatcaagac gatctaccog agtaataatc tccaggagat caaatacctt
 2520
 cccaagaagg ttaaagatgc agtcaaaaga ttcaggacta actgcatcaa gaacacagag
 2580
 aaagatatat ttctcaagat cagaagtact attccagtat ggacgattca aggcttgctt
 2640
 cataaaccaa ggcaagtaat agagattgga gtctctaaga aagtagttcc tactgaatca
 2700
 aaggccatgg agtcaaaaat tcagatcgag gatctaacag aactcgccgt gaagactggc
 2760
 gaacagttca tacagagtct ttacgactc aatgacaaga agaaaatctt cgtcaacatg
 2820
 gtggagcacg acactctcgt ctactccaag aatatcaaag atacagtctc agaagaccaa
 2880
 agggctattg agacttttca acaaagggt aatcgggaa acctcctcgg attccattgc
 2940
 ccagctatct gtcacttcat caaaaggaca gtagaaaagg aaggtggcac ctacaaatgc
 3000
 catcattgcg ataaaggaaa ggctatcgtt caagatgcct ctgccgacag tgggtccaaa
 3060
 gatggacccc caccacagag gagcatcgtg gaaaaagaag acgttccaac caggtcttca
 3120
 aagcaagtgg attgatgtga tatctccact gacgtaaggg atgacgcaca atcccactat
 3180
 ccttcgcaag acccttctct tatataagga agttcatttc atttggagag gactccggta
 3240
 tttttacaac aataccacaa caaaacaaac aacaaacaac attacaatht actattctag
 3300

tcgagatgga acgagctata caaggaaacg acgctagga acaagctaac agtgaacgtt
3360

gggatggagg atcaggaggt accacttctc ccttcaaact tcctgacgaa agtccgagtt
3420

ggactgagtg gcggctacat aacgatgaga ctaattcgaa tcaagataat ccccttggtt
3480

tcaaggaaag ctgggggttc gggaaagtgt tatttaagag atatctcaga tacgacagga
3540

cggaagcttc actgcacaga gtccttggat cttggacggg agattcgggt aactatgcag
3600

catctcgatt tttcgggttc gaccagatcg gatgtaccta tagtattcgg tttcgaggag
3660

ttagtatcac cgtttctgga ggctctcgaa ctcttcagca tctctgtgag atggcaattc
3720

ggtctaagca agaactgcta cagcttgccc caatcgaagt ggaaagtaat gtatcaagag
3780

gatgccctga aggtactgaa accttcgaaa aagaaagcga gtgaggggaat ggatcttcga
3840

tcccgatcgt tcaaacattt ggcaataaag tttcttaaga ttgaatcctg ttgccggtct
3900

tgcgatgatt atcatataat ttctgttgaa ttacgttaag catgtaataa ttaacatgta
3960

atgcatgacg ttatttatga gatggggttt tatgattaga gtcccgcaat tatacattta
4020

atacgcgata gaaaacaaaa tatagcgcgc aaactaggat aaattatcgc gdcggtgtc
4080

atctatgtta ctagatcggg aattgccaaag ctaattcttg aagacgaaag ggcctcgtga
4140

tacgcctatt tttataggtt aatgtcatga taataatggt ttcttagacg tcaggtggca
4200

cttttcgggg aaatgtgcgc ggaaccoccta tttgtttatt tttctaaata cattcaaata
4260

tgtatccgct catgagacaa taaccctgat aaatgcttca ataatgggac cgactcgcga
4320

ccgtcgatgc cactggcact agagccaagc tgatctcctt tgccccggag atcaccatgg
4380

acgactttct ctatctctac gatctaggaa gaaagttcga cggagaaggt gacgatacca
4440

tgttcaccac cgataatgag aagattagcc tcttcaattt cagaaagaat gctgaccac
4500

agatgggttag agaggcctac gcggcaggtc tgatcaagac gatctaccg agtaataatc
4560

tccaggagat caaatacctt cccaagaagg ttaaagatgc agtcaaaaga ttcaggacta
4620

actgcatcaa gaacacagag aaagatatat ttctcaagat cagaagtact attccagtat
4680

ggacgattca aggcttgctt cataaaccaa ggcaagtaat agagattgga gtctctaaga
4740

aagtagttcc tactgaatca aaggccatgg agtcaaaaat tcagatcgag gatctaacag
4800

aactcgccgt gaagactggc gaacagttca tacagagtct tttacgactc aatgacaaga
4860

agaaaatctt cgtcaacatg gtggagcacg acactctcgt ctactccaag aatatcaaag
4920

atacagtctc agaagaccaa agggctattg agacttttca acaaagggtg atatcgggaa
4980

acctcctcgg attccattgc ccagctatct gtcacttcat caaaaggaca gtagaaaagg
5040

aagggtggcac ctacaaatgc catcattgcg ataaaggaaa ggctatcgtt caagatgcct
5100

ctgccgacag tgggtcccaa gatggacccc caccacagag gagcatcgtg gaaaaagaag
5160

acgttccaac cacgtettca aagcaagtgg attgatgtga tatctccact gacgtaaggg
5220

atgacgcaca atcccactat ccttcgcaag acccttcctc tatataagga agttcatttc
5280

atttgagag gactccggtg tttttacaac aataccacaa caaaacaaac aacaacaac
5340

attacaattt actattctag tcgagatgag cgagctgatt aaggagaaca tgcacatgaa
5400

gctgtacatg gagggcaccc tggacaacca tcacttcaag tgcacatccg agggcgaagg
5460

caagccctac gagggcaccc agaccatgag aatcaaggtg gtcgagggcg gccctctccc
5520

cttcgccttc gacatcctgg ctactagctt cctctacggc agcaagacct tcatcaacca
5580

caccagggc atccccgact tcttcaagca gtccttcctt gagggcttca catgggagag
5640

agtcaccaca tacgaagacg ggggcgtgct gaccgctacc caggacacca gcctccagga
5700

cggtgcctc atctacaacg tcaagatcag aggggtgaac ttcacatcca acggcctgt
5760

gatgcagaag aaaacactcg gctgggaggg cttcacgaa acgctgtacc ccgctgacgg
5820

cggcctggaa ggcagaaacg acatggccct gaagctcgtg ggcgggagcc atctgatcgc
5880

aaacatcaag accacatata gatccaagaa acccgctaag aacctcaaga tgctggcgt
5940

ES 2 389 792 A1

ctactatgtg gactacagac tggaaagaat caaggaggcc aacaacgaga cctacgtcga
 6000
 gcagcacgag gtggcagtg ccagatactg cgacctccct agcaaactgg ggcacaagct
 6060
 taattgaggg aatggatctt cgatcccgat cgttcaaaca tttggcaata aagtttctta
 6120
 agattgaatc ctggtgccgg tcttgcatg attatcatat aatttctggt gaattacggt
 6180
 aagcatgtaa taattaacat gtaatgcatg acgttattta tgagatgggt ttttatgatt
 6240
 agagtccgc aattatacat ttaatacgcg atagaaaaca aaatatagcg cgcaaactag
 6300
 gataaattat cgcgcdcggt gtcactatg ttactagatc gggaattgcc aagctaattc
 6360
 ttgaagacga aagggcctcg tgatacgct atttttatag gttaatgtca tgataataat
 6420
 ggtttcttag acgtcaggtg gcacttttcg gggaaatgtg cgcggaacct ctatttggtt
 6480
 atttttctaa atacattcaa atatgtatcc gtcactgaga caataacct gataaatgct
 6540
 tcaataatgg gaccgactcg cgacggcatg gcactagagc caagctgatc tcctttgccc
 6600
 cggagatcac catggacgac tttctctatc tctacgatct aggaagaaag ttcgacggag
 6660
 aaggtgacga taccatgttc accaccgata atgagaagat tagcctcttc aatttcagaa
 6720
 agaatgctga cccacagatg gttagagagg cctacgcggc aggtctgatc aagacgatct
 6780
 acccgagtaa taatctccag gagatcaaat accttccaa gaagggttaa gatgcagtca
 6840
 aaagattcag gactaactgc atcaagaaca cagagaaaga tatatttctc aagatcagaa
 6900
 gtactattcc agtatggacg attcaaggct tgcttcataa accaaggcaa gtaatagaga
 6960
 ttggagtctc taagaaagta gttcctactg aatcaaaggc catggagtca aaaattcaga
 7020
 tcgaggatct aacagaactc gccgtgaaga ctggcgaaca gttcatacag agtcttttac
 7080
 gactcaatga caagaagaaa atcttcgtca acatgggtga gcacgacact ctctgtctact
 7140
 ccaagaatat caaagataca gtctcagaag accaaagggc tattgagact tttcaacaaa
 7200
 gggtaatatc gggaaacctc ctcggtatcc attgccagc tatctgtcac ttcacaaaa
 7260

ES 2 389 792 A1

ggacagtaga aaaggaaggt ggcacctaca aatgccatca ttgcgataaa ggaaaggcta
 7320
 tcgttcaaga tgcctctgcc gacagtgggtc ccaaagatgg acccccaccc acgaggagca
 7380
 tcgtggaaaa agaagacgtt ccaaccacgt cttcaaagca agtggattga tgtgatatct
 7440
 ccactgacgt aagggatgac gcacaatccc actatccttc gcaagaccct tcctctatat
 7500
 aaggaagttc atttcatttg gagaggactc cggtattttt acaacaatac cacaacaaaa
 7560
 caaacaacaa acaacattac aattttactat tctagtcgag atggcctcct ccgagaacgt
 7620
 catcaccgag ttcatgcgct tcaagggtgcg catggagggc accgtgaacg gccacgagtt
 7680
 cgagatcgag ggcgagggcg agggccgccc ctacgagggc cacaacaccg tgaagctgaa
 7740
 ggtgaccaag ggcggccccc tgcccttcgc ctgggacatc ctgtccccc agttccagta
 7800
 cggctccaag gtgtacgtga agcaccgccg cgacatcccc gactacaaga agctgtcctt
 7860
 ccccgagggc ttcaagtggg agcgcgatgat gaacttcgag gacggcgggc tggcgaccgt
 7920
 gaccaggac tcctccctgc aggacggctg cttcatctac aaggtgaagt tcatcggcgt
 7980
 gaacttcccc tccgacggcc ccgtgatgca gaagaagacg atgggctggg aggcctccac
 8040
 cgagcgctg taccgccg cgggcggtg gaagggcgag acacacaagg ccctgaagct
 8100
 gaaggacggc ggccactacc tgggtggagtt caagtccatc tacatggcca agaagcccgt
 8160
 gcagctgcc ggctactact acgtggacgc caagctggac atcacctccc acaacgagga
 8220
 ctacaccatc gtggagcagt acgagcgcac cgagggccgc caccacctgt tcctgtagt
 8280
 agggaatgga tcttcgatcc cgatcgttca aacatttggc aataaagttt cttagattg
 8340
 aatcctgttg ccggtcttgc gatgattatc atataatttc tgttgaatta cgtaagcat
 8400
 gtaataatta acatgtaatg catgacgtta tttatgagat gggtttttat gattagagtc
 8460
 ccgcaattat acatttaata cgcgatagaa aacaaaatat agcgcgcaaa ctaggataaa
 8520
 ttatcgcgcd cgggtgtcatc tatgttacta gatcgggaat tgccaagcta attcttgaag
 8580

acgaaagggc ctcgtgatac gcctatTTTT ataggTTaat gtcAtgataa taatggTTTT
8640

ttagacgtca ggtggcactt ttcggggaaa tgtgcgcgga acccctatTT gtttattTTTT
8700

ctaaatacat tcaaatatgt atccgctcat gagacaataa ccctgataaa tgcttcaata
8760

atgggaccga ctcgcgaccg tccgacggca tgagacgtga caggatatat tggcgggtaa
8820

actaagtgcg tgtatgtgtt tgtttgagat ctcAtgtgag caaaaggcca gcaaaaggcc
8880

aggaaccgta aaaaggccgc gttgctggcg tttttccata ggctccgccc ccctgacgag
8940

catcacaaaa atcgacgctc aagtcagagg tggcgaaacc cgacaggact ataaagatac
9000

caggcgTTTT cccctggaag ctccctcgtg cgctctcctg ttccgaccct gccgcttacc
9060

ggatacctgt ccgcctttct cccttcggga agcgtggcg cttctcatag ctcacgctgt
9120

aggtatctca gttcgggtga ggtcgttcgc tccaagctgg gctgtgtgca cgaaccccc
9180

gttcagcccg accgctgcgc cttatccggt aactatcgtc ttgagtccaa cccggtaaga
9240

cagcacttat cgccactggc agcagccact ggtaacagga ttagcagagc gaggtatgta
9300

ggcgtgtgta cagagtctt gaagtgggtg cctaactacg gctacactag aagaacagta
9360

tttggatatct gcgctctgct gaagccagtt accttcggaa gaagagttgg tagctcttga
9420

tccggcaaac aaaccaccgc tggtagcggg ggtttttttg tttgcaagca gcagattacg
9480

cgcagaaaaa aaggatctca agaagatcct ttgatctttt ctacggggtc tgacgctcag
9540

tggaacgaaa actcacgtta agggattttg gtcAtgagat tatcaaaaag gatcttcacc
9600

tagatccttt taaattaaaa atgaagtttt aaatcaatct aaagtatata tgtgtaacat
9660

tggcttagtg attagaaaaa ctcatcgagc atcaaatgaa actgcaattt attcatatca
9720

ggattatcaa taccatattt ttgaaaaagc cgtttctgta atgaaggaga aaactcaccg
9780

aggcagttcc ataggatggc aagatcctgg tatcgggtctg cgattccgac tcgtccaaca
9840

tcaatacaac ctattaattt cccctcgtca aaaataaggt tatcaagtga gaaatcacca
9900

tgagtgcga ctgaatccgg tgagaatggc aaaagtttat gcatttcctt ccagacttgt
 9960
 tcaacaggcc agccattacg ctcgatcatc aatcactcg catcaaccaa accgttattc
 10020
 attcgtgatt ggcctgagc gagtcgaaat acgcgatcgc tgttaaaagg acaattacaa
 10080
 acaggaatcg aatgcaaccg gcgcaggaac actgccagcg catcaacaat attttcacct
 10140
 gaatcaggat attcttctaa tacctggaat gctgttttcc ctgggatcgc agtggtgagt
 10200
 aaccatgcat catcaggagt acggataaaa tgcttgatgg tcggaagagg cataaattcc
 10260
 gtcagccagt ttagtctgac catctcatct gtaacaacat tggcaacgct acctttgcc
 10320
 tgtttcagaa acaactctgg cgcacggggc ttcccatata atcggtagat tgcgcacct
 10380
 gattgcccga cattatcgcg agcccattta taccatata aatcagcatc catgttgga
 10440
 tttaatcgcg gccttgagca agacgtttcc cgttgaatat ggctcataac accccttgta
 10500
 ttactgttta tgtaagcaga cagttttatt gttcatgatg atatatattt atcttgatga
 10560
 atgtaacatc agagattttg agacacaacg tggctttgtt gaataaatcg aacttttgc
 10620
 gagtgaagg atcagatcac gcattctccc gacaacgcag accgttccgt ggcaaagcaa
 10680
 aagttcaaaa tcaccaactg gtccacctac aacaaagctc tcatcaaccg tggctccctc
 10740
 actttctggc tggatgatgg ggcgattcag gcgatcccca tccaacagcc cgcgctcag
 10800
 cgggcttttt tatccccgga agcctgtgga tagagggtag ttatccacgt gaaaccgcta
 10860
 atgccccgca aagccttgat tcacgggggt ttccggcccg ctocaaaaac tatccacgtg
 10920
 aaatcgctaa tcagggtacg tgaaatcgct aatcggagta cgtgaaatcg ctaataaggt
 10980
 cacgtgaaat cgctaataaa aaaggcacgt gagaacgcta atagccctt cagatcaaca
 11040
 gcttgcaaac acccctcgt ccggcaagta gttacagcaa gtagtatgtt caattagctt
 11100
 ttcaattatg aatatatata tcaattattg gtcgcccttg gcttggtggac aatgcgctac
 11160
 gcgcaccggc tccgcccgtg gacaaccgca agcgggttgc caccgtcag cgccagcgcc
 11220

ES 2 389 792 A1

tttggccaca acccggcggc cggcgcgaac agatcgtttt ataaatTTTT ttttttgaaa
11280

aagaaaaagc ccgaaaggcg gcaacctctc gggcttctgg atttccgac cccggaatta
11340

gagatcttgg caggatatat tgtggtgtaa ccgtctcacc ac
11382

<210> 27

<211> 1419

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Promotor y CDS de resistencia a kanamicina de plantas

<400> 27

ggctctcatgg catacatgag aattaaggga gtcacgttat gacccccgcc gatgacgcgg
60

gacaagccgt tttacgttcg gaactgacag aaccgcaacg ttgaaggagc cactgagccg
120

cgggtttctg gagtttaatg agctaagcac atacgtcaga aaccattatt gcgcgttcaa
180

aagtcgccta aggtcactat cagctagcaa atatttcttg tcaaaaatgc tccactgacg
240

ttccataaat tcccctcggc atccaattag agtctcatat tcaactctcaa ctcgatcgag
300

gcatgattga acaagatgga ttgcacgcag gttctccggc cgcttgggtg gagaggctat
360

tcggctatga ctgggcacaa cagacaatcg gctgctctga tgccgcctg ttccggctgt
420

cagcgcaggg gcgcccgggt ctttttgtca agaccgacct gtccgggtgcc ctgaatgaac
480

tccaagacga ggcagcgcgg ctatcgtggc tggccacgac gggcggttct tgccgagctg
540

tgctcgacgt tgtcactgaa gcgggaaggg actggctgct attgggcgaa gtgccggggc
600

aggatctcct gtcactcac cttgctcctg ccgagaaagt atccatcatg gctgatgcaa
660

tgccggcggt gcatacgttt gatccggcta cctgcccatt cgaccaccaa gcgaaacatc
720

gcatcgagcg agcacgtact cggatggaag ccggtcttgt cgatcaggat gatctggacg
780

aagagcatca ggggctcgcg ctagccgaac tgttcgccag gctcaaggcg cggatgcccg
840

acggcgagga tctcgtcgtg acccacggcg atgcctgctt gccgaatatc atggtggaaa
900

atggccgctt ttctggattc atcgactgtg gccggctggg tgtggcggac cgctatcagg

960

acatagcggtt ggctacccgt gatattgctg aagagcttgg cggcgaatgg gctgaccgct
1020

tcttcgtgct ttacgggtatc gccgctcccg attcgcagcg catcgcttc tategcttc
1080

ttgacgagtt cttctgagcg ggactctggg gttcggactc tagctagagt caagcagatc
1140

gttcaaacat ttggcaataa agtttcttaa gattgaatcc tgttgccggt cttgcgatga
1200

ttatcatata atttctgttg aattacgtta agcatgtaat aattaacatg taatgcatga
1260

cgttatttat gagatgggtt tttatgatta gagtcccgca attatacatt taatacgcga
1320

tagaaaacaa aatatagcgc gcaaactagg ataaattatc gcgcgcggtg tcatctatgt
1380

tactagatcg accggcatgc aagctgattg agtgagacc
1419

<210> 28

<211> 3697

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Promtor 35s

<400> 28

tcacgtctc accacactag agccaagctg atctccttg ccccgagat caccatggac
60

gactttctc atctctacga tctaggaaga aagttcgacg gagaaggatga cgataccatg
120

ttcaccaccg ataatgagaa gattagcctc ttcaatttca gaaagaatgc tgaccacag
180

atgggttagag aggcctacgc ggcaggtctg atcaagacga tctacccgag taataatctc
240

caggagatca aataccttc caagaagggt aaagatgcag tcaaaagatt caggactaac
300

tgcatacaga acacagagaa agatatattt ctcaagatca gaagtactat tccagtatgg
360

acgattcaag gcttgcttca taaaccaagg caagtaatag agattggagt ctctaagaaa
420

gtagttccta ctgaatcaaa ggccatggag tcaaaaattc agatcgagga tctaacagaa
480

ctcgccgtga agactggcga acagttcata cagagtcttt tacgactcaa tgacaagaag
540

aaaatcttcg tcaacatggt ggagcacgac actctcgtct actccaagaa tatcaaagat
600

ES 2 389 792 A1

acagtctcag aagaccaaag ggctattgag acttttcaac aaagggtaat atcgggaaac
 660
 ctcttcggat tccattgccc agctatctgt cacttcatca aaaggacagt agaaaaggaa
 720
 ggtggcacct acaaatgcca tcattgcgat aaaggaaagg ctatcggtca agatgcctct
 780
 gccgacagtg gtcccaaaga tggaccccca cccacgagga gcacgtgga aaaagaagac
 840
 gttccaacca cgtcttcaaa gcaagtggat tgatgtgata tctccactga cgtaagggat
 900
 gacgcacaat cccactatcc ttcgcaagac ccttcctcta tataaggaag ttcatttcat
 960
 ttggagagga ctccggtatt tttacaacaa taccacaaca aaacaaacaa caaacaacat
 1020
 tacaattttac tattctagtc gagatgggca cttcctctgt tttctacta ttccttcttt
 1080
 cttttcttct ccttctcccc tccctccttg cctgagacgt gcctgacagg atatattggc
 1140
 ggttaaaacta agtcgctgta tgtgtttgtt tgagatctca tgtgagcaaa aggccagcaa
 1200
 aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct ccgccccct
 1260
 gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac aggactataa
 1320
 agataccagg cgtttcccc tggaaagctc ctcgtgcgt ctctgttcc gaccctgccg
 1380
 cttaccggat acctgtccgc ctttctccct tcgggaagcg tggcgcttcc tcatagctca
 1440
 cgctgtaggt atctcagttc ggtgtaggtc gttcgtcca agctgggctg tgtgcacgaa
 1500
 cccccgcttc agcccgaccg ctgcgcctta tccggttaact atcgtcttga gtccaaccg
 1560
 gtaagacacg acttatcgcc actggcagca gccactggtg acaggattag cagagcgagg
 1620
 tatgtaggag gtgctacaga gttcttgaag tgggtggccta actacggcta cactagaaga
 1680
 acagtatttg gtatctgcgc tctgctgaag ccagttacct tcggaagaag agttggtagc
 1740
 tcttgatccg gcaaacaaac caccgctggt agcgggtggt tttttgtttg caagcagcag
 1800
 attacgcgca gaaaaaaagg atctcaagaa gatcctttga tcttttctac ggggtctgac
 1860
 gctcagtggg acgaaaactc acgttaaggg attttgggtca tgagattatc aaaaaggatc
 1920

ttcacctaga tccttttaaa ttaaaaatga agtttttaaat caatctaaag tatatatgtg
 1980
 taacattggg ctagtgatta gaaaaactca tcgagcatca aatgaaactg caatttattc
 2040
 atatcaggat tatcaatacc atatttttga aaaagccgtt tctgtaatga aggagaaaac
 2100
 tcaccgaggg agttccatag gatggcaaga tcctgggtatc ggtctgcgat tccgactcgt
 2160
 ccaacatcaa tacaacctat taatttcccc tcgtcaaaaa taagggtatc aagtgagaaa
 2220
 tcaccatgag tgacgactga atccgggtgag aatggcaaaa gtttatgcat ttctttccag
 2280
 acttggtcaa caggccagcc attacgctcg tcatcaaaat cactcgcac c aaccaaaccg
 2340
 ttattcatto gtgattgcgc ctgagcgagt cgaaatacgc gatcgctgtt aaaaggacaa
 2400
 ttacaaacag gaatcgaatg caaccggcgc aggaacactg ccagcgcac aacaatattt
 2460
 tcacctgaat caggatattc ttctaatacc tggaatgctg ttttccctgg gatcgagtg
 2520
 gtgagtaacc atgcatcac aggagtacgg ataaaatgct tgatggtcgg aagaggcata
 2580
 aattccgtca gccagtttag tctgaccac tcactctgtaa caacattggc aacgctacct
 2640
 ttgccatgtt tcagaaacaa ctctggcgca tcgggcttcc catacaatcg gtagattgtc
 2700
 gcacctgatt gcccgacatt atcgcgagcc catttatacc catataaatc agcatccatg
 2760
 ttggaattta atcgcggcct tgagcaagac gtttcccggt gaatatggct cataacaccc
 2820
 cttgtattac tgtttatgta agcagacagt tttattgttc atgatgatat atttttatct
 2880
 tgtgcaatgt aacatcagag attttgagac acaacgtggc tttgttgaat aaatcgaact
 2940
 ttgctgagt tgaaggatca gatcacgcac cttcccgcac acgcagaccg ttccgtggca
 3000
 aagcaaaagt tcaaaatcac caactggtcc acctacaaca aagctctcat caaccgtggc
 3060
 tcctcactt tctggctgga tgatggggcg attcaggcga tcccatcca acagcccgc
 3120
 gtcgagcggg cttttttatc cccggaagcc tgtggataga gggtagttat ccacgtgaaa
 3180
 ccgctaatagc cccgcaaagc cttgattcac ggggctttcc ggcccgctcc aaaaactatc
 3240

ES 2 389 792 A1

cacgtgaaat cgctaatacag ggtacgtgaa atcgctaatac ggagtacgtg aaatcgctaa
3300

taagggtcacg tgaaatcgct aatcaaaaag gcacgtgaga acgctaatac ccctttcaga
3360

tcaacagctt gcaaacaccc ctcgctccgg caagtagtta cagcaagtag tatgttcaat
3420

tagcttttca attatgaata tatatatcaa ttattggctg cccttggtt gtggacaatg
3480

cgctacgcgc accgggtccg cccgtggaca accgcaagcg gttgcccacc gtcgagcgcc
3540

agcgcttttg cccacaaccc ggcggccggc cgcaacagat cgtttttataa attttttttt
3600

ttgaaaaaga aaaagcccga aaggcggcaa cctctcgggc ttctggattt ccgatccccg
3660

gaattagaga tcttggcagg atatattgtg gtgtaac
3697

<210> 29

<211> 3419

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Precursor Pieza Region constante de la Cadena ligera lambda de
la

IgA fusionada con el terminador de la nopalina sintasa

<400> 29

tgctgacag gatataattgg cgggtaaaact aagtcgctgt atgtgtttgt ttgagatctc
60

atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggcgcggtt gctggcgttt
120

ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg
180

cgaaacccga caggactata aagataaccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc
240

tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttcgggaagc
300

gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt cgggtgtaggt cgttcgctcc
360

aagctgggct gtgtgcacga acccccgtt cagcccagacc gctgcgcctt atccggtaac
420

tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt
480

aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtgggtggcct
540

aactacggct acactagaag aacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc
600

ES 2 389 792 A1

ttcggaagaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcgggtggt
 660
 ttttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg
 720
 atcttttcta cgggggtctga cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gatttttggtc
 780
 atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa
 840
 tcaatctaaa gtatatatgt gtaacattgg tctagtgatt agaaaaactc atcgagcatc
 900
 aatgaaaact gcaatttatt catatcagga ttatcaatac catatttttg aaaaagccgt
 960
 ttctgtaatg aaggagaaaa ctcaccgagg cagttccata ggatggcaag atcctggtat
 1020
 cggctctgca ttccgactcg tccaacatca atacaaccta ttaatttccc ctcgtaaaaa
 1080
 ataagggttat caagtgagaa atcaccatga gtgacgactg aatccggtga gaatggcaaa
 1140
 agtttatgca tttctttcca gacttggtca acaggccagc cattacgctc gtcataaaaa
 1200
 tcactcgcat caaccaaacc gttattcatt cgtgattgcy cctgagcgag tcgaaatacy
 1260
 cgatcgctgt taaaaggaca attacaaaca ggaatcgaat gcaaccggcg caggaacact
 1320
 gccagcgcat caacaatatt ttcacctgaa tcaggatatt cttctaatac ctggaatgct
 1380
 gttttccctg ggatcgctgt ggtgagtaac catgcatcat caggagtacg gataaaatgc
 1440
 ttgatggtcg gaagaggcat aaattccgct agccagttaa gtctgacctc ctcatctgta
 1500
 acaacattgg caacgctacc tttgccatgt ttcagaaaca actctggcgc atcgggcttc
 1560
 ccatacaatc ggtagattgt cgcacctgat tgcccacat tatcgcgagc ccatttatac
 1620
 ccatataaat cagcatccat gttggaattt aatcgcggcc ttgagcaaga cgtttcccg
 1680
 tgaatatggc tcataacacc ccttgatta ctgtttatgt aagcagacag ttttattggt
 1740
 catgatgata tttttttatc ttgtgcaatg taacatcaga gattttgaga cacaacgtgg
 1800
 ctttggtgaa taaatcgaac ttttgctgag ttgaaggatc agatcacgca tcttcccgac
 1860
 aacgcagacc gttccgtggc aaagcaaaag ttcaaaatca ccaactggct cacctacaac
 1920

ES 2 389 792 A1

aaagctctca tcaaccgtgg ctccctcaact ttctggctgg atgatggggc gattcaggcg
1980

atccccatcc aacagcccg cgtcgagcgg gcttttttat ccccggaagc ctgtggatag
2040

agggtagtta tccacgtgaa accgctaata ccccgcaaag ccttgattca cggggctttc
2100

cggcccgtc caaaaactat ccacgtgaaa tcgctaata gggtagctga aatcgctaata
2160

cggagtacgt gaaatcgcta ataaggctac gtgaaatcgc taatcaaaaa ggcacgtgag
2220

aacgctaata gccctttcag atcaacagct tgcaaacacc cctcgctccg gcaagtagtt
2280

acagcaagta gtatgttcaa ttagcttttc aattatgaat atatatatca attattggtc
2340

gcccttggt tgtggacaat gcgctacgc caccggctcc gcccgaggac aaccgcaagc
2400

ggttgccac cgtcgagcgc cagcgcttt gccacaacc cggcgcccg ccgcaacaga
2460

tcgttttata aatttttttt tttgaaaaag aaaaagcccg aaaggcggca acctctcggg
2520

cttctggatt tccgatcccc ggaattagag atcttggcag gatataattgt ggtgtaactc
2580

atcgtctcaa ggtggtcaac caaaggccgc cccctctgtc actctgttcc cgccctctc
2640

tgaggagctc caagccaaca aggccacact agtgtgtctg atcagtgact tctaccggg
2700

agctgtgaca gtggcctgga aggcagatgg cagccccgtc aaggcgggag tggagacaac
2760

caaaccctcc aaacagagca acaacaagta cgcggccagc agctacctga gcctgacgcc
2820

cgagcagtg aagtcccaca gaagctacag ctgccaggtc acgcatgaag ggagcaccgt
2880

ggagaagaca gtggccccta cagaatgttc atgagggaat ggatcttcga tcccgatcgt
2940

tcaaacattt ggcaataaag tttcttaaga ttgaatcctg ttgccggtct tgcgatgatt
3000

atcatataat ttctgttgaa ttacgttaag catgtaataa ttaacatgta atgcatgacg
3060

ttatttatga gatgggtttt tatgattaga gtcccgcaat tatacattta atacgcgata
3120

gaaaacaaaa tatagcgcgc aaactaggat aaattatcgc gdcgggtgtc atctatgtta
3180

ctagatcggg aattgccaaag ctaattcttg aagacgaaag ggcctcgtga tacgcctatt
3240

ES 2 389 792 A1

tttataggtt aatgtcatga taataatggt ttcttagacg tcaggtggca cttttcgggg
3300

aaatgtgogc ggaacccta tttgtttatt ttcttaaata cattcaaata tgtatccgct
3360

catgagacaa taaccctgat aaatgcttca ataatgggac cgaotcgccg tctgagacg
3419

<210> 30

<211> 3422

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Precursor Pieza Region constante de la Cadena ligera kappa de
la

IgA fusionada con el terminador de la nopalina sintasa

<400> 30

tcatcgcttc aaggtaggac tggtgctgct ccatctgttt ttatttttcc accatctgat
60

gaacaactta aatctggaac tgcttctggt gtttgccttc ttaataattt ttatccaaga
120

gaagctaaag ttcaatggaa agttgataat gctcttcaat ctggaaattc tcaagaatct
180

gttactgaac aagattctaa agattctact tattctcttt cttctactct tactctttct
240

aaagctgatt atgaaaaaca taaagtttat gcttgtgaag ttactcatca aggactttct
300

tctccagtta ctaaattctt taatagagga gaatgttgag ggaatggatc ttcatcccg
360

atcgttcaaa catttggaac taaagtttct taagattgaa tctgttgcc ggtcttgcca
420

tgattatcat ataatttctg ttgaattacg ttaagcatgt aataattaac atgtaatgca
480

tgacgttatt tatgagatgg gtttttatga ttagagtccc gcaattatac atttaatacg
540

cgatagaaaa caaatatag cgcgcaaact aggataaatt atcgcgcdcg gtgtcatcta
600

tgttactaga tcgggaattg ccaagctaatt tcttgaagac gaaagggcct cgtgatacgc
660

ctatttttat aggttaatgt catgataata atggtttctt agacgtcagg tggcactttt
720

cggggaaatg tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct aaatacatc aaatatgtat
780

ccgtcatga gacaataacc ctgataaatg cttcaataat gggaccgact cgccgtctga
840

gacgtgcctg acaggatata ttggcgggta aactaagtcg ctgtatgtgt ttgtttgaga
900

ES 2 389 792 A1

tctcatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg cgttgctggc
 960
 gtttttccat aggctccgcc cccctgacga gcatcacaaa aatcgacgct caagtcagag
 1020
 gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcgttt ccccttgga gctccctcgt
 1080
 gcgctctcct gttccgacct tgccgcttac cggatacctg tccgccttcc tcccttcggg
 1140
 aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg taggtatctc agttcgggtg aggtcgttcg
 1200
 ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc cgttcagccc gaccgctgcg ctttatccgg
 1260
 taactatcgt cttgagtcca acccggttaag acacgactta tcgccactgg cagcagccac
 1320
 tggtaacagg attagcagag cgaggatatgt aggcgggtgct acagagttct tgaagtgggtg
 1380
 gcctaactac ggctacacta gaagaacagt atttggtatc tgcgctctgc tgaagccagt
 1440
 taccttcgga agaagagttg gtagctcttg atccggcaaa caaaccaccg ctggtagcgg
 1500
 tggttttttt gtttgcaagc agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc
 1560
 tttgatcttt tctacggggg ctgacgctca gtggaacgaa aactcacgtt aagggatttt
 1620
 ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac ctagatcctt tttaaattaaa aatgaagttt
 1680
 taaatcaatc taaagtatat atgtgtaaca ttgggtctagt gattagaaaa actcatcgag
 1740
 catcaaataa aactgcaatt tattcatatc aggattatca ataccatatt tttgaaaaag
 1800
 ccgtttctgt aatgaaggag aaaactcacc gaggcagttc cataggatgg caagatcctg
 1860
 gtatcgggtc gcgattccga ctcgctccac atcaatacaa cctattaatt tccctcgtc
 1920
 aaaaataagg ttatcaagtg agaaatcacc atgagtgcg actgaatccg gtgagaatgg
 1980
 caaaagttta tgcatttctt tccagacttg ttcaacaggc cagccattac gctcgtcatc
 2040
 aaaatcactc gcatcaacca aaccgttatt cattcgtgat tgcgcctgag cgagtcgaaa
 2100
 tacgcgatcg ctgttaaaaag gacaattaca aacaggaatc gaatgcaacc ggcgagga
 2160
 cactgccagc gcatcaacaa tattttcacc tgaatcagga tattcttcta atacctggaa
 2220

ES 2 389 792 A1

tgctgttttc cctgggatcg cagtgggtgag taaccatgca tcatcaggag tacggataaa
 2280
 atgcttgatg gtcggaagag gcataaattc cgtcagccag tttagtctga ccatctcatc
 2340
 tgtaacaaca ttggcaacgc tacctttgcc atgtttcaga aacaactctg gcgcatcggg
 2400
 cttcccatat aatcggtaga ttgtcgcacc tgattgcccg acattatcgc gagccattt
 2460
 atacccatat aaatcagcat ccatgttgga atttaatcgc ggccttgagc aagacgtttc
 2520
 ccgttgaata tggctcataa cacccttgt attactgttt atgtaagcag acagttttat
 2580
 tgttcatgat gatataat tttctgtgc aatgtaacat cagagatttt gagacacaac
 2640
 gtggctttgt tgaataaatc gaacttttgc tgagttgaag gatcagatca cgcattctcc
 2700
 cgacaacgca gaccgttccg tggcaaagca aaagtcaaaa atcaccaact ggtccaccta
 2760
 caacaaagct ctcatcaacc gtggctccct cactttctgg ctggatgatg gggcgattca
 2820
 ggcgatcccc atccaacagc ccgccgtcga gcgggctttt ttatccccgg aagcctgtgg
 2880
 atagagggta gttatccacg tgaaaccgct aatgccccgc aaagccttga ttcacggggc
 2940
 tttccggccc gctccaaaaa ctatccacgt gaaatcgcta atcagggtag gtgaaatcgc
 3000
 taatcggagt acgtgaaatc gctaataagg tcacgtgaaa tcgctaataa aaaaggcacg
 3060
 tgagaacgct aatagccctt tcagatcaac agcttgcaaa caccctcgc tccggcaagt
 3120
 agttacagca agtagtatgt tcaattagct tttcaattat gaatatatat atcaattatt
 3180
 ggtcgccctt ggcttgtgga caatgcgcta cgcgcaccgg ctccgccctg ggacaaccgc
 3240
 aagcgggttg ccaccgtcga gcgccagcgc ctttgccac aaccggcgcg ccggccgcaa
 3300
 cagatcgttt tataaatttt ttttttgaa aaagaaaaag cccgaaaggc ggcaacctct
 3360
 cgggcttctg gatttccgat ccccggaatt agagatcttg gcaggatata ttgtggtgta
 3420
 ac
 3422

<210> 31
 <211> 4168

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Precursor Pieza Region constante de la Cadena pesada alfa 1 de la
 IgA fusionada con el terminador de la nopalina sintasa

<400> 31
 tgccctgacag gatatatattgg cgggtaaact aagtcgctgt atgtgtttgt ttgagatctc
 60
 atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgctt gctggcgctt
 120
 ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagagggtg
 180
 cgaaacccga caggactata aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgctgcgc
 240
 tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttccggaagc
 300
 gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt cgggtgtaggt cgttcgctcc
 360
 aagctgggct gtgtgcacga acccccgcgtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac
 420
 tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt
 480
 aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct
 540
 aactacggct acactagaag aacagtatctt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc
 600
 ttccggaagaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcgggtggt
 660
 ttttttggtt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg
 720
 atcttttcta cgggggtctga cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gattttggct
 780
 atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa
 840
 tcaatctaaa gtatatatgt gtaacattgg tctagtgtt agaaaaactc atcgagcatc
 900
 aaatgaaact gcaatttatt catatcagga ttatcaatac catatttttg aaaaagccgt
 960
 ttctgtaatg aaggagaaaa ctcaccgagg cagttccata ggatggcaag atcctgggtat
 1020
 cggctctgca ttccgactcg tccaacatca atacaacctt ttaattttcc ctcgtcaaaa
 1080
 ataaggttat caagtgagaa atcaccatga gtgacgactg aatccggtga gaatggcaaa
 1140

ES 2 389 792 A1

agtttatgca tttctttcca gacttggtca acaggccagc cattacgctc gtcacaaaa
 1200
 tcaactcgcat caaccaaacc gttattcatt cgtgattgag cctgagcgag tcgaaatacg
 1260
 cgatcgctgt taaaaggaca attacaaaca ggaatcgaat gcaaccggcg caggaacact
 1320
 gccagcgcat caacaatatt ttcacctgaa tcaggatatt cttctaatac ctggaatgct
 1380
 gttttccctg ggatcgagc ggtgagtaac catgcatcat caggagtacg gataaaatgc
 1440
 ttgatggctg gaagaggcat aaattccgct agccagttaa gtctgacctc ctcatctgta
 1500
 acaacattgg caacgctacc tttgccatgt ttcagaaaca actctggcgc atcgggcttc
 1560
 ccatacaatc ggtagattgt cgcacctgat tgcccagacat tatcgcgagc ccatttatac
 1620
 ccatataaat cagcatccat gttggaattt aatcgcgcc ttgagcaaga cgtttcccg
 1680
 tgaatatggc tcataacacc ccttgattta ctgtttatgt aagcagacag ttttattggt
 1740
 catgatgata tatttttatc ttgtgcaatg taacatcaga gattttgaga cacaacgtgg
 1800
 ctttggtgaa taaatcgaac ttttgctgag ttgaaggatc agatcacgca tcttcccgac
 1860
 aacgcagacc gttccgtggc aaagcaaaag ttcaaaatca ccaactggc cacctacaac
 1920
 aaagctctca tcaaccgtgg ctcctcact ttctggctgg atgatggggc gattcaggcg
 1980
 atccccatcc aacagccgc cgtcgagcgg gcttttttat ccccggaagc ctgtggatag
 2040
 agggtagtta tccacgtgaa accgctaatt ccccgcaaag ccttgattca cggggctttc
 2100
 cggcccgctc caaaaactat ccacgtgaaa tcgctaatac gggtacgtga aatcgctaata
 2160
 cggagtacgt gaaatcgcta ataaggctac gtgaaatcgc taatcaaaaa ggcacgtgag
 2220
 aacgctaata gccctttcag atcaacagct tgcaaacacc cctcgctccg gcaagtagtt
 2280
 acagcaagta gtatgttcaa ttagcttttc aattatgaat atatatatca attattggct
 2340
 gcccttggct tgtggacaat gcgctacgc caccggctcc gccgtggac aaccgcaagc
 2400
 ggttgccac cgtcgagcgc cagcgcttt gccacaacc cggcgccgg ccgcaacaga
 2460

ES 2 389 792 A1

tcgttttata aatttttttt tttgaaaaag aaaaagcccg aaaggcggca acctctcggg
2520

cttctggatt tccgatcccc ggaattagag atcttggcag gatataattgt ggtgtaactc
2580

atcgtctcag catccccgac cagccccaag gtcttcccgc tgagcctctg cagcaccacg
2640

ccagatggga acgtggcat cgctgcctg gtccagggct tcttccccca ggagccactc
2700

agtgtgacct ggagcgaaag cggacagggc gtgaccgcca gaaacttccc acccagccag
2760

gatgcctccg gggacctgta caccacgagc agccagctga ccctgccggc cacacagtgc
2820

ctagccggca agtccgtgac atgccacgtg aagcactaca ogaatcccag ccaggatgtg
2880

actgtgccct gccagttcc ctcaactcca cctaccccat ctccctcaac tccacctacc
2940

ccatctocct catgctgcc ccccgactg tcaactgcacc gaccggccct tgaggacctg
3000

ctcttaggtt cagaagcgaa cctcacgtgc acaactgaccg gcctgagaga tgctcaggt
3060

gtcaccttca cctggacgcc ctcaagtggg aagagcgtg ttcaaggacc acctgagcgt
3120

gacctctgtg gctgctacag cgtgtccagt gtcttgcggg gctgtgccga gccttggaat
3180

catgggaaga ccttcacttg cactgctgcc taccctcagt ccaagacccc gctaaccgcc
3240

acctctcaa aatccgaaa cacattccgg cccgaggtcc acctgctgcc gccgccgtcg
3300

gaggagctgg ccctgaacga gctggtgacg ctgacgtgcc tggcacgtgg cttcagcccc
3360

aaggatgtgc tggttcgctg gctgcagggg tcacaggagc tgccccgcga gaagtacctg
3420

acttgggcat cccggcagga gccagccag ggcaccacca ccttcgctgt gaccagcata
3480

ctgcgcgtgg cagccgagga ctggaagaag ggggacacct tctcctgcat ggtgggccac
3540

gaggccctgc cgctggcctt cacacagaag accatcgacc gcttggcggg taaaccacc
3600

catgtcaatg tgtctgtgt catggcggag gtggacggca cctgctacaa ggacgaactc
3660

tgagggaatg gatcttcgat cccgatcggt caaacatttg gcaataaagt ttcttaagat
3720

tgaatcctgt tgccggctct gcgatgatta tcatataatt tctgttgaat tacgttaagc
3780

ES 2 389 792 A1

atgtaataat taacatgtaa tgcacgacgt tatatatgag atgggttttt atgattagag
3840

tcccgaatt atacatttaa tacgcatag aaaacaaaat atagcgcgca aactaggata
3900

aattatcgcg cdccgtgtca tctatgttac tagatcggga attgccaagc taattcttga
3960

agacgaaagg gcctcgtgat acgcctatct ttataggcta atgtcatgat aataatgggt
4020

tcttagacgt cagggtggcag ttttcgggga aatgtgcgcg gaacccttat ttgtttatct
4080

ttctaaatac attcaaatac gtatccgctc atgagacaat aaccctgata aatgcttcaa
4140

taatgggacc gactcgcctg ctgagacg
4168

<210> 32

<211> 4120

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Precursor Pieza Region constante de la Cadena pesada alfa2 de
la

IgA fusionada con el terminador de la nopalina sintasa

<400> 32

tcacgtctc agcatgcatc cccgaccagc cccaaggctt tcccgtgag cctcgacagc
60

accccccaag atgggaacgt ggtcgtcgca tgccctggcc agggcttctt ccccaggag
120

ccactcagtg tgacctggag cgaaagcgga cagaacgtga ccgccagaaa cttccacct
180

agccaggatg cctccgggga cctgtacacc acgagcagcc agctgacct gccggccaca
240

cagtgtccag acggcaagtc cgtgacatgc cacgtgaagc actacacgaa tcccagccag
300

gatgtgaactg tgccctgccc agttccccca cttcccccat gctgccacc cgcactgtcg
360

ctgcaccgac cggccctcga ggacctgctc ttaggttcag aagcgaacct cacgtgcaca
420

ctgaccggcc tgagagatgc ctctggtgcc accttcacct ggacgcctc aagtgggaag
480

agcgtgttc aaggaccacc tgagcgtgac ctctgtggct gctacagcgt gtccagtgtc
540

ctgcctggct gtgcccagcc atggaacct ggggaaacct tcacctgcac tgctgccac
600

cccagttga agacccact aaccgccaac atcacaaaat ccggaaacac attccggccc
660

ES 2 389 792 A1

gaggtccacc tgctgccgcc gccgtcggag gagctggccc tgaacgagct ggtgacgctg
 720
 acgtgcctgg cacgtggctt cagccccaag gatgtgctgg ttcgctggct gcaggggtca
 780
 caggagctgc cccgcgagaa gtacctgact tgggcatccc ggcaggagcc cagccagggc
 840
 accaccacct tcgctgtgac cagcactactg cgcgtggcag ccgaggactg gaagaagggg
 900
 gacaccttct cctgcatggt gggccacgag gccctgccgc tggccttcac acagaagacc
 960
 atcgaccgct tggcgggtaa acccaccat gtcaatgtgt ctgttgtcat ggcggaggtg
 1020
 gacggcacct gctatgaggg aatggatctt cgatcccgat cgttcaaaca tttggcaata
 1080
 aagtttctta agattgaatc ctgttgccgg tcttgcatg attatcatat aatttctgtt
 1140
 gaattacgtt aagcatgtaa taattaacat gtaatgcatg acgttattta tgagatgggt
 1200
 ttttatgatt agagtcgccg aattatacat ttaatacgcg atagaaaaca aaatatagcg
 1260
 cgcaaactag gataaattat cgcgcdcggt gtcactctatg ttactagatc gggaaattgcc
 1320
 aagctaattc ttgaagacga aagggcctcg tgatacgctt atttttatag gttaatgtca
 1380
 tgataataat ggtttcttag acgtcaggtg gcacttttcg gggaaatgtg cgcggaaccc
 1440
 ctatttgttt atttttctaa atacattcaa atatgtatcc gtcctatgaga caataaccct
 1500
 gataaatgct tcaataatgg gaccgactcg ccgtctgaga cgtgcctgac aggatatatt
 1560
 ggcgggtaaa ctaagtcgct gtatgtgttt gtttgagatc tcatgtgagc aaaaggccag
 1620
 caaaaggcca ggaaccgtaa aaaggccgcg ttgctggcgt ttttccatag gtcgccccc
 1680
 cctgacgagc atcacaaaaa tcgacgctca agtcagaggt ggcgaaaccc gacaggacta
 1740
 taaagatacc aggcgtttcc ccctggaagc tccctcgtgc gctctcctgt tccgaccctg
 1800
 ccgcttaccg gatacctgtc cgcctttctc ccttcgggaa gcgtggcgct ttctcatagc
 1860
 tcacgctgta ggtatctcag ttcggtgtag gtcgttcgct ccaagctggg ctgtgtgcac
 1920
 gaaccccccg ttcagccgca ccgctgcgcc ttatccggta actatcgtct tgagtccaac
 1980

ES 2 389 792 A1

ccggttaagac acgacttatc gccactggca gcagccactg gtaacaggat tagcagagcg
 2040
 aggtatgtag gcggtgctac agagttcttg aagtgggtggc ctaactacgg ctacactaga
 2100
 agaacagtat ttggtatctg cgctctgctg aagccagtta ccttcggaag aagagttggt
 2160
 agctcttgat ccggcaaaca aaccaccgct ggtagcgggtg gtttttttgt ttgcaagcag
 2220
 cagattacgc gcagaaaaaa aggatctcaa gaagatcctt tgatcttttc tacgggggtct
 2280
 gacgctcagt ggaacgaaaa ctcacgttaa gggattttgg tcatgagatt atcaaaaagg
 2340
 atcttcacct agatcctttt aaattaaaaa tgaagtttta aatcaatcta aagtatatat
 2400
 gtgtaacatt ggtctagtga ttagaaaaac tcatcgagca tcaaatgaaa ctgcaattta
 2460
 ttcatatcag gattatcaat accatatttt tgaaaaagcc gtttctgtaa tgaaggagaa
 2520
 aactcaccga ggcagttcca taggatggca agatcctggt atcgggtctgc gattccgact
 2580
 cgtccaacat caatacaacc tattaatttc cctcgtcaa aaataagggt atcaagtgag
 2640
 aaatcaccat gagtgacgac tgaatccggt gagaatggca aaagtttatg catttctttc
 2700
 cagacttggt caacaggcca gccattacgc tcgtcatcaa aatcactcgc atcaaccaa
 2760
 ccgttattca ttcgtgattg cgctgagcg agtcgaaata cgcgatcgtt gttaaaagga
 2820
 caattacaaa caggaatcga atgcaaccgg cgcaggaaca ctgccagcgc atcaacaata
 2880
 ttttcacctg aatcaggata ttcttctaata acctggaatg ctgttttccc tgggatcgca
 2940
 gtggtgagta accatgcatc atcaggagta cggataaaat gcttgatggt cggaagaggc
 3000
 ataaattccg tcagccagtt tagtctgacc atctcatctg taacaacatt ggcaacgcta
 3060
 cctttgccat gtttcagaaa caactctggc gcatcgggct tccatacaa tcggtagatt
 3120
 gtgcacctg attgcccagc attatcgca gcccatatat acccatataa atcagcatcc
 3180
 atgttggaaat ttaatcgcg ccttgagcaa gacgtttccc gttgaatatg gctcataaca
 3240
 ccccttgat tactgtttat gtaagcagac agttttattg ttcattgatga tatattttta
 3300

ES 2 389 792 A1

tcttgtgcaa tgtaacatca gagattttga gacacaacgt ggctttgttg aataaatcga
3360

acttttgctg agttgaagga tcagatcacg catcttcccg acaacgcaga ccgttccgtg
3420

gcaaagcaaa agttcaaaat caccaactgg tccacctaca acaaagctct catcaaccgt
3480

ggctccctca ctttctgggt ggatgatggg gcgattcagg cgatcccat ccaacagccc
3540

gccgtcgagc gggctttttt atccccggaa gcctgtggat agagggtagt tatccacgtg
3600

aaaccgctaa tgccccgcaa agccttgatt cacggggctt tccggcccg cccaaaaact
3660

atccacgtga aatcgcta atcagggtacgt gaaatcgcta atcggagtag gtgaaatcgc
3720

taataaggct acgtgaaatc gctaataaaa aaggcacgtg agaacgctaa tagcccttc
3780

agatcaacag cttgcaaaca cccctcgctc cggcaagtag ttacagcaag tagtatgttc
3840

aattagcttt tcaattatga atatatatat caattattgg tcgcccttgg cttgtggaca
3900

atgcgctacg cgcaccgggt cgcgccgtgg acaaccgcaa gcggttgccc accgtcgagc
3960

gccagcgctt ttgcccacaa cccggcgggc ggccgcaaca gatcgtttta taaatttttt
4020

tttttgaaaa agaaaaagcc cgaaaggcgg caacctctcg ggcttctgga tttccgatcc
4080

ccggaattag agatcttggc aggatattatt gtggtgtaac
4120

<210> 33

<211> 352

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Precursor pieza region variable de la cadena ligera del scFv_2A1

<400> 33

cccgtctcat gcctcttctg agctgactca ggacctgct gtgtctgtgg ccttgggaca
60

gacagtcagg atcacatgcc aaggagacag cctcagaagc tattatgcaa gctggtacca
120

gcagaagcca ggacaggccc ctgtacttgt catctatggt aaaaacaacc ggccctcagg
180

gatcccagac cgattctctg gctccagctc aggaacacaca gcttccttga ccatcactgg
240

ggctcaggcg gaagatgagg ctgactatta ctgtaactcc cgggacagca gtggtaacca

ES 2 389 792 A1

300

tgatttggtta ttccggcggag ggaccaagct gaccgtccta ggttgagacg gg
352

<210> 34
<211> 371
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Precursor pieza region variable de la cadena pesada del scFv_2A1

<400> 34
cccgtctcat gccaggtgc agctgttgca gtctgcagca gaggtgaaaa agcccgggga
60

gtctctgaag atctcctgta agggttcttg atacagcttt accagctact ggatcggctg
120

ggtgcgccag atgcccggga aaggcctgga gtggatgggg atcatctatc ctggtgactc
180

tgataccga tacagccgt ccttccaagg ccaggtcacc atctcagccg acaagtccat
240

cagcaccgcc tacctgcagt ggagcagcct gaaggcctcg gacacggccg tgtattactg
300

tgcaagatat aggcggaata cttttgacta ttggggccaa ggtagcctgg tcaccgtcgc
360

attgagacgg g
371

<210> 35
<211> 5940
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Vector de expresion de la cadena pesada alfa 1 de la inmunoglobulina A humana

<400> 35
cgtcgatgag agacctgaca ggatatattg gcgggtaaac taagtcgctg tatgtgtttg
60

tttgagatct catgtgagca aaaggccagc aaaaggccag gaaccgtaaa aaggccgcgt
120

tgctggcggtt tttccatagg ctccgcccc ctgacgagca tcacaaaaat cgacgctcaa
180

gtcagaggtg gcgaaacccg acaggactat aaagatacca ggcgtttccc cctggaagct
240

ccctcgtgcg ctctcctggt ccgaccctgc cgcttaccgg atacctgtcc gcctttctcc
300

cttcgggaag cgtggcgctt tctcatagct caccgtgtag gtatctcagt tcggtgtagg
360

ES 2 389 792 A1

tcgttcgctc caagctgggc tgtgtgcacg aaccccccg tccagccgac cgctgcgcct
420

tatccggtaa ctatcgtctt gagtccaacc cggtaagaca cgacttatcg ccaactggcag
480

cagccactgg taacaggatt agcagagcga ggtatgtagg cgggtgctaca gaggttcttga
540

agtgggtggc taactacggc tacactagaa gaacagtatt tggatatctgc gctctgctga
600

agccagttac cttcggaaga agagttggta gctcttgatc cggcaaacaa accaccgctg
660

gtagcgggtg tttttttggt tgcaagcagc agattacgcg cagaaaaaaaa ggatctcaag
720

aagatccttt gatcttttct acgggggtctg acgctcagtg gaacgaaaac tcacgttaag
780

ggattttggt catgagatta tcaaaaagga tcttcaccta gatcctttta aattaaaaat
840

gaagttttta atcaatctaa agtatatatg tgtaacattg gtctagtgat tatttgccga
900

ctaccttggg gatctcgctt ttcaacgtagt ggacaaaattc ttccaactga tctgcgcgcg
960

aggccaagcg atcttcttct tgtccaagat aagcctgtct agcttcaagt atgacgggct
1020

gatactgggc cggcaggcgc tccattgccc agtcggcagc gacatccttc ggcgcgattt
1080

tgccgggttac tgcgctgtac caaatgcggg acaacgtaag cactacattt cgctcatcgc
1140

cagcccagtc gggcggcgag ttccatagcg ttaaggtttc atttagcgcc tcaaatagat
1200

cctgttcagg aaccggatca aagagttcct ccgccgctgg acctaccaag gcaacgctat
1260

gttctcttgc ttttgtcagc aagatagcca gatcaatgtc gatcgtggct ggctcgaaga
1320

tacctgcaag aatgtcattg cgctgccatt ctccaaattg cagttcgcgc ttagctggat
1380

aacgccacgg aatgatgtcg tcgtgcacaa caatggtgac ttctacagcg cggagaatct
1440

cgctctctcc aggggaagcc gaagtttcca aaaggctcgtt gatcaaagct cgccgcgttg
1500

tttcatcaag ccttacggtc accgtaacca gcaaatcaat atcactgtgt ggcttcaggc
1560

cgccatccac tgccggagccg tacaaatgta cggccagcaa cgtcgggttc agatggcgct
1620

cgatgacgcc aactacctct gatagttgag tcgatacttc ggcgatcacc gcttccctca
1680

ES 2 389 792 A1

tgatgtttta ctttgtttta gggcgactgc cctgctgcgt aacatcgttg ctgctccata
1740

acatcaaaca tcgaccacg gcgtaacgcg cttgctgctt ggatgcccga ggcatagact
1800

gtaccccaaa aaaacagtca taacaagcca tgaaaaccgc cactgcgcgcg ttaccaccgc
1860

tgcgttcggg caagggtctg gaccagttgc gtgagcgcat acgctacttg cttacagct
1920

tacgaaccga acaggcttat gtccactggg ttcgtgcctt catccgtttc cacgggtgtgc
1980

gtcaccgggc aaccttgggc agcagcgaag tcgaggcatt tctgtcctgg ctggaacacc
2040

ccttgattta ctgtttatgt aagcagacag ttttattgtt catgatgata tatttttatc
2100

ttgtgcaatg taacatcaga gatcttgaga cacaacgtgg ctttggtgaa taaatcgaac
2160

ttttgctgag ttgaaggatc agatcacgca tcttcccgac aacgcagacc gttccgtggc
2220

aaagcaaaaag ttcaaaatca ccaactgggc cacctacaac aaagctctca tcaaccgtgg
2280

ctccctcaact ttctggctgg atgatggggc gattcaggcg atccccatcc aacagccgc
2340

cgtcgagcgg gcttttttat ccccggaagc ctgtggatag agggtagtta tccacgtgaa
2400

accgctaatt ccccgcaaag ccttgattca cggggctttc cggcccgcgc caaaaactat
2460

ccacgtgaaa tcgctaata gggtagctga aatcgctaata cggagtagct gaaatcgcta
2520

ataaggctcac gtgaaatcgc taatcaaaaa ggcacgtgag aacgctaata gccctttcag
2580

atcaacagct tgcaaacacc cctcgctccg gcaagtagtt acagcaagta gtatgttcaa
2640

ttagcttttc aattatgaat atatatatca attattgggc gcccttggct tgtggacaat
2700

gcgctacgcg caccggctcc gcccgtagac aaccgcaagc ggttgcccac cgtcgagcgc
2760

cagcgctttt gccacaacc cggcgggcgg cgcgaacaga tcgttttata aatttttttt
2820

tttgaaaaag aaaaagcccg aaaggcggca acctctcggg cttctggatt tccgatcccc
2880

ggaattagag atcttggcag gatattattgt ggtgtaacgg tctcttggcc cactactagag
2940

ccaagctgat ctcttttgcc ccggagatca ccatggacga ctttctctat ctctacgatc
3000

ES 2 389 792 A1

taggaagaaa gttcgacgga gaaggtgacg ataccatggt caccaccgat aatgagaaga
 3060
 ttagcctctt caatttcaga aagaatgctg acccacagat ggtagagag gcctacgcgg
 3120
 caggtctgat caagacgatc taccgagta ataatctcca ggagatcaaa taccttccca
 3180
 agaaggttaa agatgcagtc aaaagattca ggactaactg catcaagaac acagagaaaag
 3240
 atatatttct caagatcaga agtactattc cagtatggac gattcaaggc ttgcttcata
 3300
 aaccaaggca agtaatagag attggagtct ctaagaaagt agttcctact gaatcaaagg
 3360
 ccatggagtc aaaaattcag atcgaggatc taacagaact cgccgtgaag actggcgaac
 3420
 agttcataca gagtctttta cgactcaatg acaagaagaa aatcttcgtc aacatgggtg
 3480
 agcacgacac tctcgtctac tccaagaata tcaaagatac agtctcagaa gaccaaaggg
 3540
 ctattgagac ttttcaacaa agggtaatat cgggaaacct cctcggattc cattgcccag
 3600
 ctatctgtca cttcatcaaa aggacagtag aaaaggaagg tggcacctac aaatgccatc
 3660
 attgcgataa aggaaaggct atcgttcaag atgcctctgc cgacagtggg cccaagatg
 3720
 gacccccacc cagcaggagc atcggtgaaa aagaagacgt tccaaccacg tcttcaaagc
 3780
 aagtggattg atgtgatatc tccactgacg taagggatga cgcacaatcc cactatcctt
 3840
 cgcaagaccc ttcctctata taaggaagtt catttcattt ggagaggact ccggtatttt
 3900
 tacaacaata ccacaacaaa acaacaaca aacaacatta caatttacta ttctagtcga
 3960
 cctgcaggcg gccgcactag tgatatcgat gggcacttcc tctgtttttc tactattcct
 4020
 tctttctttt cttctccttc tcccgccct ccttgcccag gtgcagctgt tgcagtctgc
 4080
 agcagagggtg aaaaagcccg gggagtctct gaagatctcc tgtaagggtt ctggatacag
 4140
 ctttaccagc tactggatcg gctgggtgcg ccagatgccc gggaaaggcc tggagtggat
 4200
 ggggatcacc tatcctgggtg actctgatac ccgatacagc ccgtccttcc aaggccaggt
 4260
 caccatctca gccgacaagt ccatcagcac cgcctacctg cagtggagca gcctgaaggc
 4320

ES 2 389 792 A1

ctcggacacg gccgtgtatt actgtgcaag atataggcgg aatacttttg actattgggg
4380

ccaaggtagc ctggtcaccg tcgcatcccc gaccagcccc aaggctttcc cgctgagcct
4440

ctgcagcacc cagccagatg ggaacgtggc catcgctgc ctggtcagg gcttcttccc
4500

ccaggagcca ctcagtgtga cctggagcga aagcggacag ggcgtgaccg ccagaaactt
4560

cccaccacgc caggatgcct ccggggacct gtacaccacg agcagccagc tgacctgcc
4620

ggccacacag tgcctagccg gcaagtccgt gacatgccac gtgaagcact acacgaatcc
4680

cagccaggat gtgactgtgc cctgcccagt tccctcaact ccacctacc catctccctc
4740

aactccacct accccatctc cctcatgctg ccacccccga ctgtcactgc accgaccggc
4800

ccttgaggac ctgctcttag gttcagaagc gaacctcacg tgcacactga ccggcctgag
4860

agatgcctca ggtgtcacct tcacctggac gcctcaagt ggggaagagc ctgttcaagg
4920

accacctgag cgtgacctct gtggctgcta cagcgtgtcc agtgtcctgc cgggctgtgc
4980

cgagccttgg aatcatggga agaccttcac ttgcaactgt gcctaccccg agtccaagac
5040

cccgctaacc gccaccctct caaaatccgg aaacacattc cggcccagg tccacctgt
5100

gccgccgcgc tcggaggagc tggccctgaa cgagctggcg acgctgacgt gcctggcacg
5160

tggcttcagc cccaaggatg tgctggctcg ctggctgcag gggtcacagg agctgccccg
5220

cgagaagtac ctgacttggg catcccggca ggagcccagc cagggcacca ccaccttgc
5280

tgtgaccagc atactgcgcg tggcagccga ggactggaag aagggggaca ccttctctg
5340

catggtgggc cagaggccc tgcgctggc cttcacacag aagaccatcg accgcttggc
5400

gggtaaacc acccatgtca atgtgtctgt tgtcatggcg gaggtggacg gcacctgcta
5460

caaggacgaa ctctgagggg atggatcttc gatcccgatc gttcaaaca ttggcaataa
5520

agtttcttaa gattgaatcc tgttgccggt cttgcgatga ttatcatata atttctgtg
5580

aattacgtta agcatgtaat aattaacatg taatgcatga cgttatttat gagatgggtt
5640

ES 2 389 792 A1

tttatgatta gagtcccgca attatacatt taatacgcga tagaaaacaa aatatagcgc
5700

gcaaactagg ataaattatc gcgcdcggtg tcattctatgt tactagatcg ggaattgcca
5760

agctaattct tgaagacgaa agggcctcgt gatacgccta tttttatagg ttaatgtcat
5820

gataataatg gtttcttaga cgtcagggtg cacttttcgg ggaaatgtgc gcggaacccc
5880

tatttgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac aataaccctg
5940

<210> 36

<211> 5896

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Vector de expresion de la cadena pesada alfa 2 de la
inmunoglobulina A humana

<400> 36

ccacactaga gccaaagctga tctcctttgc cccggagatc accatggacg actttctcta
60

tctctacgat ctaggaagaa agttcgacgg agaaggtgac gataccatgt tcaccaccga
120

taatgagaag attagcctct tcaatttcag aaagaatgct gaccacaga tggtagaga
180

ggcctacgcg gcaggctctga tcaagacgat ctacccgagt aataatctcc aggagatcaa
240

ataccttccc aagaaggta aagatgcagt caaaagattc aggactaact gcatcaagaa
300

cacagagaaa gatataatttc tcaagatcag aagtactatt ccagtatgga cgattcaagg
360

cttgcttcat aaaccaaggc aagtaataga gattggagtc tctaagaaag tagttcctac
420

tgaatcaaag gccatggagt caaaaattca gatcgaggat ctaacagaac tcgccgtgaa
480

gactggcgaa cagttcatac agagtctttt acgactcaat gacaagaaga aaatcttcgt
540

caacatggtg gagcacgaca ctctcgtcta ctccaagaat atcaaagata cagtctcaga
600

agaccaaagg gctattgaga cttttcaaca aagggttaata tcgggaaacc tcctcggatt
660

ccattgcccga gctatctgtc acttcatcaa aaggacagta gaaaaggaag gtggcaccta
720

caaatgccat cattgcgata aaggaaaggc tatcgttcaa gatgcctctg ccgacagtgg
780

tcccaaagat ggacccccac ccacgaggag catcgtggaa aaagaagacg ttccaaccac

840

gtcttcaaag caagtggatt gatgtgatat ctccactgac gtaagggatg acgcacaatc
900

ccactatcct tcgcaagacc ctctctctat ataaggaagt tcattttcatt tggagaggac
960

tccggtatatt ttacaacaat accacaacaa aacaaacaac aaacaacatt acaatttact
1020

attctagtctg agatggggcac ttctctgtt tttctactat tccttctttc ttttcttctc
1080

cttctcccggt cctccttgc ccaggtgcag ctgttgagc ctgcagcaga ggtgaaaaag
1140

cccggggagt ctctgaagat ctctgtgaag ggttctggat acagctttac cagctactgg
1200

atcggtctggg tgcgccagat gcccgggaaa ggcttgaggt ggatggggat catctatcct
1260

ggtgactctg ataccgata cagcccgctc ttccaaggcc aggtcaccat ctgagccgac
1320

aagtccatca gcaccgccta cctgcagtgg agcagcctga aggcctcgga cagggccgtg
1380

tattactgtg caagatatag gcggaatact tttgactatt ggggccaagg tagcctggtc
1440

accgtcgcat gcatccccga ccagcccca ggtcttcccg ctgagcctcg acagcacccc
1500

ccaagatggg aacgtggctg tcgcatgctt ggtccagggc ttcttcccc aggagccact
1560

cagtgtgacc tggagcgaaa gcggacagaa cgtgaccgcc agaaacttcc cacctagcca
1620

ggatgcctcc ggggacctgt acaccacgag cagccagctg accctgccgg ccacacagt
1680

cccagacggc aagtccgtga catgccacgt gaagcactac acgaatcca gccaggatgt
1740

gactgtgccc tgcccagttc cccacacctc cccatgctgc ccccccgac tgtcgctgca
1800

ccgaccggcc ctcgaggacc tgctcttagg ttcagaagcg aacctcacgt gcacactgac
1860

cggcctgaga gatgcctctg gtgccacctt cacctggacg ccctcaagtg ggaagagcgc
1920

tgttcaagga ccacctgagc gtgacctctg tggctgctac agcgtgtcca gtgtcctgcc
1980

tggctgtgcc cagccatgga accatgggga aaccttcacc tgcaactgtg cccacccga
2040

gttgaagacc ccactaaccg ccaacatcac aaaatccgga aacacattcc ggcccagagt
2100

ccacctgctg ccgccgccgt cggaggagct ggccctgaac gagctgggtga cgctgacgtg

ES 2 389 792 A1

2160

cctggcacgt ggcttcagcc ccaaggatgt gctggttcgc tggttcgagg ggtcacagga
2220

gctgccccgc gagaagtacc tgacttgggc atccccgcag gagcccagcc agggcaccac
2280

caccttcgct gtgaccagca tactgcgcgt ggcagccgag gactggaaga agggggacac
2340

cttctcctgc atgggtgggcc acgaggccct gccgctggcc ttcacacaga agaccatcga
2400

ccgcttgccg ggtaaaccce cccatgtcaa tgtgtctgtt gtcattggcg aggtggacgg
2460

cacctgctat gagggaatgg atcttcgac cgcacgttc aaacatttgg caataaagtt
2520

tcttaagatt gaatcctgtt gccggtcttg cgatgattat catataattt ctgttgaatt
2580

acgttaagca tgtaataatt aacatgtaat gcatgacgtt atttatgaga tgggttttta
2640

tgattagagt cccgcaatta tacatttaat acgcgataga aaacaaaata tagcgcgcaa
2700

actaggataa attatcgcg dcggtgtcat ctatgttact agatcgggaa ttgccaagct
2760

aattcttgaa gacgaaagg cctcgtgata cgcctatatt tatagggtta tgatcatgata
2820

ataatgggtt cttagacgtc aggtggcact tttcggggaa atgtgcgcgg aaccctatt
2880

tgtttatatt tctaaataca ttcaaataat tatccgctca tgagacaata accctgataa
2940

atgcttcaat aatgggaccg actcgccgtc gatgagagac ctgacaggat atattggcgg
3000

gtaaactaag tcgctgtatg tgtttggttg agatctcatg tgagcaaaag gccagcaaaa
3060

ggccaggaac cgtaaaaagg ccgcgttgct ggcgtttttc cataggctcc gccccctga
3120

cgagcatcac aaaaatcgac gctcaagtca gaggtggcga aaccgcagag gactataaag
3180

ataccaggcg tttccccctg gaagctccct cgtgcgctct cctgttccga cctgcccgt
3240

taccggatac ctgtccgctt ttctcccttc gggaagcgtg gcgctttctc atagctcacg
3300

ctgtagggtat ctgagttcgg tgtaggtcgt tcgctccaag ctgggctgtg tgcacgaacc
3360

ccccgttcag cccgaccgct gcgccttacc cggttaactat cgtcttgagt ccaaccgggt
3420

aagacacgac ttatcgccac tggcagcagc cactggtaac aggattagca gagcgaggta

3480

tgtaggcggg gctacagagt tcttgaagtg gtggcctaac tacggctaca ctagaagaac
3540

agtatttggg atctgcgctc tgctgaagcc agttaccttc ggaagaagag ttggtagctc
3600

ttgatccggc aaacaaacca ccgctggtag cgggtggtttt tttgtttgca agcagcagat
3660

tacgcgcaga aaaaaaggat ctcaagaaga tcctttgatc ttttctacgg ggtctgacgc
3720

tcagtgggaa gaaaactcac gttaagggat tttggtcatg agattatcaa aaaggatctt
3780

cacctagatc ctttttaaatt aaaaatgaag ttttaaatac atctaaagta tatatgtgta
3840

acattgggtc agtgattatt tgccgactac cttgggtgat tcgcctttca cgtagtggac
3900

aaattcttcc aactgatctg cgcgcgaggc caagcgatct tcttcttgtc caagataagc
3960

ctgtctagct tcaagtatga cgggctgata ctgggcccgc aggcgctcca ttgcccagtc
4020

ggcagcgaca tccttcggcg cgattttgcc gggtactgcg ctgtaccaa tgccgggacaa
4080

cgtaagcact acatttcgct catcgccagc ccagtcgggc ggcgagttcc atagcggttaa
4140

ggtttcattt agcgccctcaa atagatcctg ttcaggaacc ggatcaaaga gttcctccgc
4200

cgctggacct accaaggcaa cgctatgttc tcttgctttt gtcagcaaga tagccagatc
4260

aatgtcgatc gtggctggct cgaagatacc tgcaagaatg tcattgcgct gccattctcc
4320

aaattgcagt tcgcgcttag ctggataacg ccacggaatg atgtcgctgt gcacaacaat
4380

ggtgacttct acagcgcgga gaatctcgct ctctccaggg gaagccgaag tttccaaaag
4440

gtcgttgatc aaagctcgcc gcgttggttc atcaagcctt acggtcaccg taaccagcaa
4500

atcaatatca ctgtgtggct tcaggccgcc atccactgcg gagccgtaca aatgtacggc
4560

cagcaacgtc gggtcgagat ggcgctcgat gacgccaaact acctctgata gttgagtcga
4620

tacttcggcg atcaccgctt ccctcatgat gtttaacttt gttttagggc gactgccctg
4680

ctgcgtaaca tcgttgctgc tccataacat caaacatcga cccacggcgt aacgcgcttg
4740

ctgcttggtg gcccgaggca tagactgtac cccaaaaaaa cagtcataac aagccatgaa

ES 2 389 792 A1

4800

aaccgccact gcgccgttac caccgctgcg ttcgggtcaag gttctggacc agttgcgtga
4860

gcgcatacgc tactttgcatt acagcttacg aaccgaacag gcttatgtcc actgggttcg
4920

tgccttcacg cgtttccacg gtgtgcgtca cccggcaacc ttgggcagca gcgaagtcga
4980

ggcattttctg tcttggtctg gaacaccctt tgtattactg tttatgtaag cagacagttt
5040

tattgttcat gatgatatat ttttatcttg tgcaatgtaa catcagagat tttgagacac
5100

aacgtggctt tgttgaataa atcgaaactt tgctgagttg aaggatcaga tcacgcatct
5160

tcccgacaac gcagaccgtt ccgtggcaaa gcaaaagttc aaaatcacca actggtccac
5220

ctacaacaaa gctctcatca accgtggctc cctcactttc tggctggatg atggggcgat
5280

tcaggcgatc cccatccaac agcccgccgt cgagcgggct tttttatccc cggaagcctg
5340

tggatagagg gtagttatcc acgtgaaacc gctaatgcc cgcaaagcct tgattcacgg
5400

ggctttccgg cccgctccaa aaactatcca cgtgaaatcg ctaatcaggg tacgtgaaat
5460

cgctaatacgg agtacgtgaa atcgctaata aggtcacgtg aaatcgctaa tcaaaaaggc
5520

acgtgagaac gctaatagcc ctttcagatc aacagcttgc aaacaccctt cgctccggca
5580

agtagttaca gcaagtagta tgttcaatta gcttttcaat tatgaatata tatatcaatt
5640

attggctgcc cttggcttgt ggacaatgcg ctacgcgcac cggctccgcc cgtggacaac
5700

cgcaagcggg tgcccaccgt cgagcgccag cgcttttgcc cacaaccggg cggccggccg
5760

caacagatcg ttttataaat tttttttttt gaaaaagaaa aagcccgaaa ggcggaacc
5820

tctcgggctt ctggatttcc gatccccgga attagagatc ttggcaggat atattgtggt
5880

gtaacggtct cttggc
5896

<210> 37

<211> 5175

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Vector de expresion de la cadena ligera lambda de la
inmunoglobulina A humana

<400> 37

ccacactaga gccaaagctga tctcctttgc cccggagatc accatggacg actttctcta
60

tctctacgat ctaggaagaa agttogacgg agaaggtgac gataccatgt tcaccaccga
120

taatgagaag attagcctct tcaatttcag aaagaatgct gaccacaga tggtagaga
180

ggcctacgag gcaggtctga tcaagacgat ctacccgagt aataatctcc aggagatcaa
240

ataccttccc aagaaggtta aagatgcagt caaaagattc aggactaact gcatcaagaa
300

cacagagaaa gatataatttc tcaagatcag aagtactatt ccagtatgga cgattcaagg
360

cttgcttcat aaaccaaggc aagtaataga gattggagtc tctaagaaag tagttcctac
420

tgaatcaaag gccatggagt caaaaattca gatcgaggat ctaacagaac tcgccgtgaa
480

gactggcgaa cagttcatac agagtctttt acgactcaat gacaagaaga aaatcttcgt
540

caacatggtg gagcacgaca ctctcgtcta ctccaagaat atcaaagata cagtctcaga
600

agaccaaagg gctattgaga cttttcaaca aagggaata tcgggaaacc tcctcggatt
660

ccattgcccga gctatctgtc acttcatcaa aaggacagta gaaaaggaag gtggcaccta
720

caaatgccat cattgcgata aaggaaaggc tatcgttcaa gatgcctctg ccgacagtgg
780

tcccaaagat ggacccccac ccacgaggag catcgtggaa aaagaagacg ttccaaccac
840

gtcttcaaag caagtggatt gatgtgatat ctccactgac gtaagggatg acgcacaatc
900

ccactatcct tcgcaagacc cttcctctat ataaggaagt tcatttcatt tggagaggac
960

tccggtatatt ttacaacaat accacaacaa aacaaacaac aaacaacatt acaatttact
1020

attctagtcg agatgggcac ttcctctgtt tttctactat tccttctttc ttttcttctc
1080

cttctcccggt cctccttgc ctctcttgag ctgactcagg accctgctgt gtctgtggcc
1140

ttgggacaga cagtcaggat cacatgccaa ggagacagcc tcagaagcta ttatgcaagc
1200

tggtagcagc agaagccagg acaggccctt gtacttgtca tctatggtaa aaacaaccgg
1260

ES 2 389 792 A1

ccctcagggg tcccagaccg attctctggc tccagctcag gaaacacagc ttccttgacc
 1320
 atcactgggg ctcaggcgga agatgaggct gactattact gtaactcccg ggacagcagt
 1380
 ggtaaccatg atttggtatt cggcggaggg accaagctga cgcgcctagg tggtaacca
 1440
 aaggccgccc cctctgtcac tctgttcccg ccctcctctg aggagctcca agccaacaag
 1500
 gccacactag tgtgtctgat cagtgacttc taccgggag ctgtgacagt ggcctggaag
 1560
 gcagatggca gccccgtcaa ggccggagtg gagacaacca aaccctccaa acagagcaac
 1620
 aacaagtacg cggccagcag ctacctgagc ctgacgcccg agcagtggaa gtcccacaga
 1680
 agctacagct gccaggtcac gcatgaaggg agcacctgg agaagacagt ggcccctaca
 1740
 gaatgttcat gagggaatgg atcttcgac cgcgtcttc aaacatttgg caataaagtt
 1800
 tcttaagatt gaatcctgtt gccggtcttg cgatgattat catataattt ctgttgaatt
 1860
 acgttaagca tgtaataatt aacatgtaat gcatgacgtt atttatgaga tgggttttta
 1920
 tgattagagt cccgcaatta tacatttaac acgcgataga aaacaaaata tagcgcgcaa
 1980
 actaggataa attatcgcg cgggtgtcat ctatgttact agatcgggaa ttgccaaagt
 2040
 aattcttgaa gacgaaaggg cctcgtgata cgcctatatt tatagggttaa tgcctgata
 2100
 ataatggttt cttagacgtc aggtggcact ttccggggaa atgtgcgcgg aaccctatt
 2160
 tgtttatatt tctaaatata ttcaaataat tatccgctca tgagacaata accctgataa
 2220
 atgttcaat aatgggaccg actcgccgtc cgacagagac ctgacaggat atattggcgg
 2280
 gtaactaag tcgctgtatg tgtttgtttg agatctcatg tgagcaaaag gccagcaaaa
 2340
 ggccagggaac cgtaaaaagg ccgcgttgct ggcgtttttc cataggctcc gccccctga
 2400
 cgagcatcac aaaaatcgac gctcaagtca gaggtggcga aaccgcagag gactataaag
 2460
 ataccaggcg tttccccctg gaagctccct cgtgcgctct cctgttccga ccctgccgct
 2520
 taccggatac ctgtccgctt ttctcccttc gggaagcgtg gcgctttctc atagctcacg
 2580

ES 2 389 792 A1

ctgtaggtat ctcagttcgg tgtaggtcgt tcgctccaag ctgggctgtg tgcacgaacc
 2640
 ccccgttcag cccgaccgct gcgccttata cggtaactat cgtcttgagt ccaaccggt
 2700
 aagacacgac ttatcgccac tggcagcagc cactggtaac aggattagca gagcgaggta
 2760
 tgtaggcggg gctacagagt tcttgaagtg gtggcctaac tacggctaca ctagaagaac
 2820
 agtatttggg atctgcgctc tgctgaagcc agttaccttc ggaagaagag ttggtagctc
 2880
 ttgatccggc aaacaaacca ccgctggtag cggtggtttt tttgtttgca agcagcagat
 2940
 tacgcgcaga aaaaaaggat ctcaagaaga tcctttgatc ttttctacgg ggtctgacgc
 3000
 tcagtggaac gaaaactcac gttaagggat tttgggtcatg agattatcaa aaaggatctt
 3060
 cacctagatc cttttaaaatt aaaaatgaag ttttaaataca atctaaagta tatatgtgta
 3120
 acattgggtc agtgattatt tgccgactac cttgggtgatc tcgcctttca cgtagtggac
 3180
 aaattcttcc aactgatctg cgcgcgaggc caagcgatct tcttcttgtc caagataagc
 3240
 ctgtctagct tcaagtatga cgggctgata ctgggccggc aggcgctcca ttgcccagtc
 3300
 ggcagcgaca tccttcggcg cgattttgcc gggtactgcg ctgtaccaa tgcgggacaa
 3360
 cgtaagcact acatttcgct catcgccagc ccagtcgggc ggcgagttcc atagcgtaa
 3420
 ggtttcattt agcgctcaa atagatcctg ttcaggaacc ggatcaaaga gttcctccgc
 3480
 cgctggacct accaaggcaa cgctatgttc tcttgctttt gtcagcaaga tagccagatc
 3540
 aatgtcgatc gtggctggct cgaagatacc tgcaagaatg tcattgcgct gccattctcc
 3600
 aaattgcagt tcgcgcttag ctggataacg ccacggaatg atgtcgctgt gcacaacaat
 3660
 ggtgacttct acagcgcgga gaatctcgct ctctccaggg gaagccgaag tttccaaaag
 3720
 gtcgttgatc aaagctcgcc gcgttgtttc atcaagcctt acggtcaccc taaccagcaa
 3780
 atcaatatca ctgtgtggct tcaggccgcc atccactgcg gagccgtaca aatgtacggc
 3840
 cagcaacgtc ggttcgagat ggcgctcgat gacgccaaact acctctgata gttgagtcga
 3900

tacttcggcg atcaccgctt ccctcatgat gtttaacttt gttttagggc gactgccctg
3960

ctgcgtaaca tcgttgctgc tccataacat caaacatcga cccacggcgt aacgcgcttg
4020

ctgcttggat gcccgaggca tagactgtac cccaaaaaaa cagtcataac aagccatgaa
4080

aaccgccact gcgccgttac caccgctgcg ttcgggtcaag gttctggacc agttgcgtga
4140

gcgcatacgc tacttgcatc acagcttacg aaccgaacag gcttatgtcc actggggttcg
4200

tgccttcata cgtttccacg gtgtgcgtca cccggcaacc ttgggcagca gcgaagtcga
4260

ggcattttctg tcctggctgg aacacccctt gtattactgt ttatgtaagc agacagtttt
4320

attgttcata atgatatatt tttatcttgc gcaatgtaac atcagagatt ttgagacaca
4380

acgtgggcttt gttgaataaa tcgaactttt gctgagttga aggatcagat cacgcacctt
4440

cccgacaacg cagaccgttc cgtggcaaag caaaagttca aaatcaccaa ctgggtccacc
4500

tacaacaaag ctctcatcaa ccgtggctcc ctcactttct ggctggatga tggggcgatt
4560

caggcgatcc ccatccaaca gcccgccgtc gagcgggctt ttttatcccc ggaagcctgt
4620

ggatagaggg tagttatcca cgtgaaaccg ctaatgcccc gcaaagcctt gattcacggg
4680

gctttccggc ccgctccaaa aactatccac gtgaaatcgc taatcagggt acgtgaaatc
4740

gctaatacga gtacgtgaaa tcgctaataa ggacacgtga aatcgctaata caaaaaggca
4800

cgtgagaacg ctaatagccc tttcagatca acagcttgca aacacccctc gctccggcaa
4860

gtagttacag caagtagtat gttcaattag cttttcaatt atgaatatat atatcaatta
4920

ttggtcgccc ttggcttctg gacaatgcgc tacgcgcacc ggctccgccc gtggacaacc
4980

gcaagcgggt gccacccgtc gagcgccagc gcctttgccc acaacccggc ggccggccgc
5040

aacagatcgt tttataaatt tttttttttg aaaaagaaaa agcccgaaaag gcggcaacct
5100

ctcgggcttc tggatttccg atccccggaa ttagagatct tggcaggata tattgtggtg
5160

taacgggtctc tgatg
5175

<210> 38
 <211> 5190
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Vector de expresion de la cadena ligera kappa de la
 inmunoglobulina A humana

 <400> 38
 cgtccgacag agacctgaca ggatatattg gcgggtaaac taagtcgctg tatgtgtttg
 60

 tttgagatct catgtgagca aaaggccagc aaaaggccag gaaccgtaaa aaggccgcgt
 120

 tgctggcggt tttccatagg ctccgcccc ctgacgagca tcacaaaaat cgacgctcaa
 180

 gtcagaggtg gcgaaacccg acaggactat aaagatacca ggcgtttccc cctggaagct
 240

 ccctcgtgcg ctctcctgtt ccgaccctgc cgcttaccgg atacctgtcc gcctttctcc
 300

 cttcggaag cgtggcgctt tctcatagct cagcgtgtag gtatctcagt tcggtgtagg
 360

 tcgttcgctc caagctgggc tgtgtgcacg aacccccgt tcagcccgac cgctgcgcct
 420

 tatccggtaa ctatcgtctt ggtccaacc cggtaaagaca cgacttatcg ccaactggcag
 480

 cagccactgg taacaggatt agcagagcga ggtatgtagg cgggtgctaca gagttcttga
 540

 agtgggtggc taactacggc tacactagaa gaacagtatt tggatatctgc gctctgctga
 600

 agccagttac cttcggaaga agagttggta gctcttgatc cggcaaaca accaccgctg
 660

 gtagcggtagg tttttttgtt tgcaagcagc agattacgcg cagaaaaaaaa ggatctcaag
 720

 aagatccttt gatcttttct acggggtctg acgctcagtg gaacgaaaac tcacgttaag
 780

 ggatttttgt catgagatta tcaaaaagga tcttcaccta gatcctttta aattaaaaat
 840

 gaagttttta atcaatctaa agtatatatg tgtaacattg gtctagtgat tatttgccga
 900

 ctaccttggt gatctgcct ttcacgtagt ggacaaattc ttccaactga tctgcgcgcg
 960

 aggccaagcg atcttcttct tgtccaagat aagcctgtct agcttcaagt atgacgggct
 1020

 gatactgggc cggcaggcgc tccattgccc agtcggcagc gacatccttc ggcgcgattt
 1080

tgccgggttac tgcgctgtac caaatgcggg acaacgtaag cactacattt cgctcatcgc
 1140
 cagcccagtc gggcggcgag ttccatagcg ttaagggttc atttagcgcc tcaaatagat
 1200
 cctgttcagg aaccggatca aagagttcct cgcgcgctgg acctaccaag gcaacgctat
 1260
 gttctcttgc ttttgtcagc aagatagcca gatcaatgtc gatcgtggct ggctcgaaga
 1320
 tacctgcaag aatgtcattg cgctgccatt ctccaaattg cagttcgcgc ttagctggat
 1380
 aacgccacgg aatgatgtcg tcgtgcacaa caatggtgac ttctacagcg cggagaatct
 1440
 cgctctctcc aggggaagcc gaagtttcca aaaggctcgtt gatcaaagct cgccgcgttg
 1500
 tttcatcaag ccttacggtc accgtaacca gcaaatacat atcactgtgt ggcttcaggc
 1560
 cgccatccac tgcggagccg tacaaatgta cggccagcaa cgtcggttcg agatggcgct
 1620
 cgatgacgcc aactacctct gatagttgag tcgatacttc ggcgatcacc gcttccctca
 1680
 tgatgtttaa ctttgtttta gggcgactgc cctgctgcgt aacatcgttg ctgctccata
 1740
 acatcaaaca tcgaccacg gcgtaacgcg cttgctgctt ggatgcccga ggcatagact
 1800
 gtaccccaaa aaaacagtca taacaagcca tgaaaaccgc cactgcgcgc ttaccaccgc
 1860
 tgcgttcggt caaggttctg gaccagttgc gtgagcgcac acgctacttg cattacagct
 1920
 tacgaaccga acaggcttat gtccactggg ttctgtgcctt catccgtttc caccgtgtgc
 1980
 gtcacccggc aacottgggc agcagcgaag tcgaggcatt tctgtcctgg ctggaacacc
 2040
 ccttgtatta ctgtttatgt aagcagacag ttttattgtt catgatgata tatttttata
 2100
 ttgtgcaatg taacatcaga gattttgaga cacaacgtgg ctttgttgaa taaatcgaac
 2160
 ttttgctgag ttgaaggatc agatcacgca tcttcccgac aacgcagacc gttccgtggc
 2220
 aaagcaaaag ttcaaaatca ccaactggtc cacctacaac aaagctctca tcaacogtgg
 2280
 ctccctcact ttctggctgg atgatggggc gattcaggcg atcccatcc aacagccgcg
 2340
 cgctcagcgg gcttttttat ccccgaagc ctgtggatag agggtagtta tccacgtgaa
 2400

ES 2 389 792 A1

accgctaatag ccccgcaaag ccttgattca cggggctttc cggcccgcgc caaaaactat
 2460
 ccacgtgaaa tcgctaatac gggtagctga aatcgctaata cggagtagct gaaatcgcta
 2520
 ataaggtcac gtgaaatcgc taatcaaaaa ggcacgtgag aacgctaata gccctttcag
 2580
 atcaacagct tgcaaacacc cctcgctccg gcaagtagtt acagcaagta gtatgttcaa
 2640
 ttagcttttc aattatgaat atatatatca attattgggc gcccttggct tgtggacaat
 2700
 gcgctacgcg caccggctcc gcccgtagac aaccgcaagc ggttgcccac cgtcgagcgc
 2760
 cagcgccttt gccacaacc cggcgcccg cgcgaacaga tcgttttata aatttttttt
 2820
 tttgaaaaag aaaaagcccg aaaggcggca acctctcggg cttctggatt tccgatcccc
 2880
 ggaattagag atcttggcag gatataattgt ggtgtaacgg tctctgatgc cacactagag
 2940
 ccaagctgat ctcccttgcc cgggagatca ccatggacga cttctcttat ctctacgatc
 3000
 taggaagaaa gttcgacgga gaaggtgacg ataccatgtt caccaccgat aatgagaaga
 3060
 ttagcctctt caatttcaga aagaatgctg acccacagat ggtagagag gcctacgcgg
 3120
 caggtctgat caagacgatc tacccgagta ataattctca ggagatcaaa taccttccca
 3180
 agaaggttaa agatgcagtc aaaagattca ggactaactg catcaagaac acagagaaaag
 3240
 atatatttct caagatcaga agtactattc cagtatggac gattcaaggc ttgcttcata
 3300
 aaccaaggca agtaatagag attggagtct ctaagaaagt agttcctact gaatcaaagg
 3360
 ccatggagtc aaaaattcag atcgaggatc taacagaact cggcgtgaag actggcgaac
 3420
 agttcataca gagtctttta cgactcaatg acaagaagaa aatcttcgtc aacatggtgg
 3480
 agcacgacac tctcgtctac tccaagaata tcaaagatac agtctcagaa gaccaaaggg
 3540
 ctattgagac ttttcaacaa agggtaatat cgggaaacct cctcggattc cattgcccag
 3600
 ctatctgtca cttcatcaaa aggacagtag aaaaggaagg tggcacctac aaatgccatc
 3660
 attgcgataa aggaaaggct atcgttcaag atgcctctgc cgacagtggg cccaaagatg
 3720

ES 2 389 792 A1

gacccccacc cacgaggagc atcgtggaaa aagaagacgt tccaaccacg ttttcaaagc
3780
aagtggattg atgtgatatc tccactgacg taagggatga cgcacaatcc cactatcctt
3840
cgcaagaccc ttctcttata taaggaagtt catttcattt ggagaggact ccggtatttt
3900
tacaacaata ccacaacaaa acaaacaaca aacaacatta caatttacta ttctagtctg
3960
gatgggcact ttctctggtt ttctactatt ccttctttct tttcttctcc ttctccgctc
4020
cctccttgcc ttttctgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac
4080
agtcaggatc acatgccaaag gagacagcct cagaagctat tatgcaagct ggtaccagca
4140
gaagccagga caggccctctg tacttgatc ctatggtaaa aacaaccggc cctcagggat
4200
cccagaccga ttctctgggt ccagctcagg aaacacagct tccttgacca tcaactggggc
4260
tcaggcggaa gatgaggctg actattactg taactcccg gacagcagt gtaaccatga
4320
tttggatttc ggcggaggga ccaagctgac cgtcctaggt aggactgttg ctgctccatc
4380
tgtttttatt tttccaccat ctgatgaaca acttaaactc ggaactgctt ctgttggttg
4440
tcttcttaat aatttttctc caagagaagc taaagttcaa tggaaagttg ataatgctct
4500
tcaatctgga aattctcaag aatctgttac tgaacaagat tctaaagatt ctacttattc
4560
tctttcttct actcttactc tttctaaagc tgattatgaa aaacataaag tttatgcttg
4620
tgaagttact catcaaggac tttcttctcc agttactaaa tcttttaata gaggagaatg
4680
taaagatgaa ctttgaggga atggatcttc gatcccgatc gttcaaacat ttggcaataa
4740
agtttcttaa gattgaatcc tgttgccggt cttgcatga ttatcatata atttctgttg
4800
aattacgtta agcatgtaat aattaacatg taatgcatga cgttatattat gagatgggtt
4860
tttatgatta gagtcccgca attatacatt taatacgcga tagaaaacaa aatatagcgc
4920
gcaactagg ataaattatc gcgdcgggtg tcatctatgt tactagatcg ggaattgcc
4980
agctaattct tgaagacgaa agggcctcgt gatacgccta tttttatagg ttaatgtcat
5040

ES 2 389 792 A1

gataataatg gtttcttaga cgtcagggtgg cacttttcgg ggaaatgtgc gcggaacccc
5100

tatttgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac aataaccctg
5160

ataaatgctt caataatggg accgactcgc
5190

<210> 39

<211> 4548

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Vector de expresion de resistencia a kanamicina para plantas

<400> 39

tgagggaatg gatcttcgat cccgatcgtt caaacatttg gcaataaagt ttcttaagat
60

tgaatcctgt tgccggtctt gcgatgatta tcatataatt tctgttgaat tacgttaagc
120

atgtaataat taacatgtaa tgcgatgacgt tatttatgag atgggttttt atgattagag
180

tcccgcaatt atacatttaa tacgcgatag aaaacaaaat atagcgcgca aactaggata
240

aattatcgcg cdcggtgtca tctatgttac tagatcggga attgccaaagc taattcttga
300

agacgaaagg gcctcgtgat acgcctattt ttataggtta atgtcatgat aataatgggt
360

tcttagacgt cagggtggcac ttttcgggga aatgtgcgcg gaacccttat ttgtttattt
420

ttctaaatac attcaaatat gtatccgctc atgagacaat aaccctgata aatgcttcaa
480

taatgggacc gactcgcgac ggcatgagac gtgacaggat atattggcgg gtaaactaag
540

tcgctgtatg tgtttgtttg agatctcatg tgagcaaaag gccagcaaaa ggccaggaac
600

cgtaaaaagg ccgcgttgct ggcgtttttc cataggctcc gccccctga cgagcatcac
660

aaaaatcgac gctcaagtca gaggtggcga aaccgcacag gactataaag ataccaggcg
720

tttccccctg gaagctccct cgtgcgctct cctgttccga ccctgccgct taccggatac
780

ctgtccgctt ttctcccttc gggaagcgtg gcgctttctc atagctcacg ctgtaggat
840

ctcagttcgg tgtaggtcgt tcgctccaag ctgggctgtg tgcacgaacc ccccgttcag
900

cccgaccgct gcgccttata cggttaactat cgtcttgagt ccaaccgggt aagacacgac
960

ES 2 389 792 A1

ttatcgccac tggcagcagc cactggtaac aggattagca gagcgaggta tgtaggcggt
 1020
 gctacagagt tcttgaagtg gtggcctaac tacggctaca ctagaagaac agtatttggg
 1080
 atctgcgctc tgctgaagcc agttaccttc ggaagaagag ttggtagctc ttgatccggc
 1140
 aaacaaacca ccgctggtag cgggtggtttt tttgtttgca agcagcagat tacgcgcaga
 1200
 aaaaaaggat ctcaagaaga tcctttgatc ttttctacgg ggtctgacgc tcagtggaa
 1260
 gaaaactcac gttaagggat tttggcatg agattatcaa aaaggatctt cacctagatc
 1320
 cttttaaatt aaaaatgaag ttttaaatac atctaaagta tatatgtgta acattgggtc
 1380
 agtgattaga aaaactcatc gagcatcaaa tgaaactgca atttattcat atcaggatta
 1440
 tcaataccat atttttgaaa aagccgtttc tgtaatgaag gagaaaaactc accgaggcag
 1500
 ttccatagga tggcaagatc ctggtatcgg tctgcgattc cgactcgtcc aacatcaata
 1560
 caacctatta atttcccctc gtcaaaaaata aggttatcaa gtgagaaatc accatgagtg
 1620
 acgactgaat ccggtgagaa tggcaaaagt ttatgcattt ctttcagac ttgttcaaca
 1680
 gccagccat tacgctcgtc atcaaaaata ctgcgatcaa ccaaaccgtt attcattcgt
 1740
 gattgcgcct gagcgagtcg aaatacgcg aatcggttaa aaggacaatt acaaacagga
 1800
 atcgaatgca accggcgagc gaacactgcc agcgcatcaa caatattttc acctgaatca
 1860
 ggatattctt ctaataacctg gaatgctgtt ttccctggga tcgcagtggg gagtaaccat
 1920
 gcatcatcag gagtacggat aaaatgcttg atggtcggaa gaggcataaa ttccgtcagc
 1980
 cagtttagtc tgaccatctc atctgtaaca acattggcaa cgctaccttt gccatgtttc
 2040
 agaaacaact ctggcgcatc gggcttccca tacaatcggg agattgtcgc acctgattgc
 2100
 ccgacattat cgcgagccca tttataccca tataaatcag catccatgtt ggaatttaac
 2160
 cgcggccttg agcaagacgt ttcccggtga atatggctca taacaccctt tgtattactg
 2220
 tttatgtaag cagacagttt tattgttcat gatgatatat tttatcttg tgcaatgtaa
 2280

catcagagat tttgagacac aacgtggcct tgttgaataa atcgaacttt tgctgagttg
2340

aaggatcaga tcacgcatct tcccgacaac gcagaccgtt ccgtggcaaa gcaaaagtcc
2400

aaaatcacca actggtccac ctacaacaaa gctctcatca accgtggctc cctcactttc
2460

tggctggatg atggggcgat tcaggcgatc cccatccaac agcccgccgt cgagcgggct
2520

tttttatccc cggaagcctg tggatagagg gtagttatcc acgtgaaacc gctaatagcc
2580

cgcaaagcct tgattcacgg ggctttccgg cccgctccaa aaactatcca cgtgaaatcg
2640

ctaatacaggg tacgtgaaat cgctaatacg agtacgtgaa atcgctaata aggtcacgtg
2700

aatcgctaa tcaaaaaggc acgtgagaac gctaatagcc ctttcagatc aacagcttgc
2760

aaacacccct cgctccggca agtagttaca gcaagtagta tgttcaatta gcttttcaat
2820

tatgaatata tatatcaatt attggtcgcc cttggcttgt ggacaatgcg ctacgcgcac
2880

cggctccgcc cgtggacaac cgcaagcggc tgcccaccgt cgagcgccag cgcctttgcc
2940

cacaacccgg cggccggccg caacagatcg ttttataaat tttttttttt gaaaaagaaa
3000

aagcccgaag ggccggcaacc tctcgggctt ctggatttcc gatccccgga attagagatc
3060

ttggcaggat atattgtggt gtaaccgtct caccactggc atacatgaga attaaggag
3120

atacatgaga attaaggag tcacgttatg acccccgcg atgacgcggg acaagccgtt
3180

ttacgtttgg aactgacaga accgcaacgt tgaaggagcc actcagccgc gggtttctgg
3240

agttaaatga gctaagcaca tacgtcagaa accattattg cgcgttcaaa agtcgcctaa
3300

ggtcactatc agctagcaaa tatttcttgt caaaaatgct cactgacgt tccataaatt
3360

cccctcggta tccaattaga gtctcatatt cactctcaac tcgatcgagg catgattgaa
3420

caagatggat tgcacgcagg ttctccggcc gcttgggtgg agaggctatt cggctatgac
3480

tgggcacaac agacaatcgg ctgctctgat gccgccgtgt tccggctgtc agcgcagggg
3540

cgcccgttcc tttttgtcaa gaccgacctg tccgggtgcc tgaatgaact ccaagacgag
3600

ES 2 389 792 A1

gcagcgcggc tatcgtggct ggccacgacg ggcgttcctt gcgcagctgt gctcgacgtt
3660

gtcactgaag cgggaaggga ctggctgcta ttgggcgaag tgccggggca ggatctcctg
3720

tcattctacc ttgctcctgc cgagaaagta tccatcatgg ctgatgcaat gcggcggctg
3780

catacgcttg atccggctac ctgcccattc gaccaccaag cgaaacatcg catcgagcga
3840

gcacgtactc ggatggaagc cggctctgtc gatcaggatg atctggacga agagcatcag
3900

gggctcgcgc cagccgaact gttcgccagg ctcaaggcgc ggatgcccgca cggcgaggat
3960

ctcgtcgtga cccacggcga tgcttcttg cgaatatca tgggtggaaa tggtcgcttt
4020

tctggattca tcgactgtgg ccggctgggt gtggcggacc gctatcagga catagcgttg
4080

gctacccgtg atattgctga agagcttggc ggcgaaatggg ctgaccgctt cctcgtgctt
4140

tacggtatcg ccgctcccga ttcgcagcgc atcgcttct atcgcttct tgacgagttc
4200

ttctgagcgg gactctgggg ttcggactct agctagagtc aagcagatcg ttcaaactt
4260

tggcaataaa gtttcttaag attgaatcct gttgccggtc ttgcgatgat tatcatataa
4320

tttctgttga attacgttaa gcatgtaata attaactatgt aatgcatgac gttatttatg
4380

agatgggttt ttatgattag agtcccga ttatacattt aatacgcatg agaaaacaaa
4440

atatagcgcg caaactagga taaattatcg cgcgcgggtg catctatggt actagatcga
4500

ccggcatgca agctgataat tcaaagatcg accggcatgc aagctgat
4548

<210> 40

<211> 7860

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Vector de expresion de la IgA_2A1 con cadena pesada alfa 1 y
cadena ligera lambda

<400> 40

tggccacac tagagccaag ctgatctcct ttgccccgga gatcaccatg gacgactttc
60

tctatctcta cgatctagga agaaagtctg acggagaagg tgacgatacc atgttcacca
120

ccgataatga gaagattagc ctcttcaatt tcagaaagaa tgctgacca cagatgggta
180

gagaggccta cgcggcaggt ctgatcaaga cgatctaccc gagtaataat ctccaggaga
240

tcaaatacct tcccaagaag gttaaagatg cagtcaaaag attcaggact aactgcatca
300

agaacacaga gaaagatata tttctcaaga tcagaagtac tattccagta tggacgattc
360

aaggcttgct tcataaacca aggcaagtaa tagagattgg agtctctaag aaagtagttc
420

ctactgaatc aaaggccatg gagtcaaaaa ttcagatcga ggatctaaca gaactcgccg
480

tgaagactgg cgaacagttc atacagagtc ttttacgact caatgacaag aagaaaatct
540

tcgtcaacat ggtggagcac gacactctcg tctactccaa gaatatcaaa gatacagtct
600

cagaagacca aagggctatt gagacttttc aacaaagggc aatatcgggc aacctcctcg
660

gattccattg ccagctatc tgtcacttca tcaaaaggac agtagaaaag gaaggtggca
720

cctacaaatg ccatcattgc gataaaggaa aggctatcgt tcaagatgcc tctgccgaca
780

gtggtcccaa agatggaccc ccacccacga ggagcatcgt ggaaaaagaa gacgttccaa
840

ccacgtcttc aaagcaagtg gattgatgtg atatctccac tgacgtaagg gatgacgcac
900

aatcccacta tccttcgcaa gacccttcct ctatataagg aagttcattt catttgagga
960

ggactccggt atttttacaa caataccaca acaaaacaaa caacaaacaa cattacaatt
1020

tactattcta gtgcacctgc aggcggccgc actagtata tcgatgggca ctctctctgt
1080

tttttacta ttcttcttt cttttcttct ccttctccg tccctccttg ccaggtgca
1140

gctgttgag tctgcagcag aggtgaaaaa gcccggggag tctctgaaga tctcctgtaa
1200

gggttctgga tacagcttta ccagctactg gatcggtgg gtgcgccaga tgcccgaggaa
1260

aggcctggag tggatgggga tcctctatcc tggtgactct gataccgat acagcccgtc
1320

cttccaaggc caggtcacca tctcagccga caagtccatc agcaccgctt acctgcagtg
1380

gagcagcctg aaggcctcgg acacggccgt gtattactgt gcaagatata ggcggaatac
1440

ES 2 389 792 A1

ttttgactat tggggccaag gtagcctggt caccgtcgca tccccgacca gccccaaaggt
 1500
 cttcccgtg agcctctgca gcaccagcc agatgggaac gtggtcatcg cctgcctggt
 1560
 ccagggttc tttccccagg agccactcag tgtgacctgg agcgaaagcg gacagggcgt
 1620
 gaccgccaga aacttcccac ccagccagga tgcctccggg gacctgtaca ccacgagcag
 1680
 ccagctgacc ctgccggcca cacagtgcct agccggcaag tccgtgacat gccacgtgaa
 1740
 gcactacag aatcccagcc aggatgtgac tgtgccctgc ccagttccct caactccacc
 1800
 taccocatct cctcaactc cacctacccc atctccctca tgctgccacc cccgactgtc
 1860
 actgcaccga ccggcccttg aggacctgct cttagggtca gaagcgaacc tcacgtgcac
 1920
 actgaccggc ctgagagatg cctcaggtgt caccttcacc tggacgccct caagtgggaa
 1980
 gagcgtgtt caaggaccac ctgagcgtga cctctgtggc tgctacagcg tgtccagtgt
 2040
 cctgccgggc tgtgccgagc cttggaatca tgggaagacc ttcacttgca ctgctgccta
 2100
 ccccgagtcc aagacccgc taaccgccac cctctcaaaa tccggaaaca cattccggcc
 2160
 cgaggtccac ctgctgccgc cgcctcgga ggagctggcc ctgaacgagc tggtgacgct
 2220
 gacgtgcctg gcaagtggct tcagcccca ggatgtgctg gttcgtggc tgcaggggtc
 2280
 acaggagctg ccccgcgaga agtacctgac ttgggcatcc cggcaggagc ccagccaggg
 2340
 caccaccacc ttcgtgtga ccagcactt gcgcgtggca gccgaggact ggaagaaggg
 2400
 ggacaccttc tcctgcatgg tgggccacga ggccctgccg ctggccttca cacagaagac
 2460
 catcgaccgc ttggcgggta aaccaccca tgtcaatgtg tctgttgtca tggcggaggt
 2520
 ggacggcacc tgctacaagg acgaactctg agggaaatga tcttcgatcc cgatcgttca
 2580
 aacatttggc aataaagttt cttagattg aatcctgttg ccggtcttgc gatgattatc
 2640
 atataatttc tggtgaatta cgttaagcat gtaataatta acatgtaatg catgacgtta
 2700
 tttatgagat ggggtttttat gattagagtc ccgcaattat acatttaata cgcgatagaa
 2760

ES 2 389 792 A1

aacaaaaatat agcgcgcaaa ctaggataaa ttatcgcgcd cgggtgcatc tatgttacta
2820
gatcggaat tgccaagcta attcttgaag acgaaagggc ctcgtgatac gcctatTTTT
2880
ataggTTaat gtcAtgataa taatggTTtc ttagacgtca ggtggcactt ttcggggaaa
2940
tgtgcgcgga acccctatTT gtttattTTT ctAaatacat tcaaatatgt atccgctcat
3000
gagacaataa ccctgataaa tgcttcaata atgggaccga ctcgccgtcg atgccacact
3060
agagccaagc tgatctcctt tgccccggag atcaccatgg acgactttct ctatctctac
3120
gatctaggaa gaaagttcga cggagaaggT gacgatacca tgttcaccac cgataatgag
3180
aagattagcc tcttcaatTT cagaaagaat gctgaccac agatggTTag agaggcctac
3240
gcggcaggTc tgatcaagac gatctaccog agtaataatc tccaggagat caaatacctt
3300
cccaagaagg ttaaagatgc agtcaaaaga ttcaggacta actgcatcaa gaacacagag
3360
aaagatatat ttctcaagat cagaagtact attccagtat ggacgattca aggcttgctt
3420
cataaaacca ggcaagtaat agagattgga gtctctaaga aagtagttcc tactgaatca
3480
aaggccatgg agtcaaaaat tcagatcgag gatctaacag aactcgccgt gaagactggc
3540
gaacagttca tacagagtct tttacgactc aatgacaaga agaaaatctt cgtcaacatg
3600
gtggagcacg aactctcgt ctactccaag aatatcaaag atacagtctc agaagaccaa
3660
agggctattg agacttttca acaaagggtA atatcgggaa acctcctcgg attccattgc
3720
ccagctatct gtcacttcat caaaaggaca gtagaaaagg aaggTggcac ctacaaatgc
3780
catcattgcg ataaaggaaa ggctatcgTt caagatgcct ctgccgacag tggTcccaa
3840
gatggacccc caccacgag gagcatcgTg gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca
3900
aagcaagtgg attgatgtga tatctccact gacgtaaggg atgacgcaca atcccactat
3960
ccttcgcaag acccttctc tatataagga agttcatttc atttgagag gactccggtA
4020
tttttacaac aataccacaa caaaacaaac aacaaacaac attacaattt actattctag
4080

ES 2 389 792 A1

tcgagatggg cacttcctct gtttttctac tattccttct ttcttttctt ctctttctcc
4140

cgccccctct tgcctcttct gagctgactc aggaccctgc tgtgtctgtg gccttgggac
4200

agacagtcag gatcacatgc caaggagaca gcctcagaag ctattatgca agctggtacc
4260

agcagaagcc aggacaggcc cctgtacttg tcctctatgg taaaaacaac cggccctcag
4320

ggatcccaga ccgattctct ggctccagct caggaaacac agcttccttg accatcactg
4380

gggctcaggc ggaagatgag gctgactatt actgtaactc cggggacagc agtggttaacc
4440

atgatattggc attcggcgga gggaccaagc tgaccgtcct aggtgggtcaa ccaaaggccg
4500

ccccctctgt cactctgttc ccgccctcct ctgaggagct ccaagccaac aaggccacac
4560

tagtgtgtct gatcagtgc ttctaccggg gagctgtgac agtggcctgg aaggcagatg
4620

gcagccccgt caaggcggga gtggagacaa ccaaaccctc caaacagagc aacaacaagt
4680

acgcggccag cagctacctg agcctgacgc ccgagcagtg gaagtccac agaagctaca
4740

gctgccaggt cagcatgaa gggagcaccg tggagaagac agtggccctt acagaatgtt
4800

catgagggaa tggatcttcg atcccgatcg ttcaaacatt tggcaataaa gtttcttaag
4860

attgaatcct gttgccggtc ttgcgatgat tatcatataa tttctgttga attacgttaa
4920

gcattgtaata attaacatgt aatgcatgac gttatttatg agatggggtt ttatgattag
4980

agtcccgcaa ttatacattt aatacgcat agaaaacaaa atatagcgcg caaactagga
5040

taaattatcg cgdcgggtgt catctatgtt actagatcgg gaattgcaa gctaattctt
5100

gaagacgaaa gggcctcgtg atacgcctat ttttataggt taatgtcatg ataataatgg
5160

tttcttagac gtcagggtggc acttttcggg gaaatgtgcg cggaaccctt atttgttat
5220

ttttctaaat acattcaaatt atgtatccgc tcattgagaca ataaccctga taaatgcttc
5280

aataatggga ccgactcgcc gtccgacggc atgagacgtg acaggatata ttggcgggta
5340

aactaagtcg ctgtatgtgt ttgtttgaga tctcatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc
5400

ES 2 389 792 A1

caggaaccgt aaaaaggccg cgttgctggc gtttttccat aggctccgcc cccctgacga
 5460
 gcatcacaaa aatcgacgct caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata
 5520
 ccaggcgttt ccccttgga gctccctcgt gcgctctcct gttccgaccc tgccgcttac
 5580
 cggatacctg tccgcctttc tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg
 5640
 taggtatctc agttcgggtg aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc
 5700
 cgttcagccc gaccgctgcg ccttatccgg taactatcgt cttgagtcca acccggttaag
 5760
 acacgactta tcgccactgg cagcagccac tggtaacagg attagcagag cgaggatatgt
 5820
 aggcgggtgct acagagttct tgaagtgggtg gcctaactac ggctacacta gaagaacagt
 5880
 atttggatc tgcgctctgc tgaagccagt taccttcgga agaagagttg gtagctcttg
 5940
 atccggcaaaa caaaccaccg ctggtagcgg tgggtttttt gtttgcaagc agcagattac
 6000
 gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc tttgatcttt tctacggggg ctgacgctca
 6060
 gtggaacgaa aactcacgtt aagggatttt ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac
 6120
 ctagatcctt ttaaattaaa aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat atgtgtaaca
 6180
 ttggtctagt gattagaaaa actcatcgag catcaaatga aactgcaatt tattcatatc
 6240
 aggattatca ataccatatt ttgaaaaag ccgtttctgt aatgaaggag aaaactcacc
 6300
 gaggcagttc cataggatgg caagatcctg gtatcgggtc gcgattccga ctcgccaac
 6360
 atcaatacaa cctattaatt tccctcgtc aaaaataagg ttatcaagtg agaaatcacc
 6420
 atgagtgacg actgaatccg gtgagaatgg caaaagtta tgcatttctt tccagacttg
 6480
 ttcaacaggc cagccattac gtcgctcatc aaaatcactc gcatcaacca aaccgttatt
 6540
 cattcgatgac tgccgctgag cgagtcgaaa tacgcgatcg ctgttaaaag gacaattaca
 6600
 aacaggaatc gaatgcaacc ggcgcaggaa cactgccagc gcatcaacaa tattttcacc
 6660
 tgaatcagga tattcttcta atacctggaa tgctgttttc cctgggatcg cagtgggtgag
 6720

ES 2 389 792 A1

taaccatgca tcacaggag tacggataaa atgcttgatg gtcggaagag gcataaattc
6780

cgtcagccag tttagtctga ccatctcatc tgtaacaaca ttggcaacgc tacctttgcc
6840

atgtttcaga aacaactctg gcgcacgagg cttcccatat aatcggtaga ttgtcgacc
6900

tgattgcccg acattatcgc gagcccatat ataccatata aatcagcat ccatgttggg
6960

atttaatcgc ggccttgagc aagacgtttc ccgttgaata tggctcataa cacccttgt
7020

attactgttt atgtaagcag acagttttat tgttcacgat gatataattt tatcttctgc
7080

aatgtaacat cagagatttt gagacacaac gtggccttctg tgaataaata gaacttttgc
7140

tgagttgaag gatcagatca cgcacattcc cgacaacgca gaccgttccg tggcaaagca
7200

aaagtccaac atcaccaact ggtccaccta caacaaagct ctcacatacc gtggctccct
7260

cactttctgg ctggatgatg gggcgattca ggcgatcccc atccaacagc ccgccgtcga
7320

gcgggctttt ttatccccgg aagcctgtgg atagagggtg gttatccacg tgaaccgct
7380

aatgccccgc aaagccttga ttcacggggc tttccggccc gtcacaaaaa ctatccacgt
7440

gaaatcgcta atcagggtac gtgaaatcgc taatcggagt acgtgaaata gctaataagg
7500

tcacgtgaaa tcgctaataa aaaaggcacg tgagaacgct aatagccctt tcagatcaac
7560

agcttgcaaa caccctcgc tccggcaagt agttacagca agtagtatgt tcaattagct
7620

tttcaattat gaatatatat atcaattatt ggtcgccctt ggcttctgga caatgcgcta
7680

cgcgccacgg ctccgcccgt ggacaaccgc aagcgggtgc ccaccgtcga gcgccagcgc
7740

ctttgcccac aaccggcgcg ccggccgcaa cagatcgttt tataaatttt tttttttgaa
7800

aaagaaaaag cccgaaaggc ggcaacctct cgggcttctg gatttccgat ccccggaatt
7860

<210> 41

<211> 7918

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Vector de expresion de la IgA_2A1 con cadena pesada alfa 1 y
cadena ligera kappa

<400> 41
 tggccacac tagagccaag ctgatctcct ttgccccgga gatcaccatg gacgactttc
 60
 tctatctcta cgatctagga agaaagtctg acggagaagg tgacgatacc atgttcacca
 120
 ccgataatga gaagattagc ctcttcaatt tcagaaagaa tgctgacca cagatggta
 180
 gagaggcta cgccgcaggt ctgatcaaga cgatctacc gagtaataat ctccaggaga
 240
 tcaaatacct tccaagaag gttaaagatg cagtcaaaag attcaggact aactgcatca
 300
 agaacacaga gaaagatata tttctcaaga tcagaagtac tattccagta tggacgattc
 360
 aaggcttgct tcataaacca aggcaagtaa tagagattgg agtctctaag aaagtagttc
 420
 ctactgaatc aaaggccatg gagtcaaaaa ttcagatcga ggatctaaca gaactcgccg
 480
 tgaagactgg cgaacagttc atacagagtc ttttacgact caatgacaag aagaaaatct
 540
 tcgtcaacat ggtggagcac gacactctcg tctactccaa gaatatcaaa gatacagtct
 600
 cagaagacca aagggctatt gagacttttc aacaaaggt aatatcgga aacctcctcg
 660
 gattccattg ccagctatc tgtcacttca tcaaaaggac agtagaaaag gaaggtggca
 720
 cctacaaatg ccatcattgc gataaaggaa aggctatcgt tcaagatgcc tctgccgaca
 780
 gtggtcccaa agatggaccc ccacccacga ggagcatcgt ggaaaaagaa gacgttccaa
 840
 ccacgtcttc aaagcaagtg gattgatgtg atatctccac tgacgtaagg gatgacgcac
 900
 aatcccacta tccttcgcaa gaccttctct ctatataagg aagttcattt catttgagga
 960
 ggactccggt atttttacaa caataccaca acaaaacaaa caacaaacaa cattacaatt
 1020
 tactattcta gtcgacctgc aggcggccgc actagtata tcgatgggca cttcctctgt
 1080
 tttctacta ttcttctttt cttttctctt ctttctcccg tccctccttg ccaggtgca
 1140
 gctgttgag tctgcagcag aggtgaaaaa gcccggggag tctctgaaga tctcctgtaa
 1200
 gggttctgga tacagcttta ccagctactg gatcggctgg gtgcgccaga tgcccgggaa
 1260
 aggctggag tggatggga tcatctatcc tggtgactct gataccgat acagcccgct

1320

cttccaaggc caggtcacca tctcagccga caagtccatc agcaccgcct acctgcagtg
1380

gagcagcctg aaggcctcgg acacggccgt gtattactgt gcaagatata ggcggaatac
1440

ttttgactat tggggccaag gtagcctggt caccgtcgca tccccgacca gccccaaagg
1500

cttcccgtg agcctctgca gcaccagcc agatgggaac gtggtcacg cctgcctggt
1560

ccagggcttc tccccagc agccactcag tgtgacctg agcgaaagcg gacagggcgt
1620

gaccgccaga aacttccac ccagccagga tgcctccggg gacctgtaca ccacgagcag
1680

ccagctgacc ctgccggcca cacagtgcct agccggcaag tccgtgacat gccacgtgaa
1740

gcactacacg aatcccagcc aggatgtgac tgtgccctgc ccagttccct caactccacc
1800

tacccatct ccctcaactc cacctacccc atctccctca tgctgccacc cccgactgtc
1860

actgcaccga ccggcccttg aggacctgct cttaggttca gaagcgaacc tcacgtgcac
1920

actgaccggc ctgagagatg cctcaggtgt caccttcacc tggacgccct caagtgggaa
1980

gagcgtgtt caaggaccac ctgagcgtga cctctgtggc tgctacagcg tgtccagtgt
2040

cctgccgggc tgtgccgagc catggaacca tgggaagacc ttcaattgca ctgctgccta
2100

ccccgagtc aagacccgc taaccgccac cctctcaaaa tccggaaaca cattccggcc
2160

cgaggtccac ctgctgccgc cgccgtcgga ggagctggcc ctgaacgagc tggtgacgct
2220

gacgtgcctg gcacgtggct tcagcccaaa ggatgtgctg gtctcgtggc tgcaggggtc
2280

acaggagctg cccgcgaga agtacctgac ttgggcatcc cggcaggagc ccagccaggg
2340

caccaccacc ttcgtgtga ccagcatact gcgcgtggca gccgaggact ggaagaaggg
2400

ggacaccttc tctgcatgg tgggccacga ggcctgccg ctggccttca cacagaagac
2460

catcgaccgc ttggcgggta aaccaccca tgtcaatgtg tctgttgtca tggcggaggt
2520

ggacggcacc tgctacaagg acgaactctg agggaatgga tcttcgatcc cgatcgttca
2580

aacatttggc aataaagttt cttaagattg aatcctgttg ccggtcttgc gatgattatc

2640

atataatttc tgttgaatta cgttaagcat gtaataatta acatgtaatg catgacgtta
2700

tttatgagat gggtttttat gattagagtc ccgcaattat acatttaata cgcgatagaa
2760

aacaaaatat agcgcgcaaa ctaggataaa ttatcgcgcd cgggtgtcatc tatgttacta
2820

gatcgggaaat tgccaagcta attcttgaag acgaaagggc ctctgatac gcctatTTTT
2880

atagggttaat gtcataataa taatggtttc ttagacgtca ggtggcactt ttcggggaaa
2940

tgtgcgcgga acccctatTT gtttattttt cttaaatacat tcaaataatgt atccgctcat
3000

gagacaataa ccctgataaa tgcttcaata atgggaccga ctccgctcgc atgccacact
3060

agagccaagc tgatctcctt tgccccggag atcaccatgg acgactttct ctatctctac
3120

gatctaggaa gaaagtctga cggagaaggt gacgatacca tgttcaccac cgataatgag
3180

aagattagcc tcttcaatTT cagaaagaat gctgaccac agatgggttag agaggcctac
3240

gcggcaggtc tgatcaagac gatctaaccg agtaataatc tccaggagat caaatacctt
3300

ccaagaagg ttaaagatgc agtcaaaaga ttcaggacta actgcatcaa gaacacagag
3360

aaagatatat ttctcaagat cagaagtact attccagtat ggacgattca aggcttgctt
3420

cataaaccaa ggcaagtaat agagattgga gtctctaaga aagtagttcc tactgaatca
3480

aaggccatgg agtcaaaaat tcagatcgag gatctaacag aactcgccgt gaagactggc
3540

gaacagttca tacagagtct tttacgactc aatgacaaga agaaaatctt cgtcaacatg
3600

gtggagcagc acactctcgt ctactccaag aatatcaaag atacagtctc agaagaccaa
3660

agggtatttg agacttttca acaaagggta atatcgggaa acctcctcgg attccattgc
3720

ccagctatct gtcacttcat caaaaggaca gtagaaaagg aagggtggcac ctacaaatgc
3780

catcattgag ataaaggaaa ggctatcggt caagatgcct ctgccgacag tgggtccaaa
3840

gatggacccc caccacgag gagcatcgtg gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca
3900

aagcaagtgg attgatgtga tatctccact gacgtaaggg atgacgcaca atcccactat

ES 2 389 792 A1

3960

ccttcgcaag acccttcctc tatataagga agttcatttc atttgagag gactccggtg
4020

tttttacaac aataccacaa caaaacaaac aacaaacaac attacaattt actattctag
4080

tcgagatggg cacttcctct gttttttctac tattccttct ttcttttctt ctcttctctc
4140

cgccctctct tgctcttctt gagctgactc aggaccctgc tgtgtctgtg gccttgggac
4200

agacagtcag gatcacatgc caaggagaca gcctcagaag ctattatgca agctgggtacc
4260

agcagaagcc aggacaggcc cctgtacttg tcctctatgg taaaaacaac cggccctcag
4320

ggatcccaga ccgattctct ggctccagct caggaaacac agcttccttg accatcactg
4380

gggctcaggc ggaagatgag gctgactatt actgtaactc ccgggacagc agtggttaacc
4440

atgatttggg attcggcgga gggaccaagc tgaccgtcct aggtaggact gttgctgctc
4500

catctgtttt tattttttcca ccatctgatg aacaacttaa atctggaact gcttctgttg
4560

tttgcttctt taataatttt tatccaagag aagctaaagt tcaatggaaa gttgataatg
4620

ctcttcaatc tggaaattct caagaatctg ttactgaaca agattctaaa gattctactt
4680

attctctttc ttctactctt actctttcta aagctgatta tgaaaaacat aaagtttatg
4740

cttgtgaagt tactcatcaa ggactttctt ctccagttac taaatctttt aatagaggag
4800

aatgtaaaga tgaactttga gggaatggat cttcgatccc gatcggtcaa acatttggca
4860

ataaagtttc ttaagattga atcctgttgc cggctcttgcg atgattatca tataatttct
4920

gttgaattac gttaagcatg taataattaa catgtaatgc atgacgttat ttatgagatg
4980

ggtttttatg attagagtcc cgcaattata catttaatac gcgatagaaa acaaaatata
5040

gcgcgcaaac taggataaat tatcgcgcgc ggtgtcatct atgttactag atcgggaatt
5100

gccaaagctaa ttcttgaaga cgaaagggcc tcgtgatacg cctattttta taggttaatg
5160

tcattgataat aatggtttct tagacgtcag gtggcacttt tcggggaaat gtgcgcggaa
5220

cccctatttg tttatttttc taaatacatt caaatatgta tccgctcatg agacaataac

5280

cctgataaat gcttcaataa tgggaccgac tcgccgtccg accgtctgag acgtgacagg
5340

atatattggc gggtaaaacta agtcgctgta tgtgtttgtt tgagatctca tgtgagcaaa
5400

aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct
5460

ccgccccct gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac
5520

aggactataa agataccagg cgtttcccc tggaagctcc ctctgctgct ctctgttcc
5580

gaccctgccg cttaccggat acctgtccgc ctttctccct tcgggaagcg tggcgctttc
5640

tcatagetca cgctgtaggt atctcagttc ggtgtaggtc gttcgctcca agctgggctg
5700

tgtgcacgaa cccccgttc agcccgaccg ctgcgcctta tccggtaact atcgtcttga
5760

gtccaaccg gtaagacacg acttatcgcc actggcagca gccactggta acaggattag
5820

cagagcgagg tatgtaggcg gtgctacaga gttcttgaag tgggtggccta actacggcta
5880

cactagaaga acagtatttg gtatctgcgc tctgctgaag ccagttacct tcggaagaag
5940

agttggtagc tcttgatccg gcaaacaaac caccgctggc agcggtggtt tttttgtttg
6000

caagcagcag attacgcgca gaaaaaaagg atctcaagaa gatcctttga tcttttctac
6060

ggggctctgac gctcagtga acgaaaactc acgttaaggg attttggtca tgagattatc
6120

aaaaaggatc ttcacctaga tcctttttaa ttaaaaatga agtttttaaat caatctaaag
6180

tatatatgtg taacattggt ctagtgatta gaaaaactca tcgagcatca aatgaaactg
6240

caattttattc atatcaggat tatcaatacc atatttttga aaaagccgtt tctgtaatga
6300

aggagaaaaac tcaccgaggc agttccatag gatggcaaga tcctgggtatc ggtctgcgat
6360

tccgactcgt ccaacatcaa tacaacctat taatttcccc tcgtcaaaaa taaggttatc
6420

aagtgagaaa tcaccatgag tgacgactga atccggtgag aatggcaaaa gtttatgcat
6480

ttctttccag acttgttcaa caggccagcc attacgctcg tcatcaaaat cactcgcac
6540

aaccaaaccg ttattcattc gtgattgcgc ctgagcgagt cgaaatacgc gatcgctggt

ES 2 389 792 A1

6600

aaaaggacaa ttacaaacag gaatcgaatg caaccggcgc aggaacactg ccagcgcacg
6660

aacaatattt tcacctgaat caggatatct ttctaatacc tggaatgctg ttttccttgg
6720

gatcgcagtg gtgagtaacc atgcatcatc aggagtacgg ataaaatgct tgatggtcgg
6780

aagaggcata aattccgtca gccagtttag tctgaccatc tcattctgtaa caacattggc
6840

aacgctacct ttgccatgtt tcagaaacaa ctctggcgca tcgggcttcc catacaatcg
6900

gtagattgtc gcacctgatt gcccgacatt atcgcgagcc catttatacc catataaatc
6960

agcatccatg ttggaattta atcgcggcct tgagcaagac gtttcccggt gaatatggct
7020

cataacaccc cttgtattac tgtttatgta agcagacagt tttattgttc atgatgatat
7080

atttttatct tgtgcaatgt aacatcagag attttgagac acaacgtggc tttgttgaat
7140

aaatcgaaact tttgctgagt tgaaggatca gatcacgcat cttcccgaca acgcagaccg
7200

ttccgtggca aagcaaaagt tcaaaatcac caactggtcc acctacaaca aagctctcat
7260

caaccgtggc tccctcactt tctggctgga tgatggggcg attcaggcga tccccatcca
7320

acagcccgcc gtgcgagcgg cttttttatc cccggaagcc tgtggataga gggtagttat
7380

ccacgtgaaa ccgctaattgc cccgcaaagc cttgattcac ggggctttcc ggcccgtcc
7440

aaaaactatc cacgtgaaat cgctaatacag ggtacgtgaa atcgctaata ggagtacgtg
7500

aaatcgctaa taaggtcacg tgaaatcgct aatcaaaaag gcacgtgaga acgctaatag
7560

ccctttcaga tcaacagctt gcaaacaccc ctgcgtccgg caagtagtta cagcaagtag
7620

tatgttcaat tagcttttca attatgaata tatatatcaa ttattggctg cccttggtt
7680

gtggacaatg cgctacgcgc accggctccg cccgtggaca accgcaagcg gttgccacc
7740

gtcgagcgcc agcgctttt cccacaaccc ggcggccggc cgcaacagat cgttttataa
7800

atttttttt ttgaaaaaga aaaagcccga aaggcggcaa cctctcgggc ttctggattt
7860

ccgatccccg gaattagaga tcttggcagg atatattgtg gtgtaaccgt ctgaggca

7918

```

<210> 42
<211> 7828
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Vector de expresion de la IgA_2A1 con cadena pesada alfa 2 y
      cadena ligera lambda

<400> 42
tgccccacac tagagccaag ctgatctoct ttgccccgga gatcaccatg gacgactttc
60

tctatctcta cgatctagga agaaagttag acggagaagg tgacgatacc atgttcacca
120

ccgataatga gaagattagc ctcttcaatt tcagaaagaa tgctgacca cagatgggta
180

gagaggccta cggggcaggt ctgatcaaga cgatctaccc gagtaataat ctccaggaga
240

tcaaatacct tccaagaag gttaaagatg cagtcaaaag attcaggact aactgcatca
300

agaacacaga gaaagatata tttctcaaga tcagaagtac tattccagta tggacgattc
360

aaggcttgct tcataaacca aggcaagtaa tagagattgg agtctctaag aaagtagttc
420

ctactgaatc aaaggccatg gagtcaaaaa ttcagatcga ggatctaaca gaactcgccg
480

tgaagactgg cgaacagttc atacagagtc ttttacgact caatgacaag aagaaaatct
540

tcgtcaacat ggtggagcac gacactctcg tctactcaa gaatatcaaa gatacagtct
600

cagaagacca aagggtatt gagacttttc acaaagggt aatatcgga aacctcctcg
660

gattccattg ccagctatc tgtcacttca tcaaaaggac agtagaaaag gaagggtggca
720

cctacaaatg ccatcattgc gataaaggaa aggctatcgt tcaagatgcc tctgccgaca
780

gtggtcccaa agatggaccc ccaccacga ggagcatcgt ggaaaaagaa gacgttccaa
840

ccacgtcttc aaagcaagtg gattgatgtg atatctccac tgacgtaagg gatgacgcac
900

aatcccacta tccttcgcaa gaccttcct ctatataagg aagttcattt catttgagga
960

ggactccggt atttttacaa caataccaca acaaaacaaa caacaaacaa cattacaatt
1020

tactattcta gtogagatgg gcacttcctc tgtttttcta ctattccttc tttcttttct
1080

```

tctccttctc ccgtccctcc ttgccaggt gcagctgttg cagtctgcag cagagggtgaa
1140

aaagcccggg gagtctctga agatctcctg taagggttct ggatacagct ttaccagcta
1200

ctggatcggc tgggtgcgcc agatgcccg gaaaggcctg gagtggatgg ggatcatcta
1260

tcttggtgac tctgataccc gatacagccc gtccttccaa ggccagggtca ccatctcagc
1320

cgacaagtcc atcagcaccc cctacctgca gtggagcagc ctgaaggcct cggacacggc
1380

cgtgtattac tgtgcaagat ataggcggaa tacttttgac tattggggcc aaggtagcct
1440

ggtcaccgtc gcatgcatcc ccgaccagcc ccaaggctct cccgctgagc ctcgacagca
1500

cccccaaga tgggaacgtg gtcgtcgcac gcctgggtcca gggtttcttc cccaggagc
1560

cactcagtgt gacctggagc gaaagcggac agaacgtgac cgccagaaac ttcccaccta
1620

gccaggatgc ctccggggac ctgtacacca cgagcagcca gctgacctg ccggccacac
1680

agtccccaga cggcaagtcc gtgacatgcc acgtgaagca ctacacgaat ccagccagg
1740

atgtgactgt gccctgccc gttccccac ctccccatg ctgccacccc cgactgtcgc
1800

tgcaccgacc ggccctcgag gacctgctct taggttcaga agcgaacctc acgtgcacac
1860

tgaccggcct gagagatgcc tctggtgcca ccttcacctg gacgccctca agtgggaaga
1920

gcgctgttca aggaccacct gagcgtgacc tctgtggctg ctacagcgtg tccagtgtcc
1980

tgcttggtg tgcccagcca tggaaacctg gggaaacctt cacctgcact gctgccacc
2040

ccgagttgaa gacccacta accgccaaca tcacaaaatc cggaaacaca ttccggcccg
2100

aggtccacct gctgccgccg ccgtcggagg agctggccct gaacgagctg gtgacgctga
2160

cgtgcctggc acgtggcttc agcccaagg atgtgctggt tcgctggctg caggggtcac
2220

aggagctgcc ccgcgagaag tacctgactt gggcatcccg gcaggagccc agccagggtca
2280

ccaccacctt cgctgtgacc agcatactgc gcgtggcagc cgaggactgg aagaaggggg
2340

acaccttctc ctgcatggtg ggccacgagg ccctgccgct ggccttcaca cagaagacca
2400

tcgaccgctt ggcgggtaaa cccacccatg tcaatgtgtc tgttgatcatg gcggaggtgg
2460

acggcacctg ctatgagga atggatcttc gatcccgatc gttcaaacaat ttggcaataa
2520

agtttcttaa gattgaatcc tgttgccggt cttgcgatga ttatcatata atttctgttg
2580

aattacgtta agcatgtaat aattaacatg taatgcatga cgttatattat gagatgggtt
2640

tttatgatta gagtcccga attatacatt taatacgcga tagaaaacaa aatatagcgc
2700

gcaaactagg ataaattatc gcgcgcggtg tcactctatgt tactagatcg ggaattgcc
2760

agctaattct tgaagacgaa agggcctcgt gatacgccta tttttatagg ttaatgtcat
2820

gataataatg gtttcttaga cgtcaggtgg cacttttcgg ggaaatgtgc gcggaacccc
2880

tatttgttta ttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac aataaccctg
2940

ataaatgctt caataatggg accgaactgc cgtcgatgcc aactagagc caagctgatc
3000

tcctttgccc cggagatcac catggacgac tttctctatc tctacgatct aggaagaaag
3060

ttcgacggag aaggtgacga taccatgttc accaccgata atgagaagat tagcctcttc
3120

aatttcagaa agaatgctga cccacagatg gttagagagg cctacgcggc aggtctgatc
3180

aagacgatct acccgagtaa taatctccag gagatcaaat accttcccaa gaagggttaa
3240

gatgcagtca aaagattcag gactaactgc atcaagaaca cagagaaaga tatatttctc
3300

aagatcagaa gtactattcc agtatggacg attcaaggct tgcttcataa accaaggcaa
3360

gtaatagaga ttggagtctc taagaaagta gttcctactg aatcaaaggc catggagtca
3420

aaaattcaga tcgaggatct aacagaactc gccgtgaaga ctggcgaaca gttcatacag
3480

agtcttttac gactcaatga caagaagaaa atcttcgtca acatggtgga gcacgacact
3540

ctcgtctact ccaagaatat caaagataga gtctcagaag accaaagggc tattgagact
3600

tttcaacaaa gggtaatatc gggaaacctc ctcgattcc attgcccagc tatctgtcac
3660

ttcatcaaaa ggacagtaga aaaggaaggt ggcacctaca aatgccatca ttgcgataaa
3720

ggaaaggcta tcgttcaaga tgcctctgcc gacagtggtc ccaaagatgg acccccaccc
 3780
 acgaggagca tcgtggaaaa agaagacgtt ccaaccacgt cttcaaagca agtggattga
 3840
 tgtgatatct ccactgacgt aagggatgac gcacaatccc actatccttc gcaagaccct
 3900
 tcctctatat aaggaagttc atttcatttg gagaggactc cggatattttt acaacaatac
 3960
 cacaacaaaa caaacaacaa acaacattac aatttactat tctagtcgag atgggcactt
 4020
 cctctgtttt tctactattc cttctttctt ttcttctcct tctcccgtaa ctccttgcc
 4080
 cttctgagct gactcaggac cctgctgtgt ctgtggcctt gggacagaca gtcaggatca
 4140
 catgccaaagg agacagcctc agaagctatt atgcaagctg gtaccagcag aagccaggac
 4200
 aggcccctgt acttgctatc tatggtaaaa acaaccggcc ctccgggac cagaccgat
 4260
 tctctggctc cagctcagga aacacagctt ccttgaccat cactggggct caggcggaag
 4320
 atgaggctga ctattactgt aactcccggg acagcagtgg taaccatgat ttggtattcg
 4380
 gcggagggac caagctgacc gtcctagggtg gtcaaccaa ggcgcgcgc tctgtcactc
 4440
 tgttcccgcc ctcctctgag gagctccaag ccaacaaggc cacactagtg tgtctgatca
 4500
 gtgacttcta cccgggagct gtgacagtgg cctggaaggc agatggcagc cccgtcaagg
 4560
 cgggagtggg gacaacaaaa ccctccaaac agagcaacaa caagtacgag gccagcagct
 4620
 acctgagcct gacgcccagc cagtggaggt cccacagaag ctacagctgc caggtcacgc
 4680
 atgaaggag caccgtggag aagacagtgg cccctacaga atgttcatga gggaaatggat
 4740
 cttcgatccc gatcggtcaa acatttgcca ataaagtctt ttaagattga atcctgttgc
 4800
 cggctcttgc atgattatca tataatttct gttgaattac gtttaagcatg taataattaa
 4860
 catgtaatgc atgacgttat ttatgagatg gggttttatg attagagtcc cgcaattata
 4920
 catttaatac gcgatagaaa acaaaatata gcgcgcaaac taggataaat tatcgcgcdc
 4980
 ggtgtcatct atgttactag atcgggaatt gccaaagctaa ttcttgaaga cgaaagggcc
 5040

tcgtgatacg cctatTTTTa taggttaatg tcatgataat aatggTTTTct tagacgtcag
5100

gtggcacttt tcggggaaat gtgcgcggaa cccctatttg tttatTTTTc taaatacatt
5160

caaatatgta tccgctcatg agacaataac cctgataaat gcttcaataa tgggaccgac
5220

tcgccgtccg accgtctgag acgtgacagg atatattggc gggtaaacta agtcgctgta
5280

tgtgtttgtt tgagatctca tgtgagcaaa aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa
5340

ggccgcgttg ctggcgTTTT tccatagget ccgccccct gacgagcatc aaaaaaatcg
5400

acgtcaagt cagaggtggc gaaacccgac aggactataa agataccagg cgtttcccc
5460

tggaagctcc ctcgctgcgt ctctgttcc gaccctgccg cttaccggat acctgtccgc
5520

ctttctccct tcgggaagcg tggcgcttTc tcatagctca cgctgtaggt atctcagttc
5580

ggtgtaggtc gttcgctcca agctgggctg tgtgcacgaa cccccgTtc agcccgaccg
5640

ctgcgcctta tccggtaact atcgtcttga gtccaaccg gtaagacacg acttatcgcc
5700

actggcagca gccactggta acaggattag cagagcgagg tatgtaggcg gtgctacaga
5760

gttcttgaag tggTggccta actacggcta cactagaaga acagtatttg gtatctgcgc
5820

tctgctgaag ccagttacct tcggaagaag agttggtagc tcttgatccg gcaaacaaac
5880

caccgctggT agcggTggTt tttttgttg caagcagcag attacgcgca gaaaaaaagg
5940

atctcaagaa gatcctttga tcttttctac ggggtctgac gctcagtgga acgaaaactc
6000

acgttaaggT attttggTca tgagattatc aaaaaggatc ttcacctaga tctttttaa
6060

ttaaaaatga agttttaaat caatctaaag tatatatgtg taacattggT ctagtgatta
6120

gaaaaactca tcgagcatca aatgaaactg caatttattc atatcaggat tatcaatacc
6180

atatttttga aaaagccgtt tctgtaatga aggagaaaac tcaccgaggc agttccatag
6240

gatggcaaga tcttggTatc ggtctgcgat tccgactcgt ccaacatcaa tacaacctat
6300

taatttcccc tcgtcaaaaa taaggTtatc aagtgagaaa tcaccatgag tgacgactga
6360

atccggtgag aatggcaaaa gtttatgcat ttctttccag acttggtcaa caggccagcc
6420

attacgctcg tcatcaaaat cactcgcac caccaaaccg ttattcatto gtgattgcgc
6480

ctgagcgagt cgaaatacgc gatcgtggtt aaaaggacaa ttacaaacag gaatcgaatg
6540

caaccggcgc aggaacactg ccagcgcac cacaatattt tcacctgaat caggatattc
6600

ttctaatacc tggaaatgctg ttttcctgg gatcgcagt gtgagtaacc atgcatcac
6660

aggagtacgg ataaaatgct tgatggcgg aagaggcata aattccgtca gccagtttag
6720

tctgaccatc tcatctgtaa caacattggc aacgctacct ttgccatgtt tcagaaacaa
6780

ctctggcgca tggggcttcc catacaatcg gtagattgtc gcacctgatt gcccgacatt
6840

atcgcgagcc catttatacc catataaatc agcatccatg ttggaattta atcgcggcct
6900

tgagcaagac gtttcccggt gaatatggct cataacaccc cttgtattac tgtttatgta
6960

agcagacagt tttattgttc atgatgatat atttttatct tgtgcaatgt aacatcagag
7020

attttgagac acaacgtggc tttgttgaat aaatcgaact tttgctgagt tgaaggatca
7080

gatcacgcat cttcccgaca acgagaccg ttccgtggca aagcaaaagt tcaaaatcac
7140

caactggtcc acctacaaca aagctctcat caaccgtggc tccctcactt tctggctgga
7200

tgatggggcg attcaggcga tccccatcca acagcccgcc gtcgagcggg cttttttatc
7260

cccggaagcc tgtggataga gggtagttat ccacgtgaaa ccgctaattgc cccgcaaagc
7320

cttgattcac ggggctttcc ggcccgctcc aaaaactatc cacgtgaaat cgctaattcag
7380

ggtacgtgaa atcgctaata ggagtacgtg aaatcgctaa taaggtcacg tgaaatcgct
7440

aatcaaaaag gcacgtgaga acgctaatac ccctttcaga tcaacagctt gcaaacaccc
7500

ctcgtccgg caagtagtta cagcaagtag tatgttcaat tagcttttca attatgaata
7560

tatatatcaa ttattggtcg cccttggtt gtggacaatg cgctacgcgc accggctccg
7620

cccgtggaca accgcaagcg gttgcccacc gtcgagcgcc agcgctttg ccacaaaccc
7680

ES 2 389 792 A1

ggcggccggc cgcaacagat cgttttataa attttttttt ttgaaaaaga aaaagcccga
7740

aaggcgga cctctcgggc ttctggattt ccgatccccg gaattagaga tcttggcagg
7800

atatattgtg gtgtaaccgt ctcaggca
7828

<210> 43

<211> 7843

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Vector de expresion de la IgA_2A1 con cadena pesada alfa 1 y
cadena ligera kappa

<400> 43

tggccacac tagagccaag ctgatctcct ttgccccgga gatcaccatg gacgactttc
60

tctatctcta cgatctagga agaaagtctg acggagaagg tgacgatacc atgttcacca
120

ccgataatga gaagattagc ctcttcaatt tcagaaagaa tgctgacca cagatgggta
180

gagaggccta cggggcaggt ctgatcaaga cgatctaccc gagtaataat ctccaggaga
240

tcaaatacct tccaagaag gttaaagatg cagtcaaaag attcaggact aactgcatca
300

agaacacaga gaaagatata tttctcaaga tcagaagtac tattccagta tggacgattc
360

aaggcttgct tcataaacca aggcaagtaa tagagattgg agtctctaag aaagtagttc
420

ctactgaatc aaaggccatg gagtcaaaaa ttcagatcga ggatctaaca gaactcgccg
480

tgaagactgg cgaacagttc atacagagtc ttttacgact caatgacaag aagaaaatct
540

tcgtcaacat ggtggagcac gacactctcg tctactccaa gaatatcaaa gatacagtct
600

cagaagacca aagggctatt gagacttttc aacaaagggt aatatcgga aacctcctcg
660

gattccattg ccagctatc tgtcacttca tcaaaaggac agtagaaaag gaaggtggca
720

cctacaaatg ccatcattgc gataaaggaa aggctatcgt tcaagatgcc tctgccgaca
780

gtgggtccaa agatggaccc ccaccacga ggagcatcgt ggaaaaagaa gacgttccaa
840

ccacgtcttc aaagcaagtg gattgatgtg atatctccac tgacgtaagg gatgacgcac
900

ES 2 389 792 A1

aatcccaacta tccttcgcaa gacccttctt ctatataagg aagttcattt catttggaga
960
ggactccggt atttttacaa caataccaca acaaaacaaa caacaaacaa cattacaatt
1020
tactattcta gtcgagatgg gcacttcttc tgtttttcta ctattccttc tttcttttct
1080
tctccttctc ccgtccctcc ttgcccaggt gcagctgttg cagtctgcag cagaggtgaa
1140
aaagcccggg gagtctctga agatctcctg taagggttct ggatacagct ttaccagcta
1200
ctggatcggc tgggtgcgcc agatgcccg gaaaggcctg gagtggatgg ggatcatcta
1260
tcttggtgac tctgataccc gatacagccc gtccctccaa ggccagggtca ccatctcagc
1320
cgacaagtcc atcagcaccc cctacctgca gtggagcagc ctgaaggcct cggacacggc
1380
cgtgtattac tgtgcaagat ataggcggaa tacttttgac tattggggcc aaggtagcct
1440
ggtcaccgtc gcatgcatcc ccgaccagcc ccaaggctct cccgctgagc ctgcacagca
1500
cccccaaga tgggaacgtg gtcgtcgcat gcctgggtcca gggtctcttc cccaggagc
1560
cactcagtgt gacctggagc gaaagcggac agaacgtgac cgccagaaac tccccaccta
1620
gccaggatgc ctccggggac ctgtacacca cgagcagcca gctgacctg ccggccacac
1680
agtgccaga cggcaagtcc gtgacatgcc acgtgaagca ctacacgaat cccagccagg
1740
atgtgactgt gccctgcca gttccccac ctccccatg ctgccacccc cgactgtcgc
1800
tgcaccgacc ggccctcgag gacctgctct taggttcaga agcgaacctc acgtgcacac
1860
tgaccggcct gagagatgcc tctggtgcca ccttcacctg gacgccctca agtgggaaga
1920
gcgctgttca aggaccacct gagcgtgacc tctgtggctg ctacagcgtg tccagtgtcc
1980
tgcttgctg tgcccagcca tggaaacctg gggaaacctt cacctgcact gctgccacc
2040
ccgagttgaa gaccccaacta accgccaaca tcacaaaatc cggaacacaa ttccggcccc
2100
aggtccacct gctgccgccg ccgtcggagg agctggccct gaacgagctg gtgacgtga
2160
cgtgcctggc acgtggcttc agccccaagg atgtgctggt tcgctggctg caggggtcac
2220

ES 2 389 792 A1

aggagctgcc ccgcgagaag tacctgaact gggcatcccc gcaggagccc agccagggca
2280

ccaccacatt cgctgtgacc agcatactgc gcgtggcagc cgaggactgg aagaaggggg
2340

acacattctc ctgcatgggtg ggccacgagg ccttgccgct ggcttcaca cagaagacca
2400

tcgaccgctt ggcgggtaaa cccacccatg tcaatgtgtc tgttgtcatg gcggaggtgg
2460

acggcacctg ctatgaggga atggatcttc gatcccgatc gttcaaacat ttggcaataa
2520

agtttcttaa gattgaatcc tgttgccggt cttgcatga ttatcatata atttctgttg
2580

aattacgtta agcatgtaat aattaacatg taatgcatga cgttatttat gagatgggtt
2640

tttatgatta gagtcccgca attatacatt taatacgcga tagaaaacaa aatatagcgc
2700

gcaaactagg ataaattatc gcgcdcggtg tcatctatgt tactagatcg ggaattgccca
2760

agctaattct tgaagacgaa agggcctcgt gatacgcta tttttatagg ttaatgtcat
2820

gataataatg gtttcttaga cgtcaggtgg cacttttcgg ggaaatgtgc gcggaacccc
2880

tatttgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac aataaccctg
2940

ataaatgctt caataatggg accgactcgc cgtcgatgcc aactagagc caagctgatc
3000

tcctttgccc cggagatcac catggacgac tttctctatc tctacgatct aggaagaaag
3060

ttcgacggag aaggtgacga taccatgttc accaccgata atgagaagat tagcctcttc
3120

aatttcagaa agaatgctga cccacagatg gttagagagg cctacgcggc aggtctgatc
3180

aagacgatct acccgagtaa taatctccag gagatcaaat accttcccaa gaagggttaa
3240

gatgcagtca aaagattcag gactaactgc atcaagaaca cagagaaaga tatatttctc
3300

aagatcagaa gtactattcc agtatggacg attcaaggct tgcttcataa accaaggcaa
3360

gtaatagaga ttggagtctc taagaaagta gttcctactg aatcaaaggc catggagtca
3420

aaaattcaga tcgaggatct aacagaactc gccgtgaaga ctggcgaaca gttcatacag
3480

agtcttttac gactcaatga caagaagaaa atcttcgtca acatggtgga gcacgacact
3540

ES 2 389 792 A1

ctcgtctact ccaagaatat caaagatata gtctcagaag accaaagggc tattgagact
3600

tttcaacaaa gggtaatatc gggaaacctc ctcggattcc attgcccagc tatctgtcac
3660

ttcatcaaaa ggacagtaga aaaggaaggt ggcacctaca aatgccatca ttgcgataaa
3720

ggaaaggcta tcgttcaaga tgctctgcc gacagtggtc ccaaagatgg acccccaccc
3780

acgaggagca tcgtggaaaa agaagacgtt ccaaccacgt cttcaaagca agtggattga
3840

tgtgatattc cactgacgt aagggatgac gcacaatccc actatccttc gcaagaccct
3900

tcctctatat aaggaagttc atttcatttg gagaggactc cggtatTTTT acaacaatac
3960

cacaacaaaa caaacaacaa acaacattac aatttactat tctagtcgag atgggcactt
4020

cctctgtttt tctactattc cttctttctt ttcttctcct tctcccgtcc ctccttgctt
4080

cttctgagct gactcaggac cctgctgtgt ctgtggcctt gggacagaca gtcaggatca
4140

catgccaaagg agacagcctc agaagctatt atgcaagctg gtaccagcag aagccaggac
4200

aggccctgt acttgtcatc tatggtaaaa acaaccggcc ctcagggatc ccagaccgat
4260

tctctggctc cagctcagga aacacagctt ccttgaccat cactggggct caggcggaag
4320

atgaggctga ctattactgt aactcccggg acagcagtgg taaccatgat ttggtattcg
4380

gcggagggac caagctgacc gtcctaggta ggactgttgc tgctccatct gtttttattt
4440

ttccaccatc tgatgaacaa cttaaactct gaactgcttc tgttgtttgt cttcttaata
4500

atttttatcc aagagaagct aaagttcaat ggaaagtga taatgctctt caatctggaa
4560

attctcaaga atctgttact gaacaagatt ctaaagattc tacttattct ctttcttcta
4620

ctcttactct ttctaaagct gattatgaaa aacataaagt ttatgcttgt gaagttaact
4680

atcaaggact ttcttctcca gttactaaat cttttaatag aggagaatgt aaagatgaac
4740

tttgagggaa tggatcttcg atcccgatcg ttcaaacatt tggcaataaa gtttcttaag
4800

attgaatcct gttgccggtc ttgcgatgat tatcatataa tttctgttga attacgttaa
4860

ES 2 389 792 A1

gcatgtaata attaacatgt aatgcatgac gttatattatg agatggggtt ttatgattag
 4920
 agtcccgcga ttatacatgt aatacgcgat agaaaacaaa atatagcgcg caaactagga
 4980
 taaattatcg cgcdcggtgt catctatggt actagatcgg gaattgccaa gctaattctt
 5040
 gaagacgaaa gggcctcgtg atacgcctat ttttataggt taatgtcatg ataataatgg
 5100
 tttcttagac gtcaggtggc acttttcggg gaaatgtgcg cggaaccctt atttgtttat
 5160
 ttttctaaat acattcaa atgtatccgc tcatgagaca ataaccctga taaatgcttc
 5220
 aataatggga ccgactcgcc gtccgaccgt ctgagacgtg acaggatata ttggcgggta
 5280
 aactaagtcg ctgtatgtgt ttgtttgaga tctcatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc
 5340
 caggaaccgt aaaaaggccg cggtgctggc gtttttccat aggctccgcc cccctgacga
 5400
 gcatcacaaa aatcgacgct caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata
 5460
 ccaggcggtt cccctggaa gctccctcgt gcgctctcct gttccgacct tgccgcttac
 5520
 cggatacctg tccgcctttc tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata gtcacgctg
 5580
 taggtatctc agttcgggtgt aggtcggtcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc
 5640
 cgttcagccc gaccgctgcg ccttatccgg taactatcgt cttgagtcca acccggttaag
 5700
 acacgactta tcgccactgg cagcagccac tggtaacagg attagcagag cgaggtatgt
 5760
 aggcggtgct acagagttct tgaagtgggt gcctaactac ggctacacta gaagaacagt
 5820
 atttggtatc tgcgctctgc tgaagccagt taccttcgga agaagagttg gtagctcttg
 5880
 atccggcaaa caaaccaccg ctggtagcgg tgggtttttt gtttgcaagc agcagattac
 5940
 gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc tttgatcttt tctacggggt ctgacgctca
 6000
 gtggaacgaa aactcacgtt aagggatttt ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac
 6060
 ctagatcctt ttaaattaaa aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat atgtgtaaca
 6120
 ttggtctagt gattagaaaa actcatcgag catcaaatga aactgcaatt tattcatatc
 6180

ES 2 389 792 A1

aggattatca ataccatatt ttgaaaaag ccgtttctgt aatgaaggag aaaactcacc
6240

gaggcagttc cataggatgg caagatcctg gtatcgggtc gcgattccga ctcgccaac
6300

atcaatacaa cctattaatt tcccctcgtc aaaaataagg ttatcaagtg agaaatcacc
6360

atgagtgcg actgaatccg gtgagaatgg caaaagtta tgcatttctt tccagacttg
6420

ttcaacaggc cagccattac gctcgtcatc aaaatcactc gcatcaacca aaccgttatt
6480

cattcgtgat tgcgcctgag cgagtcgaaa tacgcgatcg ctgttaaaag gacaattaca
6540

aacaggaatc gaatgcaacc ggcgcaggaa cactgccagc gcatcaacaa tattttcacc
6600

tgaatcagga tattcttcta atacctggaa tgctgttttc cctgggatcg cagtggtgag
6660

taaccatgca tcatcaggag tacggataaa atgcttgatg gtccgaagag gcataaatc
6720

cgtcagccag tttagtctga ccatctcatc tgtaacaaca ttggcaacgc tacctttgcc
6780

atgtttcaga aacaactctg gcgcacggg cttcccatac aatcggtaga ttgtcgacc
6840

tgattgcccg acattatcgc gagcccatth ataccatata aaatcagcat ccatgttgga
6900

atttaatcgc ggccttgagc aagacgtttc ccgttgataa tggctcataa cacccttgt
6960

attactgttt atgtaagcag acagttttat tgttcatgat gatataatth tatcttggtc
7020

aatgtaacat cagagattth gagacacaac gtggctttgt tgaataaatc gaacttttgc
7080

tgagttgaag gatcagatca cgcattcttc cgacaacgca gaccgttccg tggcaaagca
7140

aaagtccaac atcaccaact ggtccacctc caacaaagct ctcatcaacc gtggctccct
7200

cactttctgg ctggatgatg gggcgattca ggcgatcccc atccaacagc ccgccgtcga
7260

gcgggctttt ttatccccgg aagcctgtgg atagagggtg gttatccacg tgaaccgct
7320

aatgccccgc aaagccttga ttcacggggc tttccggccc gctccaaaaa ctatccacgt
7380

gaaatcgcta atcagggtac gtgaaatcgc taatcggagt acgtgaaatc gctaataagg
7440

tcacgtgaaa tcgctaataa aaaaggcacg tgagaacgct aatagccctt tcagatcaac
7500

ES 2 389 792 A1

agcttgcaaa caccctcgc tccggcaagt agttacagca agtagtatgt tcaattagct
7560

tttcaattat gaatatatat atcaattatt ggtcgccctt ggcttgtgga caatgcgcta
7620

cgcgacccgg ctccgcccgt ggacaaccgc aagcgggttg ccaccgtcga gcgccagcgc
7680

ctttgccac aaccggcgcg ccggccgcaa cagatcgttt tataaatttt tttttttgaa
7740

aaagaaaaag cccgaaaggc ggcaacctct cgggcttctg gatttccgat ccccggaatt
7800

agagatcttg gcaggatata ttgtggtgta accgtctcag gca
7843

<210> 44

<211> 10197

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Vector de expresion de IgA_2A1 y Resistencia a kanamicina para plantas

<400> 44

ccactggcat acatgagaat taaggagat acatgagaat taaggagatc acgttatgac
60

ccccgccgat gacgcgggac aagccgtttt acgtttggaa ctgacagaac cgcaacgttg
120

aaggagccac tcagccgcgg gtttctggag tttaatgagc taagcacata cgtcagaaac
180

cattattgcg cggtcaaaaag tcgcctaagg tcactatcag ctagcaaata tttcttgta
240

aaaatgctcc actgacgttc cataaattcc cctcgggtatc caattagagt ctcatattca
300

ctctcaactc gatcgaggca tgattgaaca agatggattg cacgcagggt ctccggccgc
360

ttgggtggag aggtatttcg gctatgactg ggcacaacag acaatcggct gctctgatgc
420

cgccgtgttc cggtgtcag cgcaggggag cccggttctt tttgtcaaga ccgacctgtc
480

cggtgccctg aatgaactcc aagacgaggc agcgcggcta tcgtggctgg ccacgacggg
540

cgttccttgc gcagctgtgc tcgacgttgt cactgaagcg ggaagggact ggctgctatt
600

gggcgaagtg ccggggcagg atctcctgtc atctcacctt gtcctgccg agaaagtatc
660

catcatggct gatgcaatgc ggcggctgca tacgcttgat ccggctacct gccattcga
720

ccaccaagcg aaacatcgca tcgagcgagc acgtactcgg atggaagccg gtcttgcga

780

tcaggatgat ctggacgaag agcatcaggg gctcgcgcca gccgaactgt tcgccaggct
840

caaggcgagg atgcccgaag gcgaggatct cgtcgtgacc caccggcgatg cctgcttgcc
900

gaatatcatg gtggaaaatg gccgcttttc tggattcatc gactgtggcc ggctgggtgt
960

ggcggaccgc tatcaggaca tagcgttggc taccctgat attgctgaag agcttggcgg
1020

cgaatgggct gaccgcttcc tcgtgcttta cggatcgcg gctcccgatt cgcagcgcg
1080

cgccttctat cgccttcttg acgagttctt ctgagcggga ctctgggggt cggactctag
1140

ctagagtcaa gcagatcgtt caaacatttg gcaataaagt ttcttaagat tgaatcctgt
1200

tgccggtctt gcgatgatta tcatataatt tctgttgaat tacgttaagc atgtaataat
1260

taacatgtaa tgcgatgacg tatttatgag atgggttttt atgattagag tcccgcaatt
1320

atacatttaa tacgcgatag aaaacaaaat atagcgcgca aactaggata aattatcgcg
1380

cgcggtgtca tctatgttac tagatcgacc ggcatgcaag ctgataattc aaagatcgac
1440

cggcatgcaa gctgattgag ggaatggatc ttcgatcccg atcgttcaaa catttggcaa
1500

taaagtctct taagattgaa tctgttgcc ggtcttgca tgattatcat ataattctg
1560

ttgaattacg ttaagcatgt aataattaac atgtaatgca tgacgttatt tatgagatgg
1620

gtttttatga ttagagtccc gcaattatac atttaatacg cgatagaaaa caaatatag
1680

cgcgcaaact aggataaatt atcgcgcdeg gtgtcatcta tgttactaga tcgggaattg
1740

ccaagctaatt tcttgaagac gaaagggcct cgtgatacgc ctatttttat aggttaatgt
1800

catgataata atgggttctt agacgtcagg tggcactttt cggggaaatg tgcgcggaac
1860

ccctatttgt ttatttttct aaatacattc aaatatgtat ccgctcatga gacaataacc
1920

ctgataaatg cttcaataat gggaccgact cgcgacggca tggcccacac tagagccaag
1980

ctgatctcct ttgccccgga gatcaccatg gacgactttc tctatctcta cgatctagga
2040

agaaagtctg acggagaagg tgacgatacc atgttcacca ccgataatga gaagattagc

2100

ctcttcaatt tcagaaagaa tgctgaccca cagatggtta gagaggccta cgcggcaggt
2160

ctgatcaaga cgatctaccc gagtaataat ctccaggaga tcaaatacct tccaagaag
2220

gttaaagatg cagtcaaaag attcaggact aactgcatca agaacacaga gaaagatata
2280

tttctcaaga tcagaagtac tattccagta tggacgattc aaggcttgct tcataaacca
2340

aggcaagtaa tagagattgg agtctctaag aaagtagttc ctactgaatc aaaggccatg
2400

gagtcaaaaa ttcagatcga ggatctaaca gaactcgccg tgaagactgg cgaacagttc
2460

atacagagtc ttttacgact caatgacaag aagaaaatct tcgtcaacat ggtggagcac
2520

gacactctcg tctactccaa gaatatcaaa gatacagtct cagaagacca aagggtctatt
2580

gagacttttc aacaaagggg aatatcgga aacctcctcg gattccattg ccagctatc
2640

tgtcacttca tcaaaaggac agtagaaaag gaaggtggca cctacaaatg ccatcattgc
2700

gataaaggaa aggctatcgt tcaagatgcc tctgccgaca gtggtcccaa agatggaccc
2760

ccaccacga ggagcatcgt ggaaaaagaa gacgttccaa ccacgtcttc aaagcaagtg
2820

gattgatgtg atatctccac tgacgtaagg gatgacgcac aatcccacta tccttcgcaa
2880

gaccttcct ctatataagg aagttcatth catttgga gaactccggt atttttacaa
2940

caataccaca aaaaaacaaa caacaaacaa cattacaatt tactattcta gtcgacctgc
3000

aggcgccgc actagtgata tcgatgggca cttcctctgt ttttctacta ttccttcttt
3060

cttttcttct ccttctcccg tcctctcttg ccaggtgca gctgttgag tctgcagcag
3120

agggtgaaaaa gcccgaggag tctctgaaga tctcctgtaa gggttctgga tacagcttta
3180

ccagctactg gatcggtggt gtgcgccaga tgcccggaagg aggcctggag tggatgggga
3240

tcatttatcc tgggtgactct gataccgat acagccgctc cttccaaggc caggtcacca
3300

tctcagccga caagtccatc agcaccgctt acctgcagtg gagcagcctg aaggcctcgg
3360

acacggccgt gtattactgt gcaagatata ggcggaatac ttttgactat tggggccaag

3420

gtagcctggt caccgtcgca tccccgacca gcccgaaggt cttcccgtg agcctctgca
3480

gcacccagcc agatgggaac gtggtcacg cctgcctggt ccagggcttc ttccccagg
3540

agccactcag tgtgacctgg agcgaaagcg gacagggcgt gaccgccaga aacttccac
3600

ccagccagga tgccctccggg gacctgtaca ccacgagcag ccagctgacc ctgccggcca
3660

cacagtgcct agccggcaag tccgtgacat gccacgtgaa gcactacacg aatcccagcc
3720

aggatgtgac tgtgccctgc ccagttccct caactccacc taccatctt cctcaactc
3780

cacctacccc atctccctca tgctgccacc cccgactgtc actgcaccga ccggcccttg
3840

aggacctgct cttaggttca gaagcgaacc tcacgtgcac actgaccggc ctgagagatg
3900

cctcaggtgt caccttcacc tggacgccct caagtggga gagcgtgtt caaggaccac
3960

ctgagcgtga cctctgtggc tgctacagcg tgtccagtgt cctgccgggc tgtgccgagc
4020

cttggaatca tgggaagacc ttactttgca ctgctgccta ccccgagtcc aagacccgc
4080

taaccgccac cctctcaaaa tccggaaca cattccggcc cgaggtccac ctgctgccgc
4140

cgccgtcgga ggagctggcc ctgaacgagc tggtagcgt gacgtgcctg gcacgtggct
4200

tcagcccaa ggatgtgctg gtctgctggc tgcaggggtc acaggagctg ccccgcgaga
4260

agtacctgac ttgggcatcc cggcaggagc ccagccaggg caccaccacc ttgctgtga
4320

ccagcatact gcgcgtggca gccgaggact ggaagaaggg ggacaccttc tctgcatgg
4380

tgggccacga ggccctgccg ctggccttca cacagaagac catcgaccgc ttggcgggta
4440

aaccaccca tgtcaatgtg tctgttgta tggcggagggt ggacggcacc tgctacaagg
4500

acgaactctg agggaatgga tcttcgatcc cgatcggtca aacatttggc aataaagttt
4560

cttaagattg aatcctgttg ccggtcttgc gatgattatc atataatttc tgttgaatta
4620

cgtaagcat gtaataatta acatgtaatg catgacgtta tttatgagat gggtttttat
4680

gattagagtc ccgcaattat acatttaata cgcgatagaa aacaaaatat agcgcgcaaa

ES 2 389 792 A1

4740

ctaggataaa ttatcgcgcd cgggtgtcatc tatgttacta gatcgggaat tgccaagcta
4800

attcttgaag acgaaagggc ctctgtgatac gcctatTTTT ataggTTaat gtcattgataa
4860

taatggTTTT ttagacgtca ggtggcactt ttcggggaaa tgtgcgcgga acccctatTT
4920

gtttatTTTT ctaaatacat tcaaatatgt atccgctcat gagacaataa ccctgataaa
4980

tgcttcaata atgggaccga ctgcgcgtcg atgccacact agagccaagc tgatctcctt
5040

tgccccggag atcaccatgg acgactttct ctatctctac gatctaggaa gaaagtTCga
5100

cggagaaggT gacgatacca tgttcaccac cgataatgag aagattagcc tcttcaatTT
5160

cagaaagaat gctgaccac agatggTTag agaggcctac gcggcaggTC tgatcaagac
5220

gatctacccg agtaataatc tccaggagat caaatacctt cccaagaagg ttaaagatgc
5280

agtcaaaaaga ttcaggacta actgcatcaa gaacacagag aaagatatat ttctcaagat
5340

cagaagtact attccagtat ggacgattca aggcttgctt cataaaccaa ggcaagtaat
5400

agagattgga gtctctaaga aagtagttcc tactgaatca aaggccatgg agtcaaaaat
5460

tcagatcgag gatctaacag aactcgccgt gaagactggc gaacagttca tacagagtct
5520

tttacgactc aatgacaaga agaaaatctt cgtcaacatg gtggagcacg acactctcgt
5580

ctactccaag aatatcaaag atacagtctc agaagaccaa agggctattg agacttttca
5640

acaaagggta atatcgggaa acctcctcgg attccattgc ccagctatct gtcacttcat
5700

caaaaggaca gtagaaaagg aagggtggcac ctacaaatgc catcattgcg ataaaggaaa
5760

ggctatcggt caagatgcct ctgccgacag tggTcccaaa gatggacccc caccacgag
5820

gagcatcgTg gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca aagcaagtgg attgatgtga
5880

tatctccact gacgtaaggg atgacgcaca atcccactat ccttcgcaag acccttcctc
5940

tatataagga agttcatttc atttgagag gactccggt tttttacaac aataccacaa
6000

caaaacaaac aacaaacaac attacaatTT actattctag tcgagatggg cacttcctct

6060

gtttttctac tattccttct ttcttttctt ctccttctcc cgtccctcct tgctcttct
6120

gagctgactc aggacctgc tgtgtctgtg gccttgggac agacagtcag gatcacatgc
6180

caaggagaca gcctcagaag ctattatgca agctggtacc agcagaagcc aggacaggcc
6240

cctgtaactg tcatctatgg taaaaacaac cggccctcag ggatcccaga ccgattctct
6300

ggctccagct caggaaacac agcttccttg accatcactg gggctcaggc ggaagatgag
6360

gctgactatt actgtaactc ccgggacagc agtggttaacc atgatttggt attcggcgga
6420

gggaccaagc tgaccgtcct aggtggtcaa ccaaaggccg cccctctgt cactctgttc
6480

ccgccctcct ctgaggagct ccaagccaac aaggccacac tagtgtgtct gatcagtgac
6540

ttctaccggg gagctgtgac agtggcctgg aaggcagatg gcagccccgt caaggcgga
6600

gtggagacaa ccaaacctc caaacagagc aacaacaagt acgcggccag cagctacctg
6660

agcctgacgc ccgagcagtg gaagtccac agaagctaca gctgccaggt cacgcatgaa
6720

gggagcaccg tggagaagac agtggccctt acagaatgtt catgagggaa tggatcttcg
6780

atcccgatcg ttcaaactt tggcaataaa gtttcttaag attgaatcct gttgccggtc
6840

ttgcgatgat tatcatataa tttctgttga attacgttaa gcatgtaata attaacatgt
6900

aatgcatgac gttatttatg agatgggttt ttatgattag agtcccgcaa ttatacat
6960

aatacgcat agaaaacaaa atatagcgcg caaactagga taaattatcg cgcgcggtgt
7020

catctatgtt actagatcgg gaattgccaa gctaattctt gaagacgaaa gggcctcgtg
7080

atacgctat ttttataggt taatgtcatg ataataatgg tttcttagac gtcagggtggc
7140

acttttcggg gaaatgtgcg cggaaccctt atttggttat tttctaaat acattcaaat
7200

atgtatccgc tcatgagaca ataaccctga taaatgcttc aataatggga ccgactcgcc
7260

gtccgaccgt cgatgagaga cctgacagga tatattggcg ggtaaactaa gtcgctgtat
7320

gtgtttgttt gagatctcat gtgagcaaaa ggccagcaaa aggccaggaa ccgtaaaaag

ES 2 389 792 A1

7380

gccgcgttgc tggcggtttt ccataggctc cgccccctg acgagcatca caaaaatcga
7440

cgctcaagtc agaggtggcg aaacccgaca ggactataaa gataccaggc gtttccccct
7500

ggaagctccc tcgtgcgctc tcctgttccg accctgccgc ttaccggata cctgtccgcc
7560

tttctccctt cgggaagcgt ggcgctttct catagctcac gctgtaggta tctcagttcg
7620

gtgtaggtcg ttcgctccaa gctgggctgt gtgcacgaac cccccgttca gcccgaccgc
7680

tgcgccttat ccggtaaacta tcgtcttgag tccaaccggg taagacacga cttatcgcca
7740

ctggcagcag ccaactggtaa caggattagc agagcgaggt atgtaggcgg tgctacagag
7800

ttcttgaagt ggtggcctaa ctacggctac actagaagaa cagtatttgg tatctgcgct
7860

ctgctgaagc cagttacctt cggaagaaga gttggtagct cttgatccgg caaacaacc
7920

accgctggta gcggtgggtt ttttgtttgc aagcagcaga ttacgcgcag aaaaaagga
7980

tctcaagaag atcctttgat cttttctacg gggctctgacg ctcagtggaa cgaaaactca
8040

cgttaagggg ttttggtcat gagattatca aaaaggatct tcacctagat ctttttaa
8100

taaaaatgaa gttttaaatc aatctaaagt atatatgtgt aacattggtc tagtgattat
8160

ttgcgcacta ccttggtgat ctgcgcttcc acgtagtgga caaattcttc caactgatct
8220

gcgcgcgagg ccaagcgatc ttcttcttgc ccaagataag cctgtctagc ttcaagtatg
8280

acgggctgat actgggccgg caggcgctcc attgcccagt cggcagcgac atccttcggc
8340

gcgattttgc cggttactgc gctgtaccaa atgcgggaca acgtaagcac tacatttcgc
8400

tcatcgccag cccagtcggg cggcgagttc catagcgta aggtttcatt tagcgctca
8460

aatagatcct gttcaggaac cggatcaaag agttcctccg ccgctggacc taccaaggca
8520

acgctatgtt ctcttgcttt tgtcagcaag atagccagat caatgtcgat cgtggctggc
8580

tcgaagatac ctgcaagaat gtcattgcgc tgccattctc caaattgcag ttcgcgctta
8640

gctggataac gccacggaat gatgtcgtcg tgcacaacaa tgggtgacttc tacagcgcg

ES 2 389 792 A1

8700

agaatctcgc tctctccagg ggaagccgaa gtttccaaaa ggtcgttgat caaagctcgc
8760

cgcgttggtt catcaagcct tacggtcacc gtaaccagca aatcaatata actgtgtggc
8820

ttcaggccgc catccactgc ggagccgtac aaatgtacgg ccagcaacgt cggttcgaga
8880

tggcgctcga tgacgccaac tacctctgat agttgagtcg atacttcggc gatcacccgt
8940

tccctcatga tgtttaactt tgttttaggg cgactgccct gctgcgtaac atcgttgctg
9000

ctccataaca tcaaacatcg acccacggcg taacgcgctt gctgcttgga tgcccagggc
9060

atagactgta ccccaaaaaa acagtcataa caagccatga aaaccgccac tgcgccgtta
9120

ccaccgctgc gttcgggtcaa ggttctggac cagttgcgtg agcgcatatc ctacttgcat
9180

tacagcttac gaaccgaaca ggcttatgtc cactgggttc gtgccttcat ccgtttccac
9240

ggtgtgcgtc acccggcaac cttgggcagc agcgaagtcg aggcatttct gtcctggctg
9300

ggaacacccc ttgtattact gtttatgtaa gcagacagtt ttattgttca tgatgatata
9360

tttttatctt gtgcaatgta acatcagaga ttttgagaca caacgtggct ttgttgaata
9420

aatcgaactt ttgctgagtt gaaggatcag atcacgcata ttcccgacaa cgcagaccgt
9480

tccgtggcaa agcaaaagtt caaaatcacc aactgggtcca cctacaacaa agctctcatc
9540

aaccgtggct ccctcacttt ctggctggat gatggggcga ttcaggcgat cccatccaa
9600

cagcccgcgc tcgagcgggc ttttttatcc ccggaagcct gtggatagag ggtagttatc
9660

cacgtgaaac cgctaatacc ccgcaaagcc ttgattcacg gggctttccg gcccgctcca
9720

aaaactatcc acgtgaaatc gctaatacagg gtacgtgaaa tcgctaatac gagtacgtga
9780

aatcgctaata aggtcacgt gaaatcgcta atcaaaaagg cacgtgagaa cgctaatagc
9840

cctttcagat caacagcttg caaacacccc tcgctccggc aagtagttac agcaagtagt
9900

atgttcaatt agcttttcaa ttatgaatat atatatcaat tattggtcgc cttggcttg
9960

tggacaatgc gctacgcga ccggctccgc ccgtggacaa ccgcaagcgg ttgccaccg

ES 2 389 792 A1

10020

tcgagcgcca gcgcctttgc ccacaaccgc gcggccggcc gcaacagatc gttttataaa
10080

tttttttttt tgaaaaagaa aaagcccgaa aggcggcaac ctctcgggct tctggatttc
10140

cgatccccgg aattagagat cttggcagga tatattgtgg tgtaacggtc tcttggc
10197



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201130613

②② Fecha de presentación de la solicitud: 18.04.2011

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **C12N15/66** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	WEBER, E. et al., 'A modular cloning system for standardized assembly of multigene constructs', PLOS ONE, 18 Feb 2011, Vol. 6, No. 2, página e16765, ISSN: 1932-6203, Resultados; Figuras 3, 4 y 5.	1-6
A	ENGLER, C. et al., 'Golden Gate Shuffling: A One-Pot DNA Shuffling Method Based on Type IIs Restriction Enzymes', PLoS ONE, 2009, Vol. 4, No. 5, página e5553, ISSN: 1932-6203.	1-13
A	ENGLER, C. et al., 'A one pot, one step, precision cloning method with high throughput capability.', PLOS ONE, 2008, Vol. 3, No. 11, página e3647, ISSN: 1932-6203, todo el documento.	1-13

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
01.10.2012

Examinador
J. L. Vizán Arroyo

Página
1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C12N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE, EMBL-EBI

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 01.10.2012

Declaración**Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)**

Reivindicaciones 7-13

SI

Reivindicaciones 1-6

NO**Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)**

Reivindicaciones 7-13

SI

Reivindicaciones

NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	WEBER, E. et al., <i>PLoS One</i> , (18-02-2011), 6(2):e16765.	18.02.2011
D02	ENGLER, C. et al., <i>PLoS one</i> , (2009), 4(5): e5553.	2009
D03	ENGLER, C. et al., <i>PLoS One</i> , (2008), 3(11): e3647.	2008

En D1 se describen plásmidos que facilitan el ensamblaje de construcciones multigénicas para su aplicación en un método de clonado modular.

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**1. NOVEDAD (Art. 4.1. y Art. 6.1. de la Ley de Patentes) y ACTIVIDAD INVENTIVA (Art. 4.1. y Art. 8.1. de la Ley de Patentes).****1.1. Reivindicación independiente 1.**

1.1.1. El objeto de la reivindicación 1 consiste en un plásmido de destino pDGB para el ensamblaje *in vitro* de piezas de ADN de doble cadena que comprende básicamente una construcción genética (*cassete*) que permite una selección negativa flanqueada en sus extremos 5' y 3' por sendas secuencias de reconocimiento de dos enzimas de restricción del tipo IIS, dispuestas en orientación invertida una con respecto a la otra. Además, cada enzima de restricción da lugar, en el sitio de corte, a una secuencia de cuatro nucleótidos seleccionada de entre tres posibles (1, 2 o 3, y A, B o C, respectivamente). Sin embargo, plásmidos con dichas características técnicas ya han sido descritos en el documento D1 (cf. D1: Resultados; Figuras 3, 4 y 5). Por consiguiente, el objeto de protección de la reivindicación independiente 1 y el de las reivindicaciones dependientes 2 a 6 se considera que no es nuevo ni tiene actividad inventiva sobre la base del documento D1.

1.2. La presente solicitud no satisface el criterio establecido en el Art. 4.1. de la Ley de Patentes, pues el objeto de las reivindicaciones 1-6 no es nuevo ni tiene actividad inventiva de acuerdo con los Arts. 6.1. y 8.1. de la Ley de Patentes.