

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 428 384**

51 Int. Cl.:

**C12N 15/82** (2006.01)  
**A61K 39/145** (2006.01)  
**A61P 31/16** (2006.01)  
**A61P 37/04** (2006.01)  
**C07K 14/11** (2006.01)  
**C12N 15/44** (2006.01)  
**C12N 7/01** (2006.01)  
**C12N 7/02** (2006.01)  
**C12N 15/29** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.07.2008** **E 08783201 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.06.2013** **EP 2173886**

54 Título: **Partículas similares al virus de la influenza (VLP) que contienen hemaglutinina producida dentro de una planta**

30 Prioridad:

**13.07.2007 US 959414 P**  
**27.11.2007 US 990603 P**  
**12.12.2007 US 13272**  
**21.01.2008 CA 2615372**  
**22.01.2008 US 22775**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**07.11.2013**

73 Titular/es:

**MEDICAGO INC. (100.0%)**  
**1020 ROUTE DE L'EGLISE SUITE 600**  
**QUÉBEC, QUÉBEC G1V 3V9, CA**

72 Inventor/es:

**D'Aoust, Marc-André;**  
**Couture, Manon;**  
**Ors, Frédéric;**  
**Trepanier, Sonia;**  
**Lavoie, Pierre-Olivier;**  
**Dargis, Michèle;**  
**VeZina, Louis-Philippe y**  
**Landry, Nathalie**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

ES 2 428 384 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Partículas similares al virus de la influenza (VLP) que contienen hemaglutinina producida dentro de una planta

Campo de la invención

5 La presente invención se relaciona con la producción de partículas similares a virus. Más específicamente, la presente invención está dirigida a la producción de partículas similares a virus que comprenden antígenos de influenza.

Antecedentes de la invención

10 La influenza es la causa principal de muerte en seres humanos debido a un virus respiratorio. Los síntomas comunes incluyen fiebre, dolor de garganta, respiración entrecortada y dolor muscular, entre otros. Durante la temporada de gripe, los virus de la influenza infectan 10 - 20% de la población en todo el mundo, conduciendo a 250 - 500.000 muertes anualmente.

15 Los virus de la influenza son virus encapsulados que brotan de la membrana plasmática de células de mamíferos infectados. Se clasifican en tipos A, B o C, con base en las nucleoproteínas y antígenos de matriz de proteína presentes. Los virus de la influenza tipo A pueden además dividirse en subtipos de acuerdo con la combinación de glicoproteínas de superficie de hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA) presentes. La HA controla la capacidad del virus para unirse y penetrar la célula huésped. La NA remueve residuos de ácido siálico terminal de las cadenas de glicano en la célula huésped y las proteínas de la superficie viral, lo cual evita la agregación viral y facilita la movilidad del virus. Actualmente, se reconocen los subtipos 16 HA (H1 - H16) y 9 NA (N1 - N9). Cada virus de influenza del tipo A presenta un tipo de glicoproteína HA y un tipo de glicoproteína NA. Generalmente, cada subtipo exhibe una especificidad de especie; por ejemplo, se sabe que todos los subtipos de HA y NA infectan aves, mientras que sólo los subtipos H1, H2, H3, H5, H7, H9, H10, N1, N2, N3 y N7 han demostrado que infectan seres humanos (Horimoto 2006; Suzuki 2005). Los virus de la influenza que comprenden H5, H7 y H9 se consideran las formas más altamente patógenas de virus de influenza A, y es más probable que causen futuras pandemias.

25 Las pandemias de influenza son usualmente causadas por virus de influenza altamente transmisibles y virulentos, y pueden conducir a niveles elevados de enfermedad y muerte a escala mundial. El surgimiento de nuevos subtipos de influenza A dio como resultado 4 pandemias mayores en el siglo 20. La gripe española, causada por un virus H1N1, en 1918 - 1919 condujo a la muerte a más de 50 millones de personas en todo el mundo entre 1917 y 1920. Actualmente, el riesgo de surgimiento de un nuevo subtipo, o de la transmisión a seres humanos de un subtipo endémico en animales, está siempre presente. De interés especial es una forma altamente virulenta de una influenza aviar (también llamada "gripe aviar"), brotes de los cuales han sido reportados en varios países alrededor del mundo. En muchos casos, esta gripe aviar puede resultar en tasas de mortalidad cercanas al 100% en un lapso de 48 horas. La diseminación del virus de influenza aviar (H5N1), identificada primero en Hong Kong en 1997, a otros países asiáticos y europeos se ha postulado que está relacionado con los patrones migratorios de aves silvestres.

35 El método actual para combatir la influenza en seres humanos es por medio de vacunación anual. La vacuna es usualmente una combinación de varias cepas que se predice son las cepas dominantes para la "gripe de la temporada" entrante. La predicción es coordinada por la Organización Mundial de la Salud. Generalmente, el número de dosis de vacunas producidas cada año no es suficiente para vacunar a la población mundial. Por ejemplo, Canadá y los Estados Unidos obtienen suficientes dosis de vacunas para inmunizar alrededor de un tercio de su población, mientras sólo 17% de la población de la Unión Europea pueden ser vacunados. Es evidente que la producción actual en todo el mundo de vacuna contra la influenza podría ser insuficiente frente a una pandemia de gripe en todo el mundo. Incluso si la producción anual necesaria pudiera de algún modo cumplirse en un año determinado, las cepas dominantes cambian de año en año, de modo que la acumulación en momentos de menos necesidad en el año no es práctica. La producción económica a gran escala de una vacuna efectiva contra la influenza es de interés significativo tanto para el gobierno como para la industria privada por igual.

40 Las reservas virales para su uso en vacunas son producidas en huevos fertilizados. Las partículas virales son cosechadas, y para una vacuna viral inactivada, interrumpidas por medio de detergente para inactivarlas. Las vacunas vivas atenuadas se elaboran a partir de virus de la influenza que fueron adaptados para crecer a baja temperatura lo cual significa que a temperatura corporal normal, se atenúa la vacuna. Tal vacuna se autoriza en los Estados Unidos para su uso en individuos comprendidos entre 5 y 49 años de edad. Las vacunas de virus enteros inactivados no causan ningún daño por la inactivación con agentes químicos y han sido producidas en huevos embrionarios o en cultivos de células de mamíferos. Todos estos tipos de vacuna muestran algunas ventajas y desventajas específicas. Una ventaja de vacunas derivadas de virus enteros es el tipo de inmunidad inducida por tales vacunas. En general, las vacunas divididas inducen una fuerte respuesta de anticuerpos mientras las vacunas elaboradas a partir de virus enteros inducen tanto una respuesta de anticuerpos (humoral) como celular. Aun cuando

una respuesta de anticuerpos funcional es un criterio para obtener la licencia que se correlaciona con la protección inducida por una vacuna, existe una evidencia cada vez mayor de que una respuesta de células T es también importante en la inmunidad contra influenza - esto puede también proporcionar mejor protección en los ancianos.

5 Con el fin de inducir una respuesta inmune celular, se desarrollaron vacunas elaboradas a partir de virus completos. Debido a la alta patogenicidad de la cepa de la influenza (por ejemplo, H5N1), estas vacunas son producidas en una instalación BL3+. Para cepas de influenza altamente patógenas tales como H5N1, algunos fabricantes han modificado la secuencia génica de la hemaglutinina con el fin de reducir la patogenicidad de la cepa de la influenza y volverla no virulenta y más fácilmente producida en huevos embrionarios o cultivos celulares de mamíferos. Otros también utilizan cepas de influenza nuevamente mezcladas en las cuales las secuencias genéticas para las proteínas de hemaglutinina y neuraminidasa se clonan en una cepa donadora de influenza poco patógena de alto rendimiento (A/PR/8/34; Quan F-S et al, 2007). Aunque estos métodos pueden producir vacunas útiles, no proporcionan una solución a la necesidad de una producción rápida, de bajo costo, y en gran volumen de vacunas a escala necesaria para satisfacer la necesidad global en un año normal, y es casi seguro que sería insuficiente frente a una pandemia.

15 Al utilizar esta tecnología genética inversa, se podría necesitar también mutar la secuencia genética de la proteína HA para hacerla no virulenta. Para cepas de influenza altamente patógenas, la producción de vacunas a partir de virus completos requiere ya sea procedimientos de confinamiento o que las vacunas resultantes no coincidan exactamente con la secuencia genética del virus circulante. En el caso de vacunas vivas atenuadas, existe aún un riesgo de que la vacuna administrada pueda recombinarse con un virus de la influenza del huésped, conduciendo a un nuevo virus de influenza.

25 Aunque este método mantiene el epítipo antigénico y las modificaciones después de la traducción, existen una cantidad de inconvenientes con este método, incluyendo el riesgo de contaminación debido al uso de virus completos y rendimientos variables dependiendo de la cepa del virus. Pueden presentarse niveles de protección por debajo del óptimo por la heterogeneidad genética en el virus debido a su introducción en los huevos. Otras desventajas incluyen planificación extensa para obtener los huevos, riesgos de contaminación debidos a compuestos químicos utilizados en la purificación, y largos periodos de producción. También, personas hipersensibles a proteínas del huevo no pueden ser candidatas aptos para recibir la vacuna.

30 En el caso de una pandemia, la producción de vacunas divididas se limita por la necesidad para adaptar la cepa para ser cultivada en huevos y los rendimientos de producción variable logrados. Aunque esta tecnología ha sido utilizada durante años para la producción de vacunas de temporada, difícilmente puede responder en un plazo razonable a una pandemia y la capacidad de fabricación a nivel mundial es limitada.

35 Para evitar el uso de huevos, los virus de la influenza también han sido producidos en cultivo de células de mamífero, por ejemplo, en células MDCK o PERC.6, o similares. Otro enfoque es la genética inversa, en la cual se producen virus por transformación celular con genes virales. Estos métodos, sin embargo, también requieren el uso de virus completos así como métodos elaborados y ambientes de cultivo específicos.

Se han desarrollado diferentes productos recombinantes como candidatos de vacunas recombinantes contra influenza. Estos procedimientos se han enfocado en la expresión, producción y purificación de proteínas HA y NA de influenza tipo A, incluyendo la expresión de estas proteínas utilizando células de insectos infectadas con baculovirus (Crawford et al, 1999; Johansson, 1999), vectores virales y construcciones de vacunas de ADN (Olsen et al., 1997).

40 Se conocen bien los detalles específicos de una infección de virus de la influenza. En pocas palabras, el ciclo infeccioso se inicia por la unión de la proteína HA de la superficie del virión a un receptor celular que contiene ácido siálico (glicoproteínas y glicolípidos). La proteína NA media el procesamiento del receptor de ácido siálico, y la penetración de virus en la célula depende de una endocitosis mediada por el receptor que depende de HA. En los límites de acidez de los endosomas internalizados que contienen un virión de influenza, la proteína HA experimenta cambios conformacionales que conducen a la fusión de membranas virales y celulares y el desprendimiento del recubrimiento del virus y la liberación mediada por M2 de proteínas M1 a partir de ribonucleoproteínas asociadas con la nucleocápside (RNP), las cuales migran en el núcleo celular para la síntesis del ARN viral. Los anticuerpos para las proteínas HA evitan la infección por virus neutralizando la infectividad viral, mientras que los anticuerpos para proteínas NA median su efecto en etapas tempranas de la replicación viral.

50 Crawford et al. (1999) divulga la expresión de HA de influenza en células de insectos infectadas con baculovirus. Las proteínas expresadas son descritas como capaces de evitar una enfermedad de influenza letal causada por subtipos de influenza H5 y H7 aviar. Johansson et al. (1999) enseña que las proteínas HA y NA de influenza expresada en baculovirus inducen respuestas inmunes en animales, superiores a aquellas inducidas por una vacuna convencional. La inmunogenicidad y eficacia de la hemaglutinina expresada por baculovirus del virus de influenza equina se comparó con un candidato de vacuna de ADN homólogo (Olsen et al., 1997). Colectivamente, estos datos demuestran que se puede inducir un alto grado de protección contra un desafío por parte del virus de la influenza

con proteínas HA o NA recombinantes, utilizando varios enfoques experimentales y en diferentes modelos de animales.

Ya que investigaciones previas han demostrado que las glicoproteínas superficiales de la influenza, HA y NA, son los objetivos primarios para provocar inmunidad protectora contra el virus de la influenza y que M1 proporcione un objetivo conservado para inmunidad celular para influenza, un nuevo candidato de vacuna puede incluir estos antígenos virales como una partícula macromolecular de proteína, tal como partículas similares a virus (VLP). Como productos para vacunas, las VLP ofrecen la ventaja de ser más inmunogénicas que la subunidad o los antígenos recombinantes y son capaces de estimular tanto la respuesta inmune humoral como celular (Grgacic y Anderson, 2006). Además, la partícula con estos antígenos de influenza pueden desplegar epítomos conformacionales que producen anticuerpos neutralizantes para múltiples cepas del virus de influenza.

La producción de una cepa del virus de la influenza no infecciosa para propósitos de vacunas es una forma para evitar una infección inadvertida. Alternativamente, se han investigado partículas similares a virus (VLP) como sustitutos para los virus cultivados. Las VLP imitan la estructura de la cápside viral, aunque carecen de un genoma, y de este modo no pueden replicar o proporcionar un medio para una infección secundaria.

Varios estudios han demostrado que las proteínas de influenza recombinantes se auto-ensamblan en las VLP en un cultivo celular utilizando plásmidos de expresión de mamíferos o vectores de baculovirus (Gomez-Puertas et al., 1999; Neumann et al., 2000; Latham y Galarza, 2001). Gomez-Puertas et al. (1999) divulgan que la formación eficiente de VLP de influenza depende de los niveles de expresión de varias proteínas virales. Neumann et al. (2000) establecen un sistema basado en plásmidos de expresión de mamíferos para generar partículas infecciosas similares al virus de la influenza completamente a partir de los ADNc clonados. Latham y Galarza (2001) reportaron la formación de las VLP de influenza en células de insectos infectadas con baculovirus recombinante que coexpresan genes HA, NA, M1 y M2. Estos estudios demuestran que las proteínas del virión de influenza pueden auto-ensamblarse después de la coexpresión en células eucariotas.

Gomez-Puertas et al. (2000) enseñan que, además de la hemaglutinina (HA), la proteína matriz (M1) del virus de la influenza es esencial para la germinación de VLP a partir de células de insectos. Sin embargo, Chen et al. (2007) enseñan que M1 podría no ser requerida para la formación de VLP y observaron que la liberación eficiente de M1 y las VLP requieren la presencia de HA y la actividad de sialidasa provista por NA. La NA escinde los ácidos siálicos de las glicoproteínas en la superficie de las células produciendo las VLP, y liberando las VLP en el medio.

Quan et al 2007 enseñan que una vacuna de VLP producida en un sistema de expresión de baculovirus (célula de insecto) induce una inmunidad protectora contra algunas cepas del virus de la influenza (A/PR8/34 (H1N1)). Se observó que las VLP estudiadas por Quan brotan de la membrana plasmática, y se consideró que eran del tamaño y morfología correctos, similares a aquellas obtenidas en un sistema de mamífero (células MDCK).

Los virus encapsulados pueden obtener su envoltura lipídica cuando 'brotan' fuera de la célula infectada y obtienen la membrana de la membrana plasmática, o de aquella de un orgánulo interno. Las partículas de virus de la influenza y las VLP brotan de la membrana plasmática de la célula huésped. En sistemas de células de mamíferos o de baculovirus, por ejemplo, la influenza brota de la membrana plasmática (Quan et al. 2007). Se sabe que sólo unos pocos virus encapsulados infectan plantas (por ejemplo, miembros de los Tospovirus y Rabdovirus). Los virus conocidos encapsulados de plantas, se caracterizan por brotar de las membranas internas de la célula huésped, y no de la membrana plasmática. Aunque un pequeño número de VLP recombinantes han sido producidas en plantas hospederas, ninguna se derivó de la membrana plasmática, planteando la cuestión de que si las VLP derivadas de la membrana plasmática, incluyendo las VLP de influenza, pueden ser producidas en plantas.

Las tecnologías actuales para la producción de VLP de influenza se basan en la coexpresión de múltiples proteínas virales, y esta dependencia representa una desventaja de estas tecnologías ya que en caso de una pandemia y de epidemias anuales, el tiempo de respuesta es crucial para la vacunación. Un sistema de producción más simple de VLP, que se basa en la expresión de sólo una proteína viral es deseable para acelerar el desarrollo de la vacuna.

Con el fin de proteger a la población mundial de la influenza y para evitar futuras pandemias, los fabricantes de vacunas necesitarán desarrollar métodos rápidos, efectivos para producir dosis de vacunas. El uso actual de huevos fertilizados para producir vacunas es insuficiente e implica un proceso lento.

#### Resumen de la invención

Un objetivo de la invención es proporcionar partículas mejoradas similares al virus de la influenza (VLP).

La presente invención también proporciona un método para producir partículas similares al virus de la influenza (VLP) en una planta, que comprende:



a) introducir un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una hemaglutinina (HA) de influenza, operativamente enlazada a una región reguladora activa en la planta, dentro de la planta o una porción de la misma,

5 b) incubar la planta o una porción de la misma bajo condiciones que permitan la expresión del ácido nucleico, produciendo así las VLP,

cosechando la planta y purificando o separando las VLP del tejido vegetal, en donde las VLP tienen un tamaño en el intervalo de 80 - 300 nm.

10 La presente invención incluye el método anterior en donde, en la etapa de introducción (etapa a), el ácido nucleico puede expresarse ya sea en forma transitoria en la planta, o expresarse en forma estable en la planta. Además, se pueden purificar las VLP utilizando cromatografía por exclusión de tamaño.

La presente invención también proporciona una partícula similar a virus (VLP) producida de acuerdo con el método que comprende una proteína HA del virus de la influenza y uno o más de un lípido de la planta.

15 También se incluye en la presente invención una composición que comprende una dosis efectiva de una VLP producida de acuerdo con el método que comprende una proteína HA del virus de la influenza, uno o más de un lípido de la planta, y un portador farmacéuticamente aceptable.

También se contemplan fragmentos o porciones de proteínas HA que forman VLP en una planta.

20 La VLP puede comprender una proteína HA de uno o más de un subtipo, incluyendo H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 o H16 o un fragmento o porción de los mismos. Ejemplos de subtipos que comprenden tales proteínas HA incluyen A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1), A/Indonesia/5/2006 (H5N1), A/pollo/Nueva York/1995, A/gaviota argénteo/DE/677/88 (H2N8), A/Texas/32/2003, A/ánade real/MN/33/00, A/pato/Shanghai/1/2000, A/ánade de cola larga/TX/828189/02, A/Pavo/Ontario/6118/68 (H8N4), A/pato cuchareta/Irán/G54/03, A/pollo/Alemania/N/1949 (H10N7), A/pato/Inglaterra/56 (H11N6), A/pato/Alberta/60/76 (H12N5), A/Gaviota/Maryland/704/77 (H13N6), A/Ánade real/Gurjev/263/82, A/pato/Australia/341/83 (H15N8), A/gaviota de cabeza negra/Suecia/5/99 (H16N3), B/Lee/40, C/Johannesburgo/66, A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Islands Salomón 3/2006 (H1N1), A/Brisbane 10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006, A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Equino/Praga/56 (H7N7), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2).

30 En un aspecto de la invención, la proteína Ha puede ser un subtipo H1, H2, H3, H5, H6, H7 o H9. En otro aspecto, la proteína H1 puede ser de la cepa A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1), A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), o A/Islands Salomón 3/2006 (H1N1). La proteína H3 puede también ser de la cepa A/Brisbane 10/2007 (H3N2) o A/Wisconsin/67/2005 (H3N2). En un aspecto adicional de la invención, la proteína H2 puede ser de la cepa A/Singapur/1/57 (H2N2). La proteína H5 puede ser de la cepa A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) o A/Indonesia/5/2005. En un aspecto de la invención, la proteína H6 puede ser de la cepa A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1). La proteína H7 puede ser de la cepa A/Equino/Praga/56 (H7N7). En un aspecto de la invención, la proteína H9 es de la cepa A/Hong Kong/1073/99 (H9N2). En un aspecto adicional de la invención, la proteína HA puede ser de un virus de la influenza tipo B, incluyendo B/Malasia/2506/2004 o B/Florida/4/2006. Ejemplos de secuencias de aminoácidos de las proteínas HA de los subtipos H1, H2, H3, H5, H6, H7 o H9 incluyen las SEQ ID NOS: 48 - 59.

La proteína HA del virus de la influenza puede ser H5 Indonesia.

40 La presente invención involucra moléculas de ácido nucleico que comprenden secuencias que codifican una proteína HA. Las moléculas de ácido nucleico pueden comprender además una o más regiones reguladoras operativamente enlazadas a la secuencia que codifica una proteína HA. Las moléculas de ácido nucleico pueden comprender una secuencia que codifica una H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 o H16. La proteína HA codificada por la molécula de ácido nucleico puede ser un subtipo H1, H2, H3, H5, H6, H7 o H9. La proteína H1 codificada por la molécula de ácido nucleico es de la cepa A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1), A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), o A/Islands Salomón 3/2006 (H1N1). La proteína H3 codificada por la molécula de ácido nucleico puede ser de la cepa A/Brisbane 10/2007 (H3N2), o A/Wisconsin/67/2005 (H3N2). La proteína H2 codificada por la molécula de ácido nucleico puede ser de la cepa A/Singapur/1/57 (H2N2). La proteína H5 codificada por la molécula de ácido nucleico puede también ser de la cepa A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) o A/Indonesia/5/2005. La proteína H6 codificada por la molécula de ácido nucleico puede ser de la cepa A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1). La proteína H7 codificada por la molécula de ácido nucleico puede también ser de la cepa A/Equino/Praga/56 (H7N7). Adicionalmente, la proteína H9 codificada por la molécula de ácido nucleico puede ser de la cepa A/Hong Kong/1073/99 (H9N2). Los ejemplos de secuencias de moléculas de ácido nucleico que codifican tales proteínas HA de los subtipos H1, H2,

H3, H5, H6, H7 o H9 incluyen las SEQ ID NOs: 36 - 47 y 60 - 73.

La secuencia de ácido nucleico puede codificar la proteína HA del virus de la influenza H5 Indonesia.

- 5 Las regiones reguladoras que pueden enlazarse operativamente a una secuencia que codifica una proteína HA incluyen aquellas que son operativas en una célula vegetal, una célula de insecto o una célula de levadura. Tales regiones reguladoras pueden incluir una región reguladora de plastocianina, una región reguladora de Ribulosa 1,5-bisfosfato carboxilasa/oxygenasa (RuBisCo), una proteína de unión a/b de clorofila (CAB), ST-LS1, una región reguladora de polihedrina, o una región reguladora gp64. Otras regiones reguladoras incluyen una 5' UTR, 3' UTR o secuencias terminadoras. La región reguladora de plastocianina puede ser una región reguladora de plastocianina de alfalfa; las secuencias 5' UTR, 3' UTR o terminadoras también pueden ser secuencias de alfalfa.
- 10 Las composiciones de la invención son útiles en la inducción de inmunidad a una infección por virus de la influenza en un sujeto. Puede comprender administrar la partícula similar a virus que comprende una proteína de HA del virus de la influenza, uno o más de un lípido de planta, y un portador farmacéuticamente aceptable. La partícula similar a virus puede administrarse a un sujeto en forma oral, intradérmica, intranasal, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa o subcutánea.
- 15 Adicionalmente la presente invención se relaciona con una partícula similar a virus (VLP) que comprende una proteína HA del virus de la influenza y uno o más de un lípido hospedador derivado de una planta.
- 20 También se contemplan composiciones que comprenden las VLP de dos o más cepas o subtipos de influenza. Los dos o más subtipos o cepas se pueden seleccionar del grupo que comprende: A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1), A/Indonesia/5/2006 (H5N1), A/pollo/Nueva York/1995, A/gaviota argétea/DE/677/88 (H2N8), A/Texas/32/2003, A/ánade real/MN/33/00, A/pato/Shanghái/1/2000, A/ánade de cola larga/TX/828189/02, A/Pavo/Ontario/6118/ 68 (HBN4), A/pato cuchareta/Irán/G54/03, A/pollo/Alemania/N/1949 (H10N7), A/pato/Inglaterra/56(H11N6), A/pato/Alberta/60/76 (H12N5), A/Gaviota/Maryland/704/77 (H13N6), A/Ánade real/Gurjev/263/82, A/pato/Australia/341/83 (H15N8), A/gaviota de cabeza negra/Suecia/5/99 (H16N3), B/Lee/40, C/Johannesburgo/66, A/PuertoRico/8/34 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Islands Salomón 3/2006 (H1N1), A/Brisbane 10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006, A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Equino/Praga/56 (H7N7), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2). Dos o más subtipos o cepas de VLP pueden estar presentes en cantidades aproximadamente equivalentes; alternativamente uno o más subtipos o cepas pueden ser la mayoría de las cepas o subtipos representados.
- 25
- 30 La presente invención se relaciona con una composición de la invención para uso en la inducción de inmunidad con una infección por virus de la influenza en un animal u organismo objetivo que comprende la administración de una dosis efectiva de una vacuna que comprende una o más de una VLP, la VLP producida utilizando una planta hospedera. La vacuna puede administrarse en forma oral, intradérmica, intranasal, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa o subcutánea. El organismo objetivo puede seleccionarse del grupo que comprende seres humanos, primates, caballos, cerdos, aves, aves acuáticas (aviar), aves migratorias, codorniz, pato, ganso, aves de corral, pollo, camello, caninos, perros, felinos, gatos, tigre, leopardo, civeta, visón, marta, hurones, mascotas, ganado, ratones, ratas, focas, ballenas y similares.
- 35
- La presente invención se relaciona con un método para producir VLP que contienen hemaglutinina (HA) a partir de diferentes cepas de influenza en una planta hospedera capaz de producir una VLP. Las VLP que se producen en
- 40 La producción de VLP en plantas presenta varias ventajas sobre la producción de estas partículas en un cultivo de células de insecto. Los lípidos de plantas pueden estimular las células inmunes específicas y mejorar la respuesta inmune inducida. Las membranas de plantas están constituidas por lípidos, fosfatidilcolina (PC) y fosfatidil etanolamina (PE) y también contienen glicoesfingolípidos que son únicos para plantas y algunas bacterias y protozoarios. Los esfingolípidos son inusuales porque no son ésteres de glicerol como PC o PE sino que consisten
- 45 más bien de un amino alcohol de cadena larga que forma un enlace amida con una cadena de ácido graso que contiene más de 18 carbonos. La PC y la PE así como los glicoesfingolípidos pueden unirse a moléculas CD1 expresadas por células inmunes de mamíferos tal como células que presentan antígenos (APC) similares a células dendríticas y macrófagos y otras células incluyendo linfocitos B y T en el timo y el hígado (Tsuiji, M., 2006). Más aún, además del efecto adyuvante potencial de la presencia de lípidos de plantas, la capacidad de los N-glicanos de la planta para facilitar la captura de antígenos de glicoproteína por células que presentan antígenos (Saint-Jore-Dupas, 2007), puede ser ventajosa para la producción de VLP en plantas.
- 50 Sin ánimo de ceñirse a una teoría en particular, se anticipa que las VLP elaboradas en las plantas inducirán una reacción inmune más fuerte que las VLP elaboradas en otros sistemas de fabricación y que la reacción inmune inducida por estas VLP elaboradas en las plantas será más fuerte cuando se compara con la reacción inmune inducida por vacunas de virus completos vivos o atenuados.
- 55

Contrario a las vacunas elaboradas a partir de virus completos, las VLP tienen la ventaja de que no son infecciosas, por lo tanto la contención biológica restrictiva no es un problema importante como podría ser al trabajar con un virus infeccioso completo, y no se requiere para la producción. Las VLP elaboradas en la planta, proporcionan una ventaja adicional de nuevo al permitir que el sistema de expresión sea cultivado en un invernadero o campo, siendo así significativamente más económicas y adecuadas para ser escaladas.

Adicionalmente, las plantas no comprenden las enzimas implicadas en la síntesis y la adición de residuos de ácido siálico a las proteínas. Las VLP puede ser producidas en la ausencia de neuraminidasa (NA), y no hay necesidad de coexpresar NA, o de tratar las células productoras o de extraer con sialidasa (neuraminidasa) para asegurar la producción de VLP en las plantas.

Las VLP producidas de acuerdo con la presente invención no comprenden la proteína M1 la cual se sabe que se enlaza al ARN. El ARN es un contaminante de la preparación de VLP y es indeseado cuando se obtienen la aprobación reglamentaria para el producto de VLP.

El resumen de la invención no describe necesariamente todas las características de la invención.

Breve descripción de las figuras

Estas y otras características de la invención se volverán más evidentes a partir de la siguiente descripción en la cual se hace referencia a las figuras anexas, en donde:

La FIGURA 1A muestra una secuencia de un casete de expresión basado en plastocianina de alfalfa utilizado para la expresión de H1 de acuerdo con una forma de realización de la presente invención (SEQ ID NO: 8). El péptido de señal de la proteína disulfuro isomerasa (PDI) está subrayado. Los sitios de restricción BglIII (AGATCT) y SacI (GAGCTC) utilizados para clonación se muestran en negritas.

La Figura 1B muestra un diagrama esquemático de dominios funcionales de hemaglutinina de influenza. Después de la escisión de los fragmentos HA0, HA1 y HA2 permanecen unidos por un puente disulfuro.

La FIGURA 2A muestra una representación del plásmido 540 ensamblado para la expresión del subtipo H1 de HA. La FIGURA 2B muestra una representación del plásmido 660 ensamblado para la expresión del subtipo H5 de HA.

La FIGURA 3 muestran una cromatografía por exclusión de tamaño de extractos de proteína a partir de hojas que producen hemaglutinina H1 o H5. La FIGURA 3A muestra el perfil de elución de H1; Azul Dextrano 2000 (triángulos) y proteínas (diamantes). La FIGURA 3B muestra la inmunodetección (transferencia tipo Western; anti H1) de fracciones de elución de H1 después de la cromatografía por exclusión de tamaño (cuentas de S500HR). La FIGURA 3C muestra el perfil de elución de H5; Azul Dextrano 2000 (triángulos) y proteínas (diamantes). La FIGURA 3D muestra la inmunodetección (transferencia tipo Western; anti H5) de fracciones de elución de H5 después de la cromatografía por exclusión de tamaño (cuentas de S500HR).

La FIGURA 4 muestra una fotomicrografía de microscopio electrónico de estructuras grandes de hemaglutinina H1 y H5 a partir de la fracción 9 de elución desde una columna por exclusión de tamaño. La FIGURA 4A muestra una amplificación de 50.000 veces de una VLP de H1 que muestra la presencia de múltiples estructuras similares (la barra representa 200 nm). La FIGURA 4B muestra un aumento de 150.000 veces de una VLP de H1 (la barra representa 100 nm). La FIGURA 4C muestra un aumento de 50.000 veces de una VLP de H5 que muestran la presencia de múltiples estructuras similares (la barra representa 50 nm).

La FIGURA 5A muestra la secuencia del fragmento del terminal N de H1 (SEQ ID NO: 1). La FIGURA 5B muestra el fragmento del terminal C de H1 (SEQ ID NO: 2). La FIGURA 5C muestra la secuencia completa que codifica HA0 de H1 (SEQ ID NO: 28).

La FIGURA 6 muestra la secuencia que codifica H5 flanqueada por un sitio HindIII inmediatamente secuencia arriba de ATG inicial, y un sitio SacI inmediatamente secuencia abajo del codón de detención (TAA) (SEQ ID NO: 3).

La FIGURA 7A muestra la secuencia del cebador Plasto-443c (SEQ ID NO: 4). La FIGURA 7B muestra la secuencia del cebador SpHA(Ind)-Plasto.r (SEQ ID NO: 5). La FIGURA 7C muestra la secuencia del cebador Plasto-SpHA(Ind).c (SEQ ID NO: 6). La FIGURA 7D muestra la secuencia del cebador HA(Ind)-Sac.r (SEQ ID NO: 7).

La FIGURA 8A muestra la secuencia de aminoácidos de la secuencia del péptido HA1 (SEQ ID NO: 9). La FIGURA 8B muestra la secuencia de aminoácidos de la secuencia del péptido HA5 (SEQ ID NO: 10). El péptido señal nativo se indica en negritas.

La FIGURA 9 muestra la secuencia de HA del subtipo H7 de influenza A (SEQ ID NO: 11).

La FIGURA 10A muestra la secuencia de HA de influenza A, subtipo H2 (SEQ ID NO: 12). La FIGURA 10B muestra la secuencia del subtipo H3 de HA de influenza A (SEQ ID NO: 13). La FIGURA 10C muestra la secuencia del subtipo H4 de HA de Influenza A (SEQ ID NO: 14). La FIGURA 10D muestra la secuencia del subtipo H5 de HA de Influenza A (SEQ ID NO: 15). La FIGURA 10E muestra la secuencia del subtipo H6 de HA de Influenza A (SEQ ID NO: 16). La FIGURA 10F muestra la secuencia del subtipo H8 de HA de Influenza A (SEQ ID NO: 17). La FIGURA 10G muestra la secuencia del subtipo H9 de HA de Influenza A (SEQ ID NO: 18). La FIGURA 10H muestra la secuencia del subtipo H10 de HA de Influenza A (SEQ ID NO: 19). La FIGURA 10I muestra la secuencia del subtipo H11 de HA de Influenza A (SEQ ID NO: 20). La FIGURA 10J muestra la secuencia del subtipo H12 de HA de Influenza A (SEQ ID NO: 21). La FIGURA 10K muestra la secuencia del subtipo H13 de HA de Influenza A (SEQ ID NO: 22). La FIGURA 10L muestra la secuencia del subtipo H14 de HA de Influenza A (SEQ ID NO: 23). La FIGURA 10M muestra la secuencia del subtipo H15 de HA de Influenza A (SEQ ID NO: 24). La FIGURA 10N muestra la secuencia del subtipo H16 de HA de Influenza A (SEQ ID NO: 25). La FIGURA 10O muestra la secuencia de HA de Influenza B (SEQ ID NO: 26). La FIGURA 10P muestra la secuencia de HA de Influenza C (SEQ ID NO: 27). La FIGURA 10Q muestra la secuencia del cebador Xmal-pPlas.c (SEQ ID NO: 29). La FIGURA 10R muestra la secuencia del cebador SacI-ATG-pPlas.r (SEQ ID NO: 30). La FIGURA 10S muestra la secuencia del cebador SacI-PlasTer.c (SEQ ID NO: 31). La FIGURA 10T muestra la secuencia del cebador EcoRI-PlasTer.r (SEQ ID NO: 32).

La FIGURA 11 muestra una representación esquemática de varias construcciones como se utiliza en la presente. La construcción 660 comprende la secuencia de nucleótidos para codificar el subtipo H5 de HA enlazado operativamente al promotor de plastocianina (plasto) y el terminador (Pter); la construcción 540 comprende la secuencia de nucleótidos para codificar el subtipo H1 de HA en combinación con un péptido señal de proteína disulfuro isomerasa de alfalfa (SP PDI), y se enlaza operativamente a un promotor de plastocianina (Plasto) y un terminador (Pter); la construcción 544 ensamblada para la expresión del subtipo H1 de HA, la secuencia de nucleótidos que codifica H1 se combina con un péptido señal de la proteína disulfuro isomerasa de alfalfa (SP PDI) y un cierre de leucina GCN4pII (en lugar del dominio de transmembrana y la cola citoplasmática de H1) y se enlaza operativamente al promotor de plastocianina (Plasto) y al terminador (Pter); y la construcción 750 para la expresión de la región de codificación M1 de A/PR/8/34 de influenza se combina al virus de grabado del tabaco (TEV) 5' UTR, y se enlaza operativamente con el promotor doble 35S y el terminador Nos.

La FIGURA 12 muestra la inmunodetección de H5, utilizando anticuerpos anti-H5 (Vietnam), en extractos de proteína de hojas de *N. benthamiana* transformadas con la construcción 660 (carril 3). La H5 comercial de A/Vietnam/1203/2004 de influenza se utilizó como control positivo de detección (carril 1), y se utilizó un extracto de proteína de hojas transformadas con un vector vacío como control negativo (carril 2).

La FIGURA 13 muestra la caracterización de estructuras de hemaglutinina por medio de cromatografía por exclusión de tamaño. El extracto de proteína de biomasa separadas que producen H5, H1, H1 soluble o H1 y M1 se separaron mediante filtración en gel en S-500 HR. Se fraccionó también H1 comercial en forma de rosetas (roseta H1). La FIGURA 13A muestra fracciones en elución analizadas para el contenido relativo de proteínas (se muestra el Nivel Relativo de Proteína - un perfil de elución de proteínas estándar de un fraccionamiento de biomasa). Se indica el pico de elución con Azul Dextrano 2000 (estándar de referencia 2 MDa). La FIGURA 13B muestra fracciones de elución analizadas por la presencia de hemaglutinina por medio de inmunotransferencia con anticuerpos anti-H5 (Vietnam) (para H5). La FIGURA 13C muestra fracciones de elución analizadas para anticuerpos anti-influenza A para H1. La FIGURA 13D muestra fracciones de elución analizadas para anticuerpos anti-influenza A para H1 soluble. La FIGURA 13E muestra fracciones de elución analizadas para anticuerpos anti-influenza A para roseta H1. La FIGURA 13F muestra fracciones de elución analizadas para anticuerpos anti-influenza A para H1+M1.

Las FIGURA 14 muestran la concentración de estructuras H5 de influenza por medio de centrifugación en gradiente de sacarosa y examen por microscopía electrónica de fracciones concentradas de hemaglutinina. La FIGURA 14A muestra la caracterización de fracciones a partir de la centrifugación por gradiente de densidad de sacarosa. Cada fracción fue analizada por la presencia de H5 por inmunotransferencia utilizando anticuerpos anti-H5 (Vietnam) (panel superior) y por su contenido relativo de proteínas y capacidad de hemaglutinación (gráfico). La FIGURA 14B muestra el examen por microscopía electrónica de transmisión de tinción negativa de fracciones agrupadas 17, 18 y 19 de centrifugación por gradiente de sacarosa. La barra representa 100 nm.

La FIGURA 15 muestra la purificación de las VLP de H5 de influenza. La FIGURA 15A muestra análisis SDS-PAGE teñido con Azul de Coomassie del contenido de proteína en las etapas de clarificación - carril 1, extracto sin purificar; carril 2, extracto ajustado a pH 6; carril 3, extracto tratado con calor; carril 4, extracto filtrado en DE; las etapas de purificación por afinidad de fetuína; carril 5, carga; carril 6, lavado; carril 7, elución (concentrado 10 veces). La FIGURA 15B muestra el examen por microscopía electrónica de transmisión de tinción negativa de la muestra de VLP de H5 purificada. La barra representa 100 nm. La FIGURA 15C muestra la VLP de H5 aislada aumentada que muestra detalles de la estructura. La FIGURA 15D muestra el producto de la VLP de H5 en una SDS-PAGE de reducción teñida con Coomassie (carril A) y transferencia tipo Western (carril B) utilizando anticuerpo policlonal de

conejo surgido contra HA de la cepa A/Vietnam/I203/2004 (H5N1)

La FIGURA 16 muestra una secuencia de nucleótidos para el gen de hemaglutinina (HA) del virus de la Influenza A (A/Nueva Caledonia/20/99(H1N1)), región codificante completa. No. de acceso del GenBank AY289929 (SEQ ID NO: 33).

- 5 La FIGURA 17 muestra una secuencia de nucleótidos para ARNm de *Medicago sativa* para la proteína disulfuro isomerasa. No. de acceso del GenBank Z11499 (SEQ ID NO: 34).

La FIGURA 18 muestra una secuencia de nucleótidos para el segmento 7 del virus de la Influenza A (A/Puerto Rico/8/34(H1N1)), secuencia completa. No. de acceso del GenBank NC\_002016.1 (SEQ ID NO: 35).

- 10 La FIGURA 19 muestra la localización de la acumulación de VLP por medio de observación con microscopio electrónico de transmisión de tinción positiva de tejido que produce H5. CW: pared celular, ch: cloroplasto, pm: membrana plasmática; VLP: partícula similar a virus. La barra representa 100 nm.

- 15 La FIGURA 20 muestra la inducción de respuestas de anticuerpo en suero 14 días después del refuerzo en ratones Balb/c vacunados con VLP de H5 de influenza elaborada en plantas o HA soluble recombinante. FIGURA 20(A) Respuestas de anticuerpos de ratones inmunizados mediante inyección intramuscular. FIGURA 20(B) Respuestas de anticuerpos de ratones inmunizados mediante administración intranasal. Se midieron las respuestas de anticuerpos contra virus H5N1 completos inactivados (A/Indonesia/5/505). GMT: concentración promedio geométrica. Los valores son la GMT ( $\log_2$ ) de concentraciones de punto final recíprocas de cinco ratones por grupo. Las barras representan la desviación promedio. \*  $p < 0,05$  comparada con HA soluble recombinante.

- 20 La FIGURA 21 muestran la respuesta de anticuerpos de inhibición por hemaglutinación (HAI) 14 días después del refuerzo en ratones Balb/c vacunados con VLP de H5 de influenza elaborada en plantas o HA soluble recombinante. FIGURA 21(A) Respuestas de anticuerpos de ratones inmunizados mediante inyección intramuscular. FIGURA 21(B) Respuestas de anticuerpos de ratones inmunizados mediante administración intranasal. Se midieron las respuestas de anticuerpos HAI utilizando virus H5N1 completos inactivados (A/Indonesia/5/05). GMT: concentración promedio geométrica. Los valores son la GMT ( $\log_2$ ) de concentraciones de punto final recíprocas de cinco ratones por grupo. Las barras representan la desviación promedio. \*  $p < 0,05$  y \*\*  $p < 0,01$  comparada HA soluble recombinante.

- 30 La FIGURA 22 muestra el efecto del adyuvante en la inmunogenicidad de las VLP en ratones. FIGURA 22(A) Efecto del alumbre en ratones inmunizados mediante inyección intramuscular. FIGURA 22(B) Efecto del Quitosano en ratones inmunizados mediante administración intranasal. Se midieron las respuestas de anticuerpos HAI utilizando Virus H5N1 completos inactivados (A/Indonesia/5/05). GMT: concentración promedio geométrica. Los valores son la GMT ( $\log_2$ ) de concentraciones de punto final recíprocas de cinco ratones por grupo. Las barras representan la desviación promedio. \*  $p < 0,05$  comparada con la HA soluble recombinante correspondiente.

- 35 La FIGURA 23 muestra la respuesta de anticuerpos a la administración de VLP. FIGURA 23(A) Isotipo de inmunoglobulina Anti-Indonesia/5/05 en ratones vacunados con inyección intramuscular, 30 días después del refuerzo. Los valores son la GMT ( $\log_2$ ) de concentraciones de punto final recíprocas de cinco ratones por grupo. Se realizó el ELISA utilizando virus inactivados completos como el agente de recubrimiento. Las barras representan la desviación promedio. \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,001$  en comparación con la HA soluble recombinante correspondiente. FIGURA 23(B) Concentraciones de anticuerpo contra virus inactivados completos. Todos los grupos son estadísticamente diferentes al control negativo.

- 40 La FIGURA 24 muestra una concentración de anticuerpos contra virus inactivados completos homólogos (A/Indonesia/5/05), 2 semanas después de la primera dosis (semana 2), 14 días después del refuerzo (semana 5) o 30 días después del refuerzo (semana 7). GMT: concentración promedio geométrica. Los valores son la GMT ( $\log_2$ ) de concentraciones de punto final recíprocas de cinco ratones por grupo. \*  $p < 0,05$  en comparación con la HA soluble recombinante.

- 45 La FIGURA 25 muestra la reactividad cruzada in vitro de anticuerpos en suero. (A) Concentraciones de anticuerpo contra virus inactivados completos. (B) Concentraciones de inhibición de la hemaglutinación contra diferentes virus inactivados completos. Los valores son la GMT ( $\log_2$ ) de concentraciones de punto final recíprocas de cinco ratones por grupo. Las barras representan la desviación promedio. Todos los grupos son estadísticamente diferentes al control negativo. \*  $p < 0,05$  y \*\*  $p < 0,001$  comparada con la HA soluble recombinante correspondiente.

- 50 La FIGURA 26 muestra la eficacia de la VLP de H5 elaborada a partir de una planta. (A) tasa de supervivencia de ratone después del reto con  $10 \text{ LD}_{50}$  ( $4,09 \times 10^5 \text{ CCID}_{50}$ ) de la cepa de influenza A/Turquía/582/06 (H5N1). (B) Peso corporal de ratones inmunizados después del reto. Los valores son el peso corporal promedio de los ratones

supervivientes.

La FIGURA 27 muestra el origen de las VLP de influenza derivadas de una planta. (A) Composición lipídica polar de las VLP de influenza purificadas. Los lípidos contenidos en un equivalente de 40 µg de proteínas, fueron extraídos de la VLP como se describió, separados por medio de HP-TLC, y comparados con el perfil de migración de lípidos aislados de la membrana plasmática del tabaco purificada (PM). Las abreviaturas de los lípidos son las siguientes: DGDG, Digalactosildiacilglicerol; gluCER, glucosil-ceramida; PA, ácido fosfático; PC, fosfatidilcolina; PE, fosfatidiletanolamina; PG, fosfatidilglicerol; PI, fosfatidilinositol; PS, fosfatidilserina; SG, Esteril-glicósido. (B) Composición de lípido neutra de las VLP de influenza purificadas. Los lípidos contenidos en un equivalente de 20 µg de proteínas fueron extraídos de VLP como se describe, separados por HP-TLC y comparados con la migración de sitosterol. (C) Inmunodetección de la ATPasa de la bomba de protones del marcador de la membrana plasmática (PMA) en las VLP purificadas y PM altamente purificada de hojas de tabaco (PM<sub>L</sub>) y células de tabaco BY2 (PM<sub>BY2</sub>). Se cargaron dieciocho microgramos de proteína en cada carril.

La FIGURA 28 muestra el intervalo de secuencia de los sitios DralII a SacI del clon 774 - secuencia de nucleótidos de A/Brisbane/59/2007 (H1N1) (SEQ ID NO: 36). La secuencia de codificación está flanqueada por una región reguladora de plastocianina, iniciando con un sitio de restricción DralII en el extremo 5' y por un codón de detención y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción están subrayados; ATG está en negritas y subrayado.

La FIGURA 29 muestra el intervalo de secuencias de los sitios DralII a SacI del clon 775 - secuencia de nucleótidos de A/Islas Salomón 3/2006 (H1N1) (SEQ ID NO: 37). La secuencia de codificación está flanqueada por una región reguladora de plastocianina, comenzando con un sitio de restricción DralII en el extremo 5' y por un codón de detención y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción están subrayados; ATG está en negritas y subrayado.

La FIGURA 30 muestra el intervalo de secuencias de los sitios DralII a SacI del clon 776 - secuencia de nucleótidos de A/Brisbane 10/2007 (H1N1) (SEQ ID NO: 38). La secuencia de codificación está flanqueada por una región reguladora de plastocianina, comenzando con un sitio de restricción DralII en el extremo 5' y por un codón de detención y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción están subrayados; ATG está en negritas y subrayado.

La FIGURA 31 muestra el intervalo de secuencias de los sitios DralII a SacI del clon 777 - secuencia de nucleótidos de A/Wisconsin/67/2005 (H3N2) (SEQ ID NO: 39). La secuencia de codificación se flanquea por una región reguladora de plastocianina, comenzando con un sitio de restricción DralII en el extremo 5' y por un codón de detención y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción se subrayan; ATG está en negritas y se subraya.

La FIGURA 32 muestra el intervalo de secuencias de los sitios DralII a SacI del clon 778 - secuencia de nucleótidos de B/Malasia/2506/2004 (SEQ ID NO: 40). La secuencia de codificación está flanqueada por una región reguladora de plastocianina, comenzando con un sitio de restricción DralII en el extremo 5' y por un codón de detención y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción están subrayados; ATG está en negritas y subrayado.

La FIGURA 33 muestra el intervalo de secuencias de los sitios DralII a SacI del clon 779 - secuencia de nucleótidos de B/Florida/4/2006 (SEQ ID NO: 41). La secuencia de codificación está flanqueada por una región reguladora de plastocianina, comenzando con un sitio de restricción DralII en el extremo 5' y por un codón de detención y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción están subrayados; ATG está en negritas y subrayado.

La FIGURA 34 muestra el intervalo de secuencias de sitios DralII a SacI del clon 780 - secuencia de nucleótidos de A/Singapur/1/57 (H2N2) (SEQ ID NO: 42). La secuencia de codificación está flanqueada por una región reguladora de plastocianina, comenzando con un sitio de restricción DralII en el extremo 5' y por un codón de detención y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción están subrayados; ATG está en negritas y subrayado.

La FIGURA 35 muestra el intervalo de secuencias de los sitios DralII a SacI del clon 781 - secuencia de nucleótidos de A/Anhui/1/2005 (H5N1) (SEQ ID NO: 43). La secuencia de codificación está flanqueada por una región reguladora de plastocianina, comenzando con un sitio de restricción DralII en el extremo 5' y por un codón de detención y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción están subrayados; ATG está en negritas y subrayado.

La FIGURA 36 muestra el intervalo de secuencias de los sitios DralII a SacI del clon 782 - secuencia de nucleótidos de A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) (SEQ ID NO: 44). La secuencia de codificación está flanqueada por una región reguladora de plastocianina, comenzando con un sitio de restricción DralII en el extremo 5' y por un codón de detención y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción están subrayados; ATG está en negritas y subrayado.

La FIGURA 37 muestra el intervalo de secuencias de los sitios DralII a SacI del clon 783 - secuencia de nucleótidos de A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1) (SEQ ID NO: 45). La secuencia de codificación está flanqueada por una región reguladora de plastocianina, comenzando con un sitio de restricción DralII en el extremo 5' y por un codón de detención y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción están subrayados; ATG está en negritas y subrayado.

La FIGURA 38 muestra el intervalo de secuencias de los sitios DralII a SacI del clon 784 - secuencia de nucleótidos de A/Equino/Praga/56 (H7N7) (SEQ ID NO: 46). La secuencia de codificación está flanqueada por una región reguladora de plastocianina, comenzando con un sitio de restricción DralII en el extremo 5' y por un codón de detención y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción están subrayados; ATG está en negritas y subrayado.

La FIGURA 39 muestra el intervalo de secuencias de los sitios DralII a SacI del clon 785 - secuencia de nucleótidos de A/Hong Kong/1073/99 (H9N2) (SEQ ID NO: 47). La secuencia de codificación está flanqueada por una región reguladora de plastocianina, comenzando con un sitio de restricción DralII en el extremo 5' y por un codón de detención y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción están subrayados; ATG está en negritas y subrayado.

La FIGURA 40A muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 48) del polipéptido traducido del clon 774 (A/Brisbane/S9/2007 (H1N1)). El marco de lectura abierto del clon 774 inicia con el ATG indicado en la Figura 28. La Figura 40B muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 49) del polipéptido traducido del clon 775 (A/Islands Salomón 3/2006 (H1N1)). El marco de lectura abierto del clon 775 inicia con el ATG indicado en la Figura 29.

La FIGURA 41A muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 50) del polipéptido traducido del clon 776 (A/Brisbane/10/2007 (H3N2)). El marco de lectura abierto del clon 776 inicia con el ATG indicado en la Figura 30. La Figura 41B muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 51) del polipéptido traducido del clon 777 (A/Wisconsin/67/2005 H3N2)). El marco de lectura abierto del clon 777 inicia con el ATG indicado en la Figura 31.

La FIGURA 42A muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 52) del polipéptido traducido del clon 778 (B/Malasia/2506/2004). El marco de lectura abierto del clon 778 inicia con el ATG indicado en la Figura 32. La Figura 42B muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 53) del polipéptido traducido del clon 779 (B/Florida/4/2006). El marco de lectura abierto del clon 779 inicia con el ATG indicado en la Figura 33.

La FIGURA 43A muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 54) del polipéptido traducido del clon 780 (A/Singapur/1/57 (H2N2)). El marco de lectura abierto del clon 780 inicia con el ATG indicado en la Figura 34. La Figura 43B muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 55) del polipéptido traducido del clon 781 (A/Anhui/1/2005 (H5N1)). El marco de lectura abierto del clon 781 inicia con el ATG indicado en la Figura 35.

La FIGURA 44A muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 56) del polipéptido traducido del clon 782 (A/Vietnam/1194/2004 (H5N1)). El marco de lectura abierto del clon 782 inicia con el ATG indicado en la Figura 36. La Figura 44B muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID No: 57) del polipéptido traducido del clon 783 (A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1)). El marco de lectura abierto del clon 783 inicia con el ATG indicado en la Figura 37.

La FIGURA 45A muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 58) del polipéptido traducido del clon 784 (A/Equino/Praga/56 (H7N7)). El marco de lectura abierto del clon 784 inicia con el ATG indicado en la Figura 38. La Figura 45B muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 59) del polipéptido traducido del clon 785 (A/Hong Kong/1073/99 (H9N2)). El marco de lectura abierto del clon 785 inicia con el ATG indicado en la Figura 39.

La FIGURA 46 muestra la inmunodetección (transferencia tipo Western) de fracciones de elución de las VLP producidas en la planta, siguiendo por cromatografía por exclusión de tamaño. Se muestran los subtipos H1, H2, H5, H6 y H9 de hemaglutinina. La hemaglutinina se detecta en las fracciones 7 - 14, que corresponden a la elución de las VLP.

La FIGURA 47 muestra un análisis de inmunotransferencia de la expresión de una serie de hemaglutinina H1 de cepas epidémicas anuales. Se cargaron diez y veinte microgramos de extractos de proteínas en los carriles 1 y 2, respectivamente.

La FIGURA 48 muestra un análisis de inmunotransferencia de la expresión de una serie de hemaglutinina H5 de cepas pandémicas potenciales. Se cargaron diez y veinte microgramos de extractos de proteínas en los carriles 1 y 2, respectivamente.

La FIGURA 49 muestra una inmunotransferencia de H5 de la cepa A/Indonesia/5/2005 en extractos de proteínas de

hojas de *Nicotiana tabacum*, agroinfiltradas con AGL1/660. Se infiltraron dos plantas y se cargaron 10 y 20 µg de proteína soluble de cada planta en los carriles 1 y 2, respectivamente.

5 La FIGURA 50 muestra la reactividad cruzada in vitro de anticuerpos en suero. Las concentraciones de inhibición por hemaglutinación (H1) en suero de hurón, 14 días (A) después de la primera inmunización y (B) después del 2do refuerzo con la VLP de H5 de influenza elaborada en la planta. Se midieron las respuestas de anticuerpos HAI utilizando los siguientes virus H5N1 completos inactivados: A/pavo/Turquía/1/05, A/Vietnam/1194/04; A/Anhui/5/05 y la cepa homóloga A/Indonesia/5/05. Los valores son la GMT (log<sub>2</sub>) de concentraciones de punto final recíprocas de cinco hurones por grupo. Banda diagonal - A/Indonesia/6/O6 (clado 2.1.3); verificado - A/pavo/Turquía/1/O5 (clado 2.2); barra blanca - A/Vietnam/1194/04 (clado 1); barra negra - A/Anhui/5/05. Se indican los respondedores. Las barras representan la desviación promedio.

10 La FIGURA 51 muestra la secuencia de ácido nucleico de un casete de expresión de HA que comprende el promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H5 de A/Indonesia/5/2005 (Construcción # 660), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras.

15 La FIGURA 52 muestra la secuencia de ácido nucleico de un casete de expresión de HA que comprende el promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H1 de A/Nueva Caledonia/20/1999 (Construcción # 540), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras.

La FIGURA 53 muestra la secuencia de ácido nucleico de un casete de expresión de HA que comprende el promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H1 de A/Brisbane/59/2007 (construcción # 774), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras.

20 La FIGURA 54 muestra la secuencia de ácido nucleico de un casete de expresión de HA que comprende el promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H1 de A/Islas Salomón/3/2006 (H1N1) (construcción # 775), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras.

25 La FIGURA 55 muestra la secuencia de ácido nucleico de un casete de expresión de HA que comprende el promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H2 de A/Singapur/1/57 (H2N2) (construcción # 780), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras.

La FIGURA 56 muestra la secuencia de ácido nucleico de un casete de expresión de HA que comprende el promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H5 de A/Anhui/1/2005 (H5N1) (Construcción # 781), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras.

30 La FIGURA 57 muestra la secuencia de ácido nucleico de un casete de expresión de HA que comprende el promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H5 de A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) (Construcción # 782), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras.

La FIGURA 58 muestra la secuencia de ácido nucleico de un casete de expresión de HA que comprende el promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H6 de A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1) (Construcción # 783), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras.

35 La FIGURA 59 muestra la secuencia de ácido nucleico de un casete de expresión de HA que comprende el promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H9 de A/Hong Kong/1073/99 (H9N2) (Construcción # 785), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras.

40 La FIGURA 60 muestra la secuencia de ácido nucleico de un casete de expresión de HA que comprende el promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H3 de A/Brisbane/10/2007 (H3N2), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras.

La FIGURA 61 muestra la secuencia de ácido nucleico de un casete de expresión de HA que comprende el promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H3 de A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras.

45 La FIGURA 62 muestra la secuencia de ácido nucleico de un casete de expresión de HA que comprende el promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H7 de A/Equino/Praga/56 (H7N7), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras.

La FIGURA 63 muestra la secuencia de ácido nucleico de un casete de expresión de HA que comprende el promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de HA de B/Malasia/2506/2004, 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras.



La FIGURA 64 muestra la secuencia de ácido nucleico de un casete de expresión de HA que comprende el promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de HA de B/Florida/4/2006, 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras.

La FIGURA 65 muestra una secuencia de aminoácidos de consenso (SEQ ID NO: 74) para HA de A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1) (codificado por la SEQ ID NO: 33), A/Brisbane/59/2007 (H1N1) (SEQ ID NO: 48), A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1) (SEQ ID NO: 49) y la SEQ ID NO: 9. X1 (posición 3) es A o V; X2 (posición 52) es D o N; X3 (posición 90) es K o R; X4 (posición 99) es K o T; X5 (posición 111) es Y o H; X6 (posición 145) es V o T; X7 (posición 154) es E o K; X8 (posición 161) es R o K; X9 (posición 181) es V o A; X10 (posición 203) es D o N; X11 (posición 205) es R o K; X12 (posición 210) es T o K; X13 (posición 225) es R o K; X14 (posición 268) es W o R; X15 (posición 283) es T o N; X16 (posición 290) es E o K; X17 (posición 432) es I o L; X18 (posición 489) es N o D.

La FIGURA 66 muestra la secuencia de aminoácidos de H1 Nueva Caledonia (AAP34324.1) codificada por la SEQ ID NO: 33

La FIGURA 67 muestra la secuencia de aminoácidos de H1 Puerto Rico (NC\_0409878.1) codificada por la SEQ ID NO: 35.

## Descripción detallada de la invención

La presente invención se relaciona con la producción de partículas similares a virus. Más específicamente, la presente invención se dirige a la producción de partículas similares a virus que comprende antígenos de influenza.

La siguiente descripción es de una forma de realización preferida.

La presente invención involucra un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una hemaglutinina (HA) de la influenza, enlazada operativamente a una región reguladora activa en una planta.

Además, la presente invención proporciona un método para producir partículas similares a virus (VLP) en una planta. El método implica introducir un ácido nucleico que codifica una hemaglutinina de influenza (HA) operativamente enlazado a una región reguladora activa en la planta, dentro de la planta, o porción de la planta, e incubar la planta o una porción de la planta bajo condiciones que permitan la expresión del ácido nucleico, produciendo así las VLP.

Las VLP de acuerdo con la invención se producen a partir del virus de la influenza, sin embargo, se prevé que también se pueden producir las VLP a partir de otro virus derivado de la membrana plasmática incluyendo, aunque sin limitarse a Sarampión, Ébola, Marburgo y VIH.

La invención incluye las VLP que comprenden hemaglutinina (HA) de la influenza de todos los tipos del virus de la influenza las cuales pueden infectar seres humanos, incluyendo por ejemplo, aunque sin limitarse al subtipo A (H1N1) muy predominante (por ejemplo, A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1)), el subtipo A/Indonesia/5/05 (H5N1) (SEQ ID NO: 60) y el tipo B menos común (por ejemplo, la SEQ ID NO: 26, Figura 10O), y el tipo C (SEQ ID NO: 27, Figura 10P), y a las HA obtenidas de otros subtipos de influenza. Las VLP de otros subtipos de influenza se incluyen también en la presente invención, por ejemplo, A/Brisbane/59/2007 (H1N1; SEQ ID NO: 48), A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1; SEQ ID No: 49), A/Singapur/1/57 (H2N2; SEQ ID NO: 54), A/Anhui/1/2005 (H5N1; SEQ ID NO: 55), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1; SEQ ID NO: 56); A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1; SEQ ID NO: 57); A/Hong Kong 1073/99 (H9N2; SEQ ID NO: 59); A/Brisbane/10/2007 (H3N2; SEQ ID NO: 50), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2; SEQ ID NO: 51), A/Equino/Praga/56 (H7N7); SEQ ID NO: 58), B/Malasia/2506/2004 (SEQ ID NO: 52), o B/Florida/4/2006 (SEQ ID NO: 53).

La presente invención también se relaciona con virus de la influenza que infectan otros mamíferos o animales huésped, por ejemplo, seres humanos, primates, caballos, cerdos, aves, aves acuáticas, aves migratorias, codorniz, pato, ganso, aves de corral, pollo, camello, caninos, perros, felinos, gatos, tigre, leopardo, civeta, visón, marta, hurones, mascotas, ganado, ratones, ratas, foca, ballena y similares.

La invención también incluye, aunque no se limita a, las VLP derivadas de influenza que obtienen una envoltura lipídica de la membrana plasmática de la célula en la cual se expresan las proteínas de VLP. Por ejemplo, cuando la VLP se expresa en un sistema basado en plantas, la VLP puede obtener una envoltura lipídica de la membrana plasmática de la célula.

Generalmente, el término "lípidos" se refiere a moléculas de origen natural solubles en grasa (lipofílicas). El término se utiliza también más específicamente para referirse a ácidos grasos y sus derivados (incluyendo tri, di y monoglicéridos y fosfolípidos), así como otros metabolitos que contienen esteroles solubles en grasa o esteroles. Los fosfolípidos son un componente principal de todas las membranas biológicas, junto con glicolípidos, esteroles y

proteínas. Los ejemplos de fosfolípidos incluyen fosfatidil etanolamina, fosfatidilcolina, fosfatidil inositol, fosfatidil serina y similares. Los ejemplos de esteroides incluyen zoosteroides (por ejemplo, colesterol) y fitoesteroides. Se han identificado más de 200 fitoesteroides en varias especies de plantas, los más comunes son campesterol, estigmasterol, ergosterol, brasicasterol, delta-7-estigmasterol, delta-7-avenasterol, daunosterol, sitosterol, 24-metilcolesterol, colesterol o beta-sitosterol. Como comprenderá alguien ordinariamente capacitado en la técnica, la composición de lípidos de la membrana plasmática de una célula puede variar con las condiciones de cultivo o de crecimiento de la célula u organismo a partir del cual se obtiene la célula.

Las membranas celulares generalmente comprenden bicapas de lípidos, así como proteínas para diferentes funciones. Se pueden encontrar concentraciones localizadas de lípidos particulares en la bicapa lipídica, denominadas como "balsas lipídicas". Sin ánimo de ceñirnos a ninguna teoría en particular, las balsas lipídicas pueden tener papeles significativos en endo y exocitosis, entrada o salida de virus u otros agentes infecciosos, transducción de señales intercelulares, interacción con otros componentes estructurales de la célula u organismo, tales como matrices intracelulares y extracelulares.

Con referencia al virus de la influenza, el término "hemaglutinina" o "HA" como se utiliza en la presente se refiere a una glicoproteína encontrada en el exterior de las partículas virales de la influenza. La HA es una glicoproteína del tipo I de membrana homotrimérica, que comprende generalmente un péptido de señal, un dominio de HA1, y un dominio de HA2 que comprende un sitio de anclaje que abarca la membrana en el terminal C y una pequeña cola citoplasmática (Figura 1B). Las secuencias de nucleótidos que codifican HA son bien conocidas y están disponibles - véase por ejemplo, la base de BioDefence Public Health (Virus de la Influenza; véase URL: biohelthbase.org) o el National Center for Biotechnology Information (véase URL: ncbi.nlm.nih.gov).

El término "homotrímico" u "homotrimérico" indica que un oligómero está formada por tres moléculas de proteína HA. Sin ánimo de ceñirnos a ninguna teoría en particular, la proteína HA se sintetiza como una proteína precursora monomérica (HA0) de aproximadamente 75 kDa, la cual se ensambla en la superficie dentro de una proteína trimérica alargada. Antes de que se produzca la trimerización, la proteína precursora se escinde en un sitio de escisión de activación conservado (también llamado como un péptido de fusión) en 2 cadenas polipeptídicas, HA1 y HA2 (que comprenden la región transmembrana), enlazadas por medio de un enlace de disulfuro. El segmento HA1 puede ser de 328 aminoácidos de longitud, y el segmento HA2 puede ser de 221 aminoácidos de longitud. Aunque esta escisión puede ser importante para infectividad del virus, puede no ser esencial para la trimerización de la proteína. La inserción de HA dentro de la membrana del retículo endoplasmático (ER) de la célula huésped, la escisión del péptido de señal y glicosilación de la proteína son eventos de traducción conjunta. El repliegue correcto de HA requiere la glicosilación de la proteína y la formación de 6 enlaces disulfuro dentro de la cadena. El trímico de HA se ensambla dentro del complejo cis y trans-Golgi, jugando el dominio transmembrana un papel en el proceso de trimerización. Las estructuras cristalinas de las proteínas HA tratadas con bromelina, las cuales carecen del dominio transmembrana, han mostrado una estructura altamente conservada entre las cepas de influenza. También se ha establecido que la HA experimenta mayores cambios conformacionales durante el proceso de infección, los cuales requieren que la HA0 precursora se escinda en las 2 cadenas polipeptídicas HA1 y HA2. La proteína HA puede ser procesada (es decir, comprender los dominios HA1 y HA2) o puede no ser procesada (es decir, comprender el dominio de HA0).

La presente invención se relaciona con el uso de una proteína HA que comprende el dominio transmembrana e incluye los dominios HA1 y HA2, por ejemplo, la proteína de HA puede ser HA0, o HA procesada que comprende HA1 y HA2. La proteína HA puede utilizarse en la producción o la formación de las VLP utilizando una planta, o célula de una planta o un sistema de expresión.

La HA expresada de acuerdo con la presente invención puede obtenerse a partir de cualquier subtipo. Por ejemplo, la HA puede ser del subtipo H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 o H16. La HA recombinante puede también comprender una secuencia de aminoácidos basada en la secuencia de cualquier hemaglutinina conocida en el estado del arte - véase por ejemplo, la base de BioDefence Public Health (Virus de la Influenza; véase URL: biohelthbase.org) o el National Center for Biotechnology Information (véase URL: ncbi.nlm.nih.gov). Además, la HA puede basarse en la secuencia de una hemaglutinina que se aísla de uno o más virus de la influenza recientemente identificados o emergentes.

La presente invención también incluye las VLP que comprenden las HA obtenidas de uno o más de un subtipo de influenza. Por ejemplo, las VLP pueden comprender una o más de una HA del subtipo H1 (codificada por la SEQ ID NO: 28), H2 (codificada por la SEQ ID NO: 12), H3 (codificada por la SEQ ID NO: 13), H4 (codificada por la SEQ ID NO: 14) H5 (codificada por la SEQ ID NO: 15), H6 (codificada por la SEQ ID NO: 16), H7 (codificada por la SEQ ID NO: 11), H8 (codificada por la SEQ ID NO: 17), H9 (codificada por la SEQ ID NO: 18), H10 (codificada por la SEQ ID NO: 19), H11 (codificada por la SEQ ID NO: 20), H12 (codificada por la SEQ ID NO: 21), H13 (codificada por la SEQ ID NO: 27), H14 (codificada por la SEQ ID NO: 23), H15 (codificada por la SEQ ID NO: 24), H16 (codificada por la SEQ ID NO: 25) o una combinación de las mismas. Una o más de una HA a partir de uno o más de un subtipo de influenza pueden coexpresarse dentro de célula vegetal o de insecto para asegurar que la síntesis de una o más de

5 una HA resulta en la formación de las VLP que comprenden una combinación de las HA obtenidas a partir de uno o más de un subtipo de influenza. La selección de la combinación de las HA puede determinarse por medio del uso pretendido de la vacuna preparada a partir de la VLP. Por ejemplo, una vacuna para su uso en la inoculación de aves pueden comprender cualquier combinación de subtipos de HA, mientras que las VLP útiles para inocular seres humanos pueden comprender subtipos de uno o más de los subtipos H1, H2, H3, H5, H7, H9, H10, N1, N2, N3 y N7. Sin embargo, se pueden preparar otras combinaciones de subtipos de HA dependiendo del uso del inóculo.

Por lo tanto, la presente invención está dirigida a una VLP producida de acuerdo con la invención que comprende uno o más de un subtipo de HA.

10 La presente invención involucra por lo tanto ácidos nucleicos que codifican hemaglutininas que forman las VLP cuando se expresan en plantas.

15 Las proteínas HA de influenza exhiben un intervalo de similitudes y diferencias con respecto al peso molecular, el punto isoeléctrico, tamaño, complemento de glicano y similares. Las propiedades fisicoquímicas de las diversas hemaglutininas pueden ser útiles para permitir la diferenciación entre las HA expresadas en una planta, célula de insecto o sistema de levadura, y pueden ser de uso particular cuando se coexpresa más de una HA en un sistema sencillo. En la tabla 1 se proporcionan ejemplos de tales propiedades fisicoquímicas.

Tabla 1: Propiedades fisicoquímicas de hemaglutininas de influenza

Clon No.	Tipo	Cepas de influenza	AA			Glicanos			Peso molecular (kDa)						Punto isoelectrico		
			HA0	HA1	HA2	HA0	HA1	HA2	HA0	HA1	HA1	HA1	HA2	HA2	HA0	HA1	HA2
774	H1	A/Brisbane/59/2007	548	326	222	9	7	2	61	75	36	47	25	28	6,4	7,5	5,3
775	H1	A/Isias Salomón/3/2006	548	326	222	9	7	2	61	75	36	47	25	28	6,1	6,7	5,3
776	H3	A/Brisbane/10/2007	550	329	221	12	11	1	62	80	37	54	25	27	8,5	9,6	5,2
777	H3	A/Wisconsin/67/2005	550	329	221	11	19	1	62	79	37	52	25	27	8,8	9,6	5,3
778	B	B/Malasia/2506/2004	570	347	223	12	8	4	62	80	38	50	24	30	8,0	9,7	4,5
779	B	B/Florida/4/2006	569	346	223	10	7	3	62	77	38	48	24	29	8,0	9,7	4,5
780	H2	A/Singapur/1/57	547	325	222	6	4	2	62	71	36	42	25	28	6,0	7,5	4,9
781	H5	A/Anhui/1/2005	551	329	222	7	5	2	62	73	37	45	25	28	6,2	8,9	4,7
782	H5	A/Vietnam/1194/2004	552	330	222	7	5	2	63	74	38	45	25	28	6,4	9,1	4,8
783	H6	A/Cerceta/Hong Kong/W312/97	550	328	222	8	5	3	62	75	37	45	25	30	5,7	5,9	5,6
784	H7	A/Equino/Praga/56	552	331	221	6	4	2	62	71	37	49	25	28	8,9	9,7	4,9
785	H9	A/Hong Kong/1073/99	542	320	199	9	7	2	61	75	36	46	23	26	8,4	9,5	5,3

La presente invención también involucra secuencias de nucleótidos SEQ ID NO: 28; SEQ ID NO: 3; SEQ ID NO: 11, que codifican HA a partir de H1, H5 o H7, respectivamente, una secuencia de nucleótidos que hibrida bajo condiciones de hibridación rigurosas a la SEQ ID NO: 28; SEQ ID NO: 3; SEQ ID NO: 11, o una secuencia de nucleótidos que hibrida bajo condiciones de hibridación rigurosas a un complemento de la SEQ ID NO: 28; SEQ ID NO: 3; SEQ ID NO: 1, en donde la secuencia de nucleótidos codifica una proteína de hemaglutinina que cuando se expresa forma una VLP, y que la VLP induce la producción de un anticuerpo cuando se administra a un individuo. Por ejemplo, la expresión de la secuencia de nucleótidos dentro de una célula vegetal forma una VLP, y la VLP puede utilizarse para producir un anticuerpo que es capaz de enlazarse a HA, incluyendo HA, HA0, HA1 o HA2 maduras de uno o más tipos o subtipos de influenza. La VLP, cuando se administra a un individuo induce una respuesta inmune.

La hibridación bajo condiciones de hibridación rigurosas es conocida en el arte (véase por ejemplo, Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel et al., eds. 1995 y suplementos; Maniatis et al., en Molecular Cloning (A Laboratory Manual), Cold Spring Harbor Laboratory, 1982; Sambrook y Russell, en Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3a edición 2001. Un ejemplo de tales condiciones de hibridación rigurosas puede ser aproximadamente 16 - 20 horas de hibridación en 4 X SSC a 65°C, seguido por un lavado en 0,1 X SSC a 65°C durante una hora, o 2 lavados en 0,1 X SSC a 65°C cada uno durante 20 o 30 minutos. Alternativamente, un ejemplo de una condición de hibridación rigurosa podría ser durante la noche (16 - 20 horas) en formamida al 50%, 4 X SSC a 42°C, seguida por un lavado en 0,1 X SSC a 65°C durante una hora, o 2 lavados en 0,1 X SSC a 65°C cada uno durante 20 o 30 minutos, o durante la noche (16 - 20 horas) o hibridación en amortiguador de fosfato acuoso Church (SDS al 7%; amortiguador de NaPO<sub>4</sub> 0,5 M, pH 7,2; EDTA 10 mM) a 65°C, con 2 lavados ya sea a 50°C en 0,1 X SSC, SDS al 0,1% durante 20 o 30 minutos cada uno, o 2 lavados a 65°C en 2 X SSC, SDS al 0,1% durante 20 o 30 minutos cada uno.

Adicionalmente, la presente invención puede involucrar secuencias de nucleótidos que se caracterizan por tener aproximadamente 70, 75, 80, 85, 87, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100% o cualquier cantidad entre éstas, identidad de secuencias, o similitud de secuencias, con la secuencia de nucleótidos que codifica la HA a partir de H1 (SEQ ID NO: 28), H5 (SEQ ID NO: 3) o H7 (SEQ ID NO: 11), en donde la secuencia de nucleótidos codifica una proteína de hemaglutinina que cuando se expresa en plantas forma una VLP, y que la VLP induce la producción de un anticuerpo. Por ejemplo, la expresión de la secuencia de nucleótidos dentro de una célula vegetal forma una VLP, y la VLP puede utilizarse para producir un anticuerpo que es capaz de enlazar HA, incluyendo HA, HA0, HA1 o HA2 maduras. La VLP, cuando se administra a un sujeto, induce una respuesta inmune.

En forma similar, la presente invención involucra las HA asociadas con los siguientes subtipos H1 (codificada por la SEQ ID NO: 28), H2 (codificada por la SEQ ID NO: 12), H3 (codificada por la SEQ ID NO: 13), H4 (codificada por la SEQ ID NO: 14), H5 (codificada por la SEQ ID NO: 15), H6 (codificada por la SEQ ID NO: 16), H7 (codificada por la SEQ ID NO: 11), H8 (codificada por la SEQ ID NO: 17), H9 (codificada por la SEQ ID NO: 18), H10 (codificada por la SEQ ID NO: 19), H11 (codificada por la SEQ ID NO: 20), H12 (codificada por la SEQ ID NO: 21), H13 (codificada por la SEQ ID NO: 27), H14 (codificada por la SEQ ID NO: 23), H15 (codificada por la SEQ ID NO: 24), H16 (codificada por la SEQ ID NO: 25); véanse las Figuras 10A a 10P), y las secuencias de nucleótidos que se caracterizan porque tienen aproximadamente de 70 a 100% o cualquier cantidad entre ellas, 80 a 100% o cualquier cantidad entre ellas, 90 - 100% o cualquier cantidad entre ellas, o 95 - 100% o cualquier cantidad entre ellas, de identidad de secuencias con H1 (SEQ ID NO: 28), H2 (SEQ ID NO: 12), H3 (SEQ ID NO: 13), H4 (SEQ ID NO: 14), H5 (SEQ ID NO: 15), H6 (SEQ ID NO: 16), H7 (SEQ ID NO: 11), H8 (SEQ ID NO: 17), H9 (SEQ ID NO: 18), H10 (SEQ ID NO: 19), H11 (SEQ ID NO: 20), H12 (SEQ ID NO: 21), H13 (SEQ ID NO: 27), H14 (SEQ ID NO: 23), H15 (SEQ ID NO: 24), H16 (SEQ ID NO: 25), en donde la secuencia de nucleótidos codifica una proteína hemaglutinina que cuando se expresa forma una VLP, y que la VLP induce la producción de un anticuerpo. Por ejemplo, la expresión de la secuencia de nucleótidos dentro de una célula vegetal forma una VLP, y la VLP puede utilizarse para producir un anticuerpo que es capaz de enlazar HA, incluyendo HA, HA0, HA1 o HA2 maduras. La VLP, cuando se administra a un sujeto, induce una respuesta inmune.

Una "respuesta inmune" generalmente se refiere a una respuesta del sistema inmune adaptivo. El sistema inmune adaptivo comprende generalmente una respuesta humoral, y una respuesta mediada por células. La respuesta humoral es el aspecto de la inmunidad que es mediada por anticuerpos secretados, producidos en las células del linaje de linfocitos B (células B). Los anticuerpos secretados se enlazan a antígenos en las superficies de los microbios invasores (tal como virus o bacterias), que los marcan para destrucción. La inmunidad humoral se utiliza generalmente para referirse a la producción de anticuerpos y los procesos que la acompañan, así como las funciones efectoras de anticuerpos, incluyendo la activación de células Th2 y la producción de citoquinas, generación de células de memoria, promoción de opsonina de fagocitosis, eliminación de patógenos y similares. Los términos "modular" o "modulación" o similares se refieren a un incremento o disminución en una respuesta o parámetro particular, como se determina por medio de cualquiera de los diferentes ensayos generalmente conocidos o utilizados, algunos de los cuales se usan como ejemplos en la presente invención.

Una respuesta mediada por células es una respuesta inmune que no implica anticuerpos, sino más bien implica la

activación de macrófagos, células asesinas naturales (NK), linfocitos T citotóxicos específicos del antígeno, y la liberación de varias citoquinas en respuesta a un antígeno. La inmunidad mediada por células se utiliza generalmente para referirse a alguna activación de las células Th, activación de células Tc y respuestas mediadas por células T. La inmunidad mediada por células es de importancia particular en respuesta a infecciones virales.

5 Por ejemplo, la inducción de linfocitos T CD8 positivos específicos para el antígeno puede medirse utilizando un ensayo ELISPOT; la estimulación de linfocitos T CD4 positivos puede medirse utilizando un ensayo de proliferación. Las concentraciones de anticuerpos anti-influenza pueden cuantificarse utilizando un ensayo ELISA; se pueden medir también los isotipos de anticuerpos reactivos cruzados o específicos de antígenos utilizando anticuerpos anti-isotipo (por ejemplo, anti-IgG, IgA, IgE o IgM). Los métodos y técnicas para realizar tales ensayos son bien conocidos en la técnica.

10 Puede también utilizarse un ensayo de inhibición de hemaglutinación (HI o HAI) para demostrar la eficacia de anticuerpos inducidos por una vacuna, o una composición de vacuna puede inhibir la aglutinación de glóbulos rojos (RBC) por HA recombinante. Las concentraciones de anticuerpos inhibitorios de hemaglutinación de muestras de suero pueden evaluarse por microtitulación de HAI (Aymard et al 1973). Los eritrocitos de cualquiera de las diversas especies pueden utilizarse - por ejemplo, de caballo, pavo, pollo o similares. Este ensayo da información indirecta en el ensamble del trímero de HA en la superficie de la VLP, confirmando la presentación apropiada de sitios antigénicos en las HA.

15 También se pueden utilizar concentraciones de HAI de reactividad cruzada para demostrar la eficacia de una respuesta inmune a otras cepas del virus relacionadas con el subtipo de vacuna. Por ejemplo, el suero de un sujeto inmunizado con una composición de vacuna de una primera cepa (por ejemplo, las VLP de A/Indonesia 5/05) puede utilizarse en un ensayo de HAI con una segunda cepa de virus completo o de partículas virales (por ejemplo, A/Vietnam/1194/2004) y la concentración de HAI determinada.

20 La presencia o los niveles de citoquina también pueden cuantificarse. Por ejemplo, una respuesta de célula T auxiliar (Th1/Th2) será caracterizada por medio de la medición de células que secretan IFN- $\gamma$  e IL-4 utilizando ELISA (por ejemplo, kits BD Biosciences OptEIA). Las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) o esplenocitos obtenidos de un sujeto pueden cultivarse, y analizarse el sobrenadante. Los linfocitos T pueden también cuantificarse por medio de clasificación celular activada por fluorescencia (FACS), utilizando etiquetas y métodos fluorescentes marcadores específicos que son bien conocidos en la técnica.

25 También puede llevarse a cabo un ensayo de microneutralización para caracterizar una respuesta inmune en un sujeto, véase por ejemplo los métodos de Rowe et al., 1973. Las concentraciones de neutralización de virus pueden obtenerse en varias formas, incluyendo: 1) enumeración de placas de lisis (ensayo de placas) después de la fijación/coloración de las células con cristal violeta; 2) observación microscópica de lisis celular en cultivo; 3) ELISA y detección espectrofotométrica de proteína de virus NP (correlacionado con infección viral de células huéspedes).

30 La identidad de secuencias o similitud de secuencias puede determinarse utilizando un programa de comparación de secuencias de nucleótidos, tal como aquella suministrada dentro de DNASIS (por ejemplo, utilizando, aunque sin limitarse a los siguientes parámetros: penalización de 5 por GAP, de 5 por # de diagonales superiores, penalización de 10 por GAP fija, de 2 por una tupla k, de 10 por abertura flotante, y de 5 por tamaño de ventana). Sin embargo se conocen bien en el arte otros métodos de alineación de secuencias para comparación, por ejemplo, los algoritmos de Smith & Waterman (1981, Adv. Appl. Math. 2: 482), Needleman & Wunsch (J. Mol. Biol. 48: 443, 1970), Pearson & Lipman (1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 2444) y por implementaciones computarizadas de estos algoritmos (por ejemplo, GAP, BESTFIT, FASTA y BLAST), o por alineación manual e inspección visual.

El término "dominio de hemaglutinina" se refiere a un péptido que comprende ya sea el dominio HA0, o los dominios HA1 y HA2. El dominio de hemaglutinina no incluye el péptido señal, el dominio transmembrana o la cola citoplasmática encontrada en la proteína de origen natural.

35 El término "partícula similar a virus" (VLP), o "partículas similares a virus" o las "VLP" se refiere a estructuras que se auto-ensamblan y comprenden proteínas estructurales tal como proteína HA de influenza. Las VLP son generalmente morfológica y antigénicamente similares a viriones producidos en una infección, aunque carecen de información genética suficiente para replicarse y de este modo no son infecciosas. En algunos ejemplos, las VLP pueden comprender una especie de proteína simple o más de una especie de proteína. Para las VLP que comprenden más de una especie de proteína, la especie de proteína pueden ser de las misma especie de virus o pueden comprender una proteína de una especie diferente, género, subfamilia o familia de virus (como se designa por medio de la nomenclatura ICTV). En otros ejemplos, se pueden modificar una o más de las especies de proteínas que comprenden una VLP a partir de la secuencia de origen natural. Las VLP pueden producirse en células huéspedes adecuadas incluyendo células huéspedes de plantas e insectos. Después de la extracción de la célula huésped y del aislamiento y purificación adicional bajo condiciones adecuadas, las VLP pueden purificarse como estructuras intactas.

Las VPL producidas a partir de proteínas derivadas de influenza, de acuerdo con la presente invención, no comprenden la proteína M1. Se sabe que la proteína M1 enlaza ARN (Wakefield y Brownlee, 1989) que es un contaminante de la preparación de VLP. La presencia del ARN es indeseada cuando se obtiene la aprobación reglamentaria para el producto de VLP, por lo tanto una preparación de VLP que carece de ARN puede ser ventajosa.

Las VPL de la presente invención se producen en una célula huésped que se caracteriza porque carece de la capacidad para sialilar proteínas, por ejemplo, carece de sialidasa, es decir una célula vegetal. Las VPL producidas como se describe en la presente invención no comprenden típicamente neuraminidasa (NA). Sin embargo, la NA puede ser coexpresada con HA, en caso de que se deseen las VPL que comprenden HA y NA.

Una VPL producida en una planta de acuerdo con algunos aspectos de la invención puede acomplejarse con lípidos derivados de la planta. La VPL puede comprender un péptido de HA0, HA1 o HA2. Los lípidos derivados de plantas pueden estar en la forma de una bicapa de lípido, y pueden comprender además una envoltura que rodea la VLP. Los lípidos derivados de plantas pueden comprender componentes lipídicos de la membrana plasmática de la planta en donde se produce la VPL, incluyendo, aunque sin limitarse a fosfatidilcolina (PC), fosfatidil etanolamina (PE), glicoesfingolípidos, fitoesteros o una combinación de los mismos. Un lípido derivado de una planta puede alternativamente denominarse como un "lípido de la planta". Se conocen ejemplos de fitoesteros en la técnica, e incluyen, por ejemplo, estigmasterol, sitosterol, 24-metilcolesterol y colesterol - véase por ejemplo, Mongrand et al., 2004.

Las VPL pueden evaluarse por estructura y tamaño, por ejemplo, mediante un ensayo de hemaglutinación, microscopía electrónica o por cromatografía por exclusión de tamaño.

Para cromatografía por exclusión de tamaño, las proteínas solubles totales pueden extraerse del tejido vegetal por medio de homogenización de la muestra (Polytron) de material vegetal triturado y congelado en un amortiguador de extracción, y se remueve el material insoluble por centrifugación. La precipitación con PEG puede también ser benéfica. La proteína soluble se cuantifica, y el extracto pasa a través de una columna Sephacryl™. Puede utilizarse Azul Dextrano 2000 como estándar de calibración. Después de la cromatografía, se pueden analizar adicionalmente las fracciones por inmunotransferencia para determinar el complemento de proteína de la fracción.

Sin ánimo de ceñirnos a ninguna teoría en particular, la capacidad de la HA para enlazarse a RBC de diferentes animales se efectúa por la afinidad de la HA por los ácidos siálicos  $\alpha 2,3$  o  $\alpha 2,6$  y la presencia de aquellos ácidos siálicos en la superficie de RBC. La HA equina y aviar de los virus de la influenza aglutinan eritrocitos de todas las diferentes especies, incluyendo pavos, pollos, patos, cobayos, seres humanos, ovejas, caballos y vacas; mientras que las HA de seres humanos se enlazarán a los eritrocitos de pavos, pollos, patos, cobayos, seres humanos y ovejas (véase también Ito T. et al, 1997, Virology, vol 227, p. 493 - 499; y Medeiros R et al, 2001, Virology, vol 289 p. 74 - 85). En las Tablas 2A y 2B se presentan ejemplos de reactividad de especies de las HA de diferentes cepas de influenza.

Tabla 2A: Especies de RBC enlazadas por las HA de cepas seleccionadas de influenza estacional

Estacional	Cepa	No	Origen	Caballo	Pavo
H1	A/Brisbane/59/2007 (H1N1)	774	Humano	+	++
	A/Islands Salomón /3/2006 (H1N1)	775	Humano	+	++
H3	A/Brisbane/10/2007 (H3N2)	776	Humano	+	++
	A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)	777	Humano	+	++
B	B/Malasia/2506/2004	778	Humano	+	++
	B/Florida/4/2006	779	Humano	+	++

Tabla 2B: Especies de RBC enlazadas por las HA de cepas seleccionadas de influenza pandémica

Pandémica	Cepa	No	Origen	Caballo	Pavo
H2	A/Singapur/1/57 (H2N2)	780	Humano	+	++
H5	A/Anhui/1/2005 (H5N1)	781	Hu-Av	++	+
	A/Vietnam/1194/2004 (H5N1)	782	Hu-Av	++	+
H6	A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1)	783	Aviar	++	+
H7	A/Equino/Praga/56 (H7N7)	784	Equino	++	++
H9	A/Hong Kong/1073/99 (H9N2)	785	Humano	++	+

Como se utiliza en la presente invención, una "proteína" se refiere generalmente a una cadena de aminoácidos

conectados por medio de un enlace peptídico, que puede plegarse en una estructura secundaria, terciaria o cuaternaria para lograr una morfología particular. Alternativamente, los términos polipéptido, péptido o fragmentos de péptidos pueden utilizarse en un contexto similar.

Un fragmento o porción de una proteína, proteína de fusión o polipéptido incluye un péptido o polipéptido que comprende un subconjunto del complemento de aminoácidos de una proteína o polipéptido particular, siempre y cuando el fragmento pueda formar una VLP cuando se expresa. El fragmento puede, por ejemplo, comprender una región antigénica, una región que induce una respuesta por estrés, o una región que comprende un dominio funcional de la proteína o el polipéptido. El fragmento puede también comprender una región o dominio común para las proteínas de la misma familia general, o el fragmento puede incluir suficiente secuencia de aminoácidos para identificar específicamente la proteína de longitud completa de la cual se deriva.

Por ejemplo, un fragmento o porción puede comprender aproximadamente desde 60% hasta aproximadamente 100% de la longitud total de la proteína, o cualquier cantidad entre estos valores, siempre y cuando el fragmento pueda formar una VLP cuando se expresa. Por ejemplo, aproximadamente desde 60% hasta aproximadamente 100%, aproximadamente desde 70% hasta aproximadamente 100%, aproximadamente desde 80% hasta aproximadamente 100%, aproximadamente desde 90% hasta aproximadamente 100%, aproximadamente desde 95% hasta aproximadamente 100% de la longitud total de la proteína, o cualquier cantidad entre estos valores. Alternativamente, un fragmento o porción puede ser de aproximadamente 150 hasta aproximadamente 500 aminoácidos, o cualquier cantidad entre estos valores, dependiendo de la HA, y siempre y cuando el fragmento pueda formar una VLP cuando se expresa. Por ejemplo, un fragmento puede ser de 150 hasta aproximadamente 500 aminoácidos, o cualquier cantidad entre estos valores, aproximadamente desde 200 hasta aproximadamente 500 aminoácidos o cualquier cantidad entre estos valores, aproximadamente desde 250 hasta aproximadamente 500 aminoácidos o cualquier cantidad entre estos valores, aproximadamente desde 300 hasta aproximadamente 500 o cualquier cantidad entre estos valores, aproximadamente desde 350 hasta aproximadamente 500 aminoácidos o cualquier cantidad entre estos valores, aproximadamente desde 400 hasta aproximadamente 500 o cualquier cantidad entre estos valores, aproximadamente desde 450 hasta aproximadamente 500 o cualquier cantidad entre estos valores, dependiendo de la HA, y siempre y cuando el fragmento pueda formar una VLP cuando se expresa. Por ejemplo, aproximadamente 5, 10, 20, 30, 40 ó 50 aminoácidos, o cualquier cantidad entre estos valores pueda ser removida del terminal C, el terminal N o ambos el terminal N y el C y una proteína de HA, siempre y cuando el fragmento pueda formar una VLP cuando se expresa.

La numeración de los aminoácidos en cualquier secuencia dada es relativa a la secuencia particular, sin embargo, alguien capacitado en la técnica puede determinar fácilmente la "equivalencia" de un aminoácido particular en una secuencia con base en la estructura y/o secuencia. Por ejemplo, si 6 aminoácidos del terminal N fueran removidos cuando se construía un clon para cristalografía, esto cambiaría la identidad numérica específica del aminoácido (por ejemplo, con relación a la longitud total de la proteína), aunque no alteraría la posición relativa del aminoácido en la estructura.

Las comparaciones de una secuencia o de secuencias pueden hacerse utilizando un algoritmo BLAST (Altschul et al., 1990, J. Mol Biol. 215: 403 - 410). Una búsqueda por BLAST permite la comparación de una secuencia de consulta con una secuencia específica o grupo de secuencias, o con una biblioteca o base de datos más grande (por ejemplo, GenBank o GenPept) de secuencias, e identificación no solamente de secuencias que exhiban 100% de identidad, sino también aquellas con menor grado de identidad. Las secuencias de ácido nucleico o de aminoácidos pueden compararse utilizando un algoritmo BLAST. Además, la identidad entre dos o más secuencias puede determinarse alineando las secuencias juntas y determinando el % de identidad entre las secuencias. La alineación puede llevarse a cabo utilizando el Algoritmo BLAST (por ejemplo, como el disponible a través del GenBank; URL: [ncbi.nlm.nih.gov/cgi-bin/BLAST/](http://ncbi.nlm.nih.gov/cgi-bin/BLAST/) utilizando parámetros predeterminados: Programa: blastn; Base de datos: nr; Esperado 10; filtro: predeterminado; Alineación: por pares; Códigos Genéticos de Consulta: Estándar (1)), o BLAST2 a través de EMBL, URL: [embl-heidelberg.de/Services/index.html](http://embl-heidelberg.de/Services/index.html) utilizando parámetros predeterminados: Matriz BLOSUM62; Filtro: predeterminado, ecofiltro: encendido, Esperado 10, corte: predeterminado; Cadena: ambas; Descripciones: 50, Alineamientos: 50; o FASTA, utilizando parámetros predeterminados), o por medio de comparación manual de las secuencias y calculando el % de identidad.

La presente invención describe, aunque no se limita a la clonación de un ácido nucleico que codifica HA en un vector de expresión vegetal, y la producción de las VLP de influenza a partir de la planta, adecuados para producción de vacunas. Los ejemplos de tales ácidos nucleicos incluyen, por ejemplo, aunque no se limitan a, una HA del virus de influenza A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1) (por ejemplo, la SEQ ID NO: 61), una HA de A/Indonesia/5/05 del subtipo (H5N1) (por ejemplo, la SEQ ID NO: 60), A/Brisbane/59/2007 (H1N1) (por ejemplo, la SEQ ID NO: 36, 48, 62), A/Islas Salomón/3/2006 (H1N1) (por ejemplo, la SEQ ID NO: 37, 49, 63), A/Singapur/1/57 (H2N2) (por ejemplo, las SEQ ID NOs: 42, 54, 64), A/Anhui/1/2005 (HSN1) (por ejemplo, las SEQ ID NOs: 43, 55, 65), A/Vietnam/1194/2004 (HSN1) (por ejemplo, las SEQ ID NOs: 44, 56, 66), A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1) (por ejemplo, las SEQ ID NOs: 45, 57, 67), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2) (por ejemplo, las SEQ ID NOs: 47, 59, 68), A/Brisbane/10/2007 (H3N2) (por ejemplo, las SEQ ID NOs: 38, 50, 69), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2) (por ejemplo,



las SEQ ID NOs: 49, 51, 70), A/Equino/Praga/56 (H7N7) (por ejemplo, las SEQ ID NOs: 46, 58, 71), B/Malasia/2506/2004 (por ejemplo, las SEQ ID NOs: 40, 52, 72), B/Florida/4/2006 (por ejemplo, las SEQ ID NOs: 41, 53, 73). Los números correspondientes de la construcción o del clon para estas cepas se proporciona en la Tabla 1. Las secuencias de ácido nucleico que corresponden a las SEQ ID NOs: 46 - 47 comprenden una plastocianina

5 secuencia arriba y operativamente enlazada a la secuencia de codificación de la HA para cada uno de los tipos o subtipos, como se ilustra en las Figuras 28 - 49. Las secuencias de ácido nucleico que corresponden a las SEQ ID NOs: 60 - 73 comprenden un casete de expresión de HA que comprende un promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, una secuencia de codificación de hemaglutinina de una HA, 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias

terminadoras, como se ilustra en las Figuras 51 - 64.

10 Las VLP pueden también utilizarse para producir reactivos que constan de proteínas estructurales recombinantes de influenza que se auto-ensamblan en estructuras de proteínas macromoleculares homotípicas inmunogénicas y funcionales, incluyendo partículas subvirales de influenza y VLP de influenza, en células de plantas transformadas.

Por lo tanto, la invención proporciona las VLP, y un método para producir las VLP virales en un sistema de expresión de una planta, a partir de la expresión de una sola proteína de la envoltura. Las VLP son VLP de influenza.

15 La presente invención involucra además la clonación de un ácido nucleico que codifica una HA, por ejemplo, aunque sin limitarse a la HA del virus de influenza humana A/Indonesia/5/05 (H5N1) en un vector de una planta y la producción de candidatos o reactivos de vacuna de influenza que constan de proteínas estructurales recombinantes de influenza que se auto-ensamblan en estructuras de proteínas macromoleculares homotípicas funcionales e

20 inmunogénicas, incluyendo partículas de influenza subvirales y VLP de influenza, en células vegetales transformadas.

El ácido nucleico que codifica la HA se expresa en una célula de una planta, o en una planta. El ácido nucleico que codifica la HA se puede sintetizar por medio de transcripción inversa y reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando ARN para HA. Por ejemplo, el ARN se puede aislar del virus de influenza humana A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1), o del virus de influenza humana A/Indonesia/5/05 (H5N1), u otros virus de influenza por

25 ejemplo A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Islas Salomón/3/2006 (H1N1), A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2), A/Brisbane/10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), A/Equino/Praga/56 (H7N7), B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006, o de células infectadas con un virus de la influenza. Para transcripción inversa y PCR, se pueden utilizar cebadores de oligonucleótidos específicos para ARN de HA, por ejemplo, aunque sin limitarse a secuencias

30 de HA del virus de la influenza A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1) o secuencias de HA0 del Virus de la influenza humana A/Indonesia/5/05 (H5N1), o secuencias de HA de los subtipos de influenza A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Islas Salomón/3/2006 (H1N1), A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2), A/Brisbane/10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), A/Equino/Praga/56 (H7N7), B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006. Adicionalmente,

35 un ácido nucleico que codifica HA puede sintetizarse químicamente utilizando métodos como lo sabría alguien capacitado en la técnica.

Las copias de ADNc resultantes de estos genes pueden clonarse en un vector de expresión adecuado como el requerido por el sistema de expresión huésped. Ejemplos de vectores de expresión apropiados para plantas se describen posteriormente.

40 La presente invención está dirigida además a una construcción génica que comprende un ácido nucleico que codifica HA, como se describió anteriormente, operativamente enlazado a un elemento regulador que es operativo en una planta. Ejemplos de elementos reguladores operativos en una célula vegetal y que pueden utilizarse de acuerdo con la presente invención incluyen, aunque no se limitan a, una región reguladora de plastocianina (patente de los Estados Unidos No. 7.125.978), o una región reguladora de Ribulosa 1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa

45 (RuBisCO; patente de los Estados Unidos No. 4.962.028), proteína de enlazamiento de clorofila a/b (CAB; Leutwiler et al; 1986), ST-LS1 (asociada con el complejo que libera oxígeno del fotosistema II y descrito por Stockhaus et al. 1987, 1989). Un ejemplo de una región reguladora de plastocianina es una secuencia que comprende los nucleótidos 10 - 85 de la SEQ ID NO: 36, o una región similar de cualquiera de las SEQ ID NOs: 37 - 47.

Por lo tanto, la invención se relaciona con un ácido nucleico que comprende una región reguladora y una secuencia que codifica una HA de influenza. La región reguladora puede ser un elemento regulador de plastocianina, y la HA de la influenza puede seleccionarse de un grupo de cepas o subtipos de influenza, que comprende A/Nueva Caledonia/20/99 del subtipo (H1N1), A/Indonesia/5/2006 (H5N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Islas Salomón/3/2006 (H1N1), A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2), A/Brisbane/10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), A/Equino/Praga/56 (H7N7), B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006. Las secuencias de ácido nucleico que comprenden un elemento regulador de plastocianina y una HA de influenza se ejemplifican en la presente invención por las SEQ ID NOs: 36 - 47.

50

55

- Se sabe que puede haber diferencias de secuencias en la secuencia de las secuencias de aminoácidos de la hemaglutinina de la influenza, o los ácidos nucleicos que las codifican, cuando se cultiva el virus de la influenza en huevos, o en células de mamífero (por ejemplo, células MDCK) o cuando se aíslan de un sujeto infectado. Ejemplos no limitantes de tales diferencias se ilustran en la presente invención, incluyendo el Ejemplo 18. Además, como lo comprenderá alguien capacitado en la técnica, puede observarse una variación adicional dentro de las hemaglutininas de influenza obtenidas de nuevas cepas ya que continúan produciéndose mutaciones adicionales. Debido a la variabilidad conocida de secuencia entre diferentes hemaglutininas de influenza, la presente invención incluye las VLP que pueden elaborarse utilizando cualquier hemaglutinina de influenza con tal que cuando se expresa en un huésped como se describe en la presente invención, la hemaglutinina de influenza forma una VLP.
- 5 Pueden determinarse las alineaciones de las secuencias y las secuencias de consenso utilizando cualquiera de los diversos paquetes de software conocidos en la técnica, por ejemplo, MULTALIN (F. CORPET, 1988, Nucl. Acids Res., 16 (22), 10881 - 10890), o pueden alinearse secuencias manualmente y determinarse las similitudes y diferencias entre las secuencias.
- 10 La estructura de las hemaglutininas está bien estudiada y se sabe que las estructuras están muy conservadas. Cuando se superponen las estructuras de hemaglutinina, se observa un alto grado de conservación estructural (rmsd <2Å). Esta conservación estructural se observa aun cuando la secuencia de aminoácidos puede variar en algunas posiciones (véase, por ejemplo, Skehel and Wiley, 2000 Ann Rev. Biochem 69: 531 - 69; Vaccaro et al 2005). Regiones de las hemaglutininas están también bien conservadas, por ejemplo:
- 15
- Dominios estructurales: La poliproteína HA0 se escinde para proporcionar la HA madura. La HA es un homotrímero con cada monómero que comprende un dominio de enlace receptor (HA1) y un dominio de anclaje de membrana (HA2) enlazado por medio de un enlace disulfuro sencillo; los 20 residuos del terminal N de la subunidad HA2 pueden también denominarse como el dominio o secuencia de fusión de HA. También está presente una región de "cola" (interna a la envoltura de la membrana). Cada hemaglutinina comprende estas regiones o dominios. Las regiones o dominios individuales se conservan típicamente en longitud.
- 20
- Todas las hemaglutininas contienen el mismo número y posición de los puentes disulfuro intra e intermoleculares. La cantidad y posición en la secuencia de aminoácidos de las cisteínas que participan en la red del puentes de disulfuro se conserva entre las HA. Ejemplos de estructuras que ilustran los puentes disulfuro intra e intermoleculares característicos y otros aminoácidos conservados y sus posiciones relativas se describen, por ejemplo, en Gamblin et al, 2004 (Science 303: 1838 - 1842). Los ejemplos de estructuras y secuencias incluyen 1RVZ, 1RVX, 1RVT, 1RV0, 1RUY, 1RU7, disponibles en el Banco de Datos de Proteínas (URL: [www.rcsb.org](http://www.rcsb.org)).
- 25
- Cola citoplasmática - la mayoría de las hemaglutininas comprende 3 cisteínas en las posiciones conservadas. Una o más de estas cisteínas pueden estar palmitoiladas como una modificación posterior la traducción.
- 30
- La variación de aminoácidos se tolera en hemaglutininas de virus de influenza. Esta variación proporciona nuevas cepas que se identifican continuamente. La infectividad entre las nuevas cepas puede variar. Sin embargo, se mantiene la formación de trímeros de hemaglutinina, los cuales posteriormente forman las VLP. La presente invención, por lo tanto, se refiere a una secuencia de aminoácidos de hemaglutinina, o un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos de hemaglutinina, que forma las VLP en una planta, e incluye secuencias conocidas y variantes de secuencias que pueden desarrollarse.
- 35
- La Figura 65 ilustra un ejemplo de tal variación conocida. Esta figura muestra una secuencia de aminoácidos de consenso (SEQ ID No: 74) para HA de las siguientes cepas H1N1:
- 40
- A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1) (codificada por la SEQ ID NO: 33),
- A/Brisbane/59/2007 (H1N1) (SEQ ID NO: 48),
- A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1) (SEQ ID NO: 49) y
- 45
- la SEQ ID NO: 9. x1 (posición 3) es A o V; X2 (posición 52) es D o N; X3 (posición 90) es K o R; X4 (posición 99) es K o T; X5 (posición 111) es Y o H; X6 (posición 145) es V o T; X7 (posición 154) es E o K; X8 (posición 161) es R o K; X9 (posición 181) es V o A; X10 (posición 203) es D o N; X11 (posición 205) es R o K; X12 (posición 210) es T o K; X13 (posición 225) es R o K; X14 (posición 268) es W o R; X15 (posición 283) es T o N; X16 (posición 290) es E o K; X17 (posición 432) es I o L; X18 (posición 489) es N o D.
- 50
- Como otro ejemplo de tal variación, se muestra una alineación de secuencia y una secuencia de consenso para HA de A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1) (codificada por la SEQ ID NO: 33), A/Brisbane/59/2007 (H1N1) (SEQ ID NO:

48), A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1) (SEQ ID NO: 49), A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) y SEQ ID NO: 9 a continuación en la Tabla 3.

Tabla 3: Alineación de la secuencia y de la secuencia de consenso para HA de cepas H1N1 seleccionadas

5

SEQ ID NO.	Secuencias				
	1				50
75	MKAKLLVLLC	TFTATYADTI	CIGYHANNST	DTVDTVLEKN	VTVTHSVNLL
9	MKAKLLVLLC	TFTATYADTI	CIGYHANNST	DTVDTVLEKN	VTVTHSVNLL
48	MKVKLLVLLC	TFTATYADTI	CIGYHANNST	DTVDTVLEKN	VTVTHSVNLL
49	MKVKLLVLLC	TFTATYADTI	CIGYHANNST	DTVDTVLEKN	VTVTHSVNLL
76	.....	.....	.....	.....	.....
Consenso	mkxkllvllc	tftatyadtI	cigyhannst	dtvdtvlekn	vtvthsvnll
	51				100
75	EDSHNGKLCL	LKGIAPLQLG	NCSVAGWILG	NPECELLISK	ESWSYIVETP
9	EDSHNGKLCL	LKGIAPLQLG	NCSVAGWILG	NPECELLISK	ESWSYIVETP
48	ENSHNGKLCL	LKGIAPLQLG	NCSVAGWILG	NPECELLISK	ESWSYIVEKP
49	EDSHNGKLCL	LKGIAPLQLG	NCSVAGWILG	NPECELLISR	ESWSYIVEKP
76	.....	.....	.....	.....	.....
Consenso	exshngklcl	lkgiaplqlg	ncsvagwilg	npecellis.	eswsyive.p
	101				150
75	NPENGTCYPG	YFADYEELRE	QLSSVSSFER	FEIFPKESSW	PNHTVTGVSA
9	NPENGTCYPG	YFADYEELRE	QLSSVSSFER	FEIFPKESSW	PNHTVTGVSA
48	NPENGTCYPG	HFADYEELRE	QLSSVSSFER	FEIFPKESSW	PNHTVTGVSA
49	NPENGTCYPG	HFADYEELRE	QLSSVSSFER	FEIFPKESSW	PNHTTTGVSA
76	.....	.....	.....	.....	.....
Consenso	npengtcypg	xfadyeelre	qlssvssfer	feifpkessw	pnhtxtgvsa
	151				200
75	SCSHNGKSSF	YRNLLWLTGK	NGLYPNLSKS	YVNNKEKEVL	VLWGVHHPN
9	SCSHNGKSSF	YRNLLWLTGK	NGLYPNLSKS	YVNNKEKEVL	VLWGVHHPN
48	SCSHNGESSF	YRNLLWLTGK	NGLYPNLSKS	YANNKEKEVL	VLWGVHHPN
49	SCSHNGESSF	YKNLLWLTGK	NGLYPNLSKS	YANNKEKEVL	VLWGVHHPN
76	.....	.....	.....	.....	.....
Consenso	scshngxssf	yxnlwltgk	nglypnlsks	yxnnkekevl	vlwgvhhppn
	201				250
75	IGNQRALYHT	ENAYVSVVSS	HYSRRFTPEI	AKRPKVRDQE	GRINYYWTLL
9	IGNQRALYHT	ENAYVSVVSS	HYSRRFTPEI	AKRPKVRDQE	GRINYYWTLL
48	IGDQKALYHT	ENAYVSVVSS	HYSRKFTPEI	AKRPKVRDQE	GRINYYWTLL
49	IGDQRALYHK	ENAYVSVVSS	HYSRKFTPEI	AKRPKVRDQE	GRINYYWTLL
76	.....	.....MSLLT	EVETYVLSII	PSGPLKAEIA	QRLEDVFAGK
Consenso	igxqxalyhx	enayvsvvss	hysrxftpei	akrPkvr#qe	gRi#yywtll
	251				300
75	EPGDTIIFEA	NGNLIAPWYA	FALSRGFGSG	IITSNAPMDE	CDACKQTPQG
9	EPGDTIIFEA	NGNLIAPWYA	FALSRGFGSG	IITSNAPMDE	CDACKQTPQG
48	EPGDTIIFEA	NGNLIAPRYA	FALSRGFGSG	IINSNAPMDK	CDACKQTPQG
49	EPGDTIIFEA	NGNLIAPRYA	FALSRGFGSG	IINSNAPMDE	CDACKQTPQG
76	NTDLEVLMEW	...LKTRPIL	SPLTKGILGF	VFTLTVPSE	GLQRRRFVQN
Consenso	#pgdt!ifEa	ngnLiapxya	faLsrGfgsg	!itsnaPm#x	cdackqtpQg

	301		350
75	AINSSLPFQN VHPVTIGEC	KYVRSACLRLM VT.GLRNIPS	IQSRGLFGAI
9	AINSSLPFQN VHPVTIGEC	KYVRSACLRLM VT.GLRNIPS	IQSRGLFGAI
48	AINSSLPFQN VHPVTIGEC	KYVRSACLRLM VT.GLRNIPS	IQSRGLFGAI
49	AINSSLPFQN VHPVTIGEC	KYVRSACLRLM VT.GLRNIPS	IQSRGLFGAI
76	ALNG.....N GDPNNMDKAV	KLYRKLKREI TFHGAKEISL	SYSAGALASC
Consenso	AiNsslpfqN vhPvtigecp	KyvRsaKlrm vtxGlr#Ips	iqSrGlfgai
	351		400
75	AGFIEGGWTG MVDGWYGYHH	QNEQSGSYAA DQKSTQNAIN	GITNKVNSVI
9	AGFIEGGWTG MVDGWYGYHH	QNEQSGSYAA DQKSTQNAIN	GITNKVNSVI
48	AGFIEGGWTG MVDGWYGYHH	QNEQSGSYAA DQKSTQNAIN	GITNKVNSVI
49	AGFIEGGWTG MVDGWYGYHH	QNEQSGSYAA DQKSTQNAIN	GITNKVNSVI
76	MGLIYNRM.G AVTTEVAFGL	VCATCEQIAD SQHRSHRQMV	TTTNPLIRHE
Consenso	aGfIeggwtG mVdgygYhh	qneqsgsyAa dQkstqnain	gitNkvnsvi
	401		450
75	EKMNTQFTAV GKEFNKLERR	MENLNKKVDD GFLDIWTYNA	ELLVLENER
9	EKMNTQFTAV GKEFNKLERR	MENLNKKVDD GFLDIWTYNA	ELLVLENER
48	EKMNTQFTAV GKEFNKLERR	MENLNKKVDD GFIDIWTYNA	ELLVLENER
49	EKMNTQFTAV GKEFNKLERR	MENLNKKVDD GFIDIWTYNA	ELLVLENER
76	NRMVLASTTA .KAMEQMAGS	SEQAAEAMEV A.....S	QARQMVMQAMR
Consenso	#kMntqftav gKef#k\$err	mE#lnkkv#d gfxdiwtyna	#llv\$!#neR
	451		500
75	TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ	KNNAKEIGNG CFEFYHKCNN	ECMESVKNGT
9	TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ	KNNAKEIGNG CFEFYHKCNN	ECMESVKNGT
48	TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ	KNNAKEIGNG CFEFYHKCND	ECMESVKNGT
49	TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ	KNNAKEIGNG CFEFYHKCND	ECMESVKNGT
76	TIGTHPSSSA GLKNDLLENL	QAYQKRMGVQ MQRFK.....	.....
Consenso	TldfHdSnvk nLy#kvks#L	knnaKeiGng cfeFyhkcnx	ecmesvkngt
	501		550
75	YDYPKYSEES KLNREKIDGV	KLESMGVYQI LAIYSTVASS	LVLLVSLGAI
9	YDYPKYSEES KLNREKIDGV	KLESMGVYQI LAIYSTVASS	LVLLVSLGAI
48	YDYPKYSEES KLNREKIDGV	KLESMGVYQI LAIYSTVASS	LVLLVSLGAI
49	YDYPKYSEES KLNREKIDGV	KLESMGVYQI LAIYSTVASS	LVLLVSLGAI
76	.....	.....	.....
Consenso	ydypkysees klnrekidgv	klesmgvyqi laiystvass	lvllvslgai
	551	566	
75	SFWMCSNGSL QCRICI		
9	SFWMCSNGSL QCRICI		
48	SFWMCSNGSL QCRICI		
49	SFWMCSNGSL QCRICI		
76	.....	.....	
Consenso	sfwmcsgsl qcrici		

La secuencia de consenso indica en letras mayúsculas los aminoácidos comunes a todas las secuencias en una posición designada; las letras minúsculas indican aminoácidos comunes para al menos la mitad, o la mayoría de las secuencias; el símbolo ! es cualquiera de I o V; el símbolo \$ es cualquiera de L o M; el símbolo % es cualquiera de F o Y; el símbolo # es cualquiera de N, D, Q, E, B o Z; el símbolo "." no es aminoácido (por ejemplo, una supresión); X en la posición 3 es cualquiera de A o V; X en la posición 52 es cualquiera de E o N; X en la posición 90 es K o R; X en la posición 99 es T o K; X en la posición 111 es cualquiera de Y o H; X en la posición 145 es cualquiera de V o T; X en la posición 157 es K o E; X en la posición 162 es R o K; X en la posición 182 es V o A; X en la posición 203 es N o D; X en la posición 205 es R o K; X en la posición 210 es T o K; X en la posición 225 es K o Y; X en la posición 333 es H o una supresión; X en la posición 433 es I o L; X en la posición 49 es N o D.

Como otro ejemplo de tal variación, se muestra una secuencia de alineación y una secuencia de consenso para HA de A/Anhui/1/2005 (H5N1) (SEQ ID NO: 55), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) y A/Indonesia/5/2006 (H5N1) (SEQ ID NO: 10) a continuación en la Tabla 4.

5 Tabla 4 : Alineación de secuencia y secuencia de consenso para HA de cepas H1N1 seleccionadas

SEQ ID NO.	Secuencias				
	1				50
10	MEKIVLLLA	ISLVKSDQIC	IGYHANNSTE	QVDTIMEKNV	TVTHAQDILE
56	MEKIVLLFAI	ISLVKSDQIC	IGYHANNSTE	QVDTIMEKNV	TVTHAQDILE
55	MEKIVLLLA	ISLVKSDQIC	IGYHANNSTE	QVDTIMEKNV	TVTHAQDILE
Consenso	MEKIVLLLA	ISLVKSDQIC	IGYHANNSTE	QVDTIMEKNV	TVTHAQDILE
	51				100
10	KTHNGKLC	DGVKPLILRD	CSVAGWLLGN	PMCDEFINVP	EWSYIVEKAN
56	KTHNGKLC	DGVKPLILRD	CSVAGWLLGN	PMCDEFINVP	EWSYIVEKAN
55	KTHNGKLC	DGVKPLILRD	CSVAGWLLGN	PMCDEFINVP	EWSYIVEKAN
Consenso	KTHNGKLC	DGVKPLILRD	CSVAGWLLGN	PMCDEFINVP	EWSYIVEKAN
	101				150
10	PTNDLCYPGS	FNDYEELKHL	LSRINHFEDI	QIIPKSSWSD	HEASSGVSSA
56	PVNDLCYPGD	FNDYEELKHL	LSRINHFEDI	QIIPKSSWSS	HEASLGVSSA
55	PANDLCYPGN	FNDYEELKHL	LSRINHFEDI	QIIPKSSWSD	HEASSGVSSA
Consenso	PxNDLCYPGx	FNDYEELKHL	LSRINHFEDI	QIIPKSSWSd	HEASsGVSSA
	151				200
10	CPYLGSPSFF	RNVVWLIKKN	STYPTIKKSY	NNTNQEDLLV	LWGIHHPNDA
56	CPYQGKSSFF	RNVVWLIKKN	STYPTIKRSY	NNTNQEDLLV	LWGIHHPNDA
55	CPYQGTSPFF	RNVVWLIKKN	NTYPTIKRSY	NNTNQEDLLI	LWGIHHSNDA
Consenso	CPYqGxpSFF	RNVVWLIKKN	STYPTIKrSY	NNTNQEDLL!	LWGIHHpNDA
	201				250
10	AEQTRLYQNP	TTYISIGTST	LNQRLVPKIA	TRSKVNGQSG	RMEFFWTILK
56	AEQTKLYQNP	TTYISVGTST	LNQRLVPRIA	TRSKVNGQSG	RMEFFWTILK
55	AEQTKLYQNP	TTYISVGTST	LNQRLVPKIA	TRSKVNGQSG	RMDFFWTILK
Consenso	AEQTKLYQNP	TTYIS!GTST	LNQRLVPkIA	TRSKVNGQSG	RM#FFWTILK
	251				300
10	PNDAINFESN	GNFIAPEYAY	KIVKKGDSAI	MKSELEYGNC	NTKCQTPMGA
56	PNDAINFESN	GNFIAPEYAY	KIVKKGDSTI	MKSELEYGNC	NTKCQTPMGA
55	PNDAINFESN	GNFIAPEYAY	KIVKKGDSAI	VKSEVEYGNC	NTKCQTPIGA
Consenso	PNDAINFESN	GNFIAPEYAY	KIVKKGDSaI	mKSELEYGNC	NTKCQTPmGA
	301				350
10	INSSMPFHNI	HPLTIGECPK	YVKS NRLVLA	TGLRNSPQRE	SRRKKRGLFG
56	INSSMPFHNI	HPLTIGECPK	YVKS NRLVLA	TGLRNSPQRE	RRRKKRGLFG
55	INSSMPFHNI	HPLTIGECPK	YVKS NKL VLA	TGLRNSPLRE	RRRK . RGLFG

<b>Consenso</b>	INSSMPFHNI	HPLTIGECPK	YVKSnrLVLA	TGLRNSPqRE	rRRKkRGLFG
	351				400
10	AIAGFIEGGW	QGMVDGWYGY	HHSNEQSGY	AADKESTQKA	IDGVTNKVNS
56	AIAGFIEGGW	QGMVDGWYGY	HHSNEQSGY	AADKESTQKA	IDGVTNKVNS
55	AIAGFIEGGW	QGMVDGWYGY	HHSNEQSGY	AADKESTQKA	IDGVTNKVNS
<b>Consenso</b>	AIAGFIEGGW	QGMVDGWYGY	HHSNEQSGY	AADKESTQKA	IDGVTNKVNS
	401				450
10	IIDKMNTQFE	AVGREFNLE	RRIENLNKKM	EDGFLDVWTY	NAELLVLMEN
56	IIDKMNTQFE	AVGREFNLE	RRIENLNKKM	EDGFLDVWTY	NAELLVLMEN
55	IIDKMNTQFE	AVGREFNLE	RRIENLNKKM	EDGFLDVWTY	NAELLVLMEN
<b>Consenso</b>	IIDKMNTQFE	AVGREFNLE	RRIENLNKKM	EDGFLDVWTY	NAELLVLMEN
	451				500
10	ERTLDFHDSN	VKNLYDKVRL	QLRDNAKELG	NGCFEFYHKC	DNECMESIRN
56	ERTLDFHDSN	VKNLYDKVRL	QLRDNAKELG	NGCFEFYHKC	DNECMESVRN
55	ERTLDFHDSN	VKNLYDKVRL	QLRDNAKELG	NGCFEFYHKC	DNECMESVRN
<b>Consenso</b>	ERTLDFHDSN	VKNLYDKVRL	QLRDNAKELG	NGCFEFYHKC	DNECMES!RN
	501				550
10	GTYNYPQYSE	EARLKREEIS	GVKLESIGTY	QILSIYSTVA	SSLALAIMMA
56	GTYDYPQYSE	EARLKREEIS	GVKLESIGIY	QILSIYSTVA	SSLALAIMVA
55	GTYDYPQYSE	EARLKREEIS	GVKLESIGTY	QILSIYSTVA	SSLALAIMVA
<b>Consenso</b>	GTY#YPQYSE	EARLKREEIS	GVKLESIGtY	QILSIYSTVA	SSLALAIMVA
	551		568		
10	GLSLWMCSNG	SLQCRICI			
56	GLSLWMCSNG	SLQCRICI			
55	GLSLWMCSNG	SLQCRICI			
<b>Consenso</b>	GLSLWMCSNG	SLQCRICI			

5 La secuencia de consenso indica en letras mayúsculas los aminoácidos comunes a todas las secuencias en una posición designada; las letras minúsculas indican aminoácidos comunes a por lo menos la mitad, o una mayoría de las secuencias; el símbolo ! es cualquiera de I o V; el símbolo \$ es cualquiera de L o M; el símbolo % es cualquiera de F o Y; el símbolo # es cualquiera de N, D, Q, E, B o Z; X en la posición 102 es cualquiera de T, V o A; X en la posición 110 es cualquiera de S, D o N; X en la posición 156 es cualquiera de S, K o T.

10 Las alineaciones descritas e ilustradas anteriormente y las secuencias de consenso son ejemplos no limitantes de variantes en secuencias de aminoácidos de hemaglutinina que pueden utilizarse en varias formas de realización de la invención para la producción de las VPL en una planta.

15 Un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos puede determinarse fácilmente, ya que los codones para cada aminoácido se conocen en la técnica. La provisión de una secuencia de aminoácidos, por lo tanto, enseña las secuencias degeneradas de ácido nucleico que la codifican. La presente invención, por lo tanto, proporciona una secuencia de ácido nucleico que codifica la hemaglutinina de aquellas cepas y subtipos de influenza divulgados en la presente invención (por ejemplo, A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1), A/Indonesia/5/2006 (H5N1), A/pollo/Nueva York/1995, A/gaviota argétea/DE/677/88 (H2N8), A/Texas/32/2003, A/ánade real/MN/33/00, A/pato/Shanghái/1/2000, A/ánade de cola larga/TX/828189/02, A/Pavo/Ontario/6118/68 (H8N4), A/pato cuchareta/Irán/G54/03, A/pollo/Alemania/N/1949 (H10N7), A/pato/Inglaterra/56 (H11N6), A/pato/Alberta/60/76 (H12N5), A/Gaviota/Maryland/704/77 (H13N6), A/Ánade real/Gurjev/263/82, A/pato/Australia/341/83 (H15N8), A/gaviota de cabeza negra/Suecia/5/99 (H16N3), B/Lee/40, C/Johannesburgo/66, A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Islands Salomón 3/2006 (H1N1), A/Brisbane 10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006, A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Equino/Praga/56 (H7N7), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2)), así como las secuencias degeneradas que codifican las hemaglutininas anteriores.

Además, una secuencia de aminoácidos codificada por un ácido nucleico puede determinarse fácilmente, ya que se conocen el codón o los codones para cada aminoácido. La provisión de un ácido nucleico, por lo tanto, enseña una secuencia de aminoácidos codificada por él. La invención, por lo tanto, proporciona secuencias de aminoácidos de la hemaglutinina de aquellas cepas y subtipos de influenza divulgados en la presente invención (por ejemplo, A/Nueva

- Caledonia/20/99 (H1N1), A/Indonesia/5/2006 (H5N1), A/pollo/Nueva York/1995, A/gaviota argéntea/DE/677/88 (H2N8), A/Texas/32/2003, A/ánade real/MN/33/00, A/pato/Shanghái/1/2000, A/ánade de cola larga/TX/828189/02, A/Pavo/Ontario/6118/68 (H8N4), A/pato cuchareta/Irán/G54/03, A/pollo/Alemania/N/1949 (H10N7), A/pato/Inglaterra/56 (H11N6), A/pato/Alberta/60/76 (H12N5), A/Gaviota/Maryland/704/77 (H13N6), A/Ánade/Gurjev/263/82, A/pato/Australia/341/83 (H15N8), A/gaviota de cabeza negra/Suecia/5/99 (H16N3), B/Lee/40, C/Johannesburgo/66, A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Isas Salomón 3/2006 (H1N1), A/Brisbane 10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006, A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Equino/Praga/56 (H7N7), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2)).
- 5 En plantas, las VLP de influenza brotan desde la membrana plasmática (véase el Ejemplo 5 y la Figura 19) por lo tanto la composición de lípidos de las VLP refleja su origen. Las VLP producidas de acuerdo con la presente invención comprenden HA de uno o más de un tipo o subtipo de influenza, acomplejadas con lípidos derivados de plantas. Los lípidos de plantas pueden estimular células inmunes específicas y mejorar la respuesta inmune inducida. Las membranas de plantas están constituidas por lípidos, fosfatidilcolina (PC) y fosfatidil etanolamina (PE)
- 15 y también contienen glicoesfingolípidos, saponinas y fitoesteros. Adicionalmente, las balsas lipídicas se encuentran también en membranas plasmáticas de plantas - estos microdominios se enriquecen en esfingolípidos y esteroides. En las plantas, se sabe que se presentan una variedad de fitoesteroides, incluyendo estigmasterol, sitosterol, 24-metilcolesterol y colesterol (Mongrand et al., 2004).
- 20 La PC y la PE, así como los glicoesfingolípidos pueden enlazarse a moléculas CD1 expresadas por células inmunes de mamíferos tales como células que presentan antígenos (APC) como células dendríticas y macrófagos y otras células incluyendo linfocitos B y T en el timo y el hígado (Tsuji M., 2006). Las moléculas CD1 son estructuralmente similares a las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) de la clase I y su papel es presentar antígenos de glicolípidos a células NKT (células T asesinas naturales). Después de la activación, células inmunes innatas activan células NKT tales como células NK y células dendríticas y también activan células inmunes adaptativas
- 25 como las células B y las células T que producen anticuerpos.
- Una variedad de fitoesteroides pueden encontrarse en una membrana plasmática - el complemento específico puede variar dependiendo de la especie, las condiciones de crecimiento, recursos de nutrientes o estado del patógeno, para mencionar unos pocos factores. Generalmente, el beta-sitosterol es el fitoesterol más abundante.
- 30 Los fitoesteroides presentes en una VLP de influenza acomplejados con una bicapa de lípido, tal como una envoltura derivada de la membrana plasmática pueden proporcionar una composición ventajosa de vacuna. Sin ánimo de ceñirnos a ninguna teoría particular, las VLP elaboradas en la planta acomplejadas con una bicapa de lípidos, tal como una envoltura derivada de la membrana plasmática, pueden inducir una reacción inmune más fuerte que las VLP elaboradas en otros sistemas de expresión, y pueden ser similares a la reacción inmune inducida por el hígado o vacunas de virus completos atenuados.
- 35 Por lo tanto, en algunas formas de realización, la invención proporciona una VLP producida de acuerdo con la invención acomplejada con una bicapa de lípidos derivada de plantas. En algunas formas de realización, la bicapa de lípidos derivada de plantas puede comprender la envoltura de la VLP.
- La VLP producida dentro de una planta puede inducir una HA que comprende N-glicanos específicos de plantas. Por lo tanto, esta invención también proporciona una VLP que comprende HA que tiene N-glicanos específicos de plantas.
- 40 Además, se conoce la modificación del N-glicano en plantas (véase por ejemplo, el documento U.S. 60/944.344) y puede producirse la HA que tiene N-glicanos modificados. Puede obtenerse la HA que comprende un patrón de glicosilación modificado, por ejemplo con N-glicanos fucosilados, xilosilados o ambos, fucosilados y xilosilados reducidos, o puede obtenerse la HA que tiene un patrón de glicosilación modificado, en donde la proteína carece de fucosilación, xilosilación, o ambos, y comprende una mayor galactosilación. Además, la modulación de las modificaciones posteriores a la traducción, por ejemplo, la adición de galactosa terminal puede resultar en una reducción de fucosilación y xilosilación de la HA expresada cuando se compara a una planta de tipo silvestre que expresa HA.
- 45 Por ejemplo, y que no debe considerarse como limitante, la síntesis de la HA que tiene un patrón de glicosilación modificado puede lograrse por medio de la coexpresión de la proteína de interés junto con una secuencia de nucleótidos que codifica beta-1.4galactosiltransferasa (GalT), por ejemplo, aunque sin limitarse a GalT de mamífero, o GalT humana, sin embargo también puede utilizarse GalT de otras fuentes. El dominio catalítico de GalT puede también fusionarse a un dominio de CTS (es decir, la cola citoplasmática, el dominio transmembrana, la región tallo) de la N-acetilglucosaminil transferasa (GNT1, para producir una enzima híbrida GNT1-GalT, y la enzima híbrida puede coexpresarse con HA. La HA puede también coexpresarse junto con una secuencia de nucleótidos que
- 50
- 55

codifica N-acetilglucosaminiltransferasa III (GnT-III), por ejemplo, aunque sin limitarse a GnT-III de mamífero o GnT-III humana, puede utilizarse también GnT-III de otras fuentes. Adicionalmente, también puede utilizarse una enzima híbrida GNT1-GnT-III, que comprende el CTS de GNT1 fusionado a GnT-III.

5 Por lo tanto, la presente invención también incluye VLP, que comprenden HA que tiene N-glicanos modificados, que son producidos por los métodos de la invención.

10 Sin ánimo de ceñirnos a ninguna teoría en particular, la presencia de N-glicanos de plantas sobre HA puede estimular la respuesta inmune promoviendo el enlazamiento de HA por células que presentan antígenos. Se ha propuesto la estimulación de la respuesta inmune utilizando N-glicano de plantas por parte de Saint-jore-Dupas et al. (2007). Además, la conformación de la VLP puede ser ventajosa para la presentación del antígeno, y mejora el efecto adyuvante de la VLP cuando se acompleja con una capa de lípidos derivada de la planta.

15 Por "región reguladora", "elemento regulador" o "promotor" se entiende una porción de ácido nucleico típicamente, aunque no siempre, secuencia arriba de la región que codifica las proteínas de un gen, la cual puede estar compuesta de ADN o ARN o tanto ADN como ARN. Cuando una región reguladora está activa, y en asociación operativa, o enlazada operativamente, con un gen de interés, esto puede resultar en la expresión de un gen de interés. Un elemento regulador puede ser capaz de mediar la especificidad orgánica, o controlar el desarrollo o la activación genética temporal. Una "región reguladora" incluye elementos promotores, elementos promotores centrales que exhiben una actividad promotora basal, elementos que son inducibles en respuesta a un estímulo externo, elementos que median la actividad promotora tal como elementos reguladores negativos o mejoradores de la transcripción. La "región reguladora", como se utiliza en la presente invención, también incluye elementos que son 20 activos después de la transcripción, por ejemplo, elementos reguladores que modulan la expresión genética tales como mejoradores de la traducción y de la transcripción, represores de la traducción y de la transcripción, secuencias de activación secuencia arriba, y determinantes de la inestabilidad del ARNm. Varios de estos últimos elementos pueden ubicarse próximos a la región de codificación.

25 En el contexto de esta divulgación, el término "elemento regulador" o "región reguladora" típicamente se refiere a una secuencia de ADN, usualmente, aunque no siempre, secuencia arriba (5') a la secuencia de codificación de un gen estructural, el cual controla la expresión de la región de codificación proporcionando el reconocimiento para la ARN polimerasa y/u otros factores requeridos para que la transcripción inicie en un sitio particular. Sin embargo, debe entenderse que otras secuencias de nucleótidos, ubicadas dentro de los intrones, o 3' de la secuencia pueden también contribuir a la regulación de expresión de una región de codificación de interés. Un ejemplo de un elemento regulador que proporciona el reconocimiento para la ARN polimerasa u otros factores de transcripción para asegurar el inicio en un sitio particular es un elemento promotor. La mayoría, aunque no todos los elementos promotores eucariotas contienen una caja TATA, una secuencia de ácido nucleico conservada que consta de pares de bases de nucleótidos de adenosina y timidina usualmente situados aproximadamente 25 pares de bases secuencia arriba de un sitio de inicio de la transcripción. Un elemento promotor comprende un elemento promotor basal, responsable por 35 el inicio de la transcripción, así como otros elementos reguladores (como se enlistó anteriormente) que modifican la expresión génica.

40 Existen varios tipos de regiones reguladoras, incluyendo aquellas que se regulan por desarrollo, inducibles o constitutivas. Una región reguladora que se regula por desarrollo, o controla la expresión diferencial de un gen bajo su control, se activa dentro de ciertos órganos o tejidos de un órgano en momentos específicos durante el desarrollo de ese órgano o tejido. Sin embargo, algunas regiones reguladoras que se regulan por desarrollo pueden activarse preferencialmente dentro de ciertos órganos o tejidos en etapas específicas del desarrollo, también pueden ser activas en una forma regulada por desarrollo, o a un nivel basal, en otros órganos o tejidos dentro de la planta también. Ejemplos de regiones reguladoras específicas de tejidos, por ejemplo, véase - específica de una región reguladora, incluye al promotor de napina, y al promotor de cruciferina (Rask et al., 1998, J. Plant Physiol. 152: 595 - 599; Bilodeau et al., 1994, Plant Cell 14: 125 - 130). Un ejemplo de un promotor específico de la hoja incluye el promotor de plastocianina (Figura 1b o la SEQ ID NO: 23); patente de los Estados Unidos No. 7.125.978).

50 Una región reguladora inducible es aquella que es capaz de activar directa o indirectamente la transcripción de una o más secuencias o genes de ADN en respuesta a un inductor. En ausencia de un inductor, las secuencias o genes de ADN no serán transcritos. Típicamente el factor de proteína que se enlaza específicamente a una región reguladora inducible para activar la transcripción puede presentarse en una forma activa, que es luego directa o indirectamente convertida a la forma activa por el inductor. Sin embargo, el factor de proteína también puede estar ausente. El inductor puede ser un agente químico tal como una proteína, metabolito, regulador de crecimiento, herbicida o compuesto fenólico o un estrés fisiológico impuesto directamente por calor, frío, sal o elementos tóxicos o indirectamente mediante la acción de un patógeno o agente infeccioso tal como un virus. Una célula vegetal que 55 contiene una región reguladora inducible puede ser expuesta a un inductor aplicando externamente el inductor a la célula o planta por ejemplo por aspersión, riego, calentamiento o métodos similares. Los elementos reguladores inducibles pueden derivarse ya sea de genes de la planta o que no son de la planta (por ejemplo, Gatz, C. y Lenk, I. R. P., 1998, Trends Plant Sci. 3, 352 - 358). Ejemplos de promotores inducibles potenciales incluyen, aunque no se



limitan al promotor inducible de tetraciclina (Gatz, C., 1997, Ann. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol. 48, 89 - 108), el promotor inducible por esteroides (Aoyama, T. y Chua, N. H., 1997, Plant J. 2, 397 - 404) y el promotor inducible por etanol (Salter, M. G., et al., 1998, Plant Journal 16, 127 - 132; Caddick, M. X. et al., 1998, Nature Biotech, 16, 177 - 180) genes IB6 y CK11 inducibles por citoquinina (Brandstatter, I. y Kieber, J. J., 1998, Plant Cell 10, 1009 - 1019; Kakimoto, T., 1996, Science 274, 982 - 985) y el elemento inducible por auxina, DR5 (Ulmasov, T., et al., 1997, Plant Cell 9, 1963 - 1971).

Una región reguladora constitutiva dirige la expresión de un gen a través de las diferentes partes de una planta y continuamente durante todo el desarrollo de la planta. Ejemplos de elementos reguladores constitutivos conocidos incluyen promotores asociados con el transcripto 35S de CaMV (Odell et al., 1985, Nature, 313: 810 - 812), la actina 1 del arroz (Zhang et al., 1991, Plant Cell, 3: 1155 - 1165), actina 2 (An et al., 1996, Plant J., 10: 107 - 121) o tms 2 (patente de los Estados Unidos No. 5.428.147) y los genes para la triosafosfato isomerasa 1 (Xu et al., 1994, Plant Physiol. 106: 459 - 467), el gen de la ubiquitina 1 de maíz (Cornejo et al., 1993, Plant Mol. Biol. 29: 637 - 646), los genes 1 y 6 de ubiquitina de *Arabidopsis* (Holtorf et al., 1995, Plant Mol. Biol. 29: 637 - 646), y el gen del factor 4A de inicio de la traducción de tabaco (Mandel et al., 1995 Plant Mol. Biol. 29: 995 - 1004). El término "constitutivo" como se utiliza en la presente invención, no necesariamente indica que un gen bajo control de la región reguladora constitutiva se expresa al mismo nivel en todos los tipos de células, sino que el gen se expresa en un amplio rango de tipos celulares aun cuando a menudo se observa una variación en abundancia.

Por "operativamente enlazado" se entiende que las secuencias particulares, por ejemplo, un elemento regulador y una región de codificación de interés, interactúan ya sea directa o indirectamente para llevar a cabo una función pretendida, tal como la medición o modulación de la expresión génica. La interacción de las secuencias operativamente enlazadas puede, por ejemplo, ser mediada por proteínas que interactúan con las secuencias operativamente enlazadas.

Una o más de las secuencias de nucleótidos usadas en los métodos de la presente invención puede expresarse en cualquier huésped vegetal adecuado que se transforma por la secuencia de nucleótidos, o construcciones, o vectores de la presente invención. Los ejemplos de huéspedes adecuados incluyen, aunque no se limitan a, cultivos agrícolas incluyendo alfalfa, canola, *Brassica* spp., maíz, *Nicotiana* spp., alfalfa, patata, ginseng, guisante, avena, arroz, soja, trigo, cebada, girasol, algodón y similares.

Una o más de las construcciones genética quiméricas de la presente invención pueden comprender además una región 3' no traducida. Una región 3' no traducida se refiere a aquella porción de un gen que comprende un segmento de ADN que contiene una señal de poliadenilación y cualquier otra señal reguladora capaz de efectuar el procesamiento del ARNm o expresión genética. La señal de poliadenilación se caracteriza usualmente efectuando la adición de rastros de ácido poliadenílico al extremo 3' del precursor de ARNm. Las señales de poliadenilación se reconocen comúnmente por la presencia de homología con la forma canónica 5' AATAAA-3' aunque no son infrecuentes las variaciones. Una o más de las construcciones genéticas quiméricas de la presente invención pueden también incluir potenciadores adicionales, ya sea potenciadores de traducción o de transcripción, según se requiera. Estas regiones potenciadoras son bien conocidas por personas capacitadas en la técnica, y pueden incluir el codón de inicio ATG y las secuencias adyacentes. El codón de inicio debe estar en fase con el marco de lectura de la secuencia de codificación para asegurar la traducción de la secuencia completa.

Ejemplos no limitantes de regiones 3' adecuadas son las regiones 3' no traducidas, transcritas que contienen una señal de poliadenilación de genes del plásmido que inducen tumor (Ti) de *Agrobacterium*, tal como los genes de plantas y de nopalina sintasa (gen Nos) tal como los genes de proteína de almacenamiento de soja, la subunidad pequeña del gen de ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa (ssRUBISCO; patente de los Estados Unidos No. 4.962.028), el promotor utilizado en la regulación de la expresión de la plastocianina (Pwee y Gray, 1993). Un ejemplo de un promotor de plastocianina se describe en la patente de los Estados Unidos No. 7.125.978.

Como se describe en la presente invención, se ha encontrado que los promotores que comprenden secuencias potenciadoras con eficacia demostrada en la expresión de la hoja, son efectivos en expresión transitoria. Sin ánimo de ceñirnos a ninguna teoría en particular, la unión de elementos reguladores secuencia arriba de un gen fotosintético por medio de la unión a la matriz nuclear puede mediar una fuerte expresión. Por ejemplo hasta -784 desde el sitio de inicio de la traducción del gen de plastocianina de guisante puede utilizarse para mediar la fuerte expresión génica del reportero.

Para ayudar en la identificación de las células de plantas transformadas, las construcciones de esta invención pueden manipularse además para incluir marcadores seleccionables de plantas. Marcadores seleccionables útiles incluyen enzimas que proporcionan resistencia a compuestos químicos tal como un antibiótico por ejemplo, gentamicina, higromicina, kanamicina o herbicidas tal como fosfinotricina, glifosato, clorosulfurón y similares. En forma similar, se pueden utilizar las enzimas que permiten la producción de un compuesto identificable por medio de cambio de color tal como GUS (beta-glucuronidasa), o luminiscencia, tal como luciferasa o GFP.

También se utilizan de acuerdo con los métodos de esta invención plantas transgénicas, células de plantas o semillas que contienen la construcción genética quimérica de la presente invención. Los métodos para regenerar plantas completas a partir de células de la planta se conocen también en la técnica. En general, se cultivan células de plantas transformadas en un medio apropiado, el cual puede contener agentes selectivos tal como antibióticos, en donde se utilizan marcadores seleccionables para facilitar la identificación de células de plantas transformadas. Una vez se forman los callos, se puede estimular la formación de brotes empleando las hormonas apropiadas de plantas de acuerdo con métodos conocidos y se transfieren los brotes al medio de enraizamiento para regeneración de las plantas. Las plantas pueden utilizarse luego para establecer generaciones repetitivas, ya sea a partir de semillas o utilizando técnicas de propagación vegetativas. También pueden generarse plantas transgénicas sin utilizar cultivos de tejidos.

También se consideran parte de esta invención las plantas transgénicas y árboles que contienen la construcción génica quimérica que comprende un ácido nucleico que codifica HA0 recombinante para la producción de VLP, de acuerdo con la presente invención.

Los elementos reguladores usados en la presente invención pueden también combinarse con la región de codificación de interés para expresión dentro de un rango de organismos huéspedes que son sensibles a transformación, o expresión transitoria. Tales organismos incluyen, aunque no se limitan a plantas, tanto monocotiledóneas como dicotiledóneas, por ejemplo, aunque sin limitarse a maíz, plantas de cereales, trigo, cebada, avena, *Nicotiana* spp, *Brassica* spp, soja, judías, guisantes, alfalfa, patata, tomate, ginseng y *Arabidopsis*.

Los métodos para transformación estable, y regeneración de estos organismos están establecidos en la técnica y son conocidos por alguien capacitado en la técnica. El método para obtener plantas transformadas y regeneradas no es crítico para la presente invención.

Por "transformación" se entiende la transferencia interespecífica estable de información genética (secuencia de nucleótidos) que se manifiesta genotípicamente, fenotípicamente o ambas. La transferencia interespecífica de la información genética desde una construcción quimérica a un huésped puede ser heredable y la transferencia de la información genética se considera estable, o la transferencia puede ser transitoria y la transferencia de la información genética no es heredable.

Por el término "materia vegetal", se entiende cualquier material derivado de una planta. La materia vegetal puede incluir una planta completa, tejido, células o cualquier fracción de los mismos. Además, la materia vegetal puede comprender componentes intracelulares de la planta, componentes extracelulares de la planta, extractos líquidos o sólidos de las plantas, o una combinación de los mismos. Además, la materia vegetal puede comprender plantas, células vegetales, tejido, un extracto líquido o una combinación de los mismos, de hojas de las plantas, tallos, frutos, raíces o una combinación de los mismos. La materia vegetal puede comprender una planta o una porción de la misma la cual no ha sido sometida a cualquiera de las etapas de procesamiento. Sin embargo, se contempla también que el material vegetal puede ser sometido a etapas de procesamiento mínimas como se define a continuación, o procesamiento más riguroso, incluyendo purificación parcial o sustancial de proteínas utilizando técnicas comúnmente conocidas en el arte, aunque sin limitarse a cromatografía, electroforesis y similares.

Por el término "procesamiento mínimo" se entiende materia vegetal, por ejemplo, una planta o porción de la misma que comprende una proteína de interés, la cual se purifica parcialmente para producir un extracto vegetal, homogenato, fracción del homogenato vegetal o similares (es decir, mínimamente procesado). La purificación parcial puede comprender, aunque sin limitarse a rompimiento de las estructuras celulares de la planta por lo que se crea una composición que comprende componentes vegetales solubles y componentes vegetales insolubles los cuales pueden separarse por ejemplo mediante, aunque sin limitarse a, centrifugación, filtración o combinación de los mismos. En este sentido, las proteínas secretadas dentro del espacio extracelular de la hoja u otros tejidos podrían obtenerse fácilmente utilizando extracción al vacío o centrifugación, o se podrían extraer los tejidos bajo presión por medio del paso a través de rodillos o por molienda o similares para comprimir o liberar la proteína libre dentro del espacio extracelular. El procesamiento mínimo podría también implicar la preparación de extractos sin purificar de proteínas solubles, ya que estas preparaciones podrían tener una contaminación insignificante de productos vegetales secundarios. Además, el procesamiento mínimo puede implicar la extracción acuosa de la proteína soluble de las hojas, seguida por la precipitación con cualquier sal adecuada. Otros métodos pueden incluir maceración a gran escala y extracción de los jugos con el fin de permitir el uso directo del extracto.

La materia vegetal, en la forma de material o tejido vegetal puede suministrarse oralmente a un sujeto. La materia vegetal puede administrarse como parte de un suplemento dietético, junto con otros alimentos, o encapsularse. La materia o el tejido vegetal pueden también concentrarse para mejorar o incrementar el buen sabor, o proporcionarse junto con otros materiales, ingredientes, o excipientes farmacéuticos, según se requiera.

Los ejemplos de un sujeto u organismo objetivo a los cuales puede administrarse las VLP producidas de acuerdo con la presente invención pueden incluir, aunque no limitarse a, seres humanos, primates, aves, aves acuáticas,

aves migratorias, gaviotas, patos, gansos, aves de corral, pollos, cerdos, ovejas, equinos, caballos, camellos, caninos, perros, felinos, gatos, tigres, leopardos, civetas, visones, martas, hurones, mascotas, ganado, conejos, ratones, ratas, cobayos u otros roedores, focas, ballenas y similares. Tales organismos objetivo son ejemplos, y no deben considerarse como limitantes para las aplicaciones y usos de la presente invención.

- 5 Se contempla que una planta que comprende la proteína de interés, o que expresa la VLP que comprende la proteína de interés puede ser administrada a un sujeto u organismo objetivo, en una variedad de formas, dependiendo de la necesidad y de la situación. Por ejemplo, la proteína de interés obtenida de la planta puede ser extraída antes de su uso ya sea en forma purificada, parcialmente purificada o sin purificar. Si la proteína va a ser purificada, entonces puede producirse ya sea en plantas comestibles o no comestibles. Además, si la proteína se administra en forma oral, el tejido vegetal puede cosecharse y ser suministrado directamente al sujeto, o el tejido cosechado puede secarse antes de ser administrado, o se le puede permitir a un animal comer la planta sin tener que cosechar previamente. También se considera dentro del alcance de esta invención suministrar los tejidos vegetales cosechados como un suplemento alimenticio dentro del pienso para animales. Si se va a suministrar tejido vegetal a un animal con poco o ningún procedimiento adicional, se prefiere que el tejido vegetal que se va a administrar sea comestible.

- El silenciamiento genético de posterior a la transcripción (PTGS) puede estar involucrado en la limitación de la expresión de transgenes en plantas, y puede utilizarse la coexpresión de un supresor de silenciamiento del virus Y de patata (HcPro) para contrarrestar la degradación específica de los ARNm transgénicos (Brigneti et al., 1998). Los supresores alternativos de silenciamiento son bien conocidos en la técnica y pueden utilizarse como se describe en la presente invención (Chiba et al., 2006, Virology 346: 7 - 14), por ejemplo, aunque sin limitarse a, TEV -pI/Hc-Pro (virus del grabado del tabaco-pI/Hc-Pro), BYV -p21, p19 del virus de enanismo arbustivo del tomate (TBSV p19), proteína de la cápside del virus de rizada del tomate (TCV-CP), 2b del virus del mosaico del pepino; CMV-2b), p25 del virus X de la patata (PVX-p25), p11 del virus M de la patata (PVM-p11), p11 del virus S de la patata (PVS-p11), p16 del virus de quemadura del arándano, (BScV-p16), p23 del virus de la tristeza de los cítricos (CTV-p23), p24 del virus-2 asociado con el enrollamiento de hoja de la vid, (GLRaV-2 p24), p10 del virus A de la vid, (GVA-p10), p14 del virus B de la vid (GVB-p14), p10 del virus latente de *Heracleum* (HLV-p10) o p16 del virus latente común del ajo (GCLV-p16). Por lo tanto, un supresor de silenciamiento, por ejemplo, aunque sin limitarse a, HcPro, TEV -pI/Hc-Pro, BYV-p21, TBSV p19, TCV-CP, CMV-2b, PVX-p25, PVM-p11, PVS-p11, BScV-p16, CTV-p23, GLRaV-2p24, GBV-p14, HLV-p10, GCLV-p16 o GVA-p10, puede coexpresarse junto con la secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de interés para asegurar además altos niveles de producción de proteína dentro de una planta.

- Además, pueden producirse las VLP de manera que comprendan una combinación de subtipos de HA. Por ejemplo, las VLP pueden comprender uno o más de una HA del subtipo H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, H16, o una combinación de los mismos. La selección de la combinación de las HAS puede determinarse por el uso pretendido de la vacuna preparada a partir de la VLP. Por ejemplo, una vacuna para uso en la inoculación de aves puede comprender cualquier combinación de subtipos de HA, mientras que las VLP útiles para inocular seres humanos pueden comprender subtipos de uno o más de uno de los subtipos H1, H2, H3, H5. Sin embargo, otras combinaciones del subtipo de HA puede prepararse dependiendo del uso de la VLP. Con el fin de producir las VLP que comprenden combinaciones de los subtipos de HA, el subtipo deseado de HA puede coexpresarse dentro de la misma célula vegetal.

- Además, las VLP producidas como se describe en la presente invención no comprenden neuraminidasa (NA). Sin embargo, la NA puede coexpresarse con la HA en el caso en donde se deseen VLP que comprendan HA y NA.

- Por lo tanto, la presente invención incluye además un vector adecuado que comprende la construcción química adecuada para uso ya sea con sistemas de expresión estables o transitorios. La información genética puede también ser proporcionada dentro de una o más de una construcción. Por ejemplo, se puede introducir una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de interés en una construcción, y se puede introducir una segunda secuencia de nucleótidos que codifica una proteína que modifica la glicosilación de la proteína de interés utilizando una construcción separada. Estas secuencias de nucleótidos pueden luego coexpresarse dentro de una planta. Sin embargo, puede utilizarse también una construcción que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica tanto la proteína de interés como la proteína que modifica el perfil de glicosilación de la proteína de interés. En este caso la secuencia de nucleótidos comprendería una primera secuencia que contiene una primera secuencia de ácidos nucleicos que codifica la proteína de interés enlazada operativamente a una región promotora o reguladora, y una segunda secuencia que comprende una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína que modifica el perfil de glicosilación de la proteína de interés, la segunda secuencia enlazada operativamente a una región promotora o reguladora.

- Por "coexpresado" se entiende que dos o más de dos secuencias de nucleótidos se expresan aproximadamente al mismo tiempo dentro de la planta, y dentro del mismo tejido de la planta. Sin embargo, las secuencias de nucleótidos no necesitan expresarse exactamente al mismo tiempo. Más bien, las dos o más secuencias de nucleótidos se expresan en una forma tal que los productos codificados tengan una oportunidad de interactuar. Por

ejemplo, la proteína que modifica la glicosilación de la proteína de interés puede expresarse ya sea antes o durante el periodo cuando la proteína de interés se expresa de tal manera que la modificación de la glicosilación de la proteína de interés tiene lugar. Las dos o más de dos secuencias de nucleótidos pueden coexpresarse utilizando un sistema de expresión transitorio, en donde las dos o más secuencias se introducen dentro de la planta aproximadamente al mismo tiempo bajo condiciones tales que se expresen ambas secuencias. Alternativamente, una planta de plataforma que comprende una de las secuencias de nucleótidos, por ejemplo, la secuencia que codifica la proteína que modifica el perfil de glicosilación de la proteína de interés, puede transformarse, ya sea transitoriamente o en una forma estable, con una secuencia adicional que codifica la proteína de interés. En este caso, la secuencia que codifica la proteína que modifica el perfil de glicosilación de la proteína de interés puede expresarse dentro de un tejido deseado, durante una etapa deseada de desarrollo, o su expresión puede inducirse utilizando un promotor inducible, y la secuencia adicional que codifica la proteína de interés puede expresarse bajo condiciones similares y en el mismo tejido, para asegurar que se coexpresan las secuencias de nucleótidos.

Las construcciones pueden introducirse en las células de la planta utilizando plásmidos Ti, plásmidos Ri, vectores virales de la planta, transformación directa de ADN, microinyección, electroporación, etc. Para la revisión de tales técnicas véase por ejemplo, Weissbach y Weissbach, *Methods for Plant Molecular Biology*, Academy Press, New York VIII, páginas 421 - 463 (1988); Geier y Corey, *Plant Molecular Biology*, 2ª edición, (1988); y Miki y Iyer, *Fundamentals of Gene Transfer in Plants*. En *Plant Metabolism*, 2ª edición, DT. Dennis, DH Turpin, DD Lefebvre, DB Layzell (eds), Addison Wesley, Langmans Ltd, Londres, páginas 561 - 579 (1997). Otros métodos incluyen la incorporación directa de ADN, el uso de liposomas, electroporación, por ejemplo, utilizando protoplastos, microinyección, microproyectiles o bigotes e infiltración al vacío. Véase por ejemplo, Bilang, et al. (*Gene* 100: 247 - 250 (1991), Scheid et al. (*Mol. Gen. Genet.* 228: 104 - 112, 1991), Guerche et al. (*Plant Science* 52: 111 - 116, 1987), Neuhauser et al. (*Theor. Appl. Genet.* 75: 30 - 36, 1987), Klein et al., *Nature* 327: 70 - 73 (1987); Howell et al. (*Science* 208: 1265, 1980), Horsch et al. (*Science* 227: 1229 - 1231, 1985), DeBlock et al., *Plant Physiology* 91: 694 - 701, 1989), *Methods for Plant Molecular Biology* (Weissbach y Weissbach, eds. Academic Press Inc., 1988), *Methods in Plant Molecular Biology* (Schuler y Zielinski eds., Academic Press Inc., 1989), Liu y Lomonosoff (*J. Virol. Meth.* 105: 343 - 340, 2002), las patentes norteamericanas Nos. 4.945.050; 5.036.006; y 5.100.792, las solicitudes de patentes norteamericanas con No de Serie 08/438.666, presentada el 10 de mayo de 1995, y 07/951.715, presentada el 25 de septiembre de 1992.

Pueden utilizarse métodos de expresión transitoria para expresar las construcciones utilizadas en los métodos de la presente invención (véase Liu y Lomonosoff, 2002, *Journal of Virological Methods*, 105: 343 - 348). Alternativamente, puede utilizarse un método de expresión transitoria con base en vacío, como lo describen Kapila et al. 1997. Estos métodos pueden incluir, por ejemplo, aunque sin limitarse a, un método de Agroinoculación o Agroinfiltración, sin embargo, también se pueden utilizar otros métodos transitorios como se observó anteriormente. Ya sea con la Agroinoculación o con la Agroinfiltración, una mezcla de *Agrobacterias* que incluye el ácido nucleico deseado ingresa a los espacios intercelulares de un tejido, por ejemplo, las hojas, la porción aérea de la planta (incluyendo tallo, hojas y flores), otra porción de la planta (tallo, raíz, flor) o la planta completa. Después de cruzar la epidermis el *Agrobacterium* infecta y transfiere copias de ADN-t dentro de las células. El ADN-t se transcribe en forma episomal y se traduce el ARNm, conduciendo a la producción de la proteína de interés en células infectadas, sin embargo, el paso del ADN-t dentro del núcleo es transitorio.

Si la secuencia de nucleótidos de interés codifica un producto que sea directa o indirectamente tóxico para la planta, entonces al utilizar el método de la presente invención, se puede reducir dicha toxicidad en toda la planta expresando selectivamente la secuencia de nucleótidos de interés dentro de un tejido deseado o una etapa deseada del desarrollo de la planta. Además, el periodo limitado de expresión que resulta de la expresión transitoria puede reducir el efecto cuando se produce un producto tóxico en la planta. Se puede utilizar un promotor inducible, un promotor específico del tejido, o un promotor específico de la célula, para dirigir selectivamente la expresión de la secuencia de interés.

Las VLP de HA recombinante de la presente invención pueden utilizarse junto con vacunas existentes para influenza, para suplementar las vacunas, hacerlas más eficaces, y para reducir la administración de las dosis necesarias. Como lo sabría una persona capacitada en la técnica, la vacuna puede dirigirse contra uno o más de un virus de la influenza. Los ejemplos de vacunas adecuadas incluyen, aunque no se limitan a aquellas comercialmente disponibles de Sanofi-Pasteur, ID Biomedical, Meril, Sinovac, Chiron, Roche, MedImmune, GlaxoSmithKline, Novartis, Sanofi-Aventis, Serono, Shire Pharmaceuticals y similares.

Si se desea, las VLP producidas de acuerdo con la presente invención pueden mezclarse con un adyuvante adecuado como lo sabría una persona capacitada en la técnica. Además, se puede utilizar la VLP en una composición de vacuna que comprende una dosis efectiva de la VLP para el tratamiento de un organismo objetivo, como se definió anteriormente. Además, la VLP producida de acuerdo con la presente invención puede combinarse con las VLP obtenidas utilizando diferentes proteínas de influenza, por ejemplo, neuraminidasa (NA).

Por lo tanto, la presente invención proporciona las VLP y comparaciones de la invención para inducir inmunidad a la

infección por virus de la influenza en un animal u organismo objetivo que comprende administrar una dosis efectiva de una vacuna que comprende una o más de una VLP. La vacuna puede administrarse en forma oral, intradérmica, intranasal, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa o subcutánea.

- 5 La administración de las VLP producidas de acuerdo con la presente invención se describe en el Ejemplo 6. La administración de una VLP de H5 elaborada en la planta resulta en una respuesta significativamente más elevada cuando se compara con la administración de HA soluble (véanse las Figuras 21A y 21B).

- 10 Como se muestra en las Figuras 26A y 26B, las VLP de H5 A/Indonesia/5/05 administradas a un sujeto le proporcionaron protección cruzada a un reto con influenza A/Turquía/582/06 (H5N1; "H5N1 de Turquía"). La administración de las VLP H5 de Indonesia antes del reto no resultó en ninguna pérdida de la masa corporal. Sin embargo, los sujetos a los cuales no se les administró las VLP de H5, pero se los retó con H5N1 de Turquía, exhibieron una pérdida significativa de masa corporal, y varios sujetos murieron.

Estos datos, por lo tanto, demuestran que las VLP de influenza elaboradas en la planta que comprenden la proteína viral de hemaglutinina H5 inducen una respuesta inmune específica para cepas de influenza patógenas, y que las partículas similares a virus pueden brotar desde una membrana plasmática de la planta.

- 15 Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición que comprende una dosis efectiva de una VLP producida de acuerdo con la invención que comprende una proteína HA del virus de la influenza, uno o más de un lípido de la planta, y un portador farmacéuticamente aceptable. La proteína HA del virus de la influenza puede ser H5 Indonesia/5/2006. También se proporciona una VLP o composición para uso en la inducción de inmunidad a una infección por virus de la influenza en un sujeto. El uso comprende administrar la partícula similar al virus que  
20 comprende una proteína HA del virus de la influenza, uno o más de un lípido de la planta, y un portador farmacéuticamente aceptable. La partícula similar al virus puede administrarse a un sujeto en forma oral, intradérmica, intranasal, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa o subcutánea.

- 25 Las composiciones de acuerdo con varias formas de realización de la invención pueden comprender las VLP de dos o más cepas o subtipos de influenza. "Dos o más" se refiere a dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, 10 o más cepas o subtipos. Las cepas o subtipos representados pueden ser un solo subtipo (por ejemplo, todos H1N1, o todos H5N1), o pueden ser una combinación de subtipos. Los ejemplos de subtipos y de cepas incluyen, aunque no se limitan a aquellos divulgados en la presente invención (por ejemplo, A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1), A/Indonesia/5/2006 (H5N1), A/pollo/Nueva York/1995, A/gaviota argétea/DE/677/88 (H2N8), A/Texas/32/2003, A/ánade real/MN/33/00, A/pato/Shanghái/1/2000, A/ánade de cola larga/TX/828189/02, A/Pavo/Ontario/  
30 6118/68(HBN4), A/pato cuchareta/Irán/G54/03, A/pollo/Alemania/N/1949 (H10N7), A/pato/Inglaterra/56 (H11N6), A/pato/Alberta/60/76 (H12N5), A/Gaviota/Maryland/704/77 (H13N6), A/Ánade/Gurjev/263/82, A/pato/Australia/341/83 (H15N8), A/gaviota de cabeza negra/Suecia/5/99 (H16N3), B/Lee/40, C/Johannesburgo/66, A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Islas Salomón 3/2006 (H1N1), A/Brisbane 10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006, A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1),  
35 A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Equino/Praga/56 (H7N7), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2)).

- 40 La elección de la combinación de cepas y subtipos puede depender del área geográfica de los sujetos que pueden estar expuestos a influenza, la proximidad de especies animales a una población humana que va a ser inmunizada (por ejemplo, especies de aves acuáticas, animales de granja tales como cerdos, etc.) y las cepas que portan, están expuestos, o pueden estar expuestos, a predicciones de deriva antigénica dentro de subtipos o cepas, o combinaciones de estos factores. Ejemplos de combinaciones utilizadas en años anteriores están disponibles (véase URL: [who.int/csr/disease/influenza/vaccine\\_recommendations/en](http://who.int/csr/disease/influenza/vaccine_recommendations/en)). Algunas o todas estas cepas pueden emplearse en las combinaciones mostradas, o en otras combinaciones, en la producción de una composición de vacuna.

- 45 Más particularmente, los ejemplos de combinaciones pueden incluir las VLP de dos o más cepas o subtipos seleccionados del grupo que comprende: A/Brisbane/59/2007 (H1N1), un virus similar a A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Brisbane/10/2007 (H3N2), un virus similar a A/Brisbane/10/2007 (H3N2), B/Florida/4/2006, un virus similar a B/Florida/4/2006.

- 50 Otro ejemplo de combinación puede incluir las VLP de dos o más cepas o subtipos seleccionados del grupo que comprende A/Indonesia/5/2005, un virus similar a A/Indonesia/5/2005, A/Vietnam/1194/2004, un virus similar a A/Vietnam/1194/2004, A/Anhui/1/05, un virus similar a A/Anhui/1/05, A/ganso/Guiyang/337/2006, un virus similar a A/ganso/Guiyang/337/2006, A/pollo/Shanxi/2/2006, o un virus similar a A/pollo/Shanxi/2/2006.

Otro ejemplo de combinación puede incluir las VLP de cepas de influenza A/Pollo/Italia/13474/99 (tipo H7) o A/Pollo/Columbia Británica/04 (H7N3).

Otro ejemplo de combinación puede incluir las VLP de A/Pollo/Hong Kong/G9/97 o A/Hong Kong/1073/99. Otro ejemplo de combinación puede comprender las VLP de A/Islas Salomón/3/2006. Otro ejemplo de combinación puede comprender las VLP de A/Brisbane/10/2007. Otro ejemplo de combinación puede comprender las VLP de A/Wisconsin/67/2005. Otro ejemplo de combinación puede comprender las VLP de las cepas o subtipos B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006 o B/Brisbane/3/2007.

Las dos o más VLP pueden expresarse individualmente, y las VLP purificadas o semipurificadas combinarse posteriormente. Alternativamente, las VLP pueden coexpresarse en el mismo huésped, por ejemplo, una planta. Las VLP pueden combinarse o producirse en una relación deseada, por ejemplo, aproximadamente proporciones equivalentes, o pueden combinarse de tal manera que un subtipo o cepa comprenda la mayoría de las VLP en la composición.

Por lo tanto, la invención proporciona composiciones que comprenden las VLP de dos o más cepas o subtipos, producidas de acuerdo con los métodos de la invención.

Las VLP de los virus encapsulados generalmente adquieren su envoltura a partir de la membrana de la cual ellas brotan. Las membranas plasmáticas de la planta tienen un complemento de fitoesterol que puede tener efectos inmunoestimuladores. Para investigar esta posibilidad, se administraron las VLP de H5 elaboradas en la planta a animales en presencia o ausencia de un adyuvante, y la HAI (respuesta de anticuerpo de inhibición de hemaglutinación) determinada (Figuras 22A, 22B). En la ausencia de un adyuvante añadido, las VLP de H5 elaboradas en la planta demuestran una HAI significativa, indicativa de una respuesta inmune sistémica para administración del antígeno. Además, los perfiles de isotipo del anticuerpo de las VLP administradas en presencia o en ausencia del adyuvante, son similares (Figura 23A).

La Tabla 5 enlista las secuencias proporcionadas en varias formas de realización de la invención.

Tabla 5 : Descripción de las secuencia para los identificadores de secuencia.

SEQ ID No	Descripción de la secuencia	Se divulga en
1	Fragmento H1 del terminal N	Figura 5a
2	Fragmento H1 del terminal C	Figura 5b
3	Secuencia de codificación de H5	Figura 6
4	cebador Plato-443c	Figura 7a
5	cebador SpHA(Ind)-Plasto.r	Figura 7b
6	cebador Plasto-SpHA(Ind).c	Figura 7c
7	cebador HA(Ind)-Sac.r	Figura 7d
8	Secuencia del casete de expresión con base en plastocianina de alfalfa usada para la expresión e H1	Figura 1
9	Secuencia del péptido HA1 (A/New Caledonia/20/99)	Figura 8a
10	Secuencia del péptido HA5 (A/Indonesia/5/2006)	Figura 8b
11	Secuencia que codifica el subtipo H7 de influenza A (A/pollo/New York/1995)	Figura 9
12	Secuencia que codifica el subtipo H2 de influenza A (A/gaviota argétea/DE/677/88 (H2N8))	Figura 10a
13	Secuencia que codifica el subtipo H3 de influenza A (A/Texas/32/2003)	Figura 10b
14	Secuencia que codifica el subtipo H4 de influenza A (A/pato real/MN/33/00)	Figura 10c
15	Secuencia que codifica el subtipo H5 de influenza A (A/pato/Shanghái/1/2000)	Figura 10d
16	Secuencia que codifica el subtipo H6 de influenza A (A/ánade de cola larga/TX/828189/02)	Figura 10e
17	Secuencia que codifica el subtipo H8 de influenza A (A/Pavo/Ontario/6118/68(H8N4))	Figura 10f
18	Secuencia que codifica el subtipo H9 de influenza A (A/pato cuchareta/Irán/G54/03)	Figura 10g
19	Secuencia que codifica el subtipo H10 de influenza A (A/pollo/Alemania/N/1949(H10N 7))	Figura 10h
20	Secuencia que codifica el subtipo H11 de influenza A (A/pato/Inglaterra/56(H11N6))	Figura 10i
21	Secuencia que codifica el subtipo H12 de influenza A (A/pato/Alberta/60/76(H12N5))	Figura 10j
22	Secuencia que codifica el subtipo H13 de influenza A (A/Gaviota/Maryland/704/77(H13N6))	Figura 10k
23	Secuencia que codifica el subtipo H14 de influenza A (A/Pato real/Gurjev/263/82)	Figura 10l
24	Secuencia que codifica el subtipo H15 de influenza A (A/pato/Australia/341/83 (H15N8))	Figura 10m
25	Secuencia que codifica el subtipo H16 de influenza A (A/gaviota de cabeza negra/Suecia/5/99 (H16N3))	Figura 10n
26	Secuencia que codifica HA de influenza B (B/Lee/40)	Figura 10o
27	Secuencia que codifica HA de influenza C (C/Johannesburgo/66)	Figura 10p
28	Secuencia de HAO H1 completa	Figura 5c
29	Cebador Xmal-pPlas.c	Figura 10q

(continuación)

SEQ ID No	Descripción de la secuencia	Se divulga en
30	Cebador SacI-ATG-pPlas.r	Figura 10r
31	Cebador SacI-PlasTer.c	Figura 10s
32	Cebador EcoRI-PlasTer.r	Figura 10t
33	A/New Caledonia/20/99 (H1N1), GenBank Acceso No. AY289929	Figura 16
34	Proteína disulfuro isomerasa de M. Sativa, GenBank Acceso No. Z11499	Figura 17
35	A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), GenBank Acceso No. NC_002016.1	Figura 18
36	Clon 774: ADN de Dralll a Sac1 que comprende la región reguladora de plastocianina operativamente enlazada con la secuencia que codifica HA de A/Brisbane/59/2007 (H1N1)	Figura 28
37	Clon 775: ADN de Dralll a Sac1 que comprende la región reguladora de plastocianina operativamente enlazada con la secuencia que codifica HA de A/Islands Salomón 3/2006 (H1N1)	Figura 29
38	Clon 776: ADN de Dralll a Sac1 que comprende la región reguladora de plastocianina operativamente enlazada con la secuencia que codifica HA de A/Brisbane 10/2007 (H3N2)	Figura 30
39	Clon 777: ADN de Dralll a Sac1 que comprende la región reguladora de plastocianina operativamente enlazada con la secuencia que codifica HA de A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)	Figura 31
40	Clon 778: ADN de Dralll a Sac1 que comprende la región reguladora de plastocianina operativamente enlazada con la secuencia que codifica HA de B/Malasia/2506/2004	Figura 32
41	Clon 779: ADN de Dralll a Sac1 que comprende la región reguladora de plastocianina operativamente enlazada con la secuencia que codifica HA de B/Florida/4/2006	Figura 33
42	Clon 780: ADN de Dralll a Sac1 que comprende la región reguladora de plastocianina operativamente enlazada con la secuencia que codifica HA de A/Singapur/1/57 (H2N2)	Figura 34
43	Clon 781: ADN de Dralll a Sac1 que comprende la región reguladora de plastocianina operativamente enlazada con la secuencia que codifica HA de A/Anhui/1/2005 (H5N1)	Figura 35
44	Clon 782: ADN de Dralll a Sac1 que comprende la región reguladora de plastocianina operativamente enlazada con la secuencia que codifica HA de A/Vietnam/1194/2004 (H5N1)	Figura 36
45	Clon 783: ADN de Dralll a Sac1 que comprende la región reguladora de plastocianina operativamente enlazada con la secuencia que codifica HA de A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1)	Figura 37
46	Clon 784: ADN de Dralll a Sac1 que comprende la región reguladora de plastocianina operativamente enlazada con la secuencia que codifica HA de A/Equino/Praga/56 (H7N7)	Figura 38
47	Clon 785: ADN de Dralll a Sac1 que comprende la región reguladora de plastocianina operativamente enlazada con la secuencia que codifica HA de A/HongKong/1073/99 (H9N2)	Figura 39
48	Clon 774 secuencia de aminoácidos de HA de A/Brisbane/59/2007 (H1N1)	Figura 40A
49	Clon 775 secuencia de aminoácidos de HA de A/Islands Salomón 3/2006 (H1N1)	Figura 40B
50	Clon 776 secuencia de aminoácidos de HA de A/Brisbane 10/2007 (H3N2)	Figura 41A
51	Clon 777 secuencia de aminoácidos de HA de A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)	Figura 41B
52	Clon 778 secuencia de aminoácidos de HA de B/Malasia/2506/2004	Figura 42A
53	Clon 779 secuencia de aminoácidos de HA de B/Florida/4/2006	Figura 42B
54	Clon 780 secuencia de aminoácidos de HA de A/Singapur/1/57 (H2N2)	Figura 43A
55	Clon 781 secuencia de aminoácidos de HA de A/Anhui/1/2005 (H5N1)	Figura 43B
56	Clon 782 secuencia de aminoácidos de HA de A/Vietnam/1194/2004 (H5N1)	Figura 44A
57	Clon 783 secuencia de aminoácidos de HA de A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1)	Figura 44B
58	Clon 784 secuencia de aminoácidos de HA de A/Equino/Praga/56 (H7N7)	Figura 45A
59	Clon 785 secuencia de aminoácidos de HA de A/Hong Kong/1073/99 (H9N2)	Figura 45B
60	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia que codifica hemaglutinina de <b>H5 de A/Indonesia/5/2005 (Construcción # 660)</b> , secuencias terminadora y 3' UTR de plastocianina de alfalfa	Figura 51
61	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia que codifica hemaglutinina de <b>H1 de A/New Caledonia/20/1999 (Construcción # 540)</b> , secuencias terminadora y 3' UTR de plastocianina de alfalfa	Figura 52
62	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia que codifica hemaglutinina de <b>H1 de A/Brisbane/59/2007 (construcción # 774)</b> , secuencias terminadora y 3' UTR de plastocianina de alfalfa	Figura 53
63	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia que codifica hemaglutinina de <b>H1 de A/Islands Salomón 3/2006 (H1N1) (construcción # 775)</b> , secuencias terminadora y 3' UTR de plastocianina de alfalfa	Figura 54

(continuación)

SEQ ID No	Descripción de la secuencia	Se divulga en
64	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia que codifica hemaglutinina de <b>H2 de A/Singapur/1/57 (H2N2) (construcción # 780)</b> , secuencias terminadora y 3' UTR de plastocianina de alfalfa	Figura 55
65	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia que codifica hemaglutinina de <b>H5 de A/Anhui/1/2005 (H5N1) (Construcción # 781)</b> , secuencias terminadora y 3' UTR de plastocianina de alfalfa	Figura 56
66	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia que codifica hemaglutinina de <b>H5 de A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) (Construcción # 782)</b> , secuencias terminadora y 3' UTR de plastocianina de alfalfa	Figura 57
67	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia que codifica hemaglutinina de <b>H6 de A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1) (Construcción # 783)</b> , secuencias terminadora y 3' UTR de plastocianina de alfalfa	Figura 58
68	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia que codifica hemaglutinina de <b>H9 de A/Hong Kong/1073/99 (H9N2) (Construcción # 785)</b> , secuencias terminadora y 3' UTR de plastocianina de alfalfa	Figura 59
69	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia que codifica hemaglutinina de <b>H3 de A/Brisbane/10/2007 (H3N2)</b> , secuencias terminadora y 3' UTR de plastocianina de alfalfa	Figura 60
70	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia que codifica hemaglutinina de <b>H3 de A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)</b> , secuencias terminadora y 3' UTR de plastocianina de alfalfa	Figura 61
71	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia que codifica hemaglutinina de <b>H7 de A/Equino/Praga/56 (H7N7)</b> , secuencias terminadora y 3' UTR de plastocianina de alfalfa	Figura 62
72	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia que codifica hemaglutinina de <b>HA de B/Malasia/2506/2004</b> , secuencias terminadora y 3' UTR de plastocianina de alfalfa	Figura 63 profética
73	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia que codifica hemaglutinina de <b>HA de B/Florida/4/2006</b> , secuencias terminadora y 3' UTR de plastocianina de alfalfa	Figura 64
74	Consenso de las SEQ ID NOs: 49, 48, 33 y 9	Figura 65
75	Secuencia de aminoácidos de H1 de New Caledonia (AAP34324.1) codificada por la SEQ ID NO: 33	Figura 67
76	Secuencia de aminoácidos de H1 de Puerto Rico (NC_0409878.1) codificada por la SEQ ID NO: 35	Figuras 68

Ahora, se describirá la invención en forma detallada a modo de referencia únicamente con los siguientes ejemplos no limitantes.

## Métodos y Materiales

### 1. Ensamblaje de casetes de expresión

Todas las manipulaciones se hicieron utilizando los protocolos generales de biología molecular de Sambrook y Russell (2001). La primera etapa de clonación consistió en ensamblar un plásmido receptor que contiene elementos reguladores en dirección 5' y en dirección 3' del gen de plastocianina de alfalfa. Se amplificaron el promotor de plastocianina y de las secuencias 5' UTR a partir del ADN genómico de alfalfa utilizando los cebadores de oligonucleótidos **Xmal**-pPlas.c (SEQ ID NO: 29; Figura 10Q) y **SacI**-ATG-pPlas.r (SEQ ID NO: 30; Figura 10R). El producto resultante de la amplificación se digirió con XmaI y SacI y se ligó en pCAMBIA2300 (Cambio, Canberra, Australia), previamente digerido con las mismas enzimas, para crear pCAMBIApromo Plasto. De manera similar, las secuencias UTR 3' y del terminador del gen de plastocianina se amplificaron a partir de ADN genómico de alfalfa utilizando los siguientes cebadores: **SacI**-PlasTer.c (SEQ ID NO: 31; Figura 10S) y **EcoRI**-PlasTer.r (SEQ ID NO: 32; Figura 10T), y se digirió el producto con SacI y EcoRI antes de ser insertado en los mismos sitios de pCAMBIApromo-Plasto para crear pCAMBIAPlasto.

Se sintetizó el marco de lectura abierto del gen H1 de la cepa de influenza A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1) en dos fragmentos (Plant Biotechnology Institute, National Research Council, Saskatoon, Canadá). Un primer fragmento sintetizado corresponde a la secuencia de codificación de H1 de tipo silvestre (No. de acceso del GenBank AY289929; SEQ ID NO: 33; Figura 16) que carece del péptido señal en el extremo 5' y la secuencia de codificación del dominio transmembrana en el extremo 3'. Se añadió un sitio de restricción BglII en el extremo 5' de la secuencia



de codificación y se añadió un sitio doble SacI/StuI inmediatamente en dirección 3' del codón de finalización en el extremo terminal 3' del fragmento, para producir la SEQ ID NO: 1 (Figura 5A). También se sintetizó un segundo fragmento que codifica el extremo terminal C de la proteína H1 (que comprende un dominio transmembrana y una cola citoplasmática) desde el sitio KpnI hasta el codón de detención, y se flanqueado en 3' por los sitios de restricción SacI y StuI (SEQ ID NO: 2; Figura 5B).

El primer fragmento H1 se digirió con BglII y SacI y se clonó en los mismos sitios de un vector binario (pCAMBIAPlasto) que contiene el promotor de plastocianina y se fusionó 5' UTR con el péptido señal del gen de la proteína disulfuro isomerasa de alfalfa (PDI) (nucleótidos 32 - 103; Acceso No. Z11499; SEQ ID NO: 34; Figura 17) lo que resultó en un gen quimérico PDI-H1 en dirección 3' de los elementos reguladores de plastocianina. La secuencia del casete con base en plastocianina que contiene el péptido señal PDI se presentan en la Figura 1 (SEQ ID NO: 8). El plásmido resultante contenía una región de codificación H1 fusionada con el péptido señal PDI y flanqueado por elementos reguladores de plastocianina. La adición de la región de codificación del extremo terminal C (que codifica el dominio transmembrana y la cola citoplasmática) se obtuvo al insertar el fragmento sintetizado (SEQ ID NO: 2; Figura 5B) previamente digerido con KpnI y SacI, en el plásmido de expresión H1. El plásmido resultante, denominado 540, se presenta en la Figura 11 (véase también la Figura 2A).

## 2. Ensamblaje del casete de expresión H5

Se sintetizó un fragmento que codifica hemaglutinina a partir de la cepa de influenza A/Indonesia/5/05 (H5N1; No. de Acceso LANL ISDN125873) mediante Epoch Biolabs (Sugar Land, TX, EUA). El fragmento producido, que contenía la región de codificación H5 completa incluyendo el péptido señal nativo flanqueado por un sitio HindIII inmediatamente en dirección 5' del ATG inicial, y un sitio SacI inmediatamente en dirección 3' del codón de detención (TAA), se presenta en la SEQ ID NO: 3 (Figura 6). Se clonó la región de codificación H5 en un casete de expresión con base en plastocianina a través del método de ligación con base en PCR presentado en Darveau et al. (1995). En resumen, se obtuvo una primera amplificación por PCR utilizando los cebadores Plato-443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y SpHA(Ind)-Plasto.r (SEQ ID NO: 5; Figura 7B) y pCAMBIapromoPlasto como plantilla. De manera paralela, se llevó a cabo una segunda amplificación con los cebadores Plasto-SpHA(Ind).c (SEQ ID NO: 6; Figura 7C) y HA(Ind)-Sac.r (SEQ ID NO: 7; Figura 7D) con el fragmento de codificación H5 como plantilla. La amplificación obtenida de ambas reacciones se mezcló y esta mezcla sirvió como plantilla para una tercera reacción (reacción de ensamblaje) utilizando Plato-443c (SEQ ID No: 4; Figura 7A) y HA(Ind)-Sac.r (SEQ ID NO: 7; Figura 7D) como cebadores. Se digirió el fragmento resultante con BamHI (en el promotor de plastocianina) y SacI (en el extremo 3' del fragmento) y se clonó en pCAMBIAPlasto previamente digerido con las mismas enzimas. El plásmido resultante, denominado 660, se presenta en la figura 2B (véase también la Figura 11).

El casete que codifica la forma soluble de H1 se preparó reemplazando la región de codificación por el dominio transmembrana y la cola citoplasmática en 540 a través de un fragmento que codifica la variante GCN4 pII de cierre de leucina (Harbury et al., 1993, Science 1993; 262: 1401 - 1407). Este fragmento se sintetizó con los sitios de flanqueo KpnI y SacI para facilitar la clonación. El plásmido resultante de este reemplazo se denominó 544 y el casete de expresión se ilustra en la figura 11.

Se sintetizó una fusión entre 5' UTR del virus del grabado del tabaco (TEV) y el marco de lectura abierto del gen M1 de la influenza A/PR/8/34 (Acceso # NC\_002016) con un sitio SacI de flanqueo añadido en dirección 3' del codón de detención. El fragmento se digirió con Swal (en el 5' UTR del TEV) y SacI, y se clonó en un casete de expresión con base en 2X35S/TEV en un plásmido binario pCAMBIA. El plásmido resultante perforó la región de codificación M1 bajo el control de un promotor 2X35S/TEV y 5' UTR y el terminador NOS (construcción 750; figura 11).

Se preparó una construcción HcPro (35HcPro) como se describe en Hamilton et al. (2002). Todos los clones se secuenciaron para confirmar la integridad de las construcciones. Se utilizaron los plásmidos para transformar *Agrobacterium tumefaciens* (AGL1; ATCC, Manassas, VA 20108, EUA) mediante electroporación (Mattanovich et al., 1989). Se confirmó la integridad de todas las cepas de *A. tumefaciens* a través de mapeo de restricción.

## 3. Preparación de biomasa vegetal, inóculos, agroinfiltración, y cosecha

Se cultivaron plantas de *Nicotiana benthamiana* o *Nicotiana tabacum* a partir de semillas en pisos llenos de un sustrato de musgo con turba comercial. Se permitió que las plantas crecieran en el invernadero con un fotoperiodo de 16/8 y un régimen de temperatura de 25°C durante el día/20°C durante la noche. Tres semanas después de sembrar las semillas, se seleccionaron plántulas individuales, se trasplantaron en macetas y se permitió que crecieran en el invernadero durante tres semanas adicionales bajo las mismas condiciones ambientales. Antes de la transformación, se removieron brotes apicales y axilares en diferentes momentos como se indica a continuación, ya sea pinchando los brotes de la planta o a través de un tratamiento químico de la planta.

Se cultivaron las agrobacterias transfectadas con las construcciones 660, 540, 544, 750 o 35sHcPro en un medio YEB complementado con ácido 2-[N-morfolino]etanosulfónico (MES) 10 mM, acetosiringona 20 µM, 50 µg/ml de

kanamicina y 25 µg/ml de carbenicilina pH 5,6 hasta que alcanzaron un OD<sub>600</sub>, entre 0,6 y 1,6. Se centrifugaron las suspensiones de agrobacterias antes de usarlas y se resuspendieron en un medio de infiltración (MgC<sub>2</sub> 10 mM y MES 10 mM pH 5,6). Se realizó la infiltración mediante jeringa como lo describen Liu y Lomonossoff (2002, Journal of Virological Methods, 105: 343 - 348). Para la infiltración al vacío, se centrifugaron suspensiones de *A. tumefaciens*, se resuspendieron en el medio de infiltración y se almacenaron durante la noche a 4°C. El día de la infiltración, se diluyeron los lotes de cultivo en 2,5 volúmenes de cultivo y se permitió que se calentaran antes de utilizarse. Plantas completas de *N. benthamiana* o *N. tabacum* se colocaron boca abajo en la suspensión bacteriana en un tanque de acero inoxidable cerrado herméticamente con un vacío de 20 - 40 Torr durante 2 minutos. Después de la infiltración por jeringa o al vacío, las plantas regresaron al invernadero durante un periodo de incubación de 4 - 5 días hasta la cosecha.

#### 4. Muestreo de hojas y extracción de proteínas totales

Después de la incubación, se cosechó la parte aérea de las plantas, se congeló a -80°C, y se trituró. Se extrajeron las proteínas solubles totales mediante homogenización (Politrón) de cada muestra de material de la planta congelada y triturada en tres volúmenes de Tris 50 mM frío pH 7,4, NaCl 0,15 M, y fluoruro de fenil metanosulfonilo 1 mM. Después de la homogenización, se centrifugaron las suspensiones a 20.000 g durante 20 minutos a 4°C y estos extractos sin purificar depurados (sobrenadantes) se conservaron para análisis. El contenido de proteína total de los extractos sin purificar depurados se determinó mediante el ensayo de Bradford (Bio-Rad, Hercules, CA) utilizando albúmina de suero bovino como estándar de referencia.

#### 5. Cromatografía de exclusión por tamaño del extracto de proteína

Las columnas para cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) de 32 ml de perlas de alta resolución S-500 Sephacryl™ (S-500 HR: GE Healthcare, Uppsala, Suecia, Cat. No. 17-0613-10) se empacaron y equilibraron con un amortiguador de equilibrio/elución (Tris 50 mM pH8, NaCl 150 mM). Se cargaron uno y medio mililitros de extracto de proteína sin purificar en la columna seguido por una etapa de elución con 45 mL del amortiguador de equilibrio/elución. Se recolectó la elución en fracciones de 1,5 mL en relación con el contenido de proteína de las fracciones eluidas y se monitoreó mediante la mezcla de 10 µL de la fracción con 200 µL del reactivo de coloración de proteínas diluido Bio-Rad (Bio-Rad, Hercules, CA). Se lavó la columna con 2 volúmenes de columna de NaOH 0,2 N seguido por 10 volúmenes de columna de Tris 50 mM de pH 8, NaCl 150 mM, etanol al 20%. Cada separación estuvo seguida por la calibración de la columna con Azul Dextrano 2000 (GE Healthcare Bio-Science Corp., Piscataway, NJ, EUA). Los perfiles de elución de Azul Dextrano 2000 y las proteínas solubles huésped se compararon entre cada separación para asegurar la uniformidad de los perfiles de elución entre las columnas utilizadas.

#### 6. Análisis de Proteínas e Inmunotransferencia

Se determinaron las concentraciones de proteína mediante el ensayo de proteínas BCA (Pierce Biochemicals, Rockport, IL). Se separaron las proteínas mediante SDS-PAGE en condiciones reductoras y se tiñeron con Azul de Coomassie. Los geles teñidos se escanearon y se realizó el análisis de densitometría utilizando el software ImageJ (NIH).

Se precipitaron las proteínas de la fracción de elución de SEC con acetona (Bollag et al., 1996), se resuspendieron en un 1/5 del volumen en el amortiguador de equilibrio/elución y se separaron mediante SDS-PAGE en condiciones reductoras y se electrotransfirieron sobre membranas de difluoruro de polivinileno (PVDF) (Roche Diagnostics Corporation, Indianápolis, IN) para inmunodetección. Antes de la inmunotransferencia, se bloquearon las membranas con leche descremada al 5% y Tween-20 al 0,1% en solución salina amortiguada con Tris (TBS-T) durante 16 - 18 horas a 4°C.

La inmunotransferencia se realizó mediante incubación con un anticuerpo adecuado (Tabla 6), en 2 µg/ml de leche descremada al 2% en TBS-Tween 20 al 0,1%. Los anticuerpos secundarios utilizados para la detección de quimioluminiscencia fueron como se indica en la Tabla 4, se diluyeron como se indica en leche descremada al 2% en TES-Tween 20 al 0,1%. Se detectaron los complejos inmunorreactivos mediante quimioluminiscencia utilizando luminol como sustrato (Roche Diagnostics Corporation). Se llevó a cabo la conjugación de enzima de peroxidasa de rábano del anticuerpo IgG humano utilizando el kit de conjugación de Peroxidasa Activada EZ-Link Plus® (Pierce, Rockford, IL).

Tabla 6: Condiciones de electroforesis, anticuerpos, y diluciones para inmunotransferencia de las proteínas expresadas.

Subtipo de HA	Cepa de influenza	Condición de la electroforesis	Anticuerpo primario	Dilución	Anticuerpo secundario	Dilución
H1	A/Brisbane/ 59/2007 (H1N1)	Reductora	FII 10-I50	4 µg/ml	Antirratón de cabra (JIR 115-035-146)	1:10 000
H1	A/Islands Salomón/ 3/ 2006 (H1N1)	Reductora	NIBSC 07/104	1:2000	Anti-oveja de conejo (JIR 313-035-045)	1:10 000
H1	A/Nueva Caledonia/ 20/99 (H1N1)	Reductora	FII 10-I50	4 µg/ml	Antirratón de cabra (JIR 115-035-146)	1:10 000
H2	A/Singapur/ 1/57 (H2N2)	No reductora	NIBSC 00/440	1:1000	Anti-oveja de conejo (JIR 313-035-045)	1:10 000
H5	A/Indonesia/ 5/2005 (H5N1)	Reductora	ITC IT-003-005V	1:4000	Anticonejo de cabra (JIR 111-035-144)	1:10 000
H5	A/Anhui/1/2005 (H5N1)	Reductora	NIBSC 07/338	1:750	Anti-oveja de conejo (JIR 313-035-045)	1:10 000
H5	A/Vietnam/ 1194/ 2004 (H5N1)	No reductora	ITC IT-003-005	1:2000	Anticonejo de cabra (JIR 111-035-144)	1:10 000
H6	A/Cerceta/Hong Kong/ W312/97 (H6N1)	No reductora	BEI NR 663	1:500	Anti-oveja de conejo (JIR 313-035-045)	1:10 000
H9	A/Hong Kong/ 1073/99 (H9N2)	Reductora	NIBSC 07/146	1:1000	Anti-oveja de conejo (JIR 313-035-045)	1:10 000
FII: Fitzgerald Industries International, Concord, MA, EUA; NISBIC: National Institute for Biological Standards and Control; JIR: Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA, EUA; BEI NR: Biodefense and emerging infections research resources repository; ITC: Immune Technology Corporation, Woodside, NY, EUA;						

- 5 El ensayo de hemaglutinación para H5 se basó en un método descrito por Nayak y Reichl (2004). En resumen, se hicieron diluciones dobles seriales de las muestras de prueba (100 µL) en placas de microtitulación de 96 pozos con fondo en forma V que contenían 100 µL de PBS, dejando 100 µL de la muestra diluida por pozo. Se añadieron cien microlitros de una suspensión de glóbulos rojos de pavo al 0,25% (Bio Link Inc., Syracuse, NY) a cada pozo, y se incubaron las placas durante 2 horas a temperatura ambiente. Se registró la cantidad recíproca de la dilución más elevada que muestra hemaglutinación completa como la actividad de HA. De manera paralela, se diluyó un estándar de HA recombinante (A/Vietnam/1203/2004 H5N1) (Protein Science Corporation, Meriden, CT) en PBS y se corrió como control en cada placa.

#### 7. Ultracentrifugación en gradiente de sacarosa

- 15 Se reunió un mililitro de las fracciones 9, 10 y 11 eluido a partir de la cromatografía de filtración en geles sobre biomasa que contenía H5, se cargó en un gradiente de densidad de sacarosa discontinua de 20 - 60% (p/v) y se centrifugó durante 17,5 horas a 125.000 g (4°C). Se fraccionó el gradiente en 19 fracciones de 3 mL comenzando desde la parte superior y se dializaron para remover la sacarosa antes del análisis inmunológico y los ensayos de hemaglutinación.

#### 8. Microscopía electrónica

- 20 Las fracciones de elución de SEC para ser observadas mediante microscopía electrónica (EM) se concentraron primero utilizando unidades de ultrafiltración 30 MWCO (Millipore, Billerica, MA, EUA). Las fracciones concentradas se fijaron en PBS de pH 7,4 que contenían glutaraldehído al 2% durante 24 horas a 4°C. Una vez fijadas las muestras, se adsorbieron en retículas de níquel de 200 mallas recubiertas con Formvar (Canemco, Lakefield, Canadá) durante 2 minutos, y las se lavaron las retículas dos veces con agua desionizada antes de tñirlas con ácido fosfotúngstico al 1%. Se realizaron observaciones bajo microscopía electrónica de transmisión con amplificaciones que iban de 10.000X a 150.000X (para las imágenes en las Figuras 4A y 4B).

- 30 Alternativamente, se colocaron cien microlitros de las muestras a examinar en un tubo de ultracentrifugación Airfuge (Beckman Instruments, Palo Alto, CA, EUA). Se colocó una retícula en la parte inferior del tubo, que luego se centrifugó durante 5 minutos a 120.000 g. Se removió la retícula, se la secó cuidadosamente y colocó en una gota de ácido fosfotúngstico al 3% con un pH de 6 para coloración. Se examinaron las retículas en un microscopio electrónico de transmisión (TEM) Hitachi 7100 (para las imágenes en las Figuras 14B, 15B y 15C).

Para las imágenes en la Figura 19, se fijaron bloques de hojas de aproximadamente 1 mm<sup>3</sup> en PBS que contenía glutaraldehído al 2,5% y se lavaron en PBS que contenía sacarosa al 3% antes de la etapa posterior de fijación en

tetraóxido de osmio al 1,33%. Las muestras fijadas se embebieron en resina Spurr y se colocaron capas ultradelgadas en una retícula. Las muestras fijadas se tiñeron de forma positiva con acetato de uranilo al 5% y citrato de plomo al 0,2% antes de la observación. Las retículas se analizaron en un microscopio de electrones de transmisión (TEM) Hitachi 7100.

## 5 9. Análisis de lípidos de membranas plasmáticas

Se obtuvieron las membranas plasmáticas (PM) de hojas de tabaco y se cultivaron células BY2 después del fraccionamiento celular de acuerdo con Mongrand et al. mediante la repartición en un sistema bifásico de polímeros acuosos con polietilenglicol 3350/dextrano T-500 (cada uno al 6,6%). Todas las etapas se realizaron a 4°C.

10 Se extrajeron y purificaron los lípidos a partir de las diferentes fracciones de acuerdo con Bligh y Dyer. Se separaron los lípidos polares y neutros mediante HP-TLC monodimensional utilizando los sistemas de solventes descritos en Lefebvre et al. Se detectaron los lípidos de fracciones de PM después de teñir con acetato de cobre, como lo describen Macala et al. Se identificaron los lípidos mediante la comparación de su tiempo de migración con los de los estándares (todos los estándares se obtuvieron a través de Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA, excepto por SG que se obtuvo a través de Matreya, Pleasant Gap, PA, EUA).

## 15 10. Purificación de VLP de H5

20 Se homogeneizaron 660 hojas infiltradas congeladas de *N. benthamiana* en 1,5 volúmenes de Tris 50 mM pH 8, NaCl 150 mM y metabisulfito de sodio al 0,04% utilizando un mezclador comercial. Se suplementó el extracto resultante con PMSF 1 mM y se ajustó a pH 6 con ácido acético 1 M antes de calentar a 42°C durante 5 minutos. Se añadió tierra de diatomeas (DE) al extracto trato con calor para adsorber los contaminantes precipitados por medio del cambio del pH y tratamiento con calor, y se filtró la suspensión a través de un papel filtro Whatman. Se centrifugó el extracto clarificado resultante a 10.000 x g durante 10 minutos a RT para remover la DE residual, pasado a través de filtros Acropack 20 de 0,8/0,2 µm y cargó en una columna de afinidad de fetuina-agarosa (Sigma- Aldrich, St. Louis, MO, EUA). Después de una etapa de lavado en NaCl 400 mM, Tris 25 mM pH 6, se eluyeron las proteínas enlazadas con NaCl 1,5 M, MES 50 mM pH 6. Se suplementaron las VLP eluidas con Tween-80 hasta una concentración final de 0,0005% (v/v). Se concentraron las VLP en una membrana Amicon MWCO de 100 kDa se centrifugó a 10.000 x g durante 30 minutos a 4°C y se resuspendió en PBS pH 7,4 con Tween-80 al 0,01% y timerosal al 0,01%. Se esterilizaron las VLP suspendidas por filtración antes de su utilización.

## 11. Estudios con animales

### Ratones

30 Los estudios sobre la respuesta inmunológica a la administración de VLP de influenza se llevaron a cabo con ratones hembra BALB/c de 6 - 8 semanas de edad (Charles River Laboratories). Se dividieron al azar setenta ratones en catorce grupos de cinco animales. Se utilizaron ocho grupos para inmunización intramuscular y se utilizaron seis grupos para probar la vía intranasal de administración. Todos los grupos se inmunizaron con un régimen de dos dosis, la inmunización de refuerzo se realizó 3 semanas después de la primera inmunización.

35 Para la administración intramuscular en las patas traseras, se inmunizaron los ratones sin anestesiarse ya sea con la vacuna VLP H5 elaborada a partir de plantas (0,1, 1, 5 o 12 µg), o un antígeno de hemaglutinina (HA) de control. El HA de control contenía hemaglutinina soluble recombinante producida con base en la cepa A/Indonesia/5/05 H5N1 y se purificó a partir de un cultivo de células 293 (Immune Technology Corp., New York, EUA) (utilizado 5 µg por inyección a menos que se indique otra cosa). El amortiguador de control era PES. Este antígeno consiste de los aminoácidos 18 - 530 de la proteína HA y tiene una etiqueta His y un sitio de escisión modificado. La microscopía electrónica confirmó que este producto comercial no está en la forma de las VLP.

40 Para medir el efecto del adyuvante, se inmunizaron dos grupos de animales con 5 µg de la vacuna con VLP H5 elaborada a base de plantas más un volumen de Alhidrogel al 2% (alumbre, Accurate Chemical & Scientific Corporation, Westbury, NY, EUA) o con 5 µg de hemaglutinina recombinante purificada a partir de un cultivo de células 293 más un volumen de alumbre. Se dividieron al azar setenta ratones en catorce grupos de cinco animales. Se utilizaron ocho grupos para inmunización intramuscular y se utilizaron seis grupos para probar la vía intranasal de administración. Todos los grupos se inmunizaron con un régimen de refuerzo principal, la inmunización de refuerzo se realizó 3 semanas después de la primera inmunización.

50 Para la administración intramuscular en las patas traseras, se inmunizaron los ratones sin anestesiarse con la VLP H5 elaborada a partir de plantas (0,1, 1, 5 ó 12 µg), o el antígeno de hemaglutinina de control (HA) (5 µg) o PBS. Todas las preparaciones de antígenos se mezclaron con Alhidrogel al 1% (alumbre, Accurate Chemical & Scientific Corporation, Westbury, NY, EUA) en una proporción de volumen de 1:1 antes de las inmunizaciones. Para medir el

efecto del adyuvante, se inmunizaron dos grupos de animales ya sea con 5 µg de la vacuna con VLP H5 elaborada a partir de plantas o con 5 µg del antígeno HA de control sin ningún adyuvante.

Para administración intranasal, se anestesiaron brevemente los ratones por medio de inhalación de isoflurano utilizando una cámara de inducción automática. Posteriormente, fueron inmunizados con la adición de gotas de 4 µl /fosa nasal con la vacuna de VLP elaborada a partir de plantas (0,1 o 1 µg), o con el antígeno HA de control (1 µg) o con PBS. Todas las preparaciones de antígeno se mezclaron con glutamato de quitosano al 1% (Protosan, Novamatrix/ FMC BioPolymer, Noruega) antes de las inmunizaciones. Posteriormente, los ratones inhalaban las soluciones. Para verificar el efecto del adyuvante con la vía intranasal de administración, se inmunizaron dos grupos de animales con un 1 µg de la vacuna con VLP H5 elaborada a partir de plantas o con 1 µg del antígeno HA de control.

#### Hurones

Se utilizaron diez grupos de 5 hurones (machos, 18 - 24 semanas de edad, con una masa aproximada de 1 kg). El tratamiento para cada grupo es como se describe en la Tabla 7. El adyuvante utilizado fue Alhidrogel (alumbre) (Superfos Biosector, Dinamarca) al 2% (final = 1%). La composición de la vacuna consistió de las VLP de A/Indonesia/5/05 (H5N1) asociadas con la membrana, producida como se describió. El control de la vacuna (control positivo) fue una H5 recombinante enlazada a la membrana completamente glicosilada de la cepa de Indonesia producida utilizando adenovirus en un cultivo de células 293 por parte de Immune Technology Corporation (ITC).

Tabla 7. Grupos de tratamiento

Grupo	n	Producto inyectado a los animales	Vía de administración	Adyuvante
1	5	PBS (control negativo)	i. m.*	-
2	5	Vacuna-planta, 1 mg	i. m.	-
3	5	Vacuna-planta, 1 mg	i. m.	Alumbre
4	5	Vacuna-planta, 5 mg	i. m.	-
5	5	Vacuna-planta, 5 mg	i. m.	Alumbre
6	5	Vacuna-planta, 7,5 mg	i. m.	-
7	5	Vacuna-planta, 15 mg	i. m.	-
8	5	Vacuna-planta, 15 mg	i. m.	Alumbre
9	5	Vacuna-planta, 30 mg	i. m.	-
10	5	Vacuna-control, 5 mg	i. m.	-
* i. m.: intramuscular				

Se evaluaron hurones con respecto a su salud y apariencia generales (peso corporal, temperatura rectal, postura, pelaje, patrones de movimiento, respiración, excremento) de forma regular durante el estudio. Los animales se inmunizaron mediante una inyección intramuscular (volumen total de 0,5 - 1,0) en los cuádriceps en el día 0, 14 y 28; para los protocolos que incorporan adyuvantes, la composición de la vacuna se combinó con Alhidrogel inmediatamente antes de la inmunización en una proporción de volumen de 1:1). Se obtuvieron muestras del suero en el día 0 antes de la inmunización, y en el día 21 y 35. Se sacrificaron los animales (desangramiento/punción cardíaca) en los días 40 - 45, y se recogieron los bazo y se realizó la necropsia.

Las concentraciones de anticuerpos contra la influenza pueden cuantificarse en ensayos de ELISA utilizando virus H5N1 desactivados homólogos o heterólogos.

Las concentraciones de anticuerpos inhibidores de hemaglutinación de las muestras de suero (antes de la inmunización en el día 21 y el día 35,) se evaluaron a través de microtitulación de HAI como se describe (Aymard et al. 1973). En resumen, se trataron previamente los sueros con enzimas que destruyen los receptores, inactivación con calor y mezcla con una suspensión de eritrocitos (glóbulos rojos lavados, RBC). Se recomiendan los RBC lavados de caballo (10%) de Lampire y en vista de que el ensayo puede variar dependiendo de la fuente de RBC (dependiendo del caballo), se ensayaron los RBC lavados de 10 caballos para seleccionar el lote más sensible. Alternativamente, pueden utilizarse RBC de pavo. La concentración de anticuerpos se expresó como la cantidad recíproca de la dilución más elevada que inhibe completamente la hemaglutinación.

Concentraciones de HAI de reacción cruzada: Se midieron las concentraciones de HAI de hurones inmunizados con una vacuna para A/Indonesia/5/05 (clado 2.1) utilizando cepas de influenza H5N1 inactivadas de otro subclado o clado tal como las cepas vietnamitas del clado 1 A/Vietnam/1203/2004 y A/Vietnam/1194/2004 o A/Anhui/O1/2005 (subclado 2.3) o A/pavo/Turquía/1/05 (subclado 2.2). Todos los análisis se realizaron en muestras de individuos.

Análisis de los datos: El análisis estadístico (ANOVA) se realizará sobre todos los datos para establecer si las

diferencias entre los grupos son estadísticamente significativas.

#### Diseño experimental para reto letal (ratones)

- 5 Se dividieron ciento veintiocho ratones al azar en dieciséis grupos de ocho animales, estando un grupo no inmunizado y no retado (control negativo). Todos los grupos se inmunizaron a través de administración intramuscular en un régimen de dos dosis, siendo la segunda inmunización dos semanas después de la primera inmunización.

Para la administración intramuscular en las patas traseras, se inmunizaron los ratones sin anestesiarse con VLP H5 elaborada a partir de plantas (1, 5 o 15 µg), o 15 µg del antígeno HA de control o PBS. Todas las preparaciones de antígeno se mezclaron con un volumen de Alhidrogel al 1% antes de las inmunizaciones (alumbre, Accurate Chemical Scientific Corporation, Westbury, NY, EUA).

- 10 Durante el periodo de inmunización, se pesaron los ratones una vez a la semana y se observaron y monitorearon para detectar reacciones locales en el sitio de inyección.

- 15 Veintidós días después de la segunda inmunización, se retaron los ratones anestesiados en forma intranasal (i. n.) en un laboratorio de contención BL4 (P4-Jean Mérieux-INSERM, Lyon, Francia) con una dosis infectiva del cultivo de células al 50% de  $4.09 \times 10^6$  (CCID50) del virus de la influenza A/Turquía/582/06 (amablemente proporcionado por el Dr. Bruno Lina, Universidad de Lyon, Lyon, Francia). Después del reto, se observaron los ratones para detectar síntomas clínicos de enfermedad y se pesaron diariamente, durante un periodo de catorce días. Los ratones con síntomas severos de infección y pérdida de peso de  $\geq 25\%$  se sometieron a eutanasia después de la anestesia.

#### Recolección de sangre, lavados pulmonares y nasales y recolección de bazo

- 20 Se llevaron a cabo recolecciones de sangre de la vena safena lateral catorce días después de la primera inmunización y catorce días después de la segunda inmunización en los animales sin anestesiarse. Se recolectó el suero mediante centrifugación a 8000 g durante 10 minutos.

Cuatro semanas después de la segunda inmunización, se anestesiaron los ratones con CO<sub>2</sub> gaseoso e inmediatamente después de terminar, se usó una punción cardíaca para recolectar la sangre.

- 25 Después del sangrado final, se insertó un catéter en la tráquea hacia los pulmones y se colocó un ml de una solución tipo cóctel del inhibidor de proteasa - PBS fría en una jeringa de 1 cc unida al catéter y se inyectó a los pulmones y luego se lo retiró para su análisis. Este procedimiento de lavado se llevó a cabo dos veces. Los lavados pulmonares se centrifugaron para retirar los restos celulares. Para los lavados nasales, se insertó un catéter hacia el área nasal y se bombearon 0,5 ml de la solución tipo cóctel del inhibidor de proteasa - PBS a través del catéter en los pasajes nasales y luego se hizo la recolección. Los lavados nasales se centrifugaron para retirar los restos celulares.
- 30 La recolección de bazo se realizó en ratones inmunizados a nivel intramuscular con 5 µg de la vacuna elaborada a base de plantas con adyuvantes o 5 µg del antígeno H5 recombinante con adyuvantes, así como en ratones inmunizados a nivel intranasal con 1 µg de la vacuna elaborada a partir de plantas con adyuvantes o 1 µg del antígeno H5 recombinante con adyuvantes. Los bazos recolectados se colocaron en RPMI suplementado con gentamicina y se machacaron en un tubo cónico de 50 ml con un émbolo de una jeringa de 10 ml. Los bazos machacados se enjuagaron 2 veces y se centrifugaron a 2000 rpm durante 5 minutos y se resuspendieron en un amortiguador de lisis ACK durante 5 minutos a temperatura ambiente. Los esplenocitos se lavaron en PBS - gentamicina, se resuspendieron en RPMI al 5% y se cuantificaron. Los esplenocitos se utilizaron para el ensayo de proliferación.

#### Concentraciones de anticuerpos

- 40 Las concentraciones de anticuerpos contra la influenza de los sueros se midieron a los 14 días después la primera inmunización, así como en los días 14 y 28 días después de la segunda inmunización. Las concentraciones se determinaron mediante un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) utilizando el virus inactivado A/Indonesia/5/05 como el antígeno de recubrimiento. Las concentraciones de punto final se expresaron como el valor recíproco de la dilución más elevada que alcanzó un valor de OD de al menos 0,1 mayor que el de las muestras de control negativo.
- 45

Para la determinación de la clase de anticuerpos (IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3, IgM), se evaluaron las concentraciones mediante ELISA como se describió previamente.

#### Títulos de inhibición de hemaglutinación (HI)

Los títulos de inhibición de hemaglutinación (HI) de los sueros se midieron a los 14 y 28 días después de la segunda

inmunización como se describió previamente (WHO 2002; Kendal 1982). Las preparaciones de virus inactivados de las cepas A/Indonesia/5/05 o A/Vietnam/1203/2004 se utilizaron para ensayar las muestras de suero de ratón para detectar actividad de HI. Se trataron previamente los sueros con enzima II destructora del receptor (RDE II) (Denka Seiken Co., Tokio, Japón) preparada a partir de *Vibrio cholerae* (Kendal 1982). Los ensayos de HI se realizaron con glóbulos rojos de pavo al 0,5%. Los títulos de anticuerpos HI se definieron como la cantidad recíproca de la dilución más elevada que provocó la inhibición completa de la aglutinación.

### Ejemplos

**Ejemplo 1:** Expresión transitoria de hemaglutinina del virus de la influenza A/Indonesia/5/05 (H5N1) mediante agroinfiltración en plantas *N. benthamiana*.

La capacidad del sistema de expresión transitoria para producir hemaglutinina de influenza se determinó mediante la expresión del subtipo H5 de la cepa A/Indonesia/5/05 (H5N1). Como se presenta en la Figura 11, la secuencia de codificación de genes de hemaglutinina (acceso No. EF541394), con su péptido señal nativo y dominio transmembrana, se ensambló primero en el casete de expresión de plastocianina - promotor, 5' UTR, 3' UTR, y secuencias de terminación de la transcripción del gen de plastocianina de alfalfa - y el casete ensamblado (660) se insertó en un plásmido binario pCambia. Este plásmido se transfeció posteriormente en *Agrobacterium* (AGL1), lo que creó la cepa recombinante AGL 1/660, la cual se utilizó para la expresión transitoria.

Se infiltraron plantas de *N. benthamiana* con AGL 1/660, y se recolectaron las hojas después de un periodo de incubación de seis días. Para determinar si se acumuló H5 en las hojas agroinfiltradas, se extrajeron primero las proteínas del tejido de hojas infiltradas y se analizaron mediante transferencia tipo Western utilizando anticuerpos policlonales anti-H5 (Vietnam). Se detectó una banda única de aproximadamente 72 kDa en los extractos (Figura 12), correspondiendo en tamaño a la forma HA0 no escindida de la hemaglutinina de influenza. La H5 comercial utilizada como control positivo (A/Vietnam/1203/2004; Protein Science Corp., Meriden, CT, EUA) se detectó como dos bandas de aproximadamente 48 y 28 kDa, lo que corresponde al peso molecular de los fragmentos HA1 y HA2, respectivamente. Esto demostró que la expresión de H5 en las hojas infiltradas resulta en la acumulación del producto de traducción sin escindir.

La formación de trímeros de HA activos se demostró mediante la capacidad de los extractos de proteína sin purificar de las hojas transformadas con AGL 1/660 para aglutinar los glóbulos rojos de pavo (datos no mostrados).

**Ejemplo 2:** Caracterización de estructuras que contienen hemaglutinina en extractos de planta utilizando cromatografía de exclusión por tamaño

El ensamble de hemaglutinina de influenza producido con plantas en estructuras de alto peso molecular se analizó mediante filtración en gel. Los extractos de proteína sin purificar de las plantas infiltradas con AGL1/660 (1,5 mL) se fraccionaron mediante cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) en columnas Sephacryl™ S-500 HR (GE Healthcare Bio-Science Corp., Piscataway, NJ, EUA). Las fracciones de elución se sometieron a ensayo para detectar su contenido de proteínas totales y para detectar la abundancia de HA utilizando inmunodetección con anticuerpos anti-HA (Figura 13A). Como se muestra en la Figura 13A, la elución de Azul Dextrano (2 MDa) presentó un pico temprano en la fracción 10 mientras que el grueso de las proteínas huésped se retuvo en la columna y se eluyó entre las fracciones 14 y 22. Cuando las proteínas de 200 µL de cada fracción de elución de SEC se concentraron (5 veces) mediante precipitación con acetona y se analizaron mediante transferencias tipo Western (Figura 15A, H5), se encontró principalmente hemaglutinina (H5) en las fracciones 9 a 14 (Figura 13B). Sin querer ceñirse a ninguna teoría en particular, esto sugiere que la proteína HA se había ensamblado o bien en una gran superestructura o que se había unido con una estructura de alto peso molecular.

Se ensambló un segundo casete de expresión con la secuencia de ácido nucleico de H1 de A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1) (SEQ ID NO: 33; Figura 16; GenBank, No de acceso AY289929) para producir la construcción 540 (Figura 11). Se diseñó una construcción genética quimérica para producir una forma trimérica soluble de H1 en la que el péptido señal originado a partir de un gen para la proteína disulfuro isomerasa vegetal, y se reemplazó el dominio transmembrana de H1 por una variante pII del cierre de leucina GCN4, un péptido mostró autoensamblarse en trímeros (Harbury et al., 1993) (casete 544, Figura 11). A pesar de carecer del dominio transmembrana, esta forma trimérica soluble fue capaz de llevar a cabo la hemaglutinación (datos no mostrados).

Se fraccionaron los extractos de proteína de plantas infiltradas con AGL1/540 o AGL1/544 por medio de SEC y la presencia de fracciones eluidas de HI se analizó mediante transferencias tipo Western con anticuerpos anti-influenza tipo A (Fitzgerald, Concord, MA, EUA). En las hojas infiltradas con AGL1/540, se acumuló H1 principalmente como una estructura de peso molecular muy elevado, con el pico orientado hacia las estructuras de menor tamaño (H1; Figura 13C). En las hojas infiltradas con AGL1/544, la forma soluble de H1 se acumuló como trímeros aislados como se demuestra por medio del patrón de elución de la filtración en gel, que es paralela al perfil elución de la proteína huésped (H1 soluble; Figura 13D). En comparación, las rosetas H1 (Protein Science Corp., Meriden, CT, EUA), que

consisten de micelas de 5 - 6 trímeros de hemaglutinina eluidas en las fracciones 12 a 16 (Figura 13E), antes que la forma soluble de H1 (Figura 13D) y después que la H1 nativa (Figura 13C).

Para evaluar el impacto de la coexpresión de M1 en el ensamble de hemaglutinina en la estructura, se ensambló un casete de expresión M1 utilizando el ácido nucleico correspondiente a la secuencia de codificación de A/PR/8/34 (H1N1) M1 (SEQ ID NO: 35; Figura 18; GenBank, No. de acceso Nc\_002016). La construcción se denominó 750 y se presenta en la Figura 11. Para la coexpresión de M1 y H1, se mezclaron suspensiones de AGL1/540 y AGL1/750 en volúmenes iguales antes de la infiltración. La infiltración conjunta de múltiples suspensiones de *Agrobacterium* permite la coexpresión de múltiples transgenes. El análisis de las transferencias tipo Western de las fracciones de elución SEC muestra que la coexpresión de M1 no modificó el perfil de elución de las estructuras H1, sino que resultó en una disminución en la acumulación de H1 en las hojas agroinfiltradas (véase la Figura 13F).

**Ejemplo 3:** Aislamiento de estructuras H5 mediante centrifugación en gradiente de sacarosa y observación bajo microscopio electrónico

La observación de la estructura de hemaglutinina bajo microscopio electrónico (EM) requirió de una concentración y nivel de pureza más elevados que los obtenidos a partir de SEC con los extractos de proteína de hojas sin purificar. Para permitir la observación en el EM de las estructuras H5, se concentró primero un extracto de proteínas de hojas sin purificar mediante precipitación en PEG (PEG al 20%) seguido por resuspensión en 1/10 volúmenes del amortiguador de extracción. Se fraccionó el extracto de proteínas concentrado mediante filtración en gel S-500 HR y se agruparon las fracciones de elución 9, 10, y 11 (que corresponden al volumen vacío de la columna) y se aislaron adicionalmente de las proteínas huésped mediante ultracentrifugación en un gradiente de densidad de sacarosa de 20 - 60%. El gradiente de sacarosa se fraccionó comenzando desde la parte superior y se dializaron y concentraron las fracciones en una unidad de filtración centrífuga de 100 NMWL antes del análisis. Como se muestra en las transferencias tipo Western y los resultados de hemaglutinación (Figura 14A), el H5 se acumuló principalmente en las fracciones 16 a 19 que contenían  $\approx$  60% de sacarosa, mientras que la mayoría de las proteínas huésped presentaron un pico en la fracción 13. Las Fracciones 17, 18, y 19 se agruparon, se tiñeron de forma negativa y se observaron bajo el EM. El examen de la muestra demostró claramente la presencia de estructuras esféricas con puntas con un tamaño en el intervalo de 80 a 300 nm, que coincidía con las características morfológicas de las VLP de influenza (Figura 14B).

**Ejemplo 4:** Purificación de las VLP H5 de influenza de la biomasa vegetal

Además de un contenido abundante de proteínas solubles, los extractos de hojas de planta contienen una mezcla compleja de azúcares solubles, ácidos nucleicos y lípidos. El extracto sin purificar se clarificó mediante un cambio de pH y un tratamiento con calor seguido por la filtración en tierra diatomáceas (véase la sección de Material y método para una descripción detallada del método de clarificación). La Figura 15A (carriles 1 - 4) presenta un contenido de proteínas que se compara con el gel teñido con Azul de Coomassie en las diferentes etapas de la clarificación. Una comparación del contenido de proteínas en el extracto sin purificar (carril 1) y en el extracto clarificado (carril 4) revela la capacidad de las etapas de clarificación para reducir el contenido global de proteína y remover la mayoría de los contaminantes principales visibles en 50 kDa en los extractos de hojas sin purificar. La banda de 50 kDa corresponde a la subunidad grande de RuBisCO que representa hasta 30% de las proteínas totales de las hojas.

Las VLP H5 de influenza se purificaron a partir de estos extractos clarificados mediante cromatografía de afinidad en una columna con fetuína. Una comparación de la fracción cargada (Figura 15A, carril 5) con las VLP que fluyen a través de la columna (Figura 15A, carril 6) y las eluidas (Figura 15 A, línea 7) demuestra la especificidad de la columna de afinidad de fetuína para las VLP H5 de influenza en el extracto clarificado de la planta.

El procedimiento de purificación resultó en una pureza de más del 75% en H5 como se determinó mediante la densitometría en gel de SDS-PAGE teñido con Azul de Coomassie (Figura 15A, carril 7). Co el propósito de evaluar la calidad estructural del producto purificado, el H5 purificado se concentró en una unidad filtrante por centrifugación de 100 NMWL (límite nominal de peso molecular) y se examinó bajo un EM después de la tinción negativa. La Figura 15B muestra un sector representativo que indica la presencia abundante de las VLP. Un análisis más detallado confirmó la presencia de puntas sobre las VLP (Figura 15C)

Como se muestra en la Figura 15D, las VLP de H5 se purificaron hasta alcanzar una pureza de aproximadamente 89% a partir del extracto de hojas clarificado mediante cromatografía de afinidad en una columna con fetuína, con base en la densidad de la hemaglutinina de H5 teñida con Azul de Coomassie y en la determinación del contenido de proteínas totales a través del método de BCA.

La bioactividad de las VLP de HA se confirmó mediante su capacidad para aglutinar los glóbulos rojos de pavo (datos no mostrados).

La Figura 20B también confirma la identidad de la VLP purificada visualizada mediante transferencias tipo Western e



inmunodetección con un suero policlonal anti-H5 (A/Vietnam/1203/2004). Se detectó una banda única de aproximadamente 72 kDa y corresponde en tamaño a la forma HA0 no escindida de la hemaglutinina de influenza. La Figura 15c muestra la estructura de la VLP de la vacuna con las puntas de hemaglutinina que cubren su estructura.

- 5 Se formularon las VLP para la inmunización de ratones por medio de filtración a través de un filtro de 0,22  $\mu$ m; se midió el contenido de endotoxina utilizando el kit de detección LAL de endotoxinas (Lisado de Amebocitos de Limulus) (Lonza, Walkersville, MS, EUA). La vacuna filtrada contenía  $105,8 \pm 11,6\%$  EU/ml (unidades de endotoxina/ml).

**Ejemplo 5:** Localización de las VLP de influenza en plantas

- 10 Para localizar las VLP y confirmar su origen de membrana plasmática, se fijaron secciones delgadas de hojas de plantas que producen H5 y examinaron bajo TEM después de tinción positiva. La observación de las células de las hojas indicó la presencia de las VLP en cavidades extracelulares formadas por la invaginación de la membrana plasmática (Figura 19). La forma y posición observadas de las VLP demostró que a pesar de la aposición de sus membranas plasmáticas en la pared celular, las células de la planta tienen la plasticidad requerida para producir las
- 15 VLP de influenza derivadas de su membrana plasmática y acumularlas en el espacio apoplástico.

**Ejemplo 6:** Análisis de lípidos de la membrana plasmática

- La confirmación adicional de la composición y origen de las VLP de influenza de plantas se obtuvo a través de los análisis del contenido de lípidos. Los lípidos se extrajeron de las VLP purificadas y se comparó su composición con aquel de las membranas plasmáticas de tabaco altamente purificadas mediante cromatografía de capa fina de alto
- 20 rendimiento (HP-TLC). Los patrones de migración de lípidos polares y neutros de las VLP y las membrana plasmáticas de control fueron similares; Las VLP purificadas contenían los fosfolípidos más importantes (fosfatidilcolina y fosfatidil etanolamina) y esfingolípidos (glucosil-ceramida) encontrados en la membrana plasmática (Figura 27A), y ambos contenían esteroides libres como los únicos lípidos neutros (Figura 27B). Sin embargo, la
- 25 inmunodetección de un marcador de proteína de la membrana plasmática (ATPasa) en extractos purificados de VLP mostró que la bicapa de lípidos de VLP no contiene una de las principales proteínas asociada con las membrana plasmáticas de las plantas, lo que sugiere que las proteínas huésped pueden haber sido excluidas de las membranas durante el proceso de brote de las VLP de las células de la planta (Figura 27C).

**Ejemplo 7:** Inmunogenicidad de las VLP de H5 y el efecto de la vía de administración

- Los ratones recibieron VLP de H5 elaboradas a partir de plantas mediante una inyección intramuscular, o en forma intranasal (inhalación). Se inyectaron 0,1 a 12  $\mu$ g de las VLP en forma intramuscular a los ratones, con alumbre como adyuvante, de acuerdo con los métodos descritos. Se observaron los títulos pico de los anticuerpos con la menor cantidad de antígeno, en una magnitud similar a aquella de 5  $\mu$ g de hemaglutinina soluble recombinante (HA) (Figura 20A).

- 35 Se administraron 0,1 a 1  $\mu$ g de las VLP de H5 elaboradas a partir de plantas en forma intranasal con un adyuvante de quitosano proporcionado para una mayor respuesta de anticuerpos que aquella de HA soluble recombinante con un adyuvante de alumbre (Figura 20B).

Para ambas rutas de administración, y por encima del rango de cantidades de antígeno, se observó seroconversión en todos los ratones sometidos a prueba. El antígeno soluble de H5 recombinante confirió títulos bajos ( $<1/40$ ) o insignificantes ( $1<1/10$  para el H5 recombinante sin adyuvante).

- 40 **Ejemplo 8:** VLP de H5 de la concentración de anticuerpos para inhibición de la hemaglutinación (HAI)

- La Figura 21 A, B ilustra la respuesta de los anticuerpos para la inhibición de hemaglutinación (HAI) 14 días después de un "refuerzo" con VLP de H5 elaborada a partir de plantas, o HA soluble recombinante. La dosis más baja de antígenos (0,1  $\mu$ g) cuando se administrada en forma intramuscular produce una respuesta superior de HAI a una administración 10 veces mayor (5  $\mu$ g) de HA soluble recombinante. Dosis mayores de VLP de H5 produjeron un
- 45 incremento moderado en HAI con respecto a la dosis más baja.

- La respuesta de HAI después de la administración intranasal aumento de manera significativa en los ratones a los que se les administró las VLP de H5 elaboradas a partir de plantas (1,0 o 0,1  $\mu$ g) en comparación con aquellos a los que se les administró 1  $\mu$ g de HA soluble recombinante, lo que fue similar al control negativo. Todos los ratones inmunizados a través de inyección intramuscular de las VLP de H5 (de 0,1 a 12  $\mu$ g) presentaron títulos de HAI más elevados que los ratones inmunizados con el antígeno HA de control (Figura 4a - ahora 21A). Para la misma dosis
- 50 de 5  $\mu$ g, las VLP indujeron títulos de HAI 20 veces más elevados que la dosis correspondiente del antígeno de

control HA. Las VLP también indujeron títulos significativamente más elevados de HAI que el antígeno HA de control cuando se suministraron a través de la ruta intranasal (Figura 21b). Para una dosis determinada de VLP de H5, los niveles de los títulos de HAI fueron menores en ratones inmunizados en forma intranasal que para los ratones inmunizados en forma intramuscular; 1 µg de VLP indujo un título medio de HAI de 210 cuando se administró en forma i. m. mientras que la misma dosis indujo un título medio de HAI de 34 administrada en forma i. n.

Cuando se administrarse en forma intramuscular, todas las dosis de las VLP indujeron altos niveles de anticuerpos capaces de unirse con virus inactivados completos homólogos (Figuras 20b y 24). No se encontró ninguna diferencia significativa entre la vacuna de VLP elaborada a partir de plantas y el antígeno HA de control (excepto en el grupo de VLP de 12 µg 14 días después del refuerzo), debido a que ambas preparaciones de antígeno inducen títulos elevados de enlazamiento de anticuerpos contra la cepa homóloga. Sin embargo, cuando se administraron en forma intranasal, las VLP indujeron títulos más elevados de enlazamiento de anticuerpos que en el caso del antígeno HA de control (Figura 20b). Cuando se mezclaron con quitosano, la inmunización con un microgramo de VLP indujo un título promedio recíproco de Ab de 5.500, 8.6 veces más elevado que el nivel encontrado en ratones inmunizados con 1 µg del antígeno HA de control (título promedio recíproco de Ab de 920).

La inmunogenicidad de las VLP de influenza derivadas de plantas se investigó posteriormente a través de un estudio de intervalo de dosis en ratones. Se inmunizaron grupos de 5 ratones BALB/c en forma intramuscular dos veces en intervalos de 3 semanas con 0,1 µg a 12 µg de las VLP que contienen HA de influenza A/Indonesia/5/05 (H5N1) formulada en alumbre (relación de 1:1). Los títulos de inhibición de hemaglutinación (HI), que utilizan el antígeno del virus inactivado completo (A/Indonesia/5/05 (H5N1)), se midieron en sueros recolectados 14 días después de la segunda inmunización. La Inmunización con dosis de VLP tan bajas 0,1 µg indujo la producción de anticuerpos que inhibieron los virus de eritrocitos de aglutinación en diluciones elevadas (Figura 21A). La inmunización paralela de ratones con 5 µg de antígeno H5 de control con adyuvantes de alumbre no correspondientes a VLP (también de A/Indonesia/5/05) induce una respuesta de HI que fue 2 - 3 registros más bajas que la obtenida con la dosis más baja de VLP.

Para ambas rutas de administración y por encima de un rango de cantidades de antígenos, la respuesta de HAI es superior en los ratones a los que se les administró las VLP.

#### **Ejemplo 9: Efecto del adyuvante sobre la inmunogenicidad de las VLP de H5**

Las VLP de H5 elaboradas a partir de plantas tienen un origen de membrana plasmática (Figura 19, Ejemplo 5). Sin ceñirse a ninguna teoría en particular, los virus encapsulados o las VLP de virus encapsulados generalmente adquieren su envoltura a partir de la membrana a través de la cual brotan. Las membranas plasmáticas de la planta tienen un complemento de fitoesterol que rara vez, si es que se encuentra alguno en células animales y varios de estos esteroides han mostrado tener efectos inmunoestimuladores.

Las VLP de H5 elaboradas a partir de plantas se administraron en forma intramuscular (Figura 22A) o intranasal (Figura 22B) a ratones en presencia o en ausencia de un adyuvante y se determinó la HAI (respuesta de anticuerpos de inhibición de hemaglutinación). Las VLP en presencia o en ausencia de un adyuvante añadido (alumbre o quitosano, como en estos ejemplos) en cualquier sistema de administración demostró una inhibición de hemaglutinina HAI significativamente mayor que el caso de HA soluble recombinante. Incluso en ausencia de un adyuvante añadido (es decir alumbre o quitosano), las VLP de H5 elaboradas a partir de plantas demuestran un HAI significativo, lo que indica una respuesta inmunológica sistémica a la administración del antígeno.

El alumbre mejoró el nivel promedio de los títulos de HAI en un factor de 5 para la administración intramuscular de VLP (Figura 22a) y en un factor de 3,7 para el antígeno HA de control. Cuando se administra en forma i. m., 5 µg de las VLP indujeron un título promedio de HAI 12 veces mayor que la dosis correspondiente del antígeno HA de control. El quitosano no reforzó el nivel promedio de HAI del antígeno HA de control (Figura 22b), mientras que incrementó el nivel promedio de HAI de los ratones inmunizados con 1 µg de VLP administrado en forma i. n. en un factor de 5 veces.

#### **Ejemplo 10: Isotipos de anticuerpos**

Los ratones a los cuales se les administró las VLP de H5 elaboradas a partir de plantas o HA soluble recombinante en presencia o en ausencia de alumbre como un adyuvante añadido, demostraron una variedad de isotipos de inmunoglobulina (Figura 23A).

En presencia de un adyuvante añadido, los perfiles de isotipos de anticuerpos de las VLP y HA son similares, siendo IgG1 el isotipo dominante. Cuando se administran las VLP o HA sin un adyuvante añadido, se reduce la respuesta de IgG1, pero siguen manteniéndose títulos similares de respuesta del isotipo dominante para las VLP, con IgM, IgG2a, IgG2B e IgG3 a los mostrados en presencia de un adyuvante añadido. Los títulos de IgG1, IgG2a, e IgG2b se reducen de manera notable cuando se administra HA sin un adyuvante añadido.

Estos datos, por lo tanto, demuestran que las VLP elaboradas a partir de plantas no requieren un adyuvante añadido para provocar una respuesta de anticuerpos en un huésped.

Los títulos de anticuerpos contra cepas del virus de influenza desactivados completos (A/Indonesia/5/05; A/Vietnam/1203/04) en ratones a los cuales se les administraron las VLP elaboradas a partir de plantas o HA recombinante soluble en forma intramuscular en presencia de un antígeno añadido se ilustran en la Figura 23B. No se observa una diferencia significativa en los títulos de los anticuerpos para estas cepas de la influenza en ratones a los cuales se les administró 1 µg o 5 µg de las VLP o 5 µg de HA soluble.

**Ejemplo 11:** Reactividad cruzada de anticuerpos en suero inducidos por la vacuna de VLP de H5

Se evaluó la reactividad cruzada de anticuerpos en suero inducidos por VLP de H5 contra los virus de influenza inactivados completos de diferentes cepas. Todas las dosis de VLP (de 0,1 a 12 µg) así como 5 µg de antígeno HA de control indujeron títulos altos de anticuerpos de enlazamiento contra una cepa del clado 1 (A/Vietnam/1194/04), la cepa homóloga A/Indonesia/5/05 del clado 2.1, y una cepa del clado 2.2 A/pavo/Turquía/1/05 (Figura 25A).

Sin embargo, solo la VLP elaborada a partir de plantas indujo un título de HAI contra la cepa A/pavo/Turquía/1/05 (Figura 25b). Los títulos de HAI para la cepa de A/Indonesia/5/05 fueron elevados para las VLP.

**Ejemplo 12:** Protección cruzada conferida por la inmunización con VLP de H5 elaborada a partir de plantas

Los ratones a los cuales se les había administrado previamente un régimen de dos dosis de las VLP de H5 de A/Indonesia/5/05 como se describió, fueron posteriormente retados en forma intranasal con el virus infeccioso A/Turquía/582/06 (H5SN1) de influenza ("Turquía H5N1") y observados. La dosis administrada, por animal, fue de 10 LD<sub>50</sub> (4,09 x 10<sup>5</sup> CCID<sub>50</sub>).

A los 7 días después del reto, únicamente 37,5% de los ratones a los que se les administró el control de la vacuna de PBS sobrevivieron a la exposición a la cepa Turquía H5N1 (Figura 26A). 100% de los animales a los que se les administró antígeno de control (HA) o 1, 5 o 15 µg de las VLP de H5 Indonesia sobrevivieron hasta 17 días después del reto, cuando concluyó el experimento.

Se controló también la masa corporal de los ratones durante el experimento y se representó gráficamente la masa promedio de los ratones sobrevivientes (Figura 26B). Los ratones a los cuales se les administró 1, 5 o 15 µg de las VLP de H5 Indonesia antes del reto no perdieron masa de manera apreciable durante el transcurso del experimento, y en particular, los ratones a los cuales se les administró 5 µg de las VLP parecieron haber aumentado su masa de forma significativa. Los ratones de control negativo (que no fueron retados con Turquía H5N1) no aumentaron ni disminuyeron de manera apreciable su masa corporal. Los ratones de control positivo (a los cuales no se les administraron las VLP, pero que fueron expuestos a Turquía H5N1) mostraron una pérdida significativa de peso corporal durante el transcurso del experimento, y tres de estos ratones murieron. Debido a que la masa corporal es un promedio de todos los ratones en cohorte, la sustracción de los ratones 'más enfermos' (los 3 que murieron) puede conducir a un incremento aparente general en la masa, sin embargo, obsérvese que la masa corporal promedio de al cohorte de control positivo aún está significativamente por debajo de aquella de las cohortes negativas o las tratadas con VLP.

Por tanto, estos datos demuestran que las VLP de influenza elaboradas a partir de plantas que comprenden la proteína viral de hemaglutinina H5 inducen una respuesta inmunológica específica para cepas de influenza patógenas, y que las partículas similares a virus pueden brotar a partir de las membranas plasmáticas de la planta.

Por tanto, estos datos demuestran que las plantas son capaces de producir partículas similares al virus de la influenza, y también, por primera vez, que las partículas similares a virus pueden brotar a partir de una membrana plasmática de una planta.

Además, utilizando tecnología actual de expresión transitoria, se produjo un primer lote de antígenos únicamente 16 días después de que se obtuviera la secuencia de HA objetivo. Bajo los rendimientos actuales para las VLP de H5, y con un ejemplo de dosis de 5 µg por sujeto, cada kg de las hojas infiltradas puede producir -20.000 dosis de vacuna. Esta combinación única de simplicidad de la plataforma, capacidad de reacción e inmunogenicidad potente proporciona, entre otras formas de realización, un nuevo método de respuesta en el contexto de una pandemia.

**Ejemplo 13:** Caracterización de estructuras que contienen hemaglutinina en extractos de plantas utilizando cromatografía de exclusión por tamaño

El ensamble de hemaglutinina de influenza producida con plantas de diferentes subtipos en estructuras de alto peso molecular se evaluó mediante filtración en gel. Los extractos de proteínas sin purificar o concentradas de plantas

infiltradas con AGL1/660, AGL1/540, AGL1/783, AGL1/780 y AGL1/785 (1,5 mL) se fraccionaron mediante cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) en columnas Sephacryl™ S-500 HR (GE Healthcare Bio-Science Corp., Piscataway, NJ, EUA). Como se muestra en la Figura 46, la elución de Azul Dextrano (2 MDa) presentó un pico anticipado en la fracción 10. Cuando se concentraron las proteínas de 200 µL de cada fracción de elución de SEC (5 veces) mediante precipitación con acetona y se analizaron mediante transferencias tipo Western (Figura 46), se encontraron principalmente hemaglutininas en las fracciones 7 a 14, y son indicativas de la incorporación de HA en las VLP. Sin ánimo de ceñirnos a ninguna teoría en particular, esto sugiere que la proteína HA o bien había sido ensamblada en una gran superestructura o se unió a una estructura de elevado peso molecular, sin importar el subtipo producido.

**Ejemplo 14:** Expresión transitoria de hemaglutinina del virus de la influenza estacional mediante agroinfiltración en plantas de *N. benthamiana*

La capacidad del sistema de expresión transitoria para producir hemaglutininas de influencias estacional se determinó mediante la expresión del subtipo H1 de la cepas A/Brisbane/59/2007 (H1N1) (plásmido # 774), A/Nueva Caledonia/20/1999 (H1N1) (plásmido # 540) y A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1) (plásmido # 775). Las secuencias que codifican al gen de hemaglutinina se ensamblaron primero en el casete de expresión de plastocianina - promotor, 5' UTR, 3' UTR y las secuencias de terminación de la transcripción del gen de plastocianina de alfalfa - y se insertaron los casetes ensamblados en un plásmido binario pCambia. Se transfectaron luego los plásmidos en *Agrobacterium* (AGL1), lo que produjo cepas de *Agrobacterium* AGL1/774, AGL1/540 y AGL1/775, respectivamente.

Se infiltraron plantas *N. benthamiana* con AGL1/774, AGL1/540 y AGL1/775, y se cosecharon las hojas después de un periodo de incubación de seis días. Para determinar si H1 se acumuló en las hojas agroinfiltradas, se extrajeron primero las proteínas del tejido de hojas infiltradas y se analizaron mediante transferencias tipo Western utilizando anticuerpos anti-H1. Se detectó una sola banda de aproximadamente 72 kDa en los extractos (Figura 47), lo que corresponde en tamaño a la forma HA0 sin escindir de la hemaglutinina de influenza. Esto demostró que la expresión de diferentes cepas epidémicas anuales de hemaglutinina en las hojas infiltradas resulta en la acumulación del producto de traducción sin escindir.

**Ejemplo 15:** Expresión transitoria de la hemaglutinina del virus de la influenza pandémica potencial mediante agroinfiltración en plantas de *N. benthamiana*

La capacidad del sistema de expresión transitoria para producir hemaglutininas de influenza potencial se determinó mediante la expresión del subtipo H5 de la cepas A/Anhui/1/2005 (H5N1) (plásmido # 781), A/Indonesia/5/2005 (H5N1) (plásmido # 660) y A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) (plásmido # 782). Las secuencias de codificación de genes de hemaglutinina se ensamblaron primero en el casete de expresión de plastocianina - secuencias del promotor, 5' UTR, 3' UTR y de terminación de la transcripción del gen de plastocianina de alfalfa - y se insertaron los casetes ensamblados en un plásmido binario pCambia. Los plásmidos se transfectaron posteriormente en *Agrobacterium* (AGL1).

Se infiltraron las plantas de *N. benthamiana* con AGL1/781, AGL1/660 y AGL1/782, y se cosecharon las hojas después de un periodo de incubación de seis días. Para determinar si H5 se acumuló en las hojas agroinfiltradas, se extrajo primero la proteína del tejido de hojas infiltradas y se analizó mediante transferencia tipo Western utilizando anticuerpos anti-H5. Se detectó una banda única de aproximadamente 72 kDa en los extractos (Figura 48), lo que corresponde en tamaño a la forma de HA0 sin escindir de la hemaglutinina de influenza. Esto demostró que la expresión de diferentes cepas pandémicas potenciales de hemaglutinina en las hojas infiltradas resulta en la acumulación del producto de traducción sin escindir.

**Ejemplo 16:** Expresión transitoria de H5 mediante agroinfiltración en plantas de *N. tabacum*

La capacidad del sistema de expresión transitoria para producir hemaglutinina de influenza en hojas de *Nicotiana tabacum* se analizó a través de la expresión del subtipo H5 de la cepa A/Indonesia/5/2005 (H5N1) (plásmido # 660). Las secuencias de codificación de genes de hemaglutinina se ensamblaron primero en el casete de expresión de plastocianina - secuencias del promotor, 5' UTR, 3' UTR y de terminación de la transcripción del gen de plastocianina de alfalfa - y se insertaron los casetes ensamblados en un plásmido binario pCambia. Los plásmidos se transfectaron posteriormente en *Agrobacterium* (AGL1).

Las plantas de *N. tabacum* se infiltraron con AGL1/660 y se cosecharon las hojas después de un periodo de incubación de seis días. Para determinar si H5 se acumuló en las hojas agroinfiltradas, se extrajo primero la proteína del tejido de hojas infiltradas y se analizó mediante transferencia tipo Western utilizando anticuerpos anti-H5. Se detectó una banda única de aproximadamente 72 kDa en los extractos (Figura 49), lo que corresponde en tamaño a la forma de HA0 sin escindir de la hemaglutinina de influenza. Esto demostró que la expresión de hemaglutinina en las hojas infiltradas de *N. tabacum* resulta en la acumulación del producto de traducción sin escindir.

**Ejemplo 17:** Inmunogenicidad de la vacuna de VLP de HSN1 elaborada a partir de plantas de A/Indonesia/5/05 (H5N1) en hurones

- 5 Se realizó un estudio de escalada de dosis en hurones para evaluar la inmunogenicidad de las VLP derivadas de plantas. Se evaluó la reactividad cruzada *in vitro* de anticuerpos de suero inducidos por la vacuna de VLP de H5 en 3 dosis (1, 5 y 15 µg) mediante la inhibición de hemaglutinación de otras tres cepas H5N1 - A/pavo/Turquía/1/05 (clado 2.2), A/Vietnam/1194/04 (clado 1) y A/Anhui/5/05 (todos virus inactivados completos), utilizando suero tomado 14 días después de la primera dosis de la vacuna (Figura 50A), y 14 días después de la segunda dosis (Figura 50 B). Para las 3 concentraciones de dosis, se observó reactividad cruzada.

**Ejemplo 18:** Análisis de los resultados de inmunogenicidad de acuerdo con los criterios de CHMP.

- 10 El Comité de la EMEA para Productos Medicinales para uso Humano (CHMP) (<http://www.emea.europa.eu/htms/general/contacts/CHMP/CHMP.html>) establece tres criterios (aplicados después de la segunda dosis) para la eficacia de la vacuna: 1 - El número de seroconversión o incremento significativo en los títulos de HI (4 veces) > 40%; 2 - Incremento geométrico medio de por lo menos 2,5; 3 - La proporción de sujetos que obtienen un título de HI de 1/40 debe ser de por lo menos el 70%. El Análisis de estos criterios en el modelo de hurón se muestra en las Tablas 8 - 11. (\*) indica que se cumplen o se exceden los criterios de CHMP. Se muestra en la Tabla 12 un resumen del análisis de inmunogenicidad cruzada en relación con los criterios del CHMP para la concesión de licencias.

- 20 Los animales se evaluaron diariamente en cuanto a peso corporal, temperatura y condición general. No se registraron señales de enfermedad o malestar durante el estudio. El peso corporal y la temperatura estuvieron dentro de los rangos normales durante el estudio. La vacuna fue segura y tolerada por los animales del estudio.

Tabla 8: Datos para una cepa homóloga (A/Indonesia/5/05)

Día	Criterios	Grupo de estudio								
		1 µg	1 µg con adyuvante	5 µg	5 µg con adyuvante	7,5 µg	15 µg	15 µg con adyuvante	30 µg	5 µg ITC
14 (después de la primera inyección)	% de incremento de 4 veces en el título de HI	0%	100%	0%	<b>100% *</b>	20%	20%	<b>80% *</b>	0%	0%
	Incremento geométrico medio	0%	7,6	0%	<b>15,6 *</b>	1,3	1,2	<b>11,2 *</b>	0%	0%
	% del título de HI de 1/40	0%	60%	0%	<b>100% *</b>	20%	0%	<b>80% *</b>	0%	0%
	<i>Título de HI medio</i>		38		78			56		
35 (14 días después del refuerzo)	% de incremento de 4 veces en el título de HI	0%	<b>100% *</b>	0%	<b>60% *</b>	0%	0%	<b>40% *</b>	0%	0%
	Incremento geométrico medio	0%	<b>10,8 *</b>	0%	<b>5,9 *</b>	0,7	0%	<b>4 *</b>	0%	0%
	% del título de HI de 1/40	0%	<b>100% *</b>	0%	<b>100% *</b>	0%	0%	<b>100% *</b>	0%	0%
	<i>Título de HI medio</i>		411		465			217		

Tabla 9: Datos para una cepa heteróloga (A/Vietnam/1194/04)

Día	Criterios	Grupo de estudio								
		1 µg	1 µg con adyuvante	5 µg	5 µg con adyuvante	7,5 µg	15 µg	15 µg con adyuvante	30 µg	5 µg ITC
14 (después de la primera inyección)	% de incremento de 4 veces en el título de HI		0%		0%			0%		
	Incremento geométrico medio		1,2		1,2			1,3		
	% del título de HI de 1/40		0%		0%			0%		
35 (después del refuerzo)	% de incremento de 4 veces en el título de HI		60%		80% *			60%		
	Incremento geométrico medio		2,3		5,1 *			1,78		
	% del título de HI de 1/40		0%		80% *			20%		

Tabla 10: Datos para una cepa heteróloga (A/pavo/Turquía/1/05)

Día	Criterios	Grupo de estudio								
		1 µg	1 µg con adyuvante	5 µg	5 µg con adyuvante	7,5 µg	15 µg	15 µg con adyuvante	30 µg	5 µg ITC
14 (después de la primera inyección)	% de incremento de 4 veces en el título de HI		40%		20%			60%		
	Incremento geométrico medio		1,9		1,7			2,8		
	% del título de HI de 1/40		40%		20%			40%		
35 (después del refuerzo)	% de incremento de 4 veces en el título de HI		80% *		100% *			80% *		
	Incremento geométrico medio		10,6 *		20,8 *			7,7 *		
	% del título de HI de 1/40		100% *		100% *			100% *		

Tabla 11: Datos para una cepa heteróloga (A/Anhui/5/05)

Día	Criterios	Grupo de estudio								
		1 µg	1 µg con adyuvante	5 µg	5 µg con adyuvante	7,5 µg	15 µg	15 µg con adyuvante	30 µg	5 µg ITC
14 (después de la primera inyección)	% de incremento de 4 veces en el título de HI		40%		20%			80% *		
	Incremento geométrico medio		1,8		1,3			6,4 *		
	% del título de HI de 1/40		20%		20%			80% *		
35 (después del refuerzo)	% de incremento de 4 veces en el título de HI		100% *		100% *			60% *		
	Incremento geométrico medio		11,8 *		14,4 *			3 *		
	% del título de HI de 1/40		100% *		80% *			80% *		

10 Tabla 12: Resumen del análisis de inmunogenicidad cruzada en relación con los criterios de CHMP para concesión de licencia.

Cepa	Criterios	Grupo de estudio		
		1 mg con adyuvante	5 mg con adyuvante	15 mg con adyuvante
A/pavo/Turquía/1/05 (clado 2.2)	% de incremento de 4 veces en el título de HI	80% *	100% *	80% *
	Incremento geométrico medio	10,6 *	20,8 *	7,7 *
	% del título de HI de 1/40	100% *	100% *	100% *
A/Anhui/1/05 (clado 2.3)	% de incremento de 4 veces en el título de HI	100% *	100% *	60% *
	Incremento geométrico medio	11,8 *	14,4 *	3 *
	% del título de HI de 1/40	100% *	80% *	80% *
A/Vietnam/1194/04 (clado 1)	% de incremento de 4 veces en el título de HI	60%	80% *	60%
	Incremento geométrico medio	2,3	7,1 *	1,78
	% del título de HI de 1/40	0%	80% *	20%

**Ejemplo 18:** Selección de secuencias de nucleótidos de hemaglutinina

15 Se recuperaron las secuencias de nucleótidos de HA a partir de una base de datos de secuencias de influenza (véase la URL: [flu.lanl.gov](http://flu.lanl.gov)), o la fuente del virus de influenza del NCBI (véase la URL: [ncbi.nlm.nih.gov/genomes/FLU/FLU.html](http://ncbi.nlm.nih.gov/genomes/FLU/FLU.html)). Para muchas de las secuencias de ácidos nucleicos de HA, se enlistaron múltiples entradas en las bases de datos (Tabla 13). Alguna variación se asocia principalmente con el sistema de cultivo (Origen - MDCK, huevo, desconocido, ARN viral/aislado clínicamente); por ejemplo, el sitio de glicosilación en la posición 194 (numeración de proteína madura) de la HA se encuentra ausente cuando el virus de la influenza tipo B se expresa en fluido alantóico de huevos (véase también Chen et al., 2008). Para algunas secuencias, los

5 dominios pueden estar ausentes (por ejemplo, clones incompletos, artefactos de secuenciación, etc.). La secuencia de hemaglutinina puede dividirse en 5 dominios: péptido señal (SP), HA1, HA2, transmembrana (DTm) y cola citoplasmática. Los dominios de una primera secuencia pueden combinarse con un dominio de una segunda secuencia existente, por ejemplo el péptido señal de una primera secuencia de la cepa puede combinarse con el resto de la secuencia de codificación de hemaglutinina de una segunda cepa para proporcionar una secuencia de codificación completa.

Tabla 13: Variación en los subtipos de influenza para secuencias de codificación de HA seleccionadas

	Cepa	No. de referencia de la base de datos e la secuencia	Origen	SP	HA 1	HA 2	DTm	Divergencia
H1	A/Islands Salomón/3/2006	ISDN231 558 (rec. de la vacuna)	MDCK	Y	Y	Y	Y	189: R o G, 220: K (MDCK) T (Huevo), 249: Q (MDCK) R (Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo)
	A/Islands Salomón/3/2006	ISDN238 190	Huevo	Y	Y	Y	Y	189: R o G, 220: K (MDCK) T (Huevo), 249: Q (MDCK) R (Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo)
	A/Islands Salomón/3/2006	EU 10072 4	?	Y	Y	Y	Y	189: R o G, 220: K (MDCK) T (Huevo), 249: Q (MDCK) R (Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo)
	A/Islands Salomón/3/2006	ISDN220 951	MDCK	Y	Y	N	N	189: R o G, 220: K (MDCK) T (Huevo), 249: Q (MDCK) R (Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo)
	A/Islands Salomón/3/2006	ISDN220 953	Huevo	Y	Y	N	N	189: R o G, 220: K (MDCK) T (Huevo), 249: Q (MDCK) R (Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo)
	A/Islands Salomón/3/2006	EU12413 7	Huevo	Y	Y	N	N	189: R o G, 220: K (MDCK) T (Huevo), 249: Q (MDCK) R (Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo)
	A/Islands Salomón/3/2006	EU12413 5	MDCK	Y	Y	N	N	189: R o G, 220: K (MDCK) T (Huevo), 249: Q (MDCK) R (Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo)
	A/Islands Salomón/3/2006	EU12417 7	MDCK	Y	Y	Y	Y	189: R o G, 220: K (MDCK) T (Huevo), 249: Q (MDCK) R (Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo)
H1	A/Brisbane /59/2007	ISDN282 676	MDCK	Y	Y	Y		203: D/I/N D es el más abundante en H1
	A/Brisbane/59/2007	ISDN285 101	Huevo	Y	Y	N	N	203: D/I/N D es el más abundante en H1
	A/Brisbane/59/2007	ISDN285 777	Huevo	Y	Y	Y	Y	203: D/I/N D es el más abundante en H1
	A/Brisbane/59/2007	ISDN282 677	Huevo	Y	Y	Y	Y	203: D/I/N D es el más abundante en H1
H3	A/Brisbane /10/2007	ISDN274 893	Huevo	Y	Y	Y	Y	202: V/G, 210: L/P, 215: del Ala, 242: S/I
	A/Brisbane/10/2007	ISDN257 648	MDCK	N	Y	Y	Y	n 202: V/G, 210: L/P, 215: del Ala, 242: S/I
	A/Brisbane/10/2007	ISDN256 751	Huevo	Y	Y	Y	Y	202: V/G, 210: L/P, 215: del Ala, 242: S/I
	A/Brisbane/10/2007	ISDN273 757	Huevo	Y	Y	Y	Y	202: V/G, 210: L/P, 215: del Ala, 242: S/I

(continuación)

	Cepa	No. de referencia de la base de datos de la secuencia	Origen	SP	HA 1	HA 2	DTm	Divergencia
	A/Brisbane/10/2007	ISDN273 759	Huevo	Y	Y	Y	Y	202: V/G, 210: L/P, 215: del Ala, 242: S/I
	A/Brisbane/10/2007	EU 19924 8	Huevo	N	Y	Y	Y	202: V/G, 210: L/P, 215: del Ala, 242: S/I
	A/Brisbane/10/2007	EU19936 6	Huevo	Y	Y	Y	Y	202: V/G, 210: L/P, 215: del Ala, 242: S/I
	A/Brisbane/10/2007	ISDN257 043	Huevo	N	Y	Y	Y	202: V/G, 210: L/P, 215: del Ala, 242: S/I
	A/Brisbane/10/2007	EU19925 0	MDCK	N	Y	Y	Y	202: V/G, 210: L/P, 215: del Ala, 242: S/I
	A/Brisbane/10/2007	ISDN275 357	Huevo	N	Y	N	N	202: V/G, 210: L/P, 215: del Ala, 242: S/I
	A/Brisbane/10/2007	ISDN260 430	Huevo	N	Y	Y	Y	202: V/G, 210: L/P, 215: del Ala, 242: S/I
H3	A/Wisconsin/67/2005	ISDN131 464 (rec. de la vacuna)	?	N	Y	Y	N	138: A/S 156: H/Q 186: G/V 196: H/Y
	A/Wisconsin/67/2005	DQ86594 7	?	N	Y	parte	N	138: A/S 156: H/Q 186: GN 196: H/Y
	A/Wisconsin/67/2005	EF473424	?	N	Y	Y	N	138: A/S 156: H/Q 186: G/V 196: H/Y
	A/Wisconsin/67/2005	ISDN138 723	Huevo	N	Y	Y	Y	138: A/S 156: H/Q 186: G/V 196: H/Y
	A/Wisconsin/67/2005	EF473455	Huevo	N	Y	Y	Y	138: A/S 156: H/Q 186: G/V 196: H/Y
	A/Wisconsin/67/2005	ISDN138 724	?	N	Y	Y	Y	138: A/S 156: H/Q 186: G/V 196: H/Y
B	B/Malasia/2506/2004	ISDN126 672 (rec. de la vacuna)	Huevo	Y	Y	N	N	120 K/N 210 T/A
	B/Malasia/2506/200 4	EF566433	Huevo	Y	Y	N	N	120 K/N 210 T/A
	B/Malasia/2506/200 265 4	ISDN231 265	Huevo	Y	Y	Y	Y	120 K/N 210 T/A
	B/Malasia/2506/200 4	ISDN231 557	MDCK	Y	Y	Y	Y	120 K/N 210 T/A
	B/Malasia/2506/200 4	EF566394	MDCK	Y	Y	N	N	120 K/N 210 T/A
	B/Malasia/2506/200 4	EU12427 4	Huevo	Y	Y	Y	Y	120 K/N 210 T/A
	B/Malasia/2506/200 4	EU12427 5	MDCK	Y	Y	Y	Y	120 K/N 210 T/A
	B/Malasia/2506/2004	ISDN124 776	MDCK	Y	Y	N	N	N 120 K/N 210 T/A
B	B/Florida/4/2006	ISDN261 649	Huevo	Y	Y	Y	N	Carece de sitio de glicosilación en la posición 211; 10 aminoácidos de DTm/ cola citoplasmática
	B/Florida/4/2006	EU10060 4	MDCK	N	Y	N	N	
	B/Florida/4/2006	ISDN218 061	MDCK	N	Y	N	N	
	B/Florida/4/2006	ISDN285 778	Huevo	Y	Y	Y	Y	Incluye cola citoplasmática



(continuación)

	Cepa	No. de referencia de la base de datos e la secuencia	Origen	SP	HA 1	HA 2	DTm	Divergencia
B	B/Brisbane /3/2007	ISDN256 628	Huevo	N	Y	N	N	Carece de sitio de glicosilación en la posición 211
	B/Brisbane/ 3/2007	ISDN263 782	Huevo	Y	Y	Y	Y	Carece de sitio de glicosilación en la posición 211
	B/Brisbane/ 3/2007	ISDN263 783	MDCK	Y	Y	Y	Y	
H5	A/Vietnam/1 194/ 2004	ISDN3 86 (rec. de la vacuna)	?	Y	Y	Y	Y	
	A/Vietnam/ 1194/2004	AY65133 3	?	Y	Y	Y	Y	
	A/Vietnam/ 1194/2004	EF541402	?	Y	Y	Y	Y	
H5	A/Anhui1/1/2 005	DQ37928 (rec. de la vacuna)	?	Y	Y	Y	Y	
	A/Anhui1/1/2 005	ISDN131 465	Huevo	Y	Y	Y	Y	
H7	A/Pollo/ Italia/ 13474 /1999	AJ91720	Gen de ARN	Y	Y	Y	Y	
H7	A/Equino/ Praga/56	AB29827 7 (Lab. de reclasificación)	?	Y	Y	Y	Y	152 (R/G) 169 (T/I) 208 (N/D) (sitio de glicosilación abolido)
	A/Equino/ Praga/56	X62552	?	Y	Y	Y	Y	
H9	A/Hong Kong/ 1073 /1999	AJ404626	?	Y	Y	Y	Y	
	A/Hong Kong/ 1073 /1999	AB08022 6	?	N	Y	N	N	
H2	A/Singapur/ 1/1957	AB29607 4	?	Y	Y	Y	Y	
	A/Singapur/ 1/1957	L20410	ARN	Y	Y	Y	Y	
	A/Singapur/ 1/1957	L11142	?	Y	Y	Y	Y	
H2	A/Japón/30 5/1957	L20406	?	Y	Y	Y	Y	
	A/Japón/3 05/1957	L20407	?	Y	Y	Y	Y	
	A/Japón/3 05/1957	CY01497 6	?	Y	Y	Y	Y	
	A/Japón/3 05/1957	AY20995 3	?	Y	Y	N	N	
	A/Japón/3 05/1957	J02127	?	Y	Y	Y	Y	
	A/Japón/3 05/1957	DQ50884 1	?	Y	Y	Y	Y	
	A/Japón/3 05/1957	AY64308 6	?	Y	Y	Y	N	

(continuación)

	Cepa	No. de referencia de la base de datos e la secuencia	Origen	SP	HA 1	HA 2	DTm	Divergencia
	A/Japón/3 05/1957	AB28933 7	?	Y	Y	Y	Y	
	A/Japón/3 05/1957	AY64308 5	?	Y	Y	Y	Y	
	A/Japón/3 05/1957	AY64308 7	Resist. al fármac.	Y	Y	Y	N	
H6	A/Cerceta/ Hong Kong/ W312/1997 (H6N1)	AF25047 9	Huevo	Y	Y	Y	Y	
Y, N - Sí, No, respectivamente SP - presencia de secuencia de péptido señal Y/N HA1 - dominio completo de HA1 Y/N HA2 - dominio completo de HA2 Y/N DTm - dominio completo transmembrana Y/N								

Cepa: H1 de A/Islands Salomón/3/2006

- 5 Se compararon ocho secuencias de amino ácidos, y se identificaron las variaciones. (Tabla 14). La posición 171 mostró una variación de glicina (G) o arginina (R) en algunas secuencias.

Tabla 14: Variación de amino ácidos en A/Islands Salomón/3/2006

Aminoácido #	MDCK	Huevo
212	K	T
241	Q	R
542	L	R
Numeración a partir de M inicial		

- 10 Cepa: H1 de A/Brisbane/59/2007

La position 203 mostró una variación de ácido aspártico (D), isoleucina (I) o asparagina (N).

Cepa: H3 de A/Brisbane/10/2007

Se observaron variaciones de la secuencia en 5 posiciones (Tabla 15). En la posición 215, se observó una supresión en dos secuencias muestreadas.

- 15 Tabla 15: H3 de la variación de aminoácidos de A/Brisbane/10/2007

	Origen	202, 210, 215, 235 242*
ISDN274893	Huevo	V L - Y I
ISDN273759	Huevo	G P A S I
EU199248	Huevo	G P A S I
EU199366	Huevo	G P A S I
ISDN273757	Huevo	V L - S S
ISDN257043	Huevo	G P A S I
EU199250	MDCK	G L A S I
ISDN375357	Huevo	G P A S I
ISDN260430	Huevo	G P A S I
ISDN256751	Huevo	G P A S I
ISDN257648	MDCK	G L A S I
* Numeración a partir de M inicial		

Cepa: H3 de A/Wisconsin/67/2005

Se observaron variaciones de la secuencia en esta cepa en 4 posiciones (Tabla 16).

Tabla 16: H3 de una variación de aminoácidos de A/Wisconsin/67/2005

	Origen	138, 156, 186, 196			
ISDN138724	Desconocido	A	H	G	H
DQ865947	Desconocido	S	H	V	Y
EF473424	Desconocido	A	H	G	H
ISDN138723	Huevo	S	Q	V	Y
ISDN131464	Desconocido	A	H	G	H
EF473455	Huevo	A	H	G	H
* Numeración a partir de la proteína madura					

5

Cepa: B de B/Malasia/2506/2004

Se observó una variación en dos posiciones (Tabla 17). La posición 120 no es un sitio de glicosilación; la posición 210 tiene que ver con la glicosilación; esta glicosilación se elimina después del cultivo en huevos.

Tabla 17: Hemaglutinina de una variación de aminoácidos de B/Malasia/2506/2004

Aminoácido #	MDCK	Huevo
120	K	N
210	T	A
* Numeración a partir de la mitad de SP		

10

Cepa: hemaglutinina de B/Florida/4/2006; ISDN261649

Las variaciones observadas incluyen variaciones de las secuencias de aminoácidos en la posición 211, dependiendo

15

del sistema de cultivo. Se encuentra asparagina (N) en secuencias aisladas de células MDCK, mientras que se encuentra ácido glutámico (D) en la secuencia aislada de los huevos. La posición 211 es un sitio de glicosilación, y se elimina después del cultivo en los huevos.

Cepa: H2 de A/Singapur/ 1/1957

Se observaron variaciones en la secuencia en 6 posiciones (Tabla 18).

Tabla 18: H2 de una variación de aminoácidos de A/Singapur/1/1957

20

	Origen	Aminoácido No. □ 166 168 199\236 238 358					
L20410	ARN viral	K	E	T	L	S	V
L11142	Desconocido	E	G	K	L	S	I
AB296074	Desconocido	K	G	T	Q	G	V
Consenso A/Japón/305/1957		K	G	T	Q/L	G	V
* Numeración a partir de la proteína madura							

Cepas: H5 de A/Vietnam/1194/2004 y H5 de A/Anhui/1/2005

No se observaron variaciones en la secuencia de aminoácido después de la alineación de las secuencias principales de cualquiera de estas cepas de H5.

25

Cepa: H6 de A/Cerceta/Hong Kong/W312/1997

Únicamente estaba disponible una entrada para la cepa (AF250179).

Cepa: H7 de A/Equinos/Praga/56

Se encontraron un total de 2 entradas de secuencia en las bases de datos. La entrada AB298877 se excluyó ya que se trataba de un laboratorio de reclasificación.

Cepa: H9 de A/Hong Kong/1073/1999; AJ404626

Se encontraron un total de 2 entradas de secuencia en las bases de datos. Solo una estaba completa.

- 5 La presente invención ha sido descrita con respecto a una o más formas de realización. Sin embargo, será evidente para aquellos capacitados en la técnica que es posible realizar una serie de variaciones y modificaciones sin alejarse del alcance de la invención como se define en las reivindicaciones.

#### LISTADO DE SECUENCIAS

- 10 <110> Medicago Inc. D'Aoust, Marc-Andre Couture, Manon Ors, Frederic Trepanier, Sonia Lavoie, Pierre-Olivier Dargis, Michele Vezina, Louis-Philippe Landry, Nathalie.

<120> Partículas similares al virus de la influenza (VLP) que contienen Hemagglutina

<130> V81270WO

<160> 76

<170> PatentIn versión 3.5

- 15 <210> 1

<211> 1556

<212> ADN

<213> Virus de la influenza

<400> 1

20

agatcttcgc tgacacaata tgtataggct accatgccaa caactcaacc gacactgttg 60  
 acacagtact tgagaagaat gtgacagtga cacactctgt caacctactt gaggacagtc 120  
 acaatggaaa actatgtcta ctaaaaggaa tagccccact acaattgggt aattgcagcg 180  
 ttgccggatg gatcttagga aaccacagaat gcgaattact gatttccaag gaatcatggt 240  
 cctacattgt agaaacacca aatcctgaga atggaacatg ttaccagggg tatttcgccg 300  
 actatgagga actgagggag caattgagtt cagtatcttc atttgagaga ttcgaaatat 360  
 tcccaaaga aagctcatgg cccaaccaca ccgtaaccgg agtatcagca tcatgctccc 420  
 ataattggga aagcagtttt tacagaaatt tgctatggct gacggggaag aatggtttgt 480  
 acccaaact gagcaagtc tatgtaaaca acaaagagaa agaagtcctt gtactatggg 540  
 gtgttcatca cccgcctaac ataggggaacc aaagggcact ctatcataca gaaaatgctt 600  
 atgtctctgt agtgtcttca cattatagca gaagattcac ccagaaata gccaaaagac 660  
 ccaaagtaag agatcaggaa ggaagaatca actactactg gactctgctg gaacctgggg 720  
 atacaataat atttgaggca aatggaaatc taatagcgcc atggtatgct tttgactga 780  
 gtagaggctt tggatcagga atcatcacct caaatgcacc aatggatgaa tgtgatgca 840  
 agtgtcaaac acctcagga gctataaaca gcagtcttcc tttccagaat gtacaccag 900  
 tcacaatagg agagtgtcca aagtatgtca ggagtgcata attaaggatg gttacaggac 960  
 taaggaaatc cccatccatt caatccagag gtttggttgg agccattgcc ggtttcattg 1020  
 aaggggggtg gactggaatg gtagatgggt ggtatggtta tcatcatcag aatgagcaag 1080  
  
 gatctggcta tgctgcagat caaaaaagta cacaaaatgc cattaacggg attacaaaca 1140  
 aggtcaattc tgtaattgag aaaatgaaca ctcaattcac agctgtgggc aaagagttca 1200  
 acaaattgga aagaaggatg gaaaacttaa ataaaaaagt tgatgatggg tttctagaca 1260  
 tttggacata taatgcagaa ttgttggttc tactggaaaa tgaaaggact ttggatttcc 1320  
 atgactccaa tgtgaagaat ctgtatgaga aagtaaaaag ccaattaaag aataatgcca 1380  
 aagaaatagg aaacgggtgt tttgagttct atcacaagtg taacaatgaa tgcattggaga 1440  
 gtgtgaaaaa tggtagctat gactatccaa aatattccga agaatacaag ttaaacaggg 1500  
 agaaaattga tggagtgaat ttggaatcaa tgggagtata ctaagagctc aggcct 1556

<210> 2

<211> 219

5 <212> ADN

<213> Virus de la influenza

<400> 2

ggtacctatg actatccaaa atattccgaa gaatcaaagt taaacagggg gaaaattgat	60
ggagtgaaat tggaatcaat gggagtatac cagattctgg cgatctactc aactgtcgcc	120
agttccctgg ttcttttggg ctccctgggg gcaatcagct tctggatgtg ttccaatggg	180
tctttgcagt gtagaatatg catctaagag ctcaggcct	219

5 <210> 3

<211> 1719

<212> ADN

<213> Virus de la influenza

<400> 3

10

aagcttatgg agaaaatagt gcttcttctt gcaatagtca gtcttgtaa aagtgatcag	60
atttgcattg gttaccatgc aaacaattca acagagcagg ttgacacaat catggaaaag	120
aacgttactg ttacacatgc ccaagacata ctggaaaaga cacacaacgg gaagctctgc	180
gatctagatg gagtgaagcc tctaatttta agagattgta gtgtagctgg atggctcttc	240
gggaacccaa tgtgtgacga attcatcaat gtaccggaat ggtcttacat agtggagaag	300
gccaatccaa ccaatgacct ctgttaccca gggagtcca acgactatga agaactgaaa	360
cacctattga gcagaataaa ccattttgag aaaattcaaa tcatcccaa aagttcttgg	420
tccgatcatg aagcctcctc aggagttagc tcagcatgtc catacctggg aagtcctctc	480
tttttttagaa atgtggtatg gcttatcaaa aagaacagta catacccaac aataaagaaa	540
agctacaata ataccaacca agaggatctt ttggtactgt ggggaattca ccatccta	600
gatgcggcag agcagacaag gctatatcaa aaccaacca cctatatttc cattgggaca	660
tcaacactaa accagagatt ggtaccaaaa atagctacta gatccaaagt aaacgggcaa	720

agtggaagga tggagttctt ctggacaatt ttaaaaccta atgatgcaat caacttcgag 780  
 agtaatggaa atttcattgc tccagaatat gcatacaaaa ttgtcaagaa aggggactca 840  
 gcaattatga aaagtgaatt ggaatatggt aactgcaaca ccaagtgtca aactccaatg 900  
 ggggcgataa actctagtat gccattccac aacatacacc ctctcaccat cggggaatgc 960  
 cccaaatatg tgaaatcaaa cagattagtc cttgcaacag ggctcagaaa tagccctcaa 1020  
 agagagagca gaagaaaaaa gagaggacta tttggagcta tagcaggttt tatagaggga 1080  
 ggatggcagg gaatggtaga tggttggtat gggtagcacc atagcaatga gcaggggagt 1140  
 gggtagcctg cagacaaaga atccactcaa aaggcaatag atggagtcac caataaggtc 1200  
 aactcaatca ttgacaaaat gaacactcag tttgaggccg ttggaaggga atttaataac 1260  
 ttagaaagga gaatagagaa tttaaacaag aagatggaag acgggtttct agatgtctgg 1320  
 acttataatg ccgaacttct ggttctcatg gaaaatgaga gaactctaga ctttcatgac 1380  
 tcaaattgta agaacctcta cgacaaggtc cgactacagc ttagggataa tgcaaaggag 1440  
 ctgggtaacg gttgttttga gttctatcac aaatgtgata atgaatgtat ggaaagtata 1500  
 agaaacggaa cgtacaacta tccgcagtat tcagaagaag caagattaaa aagagaggaa 1560  
 ataagtgggg taaaattgga atcaatagga acttaccaa tactgtcaat ttattcaaca 1620  
 gtggcgagtt ccctagcact ggcaatcatg atggctggtc tatctttatg gatgtgctcc 1680  
 aatggatcgt tacaatgcag aatttgcatt taagagctc 1719

<210> 4

<211> 25

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cebador

<400> 4

10 gtattagtaa ttagaatttg gtgtc 25

<210> 5

<211> 44

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Cebador

<400> 5

gcaagaagaa gcactatfff ctccatfff tctcaagatg atta 44

<210> 6

5 <211> 45

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cebador

10 <400> 6

ttaatcatct tgagagaaaa tggagaaaat agtgcttctt cttgc 45

<210> 7

<211> 38

<212> ADN

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cebador

<400> 7

actttgagct cttaaagca aattctgcat tgtaacga 38

20 <210> 8

<211> 1471

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Casete de expresión

<400> 8



```

agaggtaccc cgggctggta tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt      60
taagtttagca agtgtgtaca tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa      120
atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt      180
tgacaacaat tttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattgggtca      240
aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga      300
gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa      360
aagctacaca aataaggggt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg      420
taccattaga gaatttttgg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta      480
aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaatga attgatgaaa gagttggatt      540
aaagttgtat tagtaattag aatttggtgt caaatttaat ttgacatttg atcttttctt      600
atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa      660
ataacggtat attaatccct ccaaaaaaaaa aaaacggtat atttactaaa aaatctaagc      720
cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacaac      780
aatcctgatg agataacceca ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa      840
atcacacatt cttccacaca tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca      900
ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag      960
agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tggcgaaaaa cgttgcgatt     1020
ttcggettat tgttttctct tcttgtgttg gttccttctc agatctgagc tctaagttaa     1080
aatgcttctt cgtctcctat ttataatatg gtttggtatt gttaattttg ttcttgtaga     1140
agagcttaat taatcgttgt tgttatgaaa tactatttgt atgagatgaa ctggtgtaat     1200
gtaattcatt tacataagtg gagtcagaat cagaatgttt cctccataac taactagaca     1260
tgaagacctg ccgcgtacaa ttgtcttata ttgaacaac taaaattgaa catcttttgc     1320
cacaacttta taagtgggta atatagctca aatatatggg caagttcaat agattaataa     1380
tggaatatat agttatcgaa attcattaac aatcaactta acgttattaa ctactaatte     1440
tatatcatcc cctttgataa atgatagtac a                                     1471

```

<210> 9

5 <211> 565

<212> PRT

<213> Virus de la influenza

<400> 9

Met	Lys	Ala	Lys	Leu	Leu	Val	Leu	Leu	Cys	Thr	Phe	Thr	Ala	Thr	Tyr
1				5					10					15	
Ala	Asp	Thr	Ile	Cys	Ile	Gly	Tyr	His	Ala	Asn	Asn	Ser	Thr	Asp	Thr
			20					25					30		
Val	Asp	Thr	Val	Leu	Glu	Lys	Asn	Val	Thr	Val	Thr	His	Ser	Val	Asn
		35					40					45			
Leu	Leu	Glu	Asp	Ser	His	Asn	Gly	Lys	Leu	Cys	Leu	Leu	Lys	Gly	Ile
	50					55					60				
Ala	Pro	Leu	Gln	Leu	Gly	Asn	Cys	Ser	Val	Ala	Gly	Trp	Ile	Leu	Gly
65					70					75					80
Asn	Pro	Glu	Cys	Glu	Leu	Leu	Ile	Ser	Lys	Glu	Ser	Trp	Ser	Tyr	Ile
			85						90					95	
Val	Glu	Thr	Pro	Asn	Pro	Glu	Asn	Gly	Thr	Cys	Tyr	Pro	Gly	Tyr	Phe
			100					105					110		
Ala	Asp	Tyr	Glu	Glu	Leu	Arg	Glu	Gln	Leu	Ser	Ser	Val	Ser	Ser	Phe
	115						120					125			

Glu	Arg	Phe	Glu	Ile	Phe	Pro	Lys	Glu	Ser	Ser	Trp	Pro	Asn	His	Thr
130						135					140				
Val	Thr	Gly	Val	Ser	Ala	Ser	Cys	Ser	His	Asn	Gly	Lys	Ser	Ser	Phe
145					150					155					160
Tyr	Arg	Asn	Leu	Leu	Trp	Leu	Thr	Gly	Lys	Asn	Gly	Leu	Tyr	Pro	Asn
			165						170					175	
Leu	Ser	Lys	Ser	Tyr	Val	Asn	Asn	Lys	Glu	Lys	Glu	Val	Leu	Val	Leu
			180					185					190		
Trp	Gly	Val	His	His	Pro	Pro	Asn	Ile	Gly	Asn	Gln	Arg	Ala	Leu	Tyr
		195					200					205			
His	Thr	Glu	Asn	Ala	Tyr	Val	Ser	Val	Val	Ser	Ser	His	Tyr	Ser	Arg
	210					215					220				
Arg	Phe	Thr	Pro	Glu	Ile	Ala	Lys	Arg	Pro	Lys	Val	Arg	Asp	Gln	Glu
225					230					235					240
Gly	Arg	Ile	Asn	Tyr	Tyr	Trp	Thr	Leu	Leu	Glu	Pro	Gly	Asp	Thr	Ile
			245					250						255	
Ile	Phe	Glu	Ala	Asn	Gly	Asn	Leu	Ile	Ala	Pro	Trp	Tyr	Ala	Phe	Ala
			260				265						270		
Leu	Ser	Arg	Gly	Phe	Gly	Ser	Gly	Ile	Ile	Thr	Ser	Asn	Ala	Pro	Met
		275					280					285			
Asp	Glu	Cys	Asp	Ala	Lys	Cys	Gln	Thr	Pro	Gln	Gly	Ala	Ile	Asn	Ser
	290					295					300				
Ser	Leu	Pro	Phe	Gln	Asn	Val	His	Pro	Val	Thr	Ile	Gly	Glu	Cys	Pro
305					310					315					320
Lys	Tyr	Val	Arg	Ser	Ala	Lys	Leu	Arg	Met	Val	Thr	Gly	Leu	Arg	Asn
				325					330					335	
Ile	Pro	Ser	Ile	Gln	Ser	Arg	Gly	Leu	Phe	Gly	Ala	Ile	Ala	Gly	Phe
			340					345					350		
Ile	Glu	Gly	Gly	Trp	Thr	Gly	Met	Val	Asp	Gly	Trp	Tyr	Gly	Tyr	His
	355						360					365			
His	Gln	Asn	Glu	Gln	Gly	Ser	Gly	Tyr	Ala	Ala	Asp	Gln	Lys	Ser	Thr

370	375	380
Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu 385 390 395 400		
Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys Leu 405 410 415		
Glu Arg Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe Leu 420 425 430		
Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu 435 440 445		
Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys 450 455 460		
Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys 465 470 475 480		
Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Lys 485 490 495		
Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn 500 505 510		
Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln 515 520 525		
Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Val Leu Leu Val 530 535 540		
Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln 545 550 555 560		
Cys Arg Ile Cys Ile 565		

<210> 10

<211> 568

5 <212> PRT

<213> Virus de la influenza

<400> 10

Met Glu Lys Ile Val Leu Leu Leu Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser
1 5 10 15

Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val  
 20 25 30  
 Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile  
 35 40 45  
 Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys  
 50 55 60  
 Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn  
 65 70 75 80  
 Pro Met Cys Asp Glu Phe Ile Asn Val Pro Glu Trp Ser Tyr Ile Val  
 85 90 95  
 Glu Lys Ala Asn Pro Thr Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Ser Phe Asn  
 100 105 110  
 Asp Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn His Phe Glu  
 115 120 125  
 Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Ser Asp His Glu Ala Ser  
 130 135 140  
 Ser Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Leu Gly Ser Pro Ser Phe Phe  
 145 150 155 160  
 Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Ser Thr Tyr Pro Thr Ile  
 165 170 175  
 Lys Lys Ser Tyr Asn Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp  
 180 185 190  
 Gly Ile His His Pro Asn Asp Ala Ala Glu Gln Thr Arg Leu Tyr Gln  
 195 200 205  
 Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Ile Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg  
 210 215 220  
 Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly  
 225 230 235 240  
 Arg Met Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Pro Asn Asp Ala Ile Asn  
 245 250 255

Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Tyr Ala Tyr Lys Ile  
260 265 270

Val Lys Lys Gly Asp Ser Ala Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly  
275 280 285

Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Met Gly Ala Ile Asn Ser Ser  
290 295 300

Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys  
305 310 315 320

Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser  
325 330 335

Pro Gln Arg Glu Ser Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile  
340 345 350

Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr  
355 360 365

Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys  
370 375 380

Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser  
385 390 395 400

Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe  
405 410 415

Asn Asn Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp  
420 425 430

Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met  
435 440 445

Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu  
450 455 460

Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly  
465 470 475 480

Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu  
485 490 495

Ser Ile Arg Asn Gly Thr Tyr Asn Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala

500							505					510				
Arg	Leu	Lys	Arg	Glu	Glu	Ile	Ser	Gly	Val	Lys	Leu	Glu	Ser	Ile	Gly	
515							520					525				
Thr	Tyr	Gln	Ile	Leu	Ser	Ile	Tyr	Ser	Thr	Val	Ala	Ser	Ser	Leu	Ala	
530							535					540				
Leu	Ala	Ile	Met	Met	Ala	Gly	Leu	Ser	Leu	Trp	Met	Cys	Ser	Asn	Gly	
545							550					555				560
Ser	Leu	Gln	Cys	Arg	Ile	Cys	Ile									
565																

<210> 11

<211> 1629

5 <212> ADN

<213> Virus de la influenza A

<400> 11

gacaaaatat gtcttgggca ccatgctgtg gcaaattggaa caaaagtga cacattaaca	60
gagaggggga ttgaagtagt gaacgccaca gagacggtgg aaactgcaa tatcaagaaa	120
atatgtattc aagggaag gccaacagat ctgggacaat gtggacttct aggaacccta	180
ataggacctc cccaatgtga tcaattcctg gagttttact ctgatttgat aattgagcga	240
agagaaggaa ccgatgtgtg ctatcccggt aaattcacia atgaagaatc actgaggcag	300
atccttcgag ggtcaggagg aattgataag gagtcaatgg gtttcaccta tagtggata	360
agaaccaatg gagcgacaag tgcttgcaaa agatcagggt cttctttcta tgcagagatg	420
aagtgggtgc tgtcgaattc agacaatgcg gcattccctc aaatgacaaa gtcgtataga	480
aatcccagaa acaaaccagc tctgataatt tggggagttc atcactctgg atcggttagc	540
gagcagacca aactctatgg aagtggaaac aagttgataa cagtaggaag ctcaaaatac	600
cagcaatcat tcacccaag tccgggagca cggccacaag tgaatggaca atcagggaga	660
atcgattttc actggctact ccttgatccc aatgacacag tgaccttcac tttcaatggg	720
gcattcatag cccctgacag ggcaagtttc tttagaggag aatcactagg agtccagagt	780
gatgttcctc tggattctag ttgtggaggg gattgctttc acagtggggg tacgatagtc	840
agttccctgc cattccaaaa catcaaccct agaactgtgg ggagatgcc tgggtatgtc	900
aaacagacaa gctcctttt ggctacagga atgagaaatg ttccagagaa tccaaagccc	960
agaggccttt ttggagcaat tgctggattc atagagaatg gatgggaggg tctcatcgat	1020
ggatggtatg gtttcagaca tcaaaatgca caaggggaag gaactgcagc tgactacaaa	1080
agcaccat ctgcaataga tcagatcaca ggcaaattga atcgtctgat tgacaaaaca	1140
aatcagcagt ttgagctgat agacaatgag ttcaatgaga tagaacaaca aataggaaat	1200
gtcattaatt ggacacgaga cgcaatgact gaggtatggc cgtataatgc tgagctgttg	1260
gtggcaatgg aaaatcagca tacaatagat cttgaggact cagaaatgaa caaactttat	1320
gagcgtgtca gaaaacaact aaggggagaat gctgaagaag atggaactgg atgttttgag	1380
atattccata agtgtgatga tcagtgcag gagagcataa ggaacaacac ttatgaccat	1440
actcaataga gaacagagtc attgcagaat agaatacaga tagaccagc gaaattgagt	1500
agtggataga aagacataat cttatgggtt agcttcgggg catcatgttt tcttcttcta	1560
gccgttgtaa tgggattggg tttcatttgc ataaagaatg gaaacatgcg gtgcaccatt	1620
tgtatataa	1629



&lt;211&gt; 1773

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Virus de la influenza A

&lt;400&gt; 12

5

agcaaaagca ggggttatac catagacaac caaaggcaag acaatggcca tcatttatct	60
aattcttctg ttcacagcag tgagagggga ccaaatatgc attggatacc attccaacaa	120
ttccacagaa aagggttgaca caatcctaga gagaaatgtc actgtgactc acgctgagga	180
cattcttgag aagactcaca atgggaagtt atgcaaaacta aatgggaatcc ctccacttga	240
attaagggat tgcagcattg ccggatggct ccttggggaat ccagaatgtg atatacttct	300
aactgtgcca gaatggtcac acataataga aaaagaaaat ccaaggaacg gcttgtgcta	360
cccaggcagt ttcaatgatt atgaagaatt gaagcatctt atcagcagcg tgacacattt	420
tgagaaagta aagattctgc ccagaaatga atggacacag catacaacaa ctggagggtc	480
acaggcttgc gcagactatg gtggtcctgc attcttccgg aacatggtct ggttgacaaa	540
gaaagggtcg aattatccaa ttgccaaaag atcttacaac aatacaagtg ggaacaaat	600
gctgatcatt tgggggatac atcaccccaa tgatgaaagt gaacaaagag cattgtatca	660
gaatgtgggg acctatgtgt cagtaggaac atcaacactg aacaaaagat catccccaga	720
aatagcaaca agacctaaag tgaatggaca aggaggcaga atggaattct cgtggactat	780
cttagatata tgggacacaa taaattttga gagtactggc aatctaattg caccagaata	840
tggtttcaaa atatccaaac gaggtagtgc agggatcatg aaaacagaag gaaaacttga	900
aaactgagag accaagtgcc aaactccttt gggagcaata aatacaacat taccctttca	960
caatatccac ccactgacca ttggtgagtg ccccaaatat gtaaaatcgg aaagattagt	1020

cttagcaaca ggactaagaa acgtccctca gattgagtca aggggattgt ttggggcaat	1080
agctgggtttt atagaggggtg gatggcaagg aatggttgat ggttggtatg ggtatcatca	1140
cagcaatgac cagggatctg ggtatgcagc agacaaagaa tccactcaaa aggcaattga	1200
tggaatcacc aacaaggtaa attctgtgat cgaaaagatg aacacccaat tcggagctgt	1260
tggaaaagaa ttcagtaact tggagagaag actggagAAC ttgaataaaa agatggagga	1320
cggattttcta gatgtgtgga catacaatgc cgagctccta gttctaattgg aaaatgagag	1380
gacacttgac tttcatgatt ctaatgtcaa gaatctatat gataaagtca gaatgcaact	1440
gagagacaat gcaaaagaac tagggaatgg atgttttgaa ttttatcaca aatgtgatga	1500
tgaatgcatg aacagtgtga agaatgggac atatgattat tccaagtatg aagaggagtc	1560
taaactaaac aggactgaaa tcaaaggggt taaattgagc aatatggggg tttatcaaat	1620
ccttgccatc tatgctacag tagcaggttc cctgtcactg gcaatcatga tagctgggat	1680
ttctatatgg atgtgctcca acgggtctct gcaatgcaga atctgcatat gatcatcagt	1740
cattttgtaa ttaaaaacac ccttgtttct act	1773

<210> 13

<211> 1086

5 <212> ADN

<213> Virus de la influenza A

<400> 13

caaaaacttc ccggaatga caacagcacg gcaacgctgt gccttgggca ccatgcagta	60
ccaaacggaa cgatagtga aacaatcacg aatgaccaa ttgaagttac taatgctact	120
gagctgggtac agagttcctc aacaggtgga atatgcgaca gtcctcatca gatccttgat	180
ggagaaaact gcacactaat agatgctcta ttgggagacc ctgagtgtga tggcttccaa	240
aataagaaat gggacctttt tgttgaacgc agcaaagcct acagcaactg ttaccettat	300
gatgtgccgg attatgcctc ccttaggtca ctagttgcct catccggcac actggagttt	360
aacaatgaaa gcttcgattg gactggagtc actcagaatg gaacaagctc tgcttgcaaa	420
aggagatcta ataaaagttt ctttagtaga ttgaattggg tgaccactt aaaatacaaa	480
taccagcat tgaacgtgac tatgccaaac aatgaaaaat ttgacaaatt gtacatttgg	540
ggggttcacc acccgggtac ggacagtgc caaatcagcc tatatgctca agcatcagga	600
agaatcacag tctctaccaa aagaagcaa caaactgtaa tcccgaatat cggatctaga	660
cccagggtaa gggatgtctc cagccgaata agcatctatt ggacaatagt aaaaccggga	720
gacatacttt tgattaacag cacagggaat ctaattgctc ctgggggtta cttcaaaata	780
cgaagtggga aaagctcaat aatgagatca gatgcacca ttggcaaag caattccgaa	840
tgcatcactc caaatggaag cattcccaat gacaaaccat ttcaaatgt aaacaggatc	900
acatatgggg cctgtcccag atatgttaag caaaacactc tgaaattggc aacagggatg	960
cgaatgtac cagagaaaca aactagaggc atatttggcg caatcgcggg ttcatagaa	1020
aatgggtggg agggaatggt ggacggttgg tacggtttca ggcatcaaaa ttctgagggc	1080
acagga	1086

<210> 14

<211> 1048

5 <212> ADN

<213> Virus de la influenza A

<400> 14

atgctatcaa tcacgattct gttctctgctc atagcagagg gtccctctca gaattacaca	60
gggaatcccg tgatatgcct gggacatcat gccgatcca atgggacaat ggtgaaaacc	120
ctgactgatg accaagtaga agttgtcact gcccaagaat tagtggaatc gcaacatcta	180
ccggagttgt gtcctagccc ttttaagatta gtagatggac aaacttgtga catcgatcaat	240
ggtgccttgg ggagtccagg ctgtgatcac ttgaatggtg cagaatggga tgtcttcata	300
gaacgaccca ctgctgtgga cacttggtat ccatttgatg tgccggatta ccagagccta	360
cggagtatcc tagcaaacaa tgggaaattt gagttcattg ctgaggaatt ccaatggaac	420
acagtcaaac aaaatgggaa atccggagca tgcaaaagag caaatgtgaa tgactttttc	480
aacagattga actggctgac caaatctgat gggaatgcat acccacttca aaacctgaca	540
aaggttaaca acgggggacta tgcaagactt tacatatggg gagttcatca tccttcaact	600
gacacagaac aaaccaactt gtataagaac aacctggga gagtaactgt ttccacaaaa	660
accagtcaaa caagtgtggg accaaacatt ggcagtagac catgggtaag aggccaaagc	720
ggcaggatta gcttctattg gacaattgtg gagccaggag acctcatagt cttcaacacc	780
ataggggaatt taattgctcc gagagggtcat tacaagctta acagtcaaaa gaagagcaca	840
attctgaata ctgcaattcc cataggatct tgtgttagta aatgtcacac agataggggt	900
tcaatctcta caaccaaacc ctttcagaac atctcaagaa tatcaattgg ggactgtccc	960
aagtatgtca aacagggatc cttgaaacta gctacaggaa tgaggaatat ccctgagaaa	1020
gcaaccagag gcctgtttgg tgcaattg	1048

<210> 15

<211> 1707

5 <212> ADN

<213> Virus de la influenza A

<400> 15

atggagaaaa tagtgcttct tcttgcaata gtcagtcttg ttaaaagtga tcagatttgc	60
---	----

attggttacc atgcaaacaa ctcgacagag caggttgaca caataatgga aaagaacggt	120
actgttacac atgccaaga catactggaa aagacacaca acgggaaact ctgcgatcta	180
gatggagtga agcctctaata tttgagagat tgtagtgtag ctggatggct cctcggaaac	240
cctatgtgtg acgaattcat caatgtgccg gaatgggtctt acatagtgga gaaggccagt	300
ccagccaatg acctctgtta cccaggggat ttcaacgact atgaagaact gaaacaccta	360
ttgagcagaa taaaccactt tgagaaaatt cagatcatcc ccaaaagttc ttgggtccaat	420
catgaagcct catcaggggt gagcgcagca tgtccatacc atgggaagcc ctcttttttc	480
agaaatgtgg tatggcttat caaaaagaac agtgcatacc caacaataaa gaggagctac	540
aataatacca accaagaaga tcttttggta ctgtggggga ttcaccatcc taatgatgcg	600
gcagagcaga caaagctcta tcaaaaccca accacctata tttccgttgg aacatcaaca	660
ctaaaccaga gattgggtccc aaaaatagct actagatcca aagtaaacgg gcaaagtgga	720
agaatggagt tcttctggac aattttaaag ccgaatgatg ccataaattt cgagagtaat	780
ggaaatttca ttgctccaga atatgcatac aaaattgtca agaaagggga ctcagcaatt	840
atgaaaagtg aattggaata tggtaactgc aacaccaagt gtcaaaactcc aatgggggcg	900
ataaactcta gtatgccatt ccacaacata caccctctca caatcgggga atgccccaaa	960
tatgtgaaat caaacagatt agtccttgcg actggactca gaaatacccc tcaaagagat	1020
agaagaagaa aaaagagagg actatttggg gctatagcag gttttataga gggaggatgg	1080
caaggaatgg tagatgggtg gtatgggtac caccatagca atgagcaggg gagtggatac	1140
gctgcagaca aagaatccac tcaaaaggca atagatggag tcaccaataa ggtcaactcg	1200
atcattgaca aaatgaacac tcagtttgag gccgttggaa gggaatttaa taacttagaa	1260
aggaggatag aaaattttaa caagaagatg gaagacggat tcctagatgt ctggacttat	1320
aatgctgaac ttctggttct catggaaaat gagagaactc tagactttca tgattcaa	1380
gtcaagaacc tttaacaaca ggtccgacta cagcttaggg ataatgcaa ggagctgggt	1440
aatggttgtt tcgagttcta tcacaaatgt gataatgaat gtatggaaag tgtaaaaaac	1500
gggacgtatg actaccgca gtattcagaa gaagcaagac taaacagaga ggaaataagt	1560
ggagtaaaat tggaatcaat gggaacttac caaatactgt caatttattc aacagtggcg	1620
agttccctag cactggcaat catggtagct ggtctatctt tatggatgtg ctccaatggg	1680
tcgttacaat gcagaatttg catttaa	1707

<210> 16

<211> 1050

<212> ADN

<213> Virus de la influenza A

<400> 16

atgattgcaa tcattgtaat agcgatactg gcagcagccg gaaagtcaga caagatctgc	60
attgggtatc atgccaacaa ttcaacaaca caggtggata cgatacttga gaagaatgta	120
accgtcacac actcagttga attgctggag aatcagaagg aagaaagatt ctgcaagatc	180
ttgaacaagg cccctctcga cctaaaggga tgcaccatag agggttggat cttggggaat	240
ccccaatgcg atctgttgct tggtgaccaa agctgggcat atatagtgga aagacctact	300
gccc aaaatg ggatatgcta ccaggagct ttgaatgagg tagaagaact gaaagcattt	360
atcggatcag gagaaagggg agagagattt gagatgtttc ccaaaagcac atgggcaggg	420
gtagacacca gcagtggggg aacaaaagct tgtccttata atagtgggtc atctttctac	480
agaaacctcc tatggataat aaagaccaag tcagcagcgt atccagtaat taagggaact	540
tacagcaaca ctggaaacca gccaatcttc tatttctggg gtgtgcacca tctcctgac	600
accaatgagc aaaatactct gtatggctct ggcgatcggg atgttaggat gggaaactgag	660
agcatgaatt ttgccaagag ccagaaaatt gcggcaagac ccgctgtgaa tggccaaaga	720
ggtcgaattg attattactg gtctgtttta aaaccaggag aaaccttgaa tgtggaatct	780
aatggaaatc taatcgctcc ttggtatgca tacaaatttg tcaacacaaa taataaggga	840
gccgtcttca agtcaaattt accaatcgag aattgcgatg ccacatgcca gactattgca	900
ggagtcctaa ggaccaataa aacatttcag aatgtgagcc ctctgtggat aggagaatgc	960
ccaagtatg tgaaaagtga aagtctaagg cttgctactg gactaagaaa tgttccacag	1020
attgaaacca gagggctttt cggagctatc	1050

5

<210> 17

<211> 1698

<212> ADN

10 <213> Virus de la influenza A

<400> 17

atggaaaaat tcacgcgaat agcaaccttg gcgagcacia atgcatacga taggatatgc	60
attgggtacc aatcaaacia ctccacagac acagtgaaca ctctcataga acagaatgta	120
ccagtcaccc aaacaatgga gctcgtggaa acagagaaac atcccgttta ttgtaacact	180
gatttaggtg ccccatgga actgcgagac tgcaagattg aggcagtaat ctatgggaac	240
cccaagtgtg acatccatct gaaggatcaa ggttggtcat acatagtgga gaggccagc	300
gcaccagaag ggatgtgta ccctggatct gtggaaaatc tagaagaact gaggtttgtc	360
ttctccagtg ctgcatctta caagagaata agactatttg actattccag gtggaatgtg	420
actagatctg gaacgagtaa agcatgcaat gcatcaacag gtggccaatc cttctatagg	480
agcatcaatt ggttgaccaa aaaggaacca gacacttatg acttcaatga aggagcttat	540
gttaataatg aagatggaga catcattttc ttatggggga tccatcatcc gccggacaca	600
aaagagcaga caacactata taaaaatgca aacactttga gtagtggtac tactaacact	660
ataaacagaa gctttcaacc aaatattggt ccagagccat tagtaagagg acagcaaggg	720
aggatggatt actattgggg cattctgaaa agagggggaga ctctgaagat caggaccaac	780
ggaaatttaa tcgcacctga atttggttat ctgctcaaag gtgaaagcta cggcagaata	840
attcaaaatg aggatatacc catcgggaac tgtaacacia aatgtcaaac atatgcggga	900
gcaatcaata gcagcaaacc ctttcagaat gcaagtaggc attacatggg agaattgtccc	960
aaatatgtga agaaggcaag cttgcgactt gcagttgggc ttaggaatac gccttctgtt	1020
gaaccagag gactgtttgg agccattgct ggtttcattg aaggaggatg gtctggaatg	1080
attgatgggt ggtatggatt tcacacagc aattcagagg gaacaggaat ggcagctgac	1140
cagaaatcaa cacaagaagc catcgataag atcaccaata aagtcaacia tatagttgac	1200
aagatgaaca gggagtttga agttgtgaat catgagttct ctgaagttga aaaaagaata	1260
aacatgataa acgataaaat agatgaccaa attgaagatc tttgggttta caatgcagag	1320
ctccttgtgc tcttagagaa ccagaaaacg ctgacgaac atgattcaa tgtcaaaaac	1380
ctttttgatg aagtgaagag gagactgtca gccaatgcaa tagatgctgg gaacggttgc	1440
tttgacatac ttcacaaatg cgacaatgag tgtatggaaa ctataaagaa cggaacttac	1500
gatcataagg aatatgaaga ggaggctaaa ctagaagga gcaagataaa tggagtaaaa	1560
ctagaagaga acaccactta caaaattctt agcatttaca gtacagtggc ggccagtctt	1620
tgcttggcaa tcctgattgc tggaggttta atcctgggca tgcaaatgg atctttaga	1680
tgcatgttct gtatttga	1698

<210> 18

<211> 1363

<212> ADN

<213> Virus de la influenza A

5 <400> 18

```

atggaaacag tatcactaat gactatacta ctagtagcaa cagcaagcaa tgcagacaaa      60
atctgcatcg gccaccagtc aacaaactcc acagaaactg tggacacgct aacagaaacc      120
aatgttcttg tgacacatgc caaagaattg ctccacacag agcacaatgg aatgctgtgt      180
gcaacaaatc tgggacatcc cctaatttta gacacgtgca ctattgaagg actgatctat      240
ggtaaccctt cttgtgactt gctgttggga ggaagagaat ggtcctacat cgtcgaaagg      300
tcatcagctg taaatggaac gtgttaccct gggaatgtag agaacctaga ggaactcagg      360

acacttttta gtcccgctag ttctaccga agaatccaaa tcttcccaga cacaatctgg      420
aatgtgactt acactggaac aagcaaagca tgttcagatt cattctacag gagtatgaga      480
tggctgactc aaaaaagcgg gtcttaccct gttcaagacg ctcaatacac aaataatatg      540
ggaaagagca ttcttttcgt gtggggcata catcaccac ccactgaagc tgcacagaca      600
aatttgtaca caagaaccga cacaacaaca agcgtgacaa cagaagactt aaataggatc      660
ttcaaaccga tggtagggcc aaggcccctt gtcaatggtc tgcaggggaag aattaattat      720
tattggtcgg tactaaaacc aggccagaca ctgcgagtaa gatccaatgg gaatctaatt      780
gtcccatggt atggacacat tctttcggga gggagccatg gaagaatcct gaagactgat      840
ttaaaaagta gtaattgcgt agtgcaatgt cagactgaaa aaggcggcctt aaacagtaca      900
ttgccgttcc acaatatcag taaatatgca tttggaaact gtcccaaata tgntagagtt      960
aaaagtctca aactggcagt agggttgagg aacgtgcctg ctagatcaag tagaggacta     1020
ttcggagcca tagctggatt catagaagga ggttggccag gactagtcgc tggttggtat     1080
ggtttccagc attcaaata tcaaggggtt ggtattgcgg cagataggga ttcaactcaa     1140
aaggcaattg atagaataac aaccaagggtg aataatatag tgcacaaaat gaacaaacaa     1200
tatgaaataa ttgatcatga attcagtgag gttgaaacta ggctcaacat gatcaataat     1260
aagattgatg accaaatata agacatatgg gcatataatg cagagttgct agtactactt     1320
gaaaaccaga aaacactcga tgagcatgac gcaaatgtga aga                        1363

```

<210> 19

<211> 1727

10



<212> ADN

<213> Virus de la influenza A

<400> 19

5

agcaaaagca ggggtcacaa tgtacaaagt agtagtaata attgcgctcc ttggagcagt	60
gaaaggtctt gacagaatct gcctaggaca ccatgcggtt gccaatggaa ccattgtgaa	120
gacccttaca aatgaacaag aggaagtgac caatgctact gagacggtag agagcacaaa	180
tttgaataaa ttgtgtatga aaggaagaag ctacaaggac ttgggcaatt gtcacccggt	240
aggaatgttg ataggaacac ctgtttgtga tccgcacttg accgggacct gggacactct	300
cattgagcga gagaatgcc a ttgccactg ttatccaggg gcaaccataa atgaagaagc	360
attgaggcag aaaataatgg aaagtggagg aatcagcaag atgagcactg gcttcactta	420
tgggtcttcc atcacctcag ctgggaccac taaggcatgc atgagaaatg gaggagatag	480
tttctatgca gagctcaa at ggctagtgtc aaagacaaaag ggacaaaatt tccctcagac	540
aacaaacacc tatcgggaata cggacacagc agaacatctc ataatatggg gaattcatca	600
cccttccagc acacaggaaa agaatgactt atacggaact cagtcactat ctatatcagt	660
tgagagttct acatatcaga acaactttgt tccagttgtt ggggcaagac ctcagggtcaa	720
tggacaaaagt gggcgaattg actttcactg gacactagta cagccgggtg acaacataac	780
cttctcagac aatggagggtc taatagcacc aagtcgagtt agcaaattaa ctggaagggg	840
tttggggaatc caatcagaag cgttgataga caacagttgt gaatccaaat gcttttggag	900
aggggggttct ataaatacaa agctcccttt tcaaaatctg tcaccagaa cagtaggtca	960
atgccccaaa tacgtaaatc agaggagttt actgcttgca acagggatga ggaatgtgcc	1020
agaagtgggtg cagggaaggg gtctgttttg tgcaatagca gggttcatag aaaacggatg	1080
ggaaggaatg gtagacggct ggtatggttt cagacaccaa aatgccaggg gcacaggcca	1140
agctgctgat tacaagagta ctcaagcagc tattgaccaa atcacaggga aactgaacag	1200
gttgattgag aagaccaaca ctgagtttga gtcaatagaa tctgaattca gtgagactga	1260
gcatcaaatt ggtaacgtca ttaattggac caaagattca ataaccgaca tttggactta	1320
caacgcagag ctattagtgg caatggagaa tcagcacaca attgacatgg ctgattcaga	1380
gatgctaaat ctgtatgaaa gggttaagaaa gcaactcaga cagaatgcag aagaagacgg	1440
aaagggatgt tttgagatat atcatacttg tgatgattcg tgcattggaga gtataaggaa	1500
caatacttat gaccattcac aatacagaga ggaggctctt ctgaatagac tgaacatcaa	1560
cccagtga aa ctttcttcgg ggtacaaaga catcatactt tggtttagct tccgggaatc	1620
atgctttgtt cttctagccg ttgttatggg tcttgtttct ttctgcctga aaaatggaaa	1680
catgcgatgc acaatctgta tttagttaaa aacaccttgt ttctact	1727

<210> 20

<211> 1698

<212> ADN

<213> Virus de la influenza A

5 <400> 20

atggagaaaa cactgctatt tgcagctatt ttcctttgtg tgaaagcaga tgagatctgt	60
atcgggtatt taagcaacaa ctgacagac aaagttgaca caataattga gaacaatgtc	120
acggtcacta gctcagtgga actggttgag acagaacaca ctggatcatt ctgttcaatc	180
aatggaaaac aaccaataag ccttgagat tgttcatttg ctggatggat attaggaaac	240
cctatgtgtg atgaactaat tggaaagact tcatggtctt acattgtgga aaaaccaat	300
ccaacaaatg gaatctgtta cccaggaact ttagagagtg aagaagaact aagactgaaa	360
ttcagtggag ttttagaatt taacaaattc gaagtattca catcaaattg atggggtgct	420
gtaaattcag gagtaggagt aaccgctgca tgcaaattcg ggggttctaa ttctttcttt	480

cgaaacatgg tatggctgat acaccaatca ggaacatatc ctgtaataaa gagaaccttt 540  
aacaacacca aagggagaga tgtactgatt gtttggggaa ttcacatcc tgctacactg 600  
acagaacatc aagatctgta taaaaaggac agctcctatg tagcagtggg ttcagagacc 660  
tacaacagaa gattcactcc agaaatcaac actaggccca gagtcaatgg acaggccgga 720  
cggatgacat tctactggaa gatagtcaaa ccaggagaat caataacatt cgaatctaatt 780  
ggggcgttcc tagctcctag atatgctttt gagattgtct ctgttggaat tgggaaactg 840  
ttcaggagcg aactgaacat tgaatcatgc tctaccaaatt gtcaaacaga aataggagga 900  
attaatacga acaaaagctt ccacaatgtt cacagaaaca ctatcgggga ttgccccaaag 960  
tatgtgaatg tcaaactcctt aaagcttgca acaggaccta gaaatgtccc agcaatagca 1020  
tcgagagggt tgtttggagc aatagctgga ttcatagaag ggggatggcc tggactgatc 1080  
aatggatggg atgggttcca acacaggggac gaagaaggaa caggcattgc agcagacaag 1140  
gagtcaactc aaaaggcaat agaccagata acatccaagg taaataacat cgttgacagg 1200  
atgaatacaa actttgagtc tgtgcaacac gaattcagtg aaatagagga aagaataaat 1260  
caattatcaa aacacgtaga tgattctgtg gttgacatct ggtcatataa tgcacagctt 1320  
ctcgttttac ttgaaaatga gaagacactg gacctcatg actcaaattg caggaacctc 1380  
catgagaaag tcagaagaat gctaaaggac aatgccaaag atgaggggaa cggatgcttc 1440  
accttttacc ataagtgtga caataaatgc attgaacgag ttagaaacgg aacatatgat 1500  
cataaagaat tcgaggagga atcaaaaatc aatcgccagg agattgaagg ggtgaaacta 1560  
gattctagtg ggaatgtgta taaaatactg tcaatttaca gctgcattgc aagcagtctt 1620  
gtattggcag cactcatcat ggggttcatg ttttgggcat gcagtaatgg atcatgtaga 1680  
tgtaccattt gcatttag 1698

<210> 21

<211> 1695

5 <212> ADN

<213> Virus de la influenza A

<400> 21

atggaaaaat tcatcatttt gagtactgtc ttggcagcaa gctttgcata tgacaaaatt	60
tgcatctggat accaaacaaa caactcgact gaaacggtaa acacactaag tgaacaaaaac	120
gttccggtga cgcaggtgga agaacttgta catcgtggga ttgatccgat cctgtgtgga	180
acggaactag gatcaccact agtgcttgat gactgttcat tagagggctt aatcctaggc	240
aatcccaaat gtgatcttta tttgaatggc aggggaatggt catacatagt agagaggccc	300
aaagagatgg aaggagtttg ctatccaggg tcaattgaaa accaggaaga gctaagatct	360
ctgttttctt ccatcaaaaa atatgaaaga gtgaagatgt ttgatttcac caaatggaat	420
gtcacatata ctgggaccag caaggcctgc aataatacat caaaccaagg ctcatcttat	480
aggagcatga gatgggtgac cttaaaatca ggacaatttc cagtccaaac agatgagtac	540
aagaacacca gagattcaga cattgtattc acctgggcca ttcaccaccc accaacatct	600
gatgaacaag taaaattata caaaaatcct gatactctct cttcagtcac caccgtagaa	660
atcaatagga gcttcaagcc taatataggg ccaagaccac tcgtgagagg acaacaaggg	720
agaatggatt actactgggc tgttcttaaa cctggacaaa cagtcaaaat acaaaccaat	780
ggtaatctta ttgcacctga atatggtcac ttaatcacag ggaaatcaca tggcaggata	840
ctcaagaata atttgcccac gggacagtgt gtgactgaat gtcaattgaa cgaggggtga	900
atgaacacaa gcaaaccctt ccagaacact agtaagcact atattgggaa atgccccaaa	960
tacataccat cagggagttt aaaattggca ataggggtca ggaatgtccc acaagttcaa	1020
gatcgggggc tctttggagc aattgcaggt ttcatagaag gcggatggcc agggctagtg	1080
gctgggttgg acggatttca gcatcaaaat gcggagggga caggcatagc tgcagacaga	1140
gacagcacc aaagggcaat agacaatatg caaaacaaac tcaacaatgt catcgacaaa	1200
atgaataaac aatttgaagt ggtgaatcat gagttttcag aagtggaaag cagaataaac	1260
atgattaatt ccaaaattga tgatcagata actgacatat gggcatacaa tgctgaattg	1320
cttgtcctat tggaaaatca gaagacatta gatgagcatg acgctaattg aaggaatcta	1380
catgatcggg tcagaagagt cctgagggaa aatgcaattg acacaggaga cggctgcttt	1440
gagattttac ataaatgtga caacaattgt atggacacga ttagaaacgg gacatacaat	1500
cacaaagagt atgaggaaga aagcaaaatc gaacgacaga aagtcaatgg tgtgaaactt	1560
gaggagaatt ctacatataa aattctgagc atctacagca gtgttgccctc aagcttagtt	1620
ctactgctca tgattattgg gggtttcatt ttcgggtgtc aaaatggaaa tgttcgttgt	1680
actttctgta tttaa	1695

<211> 1701

<212> ADN

<213> Virus de la influenza A

<400> 22

5

atggctctaa atgtcattgc aactttgaca cttataagtg tatgtgtaca tgcagacaga	60
atatgcgtgg ggtatctgag caccaattca tcagaaaggg tcgacacgct ccttgaaaat	120
ggggteccag tcaccagctc cattgatctg attgagacaa accacacagg aacatactgt	180
tctctaaatg gagtcagtc agtgcatttg ggagattgca gctttgaagg atggattgta	240

ggaaacccag cctgcaccag caactttggg atcagagagt ggtcacacct gattgaggac 300  
 cccgcggccc ctcatgggct ttgctaccct ggagaattaa acaacaatgg tgaactcaga 360  
 cacttggttca gtggaatcag gtcattcagt agaacggaat tgatcccacc tacctcctgg 420  
 ggggaagtac ttgacggtag aacatctgct tgcagagata acacgggaac caacagcttc 480  
 tatcgaaatt tagtttgggt tataaagaag aatactagat atccagttat cagtaagacc 540  
 tacaacaata caacgggaag ggatgtttta gttttatggg gaatacatca cccagtgtct 600  
 gtggatgaga caaagactct gtatgtcaat agtgatecat acacactggg ttccaccaag 660  
 tcttgagcgc agaaatataa actagaaacg ggagtccgac ctggctataa tggacagagg 720  
 agctggatga aaatttattg gtctttgata catccagggg agatgattac ttctgagagt 780  
 aatggtggat ttttagcccc aagatatggg tacataattg aagaatatgg aaaaggaagg 840  
 attttccaga gtcgcatcag aatgtctagg tgcaacacca agtgccagac ttcggttggg 900  
 gggataaaca caaacagaac gtccaaaac atcgataaga atgctcttgg tgactgtccc 960  
 aaatacataa agtctggcca actcaagcta gccactggac tcagaaatgt gccagctata 1020  
 tcgaatagag gattgttcgg agcaattgca gggttcatag aaggaggctg gccaggttta 1080  
 atcaatgggt ggtacgggtt tcagcatcaa aatgaacagg gaacaggaat agctgcagac 1140  
 aaagaatcaa cacagaaagc tatagaccag ataacaacca aaataaataa cattattgat 1200  
 aaaatgaatg ggaactatga ttcaattagg ggtgaattca atcaagttga gaagcgtata 1260  
 aacatgcttg cagacagaat agatgatgcc gtgacggaca tttggtcata caatgccaaa 1320  
 cttcttgtat tgctggaaaa tgataaaact ttagatatgc atgatgctaa tgtaaagaat 1380  
 ttacatgagc aagtacgaag agaattgaag gacaatgcaa ttgacgaagg aaatggctgt 1440  
 ttgaaactcc ttcataaatg caatgactcc tgcattgaaa ctataagaaa tggaaactat 1500  
 gaccacactg agtatgcaga ggagtcaaag ttaaagaggc aagaaatcga tgggatcaaa 1560  
 ctcaaactag aagacaacgt ttacaaagca ttatcaatat acagttgcat tgcaagtagt 1620  
 gttgtactag taggactcat actctcttcc atcatgtggg cctgtagtag tgggaattgc 1680  
 cgattcaatg tttgtatata a 1701

<210> 23

<211> 1749

5 <212> ADN

<213> Virus de la influenza A

<400> 23

agcaaaagca ggggaaaatg attgcactca tattggttgc actggctctg agccacactg	60
cttatttctca gatcacaaat gggacaacag gaaaccccat tatatgcttg gggcatcatg	120
cagtggaaaa cggcacatct gttaaaacac taacagacaa tcacgtagaa gttgtgtcag	180
ctaaagaatt agttgagacg aaccacactg atgaactgtg cccaagcccc ttgaagcttg	240
tcgacgggca agactgccac ctcatcaatg gtgcattggg gagtccaggc tgtgaccgtt	300
tgcaggacac cacttgggat gtcttcattg aaaggccac tgcagtagac acatgttata	360
cattcgacgt cccagattac cagagtctca gaagcctct agcaagcagt gggagtttgg	420
agttcatcgc cgaacaattc acctggaatg gtgtcaaagt tgacggatca agcagtgtt	480
gtttgagggg cggtcgcaac agcttcttct cccgactaaa ctggctaacc aaagcaacaa	540
atggaaaacta tggacctatt aacgtcacta aagaaaatac gggctcttat gtcaggctct	600
atctctgggg agtgcatac ccatcaagcg ataatgagca aacggatctc tacaagggtg	660
caacagggag agtaacagta tctacccgct cggaccaa at cagtattgtt cccaatatag	720
gaagtagacc gagggtaagg aatcagagcg gcaggataag catctactgg accctagtaa	780
accagggga ctccatcatt ttcaacagta ttgggaattt gattgcacca agaggccact	840
acaaaataag caaatctact aagagcacag tgcttaaaag tgacaaaagg attgggtcat	900
gcacaagccc ttgcttaact gataaagggt cgatccaaag tgacaaacct tttcagaatg	960
tatcaaggat tgctatagga aactgcccga aatatgtaaa gcaaggggtc ctgatgttag	1020
caactggaat gcgcaacatc cctggcaaac aggcaaaggg cttatttggg gcaattgctg	1080
gattcattga aaatggttgg caaggcctga ttgatgggtg gtatggattc aggcaccaaa	1140
atgctgaagg aacaggaact gctgcagacc tgaagtcaac tcaggcagcc attgatcaga	1200
taaatggcaa gctgaacaga ttgatagaga agacaaatga aaaatatcac caaatagaaa	1260
aggaattcga acaggtggaa ggaagaatac aagacctga gaagtacgtt gaggacacta	1320
agattgattt gtggtcatac aatgctgaat tgctagtagc actagagaat cagcacacaa	1380
tagatgtcac agactccgaa atgaacaagc tttttgaaag agtaagaagg caattaagag	1440
agaatgcaga agatcaaggc aacggttgtt tcgagatatt ccatcagtgt gacaacaatt	1500
gtatagaaag cattagaaac ggaacttatg accacaacat ctacagggat gaagccatca	1560
acaatcgaat caaaataaat cctgtcactt tgacgatggg gtacaaggac ataatcctgt	1620
ggatttcttt ctccatgtca tgctttgtct tcgtggcact gattctggga tttgttctat	1680
gggcttgtca aaacgggaat atccgatgcc aaatctgtat ataaagaaaa aacacccttg	1740
tttctactc	1749



<210> 24

<211> 1762

<212> ADN

5 <213> Virus de la influenza A

<400> 24

agcaaaagca ggggatacaa aatgaacact caaatcatcg tcattctagt cctcggactg	60
tcgatgggtga gatctgacaa gatttgtctc gggcaccatg ccgtagcaaa tgggacaaaa	120
gtcaacacac taactgagaa aggagtggaa gtggtcaatg ccacggagac agtggagatt	180
acaggaataa ataaagtgtg cacaaaaggg aagaaagcgg tggacttggg atcttgtgga	240
atactgggaa ctatcattgg gcctccacaa tgtgactctc atcttaaatt caaagctgat	300
ctgataatag aaagaagaaa ttcaagtgaac atctgttacc cagggaaatt cactaatgag	360
gaagcactga gacaaataat cagagaatct ggtggaattg acaaagagcc aatgggattt	420
agatattcag gaataaaaac agacggggca accagtgcgt gtaagagaac agtgcctct	480
ttctactcag aaatgaaatg gcttttatcc agcaaggcta accaggtgtt cccacaactg	540
aatcagacat acaggaacaa cagaaaagaa ccagccctaa ttgtttgggg agtacatcat	600
tcaagttcct tggatgagca aaataagcta tatggagctg ggaacaagct gataacagta	660
ggaagctcaa aataccaaca atcgttttca ccaagtccag gggacaggcc caaagtgaat	720
ggtcaggccg ggaggatcga ctttcattgg atgctattgg acccagggga tacagtcact	780
tttaccttca atggtgcatt catagcccca gatagagcca cttttctccg ctctaattgcc	840
ccatcgggag ttgagtacaa tgggaagtca ctgggaatac agagtgatgc acaaattgat	900
gaatcatgtg aaggggaatg cttctacagt ggaggggacaa taaacagccc tttgccattt	960
caaaacatcg atagttgggc tgtcgggaagg tgccccagat atgtaaagca atcaagcctg	1020
ccgctggcct taggaatgaa aaatgtacca gagaaaatac atactagggg actgttcggt	1080
gcaattgcag gattcatcga gaatggatgg gaaggactca ttgatggatg gtatggattt	1140
aggcatcaaa atgcacaggg gcaggggaaca gctgctgact acaagagtac tcaggctgca	1200
attgaccaga taacaggga acttaataga ttaattgaaa aaaccaacac acagtttgaa	1260
ctcatagaca atgagttcac tgaagtggag cagcagatag gcaatgtaat aaactggaca	1320
agggactcct tgactgagat ctggtcatac aatgctgaac ttctagtagc aatggaaaat	1380
cagcatacaa ttgaccttgc agattctgaa atgaacaaac tctatgagag agtgagaaga	1440
cagctaaggg agaatgccga ggaggatgga actggatgtt ttgagatttt ccaccgatgt	1500
gacgatcaat gtatggagag catacgaaat aatacttaca atcacactga atatcgacag	1560
gaagcettac agaataggat aatgatcaat ccggtaaagc ttagtgggtg gtacaaagat	1620
gtgatactat ggttttagctt cggggcatca tgtgtaatgc ttctagccat tgctatgggt	1680
cttatttttca tgtgtgtgaa aaacgggaat ctgcggtgca ctatctgtat ataattattt	1740
gaaaaacacc cttgttttcta ct	1762

<210> 25

<211> 1760

<212> ADN

<213> Virus de la influenza A

5 <400> 25

agcaaaagca ggggatattg tcaaaacaac agaatgggtga tcaaagtgct ctactttctc	60
atcgtattgt taagtaggta ttcgaaagca gacaaaatat gcataggata tctaagcaac	120
aacgccacag acacagtaga cacactgaca gagaacggag ttccagtgaac cagctcagtt	180
gatctcgttg aaacaaacca cacaggaaca tactgctcac tgaatggaat cagcccaatt	240
catcttggtg actgcagctt tgagggatgg atcgtaggaa acccttcttg tgccaccaac	300
atcaacatca gagagtggtc gtatctaatt gaggacccca atgcccccaa caaactctgc	360
ttcccaggag agttagataa taatggagaa ttacgacatc tcttcagcgg agtgaactct	420
tttagcagaa cagaattaat aagtcccaac aaatggggag acattctgga tggagtcaac	480
gcttcttgcc gcgataatgg ggcaagcagt ttttacagaa atttggtctg gatagtgaag	540
aataaaaatg gaaaataccc tgtcataaag ggggattaca ataacacaac aggcagagat	600
gttctagtag tctggggcat tcaccatccg gatacagaaa caacagccat aaacttgtag	660
gcaagcaaaa acccctacac attagtatca acaaaggaat ggagcaaaag atatgaacta	720
gaaattggca ccagaatagg tgatggacag agaagttgga tgaaactata ttggcacctc	780
atgcgccctg gagagaggat aatgtttgaa agcaacgggg gccttatagc gccagatac	840
ggatacatca ttgagaagta cggtacagga cgaattttcc aaagtggagt gagaatggcc	900
aaatgcaaca caaagtgtca aacatcatta ggtgggataa acaccaacaa aactttccaa	960
aacatagaga gaaatgctct tggagattgc ccaaagtaca taaagtctgg acagctgaag	1020
cttgcaactg ggctgagaaa tgtcccatcc gttggtgaaa gaggtttggt tgggtgaatt	1080
gcaggcttca tagaaggagg gtggcctggg ctaattaatg gatggtagg tttccagcat	1140
cagaatgaac aggggactgg cattgctgca gacaaagcct ccaactcagaa agcgatagat	1200
gaaataacaa caaaaattaa caatataata gagaagatga acggaaacta tgattcaata	1260
agaggggaat tcaatcaagt agaaaagagg atcaacatgc tcgctgatcg agttgatgat	1320
gcagtaactg acatatggtc gtacaatgct aaacttcttg tactgcttga aaatgggaga	1380
acattggact tacacgacgc aaatgtcagg aacttacacg atcaggtcaa gagaatattg	1440
aaaagtaatg ctattgatga aggagatggg tgcttcaatc ttcttcacaa atgtaatgac	1500
tcatgcatgg aaactattag aaatgggacc tacaatcatg aagattacag ggaagaatca	1560
caactgaaaa ggcaggaaat tgagggaata aaattgaagt ctgaagacaa tgtgtataaa	1620
gtactgtcga tttatagctg cattgcaagc agtattgtgc tggtaggtct catacttgcg	1680
ttcataatgt gggcatgcag caatggaaat tgccggttta atgtttgtat atagtcggaa	1740
aaaataccct tgtttctact	1760

<210> 26

<211> 1882

<212> ADN

<213> Virus de la influenza A

5 <400> 26

```

agcagaagcg ttgcattttc taatatccac aaaatgaagg caataattgt actactcatg      60
gtagtaacat ccaatgcaga tcgaatctgc actgggataa catcgtcaaa ctcacctcat      120
gtggttaaaa ctgccactca aggggaagtc aatgtgactg gtgtgatacc actaacaaca      180
acacctacca aatctcattt tgcaaatctc aaaggaacac agaccagagg aaaactatgc      240
ccaaactggt ttaactgcac agatctggac gtggccctag gcagaccaa atgcatgggg      300
aacacaccct ccgcaaaagt ctcaatactc catgaagtca aacctgctac atctggatgc      360
tttctataa tgcacgacag aacaaaaatc agacaactac ctaatcttct cagaggatat      420
gaaaacatca ggttatcaac cagtaatggt atcaatacag agacggcacc aggaggaccc      480
tacaagggtg ggacctcagg atcttgcctt aacggtgcta atgggaacgg cttcttcaac      540
acaatggctt gggttatccc aaaagacaac aacaagacag caataaatcc agtaacagta      600
gaagtacat acatttggtc agaaggggaa gaccaaatta ctgtttgggg gttccactct      660
gatgacaaaa cccaaatgga aagactctat ggagactcaa atcctcaaaa gttcacctca      720
tctgccaatg gagtaaccac acattatggt tctcagattg gtggcttccc aatcaaaaca      780
gaagacgaag ggctaaaaca aagcggcaga attgttggtg attacatggt aaaaaaacct      840
ggaaaaacag gaacaattgt ttatcaaaga ggcattttat tgcctcaaaa agtgtggtgc      900
gcaagtggca ggagcaaggt aataaaaggg tccttgcctt taattggtga agcagattgc      960
ctccacgaaa agtacggtgg attaaataaa agcaagcctt actacacagg agagcatgca     1020
aaggccatag gaaattgccc aatatgggtg aaaacaccct tgaagctggc caatggaacc     1080
aaatatagac cgctgcaaa actattaaag gaaagagggt tcttcggagc tattgctggt     1140
ttcttggaag gaggatggga aggaatgatt gcaggttggc acggatacac atctcatgga     1200
gcacatggag tggcagtggc agcagacctt aagagtacac aagaagctat aaacaagata     1260
aaaaaaaatc tcaactatct aagtgaagta gaagtaaaaa accttcaaag actaagcgga     1320
gcaatgaatg agcttcacga cgaaatactc gagctagacg aaaaagtggg tgatctaaga     1380

```

```

gctgatacaa taagctcaca aatagagctt gcagtcttgc tttccaacga agggataata 1440
aacagtgaag atgagcatct cttggcactt gaaagaaaac tgaagaaaat gcttggeccc 1500
tctgctgtag aaatagggaa tgggtgcttt gaaaccaaac acaaatgcaa ccagacttgc 1560
ctagacagga tagctgctgg cacctttaat gcaggagatt tttctcttcc cacttttgat 1620
tcattaaaca ttactgctgc atctttaaat gatgatggct tggataatca tactatactg 1680
ctctactact caactgctgc ttctagcttg gctgtaacat taatgatagc tatcttcatt 1740
gtctacatgg tctccagaga caatgtttct tgttccatct gtctgtgagg gagattaagc 1800
cctgtgtttt cctttactgt agtgctcatt tgcttgtcac cattacaaag aaacggtatt 1860
gaaaaatgct cttgttacta ct 1882

```

<210> 27

<211> 2073

5 <212> ADN

<213> Virus de la influenza A

<400> 27

agcagaagca ggggggtaat aatgtttttc tcattactct tgggtgttggg cctcacagag	60
gctgaaaaaa taaagatatg ccttcaaaag caagtgaaca gtagcttcag cctacacaat	120
ggcttcggag gaaatttgta tgccacagaa gaaaaaagaa tgtttgagct tgtaagccc	180
aaagctggag cctctgtctt gaatcaaagt acatggattg gctttggaga ttcaaggact	240
gacaaaagca attcagcttt tcctaggtct gctgatgttt cagcaaaaac tgctgataag	300
tttcgttttt tgtctggtgg atccttaatg ttgagtatgt ttggcccacc tgggaaggta	360
gactaccttt accaaggatg tggaaaacat aaagtttttt atgaaggagt taactggagt	420
ccacatgctg ctataaattg ttacagaaaa aattggactg atatcaaact gaatttccag	480
aaaaacattt atgaattggc ttcacaatca cattgcatga gcttggtgaa tgccttggac	540
aaaactattc ctttacaagt gactgctggg actgcaggaa attgcaacaa cagcttctta	600
aaaaatccag cattgtacac acaagaagtc aagccttcag aaaacaaatg tgggaaagaa	660
aatcttgctt tcttcacact tccaacccaa tttggaacct atgagtgcaa actgcatctt	720
gtggcttctt gctatttcat ctatgatagt aaagaagtg tacaataaaag aggatgtgac	780
aactactttc aagtgatcta tgattcattt ggaaaagtcg ttggaggact agataacagg	840
gtatcacctt acacagggaa ttctggagac accccaacaa tgcaatgtga catgctccag	900
ctgaaacctg gaagatattc agtaagaagc tctccaagat tccttttaat gcctgaaaga	960
agttattgct ttgacatgaa agaaaaagga ccagtcactg ctgtccaatc cttttgggga	1020
aaaggcagag aatctgacta tgcagtggat caagcttgct tgagcactcc aggggtgcatg	1080

ttgatccaaa agcaaaagcc atacattgga gaagctgatg atcaccatgg agatcaagaa	1140
atgagggagt tgctgtcagg actggactat gaagctagat gcatatcaca atcaggggtgg	1200
gtgaatgaaa ccagtccttt tacggagaaa tacctccttc ctcccaaatt tggaagatgc	1260
cctttggctg caaaggaaga atccattcca aaaatcccag atggccttct aattcccacc	1320
agtggaaccg ataccactgt aaccaaacct aagagcagaa tttttggaat cgatgacctc	1380
attattggtg tgctctttgt tgcaatcgtt gaaacaggaa ttggaggcta tctgcttggg	1440
agtagaaaag aatcaggagg aggtgtgaca aaagaatcag ctgaaaaagg gtttgagaaa	1500
attggaaatg acatacaaat tttaaaatct tctataaata tcgcaataga aaaactaaat	1560
gacagaattt ctcatgatga gcaagccatc agagatctaa ctttagaaat tgaaaatgca	1620
agatctgaag ctttattggg agaattggga ataataagag ccttattggt aggaaatata	1680
agcataggat tacaggaatc tttatgggaa ctagcttcag aaataacaaa tagagcagga	1740
gatctagcag ttgaagtctc ccaggttgc tggataattg acaataacat ttgtgatcaa	1800
agctgtcaaa attttatttt caagttcaac gaaactgcac ctgttccaac cattccccct	1860
cctgacacaa aaattgatct gcaatcagat cctttttact ggggaagcag cttgggctta	1920
gcaataactg ctactatttc attggcagct ttggtgatct ctgggatcgc catctgcaga	1980
actaaatgat tgagacaatt ttgaaaaatg gataatgtgt tggatcaatat tttgtacagt	2040
tttataaaaa acaaaaatcc ccttgctact gct	2073

<210> 28

<211> 1670

5 <212> ADN

<213> Virus de la influenza

<400> 28



agatcttcgc tgacacaata tgtataggct accatgccaa caactcaacc gacactgttg	60
acacagtact tgagaagaat gtgacagtga cacactctgt caacctactt gaggacagtc	120
acaatggaaa actatgtcta ctaaaaggaa tagcccccact acaattgggt aattgcagcg	180
ttgccggatg gatcttagga aaccagaat gcgaattact gatttccaag gaatcatggg	240
cctacattgt agaaacacca aatcctgaga atggaacatg ttacccaggg tatttcgccg	300
actatgagga actgagggag caattgagtt cagtatcttc atttgagaga ttcgaaatat	360
tcccaaaga aagctcatgg cccaaccaca ccgtaaccgg agtatcagca tcatgctccc	420
ataatgggaa aagcagtttt tacagaaatt tgctatggct gacggggaag aatggtttgt	480
accaaacct gagcaagtcc tatgtaaaca acaaagagaa agaagtcctt gtactatggg	540
gtgttcatca ccgcctaac atagggaacc aaagggcact ctatcataca gaaaatgctt	600
atgtctctgt agtgtcttca cattatagca gaagattcac ccagaaaata gccaaaagac	660
ccaaagtaag agatcaggaa ggaagaatca actactactg gactctgctg gaacctgggg	720
atacaataat atttgaggca aatggaaatc taatagcgcc atgggatgct tttgactga	780
gtagaggctt tggatcagga atcatcacct caaatgcacc aatggatgaa tgtgatgca	840
agtgtcaaac acctcagga gctataaaca gcagtcttcc tttccagaat gtacaccag	900
tcacaatagg agagtgtcca aagtatgtca ggagtgcaa attaaggatg gttacaggac	960
taaggaacat cccatccatt caatccagag gtttgtttg agccattgcc ggtttcattg	1020
aaggggggtg gactggaatg gtagatgggt ggtatggta tcatcatcag aatgagcaag	1080
gatctggcta tgctgcagat caaaaaagta caaaaaatgc cattaacggg attacaaaca	1140
aggtaattc tgtaattgag aaaatgaaca ctcaattcac agctgtgggc aaagagttca	1200
acaaattgga aagaaggatg gaaaacttaa ataaaaaagt tgatgatggg tttctagaca	1260
tttggacata taatgcagaa ttgttggttc tactggaaaa tgaaaggact ttggatttcc	1320
atgactccaa tgtgaagaat ctgtatgaga aagtaaaaag ccaattaaag aataatgcca	1380
aagaaatagg aaacgggtgt tttgagttct atcacaagtg taacaatgaa tgcattggaga	1440
gtgtgaaaaa tgggtacctat gactatccaa aatattccga agaatacaag ttaaacaggg	1500
agaaaattga tggagtgaat ttggaatcaa tgggagtata ccagattctg gcgatctact	1560
caactgtcgc cagttccctg gttcttttgg tctccctggg ggcaatcagc ttctggatgt	1620
gttccaatgg gtctttgcag tgtagaatat gcattcaaga gctcaggcct	1670

<210> 29

<211> 32

<212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Cebador  
 5 <400> 29  
 agtccccgg gctggtatat ttatatgttg tc 32  
 <210> 30  
 <211> 46  
 <212> ADN  
 10 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Cebador  
 <400> 30  
 aatagagctc cattttctct caagatgatt aattaattaa ttagtc 46  
 15  
 <210> 31  
 <211> 46  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> Cebador  
 <400> 31  
 aatagagctc gttaaaatgc ttcttcgtct cctatttata atatgg 46  
 <210> 32  
 25 <211> 48  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Cebador  
 30 <400> 32

ttacgaattc tccttcctaa ttggtgtact atcattatc aaagggga 48

<210> 33

<211> 1711

<212> ADN

5 <213> Virus de la influenza

<400> 33

atgaaagcaa aactactggt cctggttatgt acatttacag ctacatatgc agacacaata	60
tgtataggct accatgccaa caactcaacc gacactgttg acacagtact tgagaagaat	120
gtgacagtga cacactctgt caacctactt gaggacagtc acaatggaaa actatgtcta	180
ctaaaaggaa tagccccact acaattgggt aattgcagcg ttgccggatg gatcttagga	240
aaccagaat gcgaattact gatttccaag gaatcatggt cctacattgt agaaacacca	300
aatcctgaga atggaacatg ttaccagggt tatttcgccg actatgagga actgagggag	360
caattgagtt cagtatcttc atttgagaga ttcgaaatat tccccaaaga aagctcatgg	420
cccaaccaca ccgtaaccgg agtatcagca tcatgtctcc ataatgggaa aagcagtttt	480
tacagaaatt tgctatggct gacggggaag aatggtttgt acccaaacct gagcaagtcc	540
tatgtaaaca acaaagagaa agaagtcctt gtactatggg gtgttcatca cccgcctaac	600
ataggggaacc aaagggccct ctatcataca gaaaatgctt atgtctctgt agtgtcttca	660
cattatagca gaagattcac cccagaaata gccaaaagac ccaaagtaag agatcaggaa	720
ggaagaatca actactactg gactctgctg gaacctgggg atacaataat atttgaggca	780
aatggaaatc taatagcgcc atggtatgct ttgactga gtagaggctt tggatcagga	840
atcatcacct caaatgcacc aatggatgaa tgtgatgcga agtgtcaaac acctcagga	900
gctataaaca gcagtcttcc tttccagaat gtacaccag tcacaatagg agagtgtcca	960
aagtatgtca ggagtgcaaa attaaggatg gttacaggac taaggaacat cccatccatt	1020
caatccagag gtttggttgg agccattgcc ggtttcattg aaggggggtg gactggaatg	1080
gtagatgggt ggtatggtta tcatcatcag aatgagcaag gatctggcta tgctgcagat	1140
caaaaaagta cacaaaatgc cattaacggg attacaaaca aggtgaattc tgtaattgag	1200
aaaatgaaca ctcaattcac agctgtgggc aaagaattca acaaattgga aagaaggatg	1260
gaaaacttaa ataaaaaagt tgatgatggg tttctagaca tttggacata taatgcagaa	1320
ttgttggttc tactggaaaa tgaaaggact ttggatttcc atgactccaa tgtgaagaat	1380
ctgtatgaga aagtaaaaaag ccaattaaag aataatgcca aagaaatagg aaacgggtgt	1440
tttgaattct atcacaagtg taacaatgaa tgcattggaga gtgtgaaaaa tggaacttat	1500
gactatccaa aatattccga agaattcaaag ttaaacaggg agaaaattga tggagtga	1560
ttggaatcaa tgggagtcta tcagattctg gcgatctact caactgtcgc cagttccctg	1620
gttcttttgg tctccctggg ggcaatcagc ttctggatgt gttccaatgg gtctttgcag	1680
tgtagaatat gcattctgaga ccagaatttc a	1711

<210> 34

<211> 1781

<212> ADN

<213> Medicago Sativa

5 <400> 34

cqaaatcctt	aacattcttt	caacaccaac	aatggcgaaa	aacgttgcgga	ttttcggttt	60
attgttttct	cttcttctgt	tggttccttc	tcagatcttc	gctgaggaat	catcaactga	120
cgctaaggaa	tttgttctta	cattggataa	cactaatttc	catgacactg	ttaagaagca	180
cgatttcate	gtcgttgaat	tctacgcacc	ttggtgtgga	cactgtaaga	agctagcccc	240
agagtatgag	aaggctgctt	ctatcttgag	cactcacgag	ccaccagttg	ttttggctaa	300
agttgatgcc	aatgaggagc	acaacaaaga	cctcgcatcg	gaaaatgatg	ttaagggatt	360
cccaaccatt	aagattttta	ggaatggtgg	aaagaacatt	caagaataca	aaggtccccg	420
tgaagctgaa	ggtattgttg	agtatttgaa	aaaacaaagt	ggccctgcat	ccacagaaat	480
taaatctgct	gatgatgcga	ccgcttttgt	tggtgacaac	aaagttgtta	ttgtcggagt	540
tttccctaaa	ttttctggtg	aggagtacga	taacttcatt	gcattagcag	agaagttgcg	600
ttctgactat	gactttgctc	acactttgaa	tgccaaacac	cttccaaagg	gagactcatc	660
agtgtctggg	cctgtggtta	ggttatTTaa	gccatttgac	gagctctttg	ttgactcaaa	720
ggattttcaat	gtagaagctc	tagagaaatt	cattgaagaa	tccagtaccc	caattgtgac	780
tgtcttcaac	aatgagccta	gcaatcacce	ttttgttgtc	aaattcttta	actctcccaa	840

```

cgcaaagget atgttggtca tcaactttac taccgaaggt gctgaatctt tcaaaacaaa      900
ataccatgaa gtggctgagc aatacaaaca acagggaggt agctttcttg ttggagatgt      960
tgagtctagt caaggtgcct tccagtatct tggactgaag gaagaacaag tacctctaata      1020
tattattcag cataatgatg gcaagaaggt tttcaaacc aatttggaac ttgatcaact      1080
cccaacttgg ttgaaggcat acaaggatgg caagggtgaa ccatttgta agtctgaacc      1140
tattcctgaa actaacaacg agcctgttaa agtgggtggt gggcaaactc ttgaggacgt      1200
tgttttcaag tctgggaaga atgttttgat agagttttat gctccttggt gtgggtcactg      1260
caagcagttg gctccaatct tggatgaagt tgctgtctca ttccaaagcg atgctgatgt      1320
tgttattgca aaactggatg caactgccaa cgatatccca accgacacct ttgatgtcca      1380
aggctatcca accttgtaact tcaggtcagc aagtggaaaa ctatcacaat acgacgggtgg      1440
taggacaaag gaagacatca tagaattcat tgaaaagaac aaggataaaa ctggtgctgc      1500
tcatcaagaa gtagaacaac caaaagctgc tgctcagcca gaagcagaac aaccaaaga      1560
tgagctttga aaagtccgc ttggaggata tcggcacaca gtcactctgc ggctttacaa      1620
ctcttttgta tctcagaatc agaagttagg aaatcttagt gccaatctat ctatttttgc      1680
gtttcatttt atctttttgg tttactctaa tgtattactg aataatgtga gttttggcgg      1740
agtttagtac tggaactttt gtttctgtaa aaaaaaaaaa a                          1781

```

<210> 35

<211> 1027

5 <212> ADN

<213> Virus de la influenza

<400> 35

agcgaaagca ggtagatatt gaaagatgag tcttctaacc gaggtcgaaa cgtacgttct	60
ctctatcatt cgcgcagcc cctcaaagc cgagatcgca cagagacttg aagatgtctt	120
tgcaggggaag aacaccgatc ttgaggttct catggaatgg ctaaagacaa gaccaatcct	180
gtcacctctg actaagggga ttttaggatt tgtgttcacg ctcaccgtgc ccagtgagcg	240
aggactgcag cgtagacgct ttgtccaaaa tgcccttaat gggaacgggg atccaaataa	300
catggacaaa gcagttaaac tgtataggaa gctcaagagg gagataacat tccatggggc	360
caaagaaatc tcaactcagtt attctgctgg tgcacttgcc agttgtatgg gcctcatata	420
caacaggatg ggggctgtga ccactgaagt ggcatttggc ctggtatgtg caacctgtga	480
acagattgct gactcccagc atcgggtctca taggcaaatg gtgacaacaa ccaaccact	540
aatcagacat gagaacagaa tggtttttagc cagcactaca gctaaggcta tggagcaaat	600
ggctggatcg agtgagcaag cagcagaggc catggagggt gctagtcagg ctaggcaaat	660
gggtgcaagcg atgagaacca ttgggactca tcctagctcc agtgctgggc tgaaaaatga	720
tcttcttgaa aatttgcagg cctatcagaa acgaatgggg gtgcagatgc aacgggtcaa	780
gtgatectct cgctattgcc gcaaatatca ttgggatctt gcacttgata ttgtggattc	840
ttgatcgtct ttttttcaaa tgcatttacc gtcgctttaa atacggactg aaaggagggc	900
cttctacgga aggagtgcc aagtctatga gggaagaata tcgaaaggaa cagcagagtg	960
ctgtggatgc tgacgatggt cattttgtca gcatagagct ggagtaaaaa actaccttgt	1020
ttctact	1027

<210> 36

<211> 1788

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Clon

<400> 36

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta	60
attaattaat catcttgaga gaaaatgaaa gtaaaactac tggtcctgtt atgcacattt	120
acagctacat atgcagacac aatatgtata ggctaccatg ctaacaactc gaccgacact	180
gttgacacag tacttgaaaa gaatgtgaca gtgacacact ctgtcaacct gcttgagaac	240
agtcacaatg gaaaactatg tctattaaaa ggaatagccc cactacaatt gggtaattgc	300
agcgttgccg ggtggatctt aggaaaccca gaatgcgaat tactgatttc caaggagtca	360
tggtcctaca ttgtagaaaa accaaatcct gagaatggaa catgttacct agggcatttc	420
gctgactatg aggaactgag ggagcaattg agttcagtat cttcatttga gaggttcgaa	480
atattcccca aagaaagctc atggcccaac cacaccgtaa ccggagtgtc agcatcatgc	540
tcccataatg gggaaagcag tttttacaga aatttgctat ggctgacggg gaagaatggt	600
ttgtacccaa acctgagcaa gtcctatgca aacaacaaag aaaaagaagt ccttgtacta	660
tggggtgttc atcacccgcc aaacataggt gacccaaaagg ccctctatca tacagaaaat	720
gcttatgtct ctgtagtgtc ttcacattat agcagaaaat tcaccccaga aatagccaaa	780
agacccaaag taagagatca agaaggaaga atcaattact actggactct gcttgaaccc	840
ggggatacaa taatatttga ggcaaatgga aatctaatag cgccaagata tgctttcgca	900
ctgagtagag gctttggatc aggaatcacc aactcaaag caccaatgga taaatgtgat	960
gcgaagtgcc aaacacctca gggagctata aacagcagtc ttcctttcca gaacgtacac	1020
ccagtcacaa taggagagtg tccaaagtat gtcaggagtg caaaattaag gatgggtaca	1080
ggactaagga acatcccatc cattcaatcc agaggtttgt ttggagccat tgccggtttc	1140
attgaagggg ggtggactgg aatggtagat ggttggtatg gttatcatca tcagaatgag	1200
caaggatctg gctatgctgc agatcaaaaa agcacacaaa atgccattaa tgggattaca	1260
aacaagggtca attctgtaat tgagaaaaatg aacactcaat tcacagcagt gggcaaagag	1320
ttcaacaaat tggaaagaag gatggaaaac ttgaataaaa aagttgatga tgggtttata	1380
gacatttggg catataatgc agaactgttg gttctactgg aaaatgaaag gactttggat	1440
ttccatgact ccaatgtgaa gaatctgtat gagaaagtaa aaagccagtt aaagaataat	1500
gctaaagaaa taggaaatgg gtgttttgag ttctatcaca agtgtaacga tgaatgcatg	1560
gagagtgtaa agaatggaac ttatgactat ccaaaatatt ccgaagaatc aaagttaaac	1620
agggagaaaa ttgatggagt gaaattggaa tcaatgggag tctatcagat tctggcgatc	1680
tactcaacag tcgccagttc tctggttctt ttggtctccc tgggggcaat cagcttctgg	1740
atgtgttcca atgggtcttt acagtgtaga atatgcatct aagagctc	1788



<210> 37

<211> 1788

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Clon

<400> 37

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta	60
attaattaat catcttgaga gaaaatgaaa gtaaaactac tggtcctgtt atgcacattt	120
acagctacat atgcagacac aatatgtata ggctaccatg ccaacaactc aaccgacact	180
gttgacacag tacttgagaa gaatgtgaca gtgacacact ctgtcaacct gcttgaggac	240
agtcacaatg gaaaattatg tctattaaaa ggaatagccc cactacaatt gggtaattgc	300
agcgttgccg gatggatctt aggaaacca gaatgcgaat tactgatttc cagggaatca	360
tggtcctaca ttgtagaaaa accaaatcct gagaatggaa catgttacc agggcatttc	420
gccgactatg aggaactgag ggagcaattg agttcagtat cttcatttga gagattcgaa	480
atattcccca aagaaagctc atggccaac cacaccacaa ccggagtatc agcatcatgc	540
tcccataatg gggaaagcag tttttacaaa aatttgctat ggctgacggg gaagaatggg	600
ttgtacccaa acctgagcaa gtcctatgca aacaacaaag agaaagaagt ccttgtacta	660
tggggtgttc atcaccgcgc taacataggt gaccaaaggg ctctctatca taaagaaaat	720
gcttatgtct ctgtagtgtc ttcacattat agcagaaaaat tcaccccaga aatagccaaa	780
agacccaaag taagagatca agaaggaaga atcaactact actggactct acttgaaccc	840

10

```

ggggatacaa taatatttga ggcaaagga aatctaatag cgccaagata tgctttcgca      900
ctgagtagag gctttggatc aggaatcatc aactcaaagtg caccaatgga tgaatgtgat      960
gcgaagtgcc aaacacctca gggagctata aacagcagtc ttcctttcca gaatgtacac     1020
cctgtcacia taggagagtg tccaaagtat gtcaggagtg caaaattaag gatgggttaca     1080
ggactaagga acatcccatc cattcaatcc agagggttgg ttggagccat tgccgggttc     1140
attgaagggg ggtggactgg aatggtagat gggtggtagt gttatcatca tcagaatgag      1200
caaggatctg gctatgctgc agatcaaaaa agcacacaaa atgccattaa tgggattaca      1260
aacaaggtca attctgtaat tgagaaaatg aacactcaat tcacagctgt gggcaaagag      1320
ttcaacaaat tggaaagaag gatggaaaac ttaataaaaa aagttgatga tgggtttata      1380
gacatttgga catataatgc agaattgttg gttctactgg aaaatgaaag gactttggat      1440
ttccatgact ccaatgtgaa gaatctgtat gagaaagtaa aaagccaatt aaagaataat      1500
gccaaagaaa taggaaatgg gtgttttgag ttctatcata agtgtaacga tgaatgcatg      1560
gagagtgtaa aaaatggaac ttatgactat ccaaaatatt ccgaagaatc aaagttaaac      1620
agggagaaaa ttgatggagt gaaattggaa tcaatgggag tctatcagat tctggcgatc      1680
tactcaacag tcgccagttc tctggttctt ttggtctccc tgggggcaat cagcttctgg      1740
atgtgttcca atgggtcttt gcagtgtaga atatgcatct gagagctc      1788

```

<210> 38

<211> 1791

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Clon

<400> 38

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta	60
attaattaat catcttgaga gaaaatgaag actatcattg ctttgageta cattctatgt	120
ctgggttttca ctcaaaaaact tcccggaaat gacaacagca cggcaacgct gtgccttggg	180
caccatgcag taccaaacgg aacgatagtg aaaacaatca cgaatgacca aattgaagtt	240
actaatgeta ctgagctggg tcagagttcc tcaacaggtg aaatatgcga cagtcctcat	300
cagatccttg atggagaaaa ctgcacacta atagatgctc tattgggaga ccctcagtgt	360
gatggcttcc aaaataagaa atgggacctt tttgttgaac gcagcaaagc ctacagcaac	420
tgttaccctt atgatgtgcc ggattatgcc tcccttaggt cactagttgc ctcacccggc	480
acactggagt ttaacaatga aagtttcaat tggactggag tcaactcaaaa cggaacaagc	540
tctgcttgca taaggagatc taataacagt ttcttttagta gattgaattg gttgaccac	600
ttaaaattca aatacccagc attgaacgtg actatgccaa acaatgaaaa atttgacaaa	660
ttgtacattt ggggggttca ccaccgggt acggacaatg accaaatctt cctgtatgct	720
caagcatcag gaagaatcac agtctctacc aaaagaagcc acaaaactgt aatcccgaat	780
atcggatcta gaccagagt aaggaatatc cccagcagaa taagcatcta ttggacaata	840
gtaaaaccgg gagacatact tttgattaac agcacaggga atctaattgc tcctaggggt	900
tacttcaaaa tacgaagtgg gaaaagctca ataatgagat cagatgcacc cattggcaaa	960
tgcaattctg aatgcatcac tccaaacgga agcattccca atgacaaacc attccaaaat	1020
gtaaacagga tcacatacgg ggcctgtccc agatatgtta agcaaaacac tctgaaattg	1080
gcaacaggga tgcgaaatgt accagagaaa caaactagag gcatatttgg cgcaatcgcg	1140
ggtttcatag aaaatggttg ggagggaaatg gtggatgggt ggtatgggtt caggcatcaa	1200
aattctgagg gaataggaca agcagcagat ctcaaaagca ctcaagcagc aatcgatcaa	1260
atcaatggga agctgaatag gttgatcggg aaaaccaacg agaaattcca tcagattgaa	1320
aaagagttct cagaagtcga agggagaatc caggaccttg agaaatatgt tgaggacacc	1380
aaaatagatc tctggtcata caacgcggag cttcttggtg ccctggagaa ccaacataca	1440
attgatctaa ctgactcaga aatgaacaaa ctgtttgaaa aaacaaagaa gcaactgagg	1500
gaaaatgctg aggatatggg caatgggtgt ttcaaaatat accacaaatg tgacaatgcc	1560
tgcataggat caatcagaaa tggaaactat gaccacgatg tatacagaga tgaagcatta	1620
aacaaccggt tccagatcaa gggcgttgag ctgaagtcag gatacaaaga ttggatacta	1680
tggatttcct ttgccatata atgttttttg ctttgtgttg ctttgttggg gttcatcatg	1740
tgggcctgcc aaaaaggcaa cattaggtgc aacatttgca tttgagagct c	1791

<210> 39

<211> 1791

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Clon

<400> 39

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caagagagaag agactaatta	60
attaattaat catcttgaga gaaaatgaag actatcattg ctttgagcta cattctatgt	120
ctgggtttca ctcaaaaact tcccggaaat gacaacagca cggcaacgct gtgccttggg	180
caccatgcag taccaaacgg aacgatagtg aaaacaatca cgaatgacca aattgaagtt	240
actaatgcta ctgagctggg tcagagtcc tcaacagggt gaatatgcga cagtcctcat	300
cagatccttg atggagaaaa ctgcacacta atagatgctc tattgggaga ccctcagtgt	360
gatggcttcc aaaataagaa atgggacctt tttgttgaac gcagcaaagc ctacagcaac	420
tgttaccctt atgatgtgcc ggattatgcc tcccttaggt cactagttgc ctcattccggc	480
acactggagt ttaacgatga aagtttcaat tggactggag tcactcaaaa tggaacaagc	540
tctgcttgca aaaggagatc taataacagt ttctttagta gattgaattg gttgaccac	600
ttaaaattca aataccagc attgaacgtg actatgccaa acaatgaaaa atttgacaaa	660
ttgtacattt ggggggttca ccaccgggt acggacaatg accaaatctt cctgcatgct	720
caagcatcag gaagaatcac agtctctacc aaaagaagcc acaaaactgt aatcccgaat	780
atcggatcta gaccagaat aaggaatatc cccagcagaa taagcatcta ttggacaata	840
gtaaaaccgg gagacatact tttgattaac agcacagga atctaattgc tcctaggggt	900
tacttcaaaa tacgaagtgg gaaaagctca ataatgagat cagatgcacc cattggcaaa	960
tgcaattctg aatgcacac tccaaatgga agcattccca atgacaaacc atttcaaaat	1020
gtaaacagga tcacatatgg ggctgtccc agatatgtta agcaaaacac tctgaaattg	1080
gcaacagga tgcgaaatgt accagagaaa caaactagag gcatatttgg cgcaatcgcg	1140
ggtttcatag aaaatgggtg ggagggaaatg gtggatgggt ggtacggttt caggcatcaa	1200
aattctgagg gaataggaca agcagcagat ctcaaaagca ctcaagcagc aatcaatcaa	1260
atcaatggga agctgaatag gttgatcggg aaaaccaacg agaaattcca tcagattgaa	1320
aaagagttct cagaagtaga agggagaatc caggacctcg agaaatatgt tgaggacact	1380
aaaatagatc tctggtcata caacgcggag cttcttgttg ccctggagaa ccaacataca	1440
attgatctaa ctgactcaga aatgaacaaa ctgtttgaaa gaacaaagaa gcaactgagg	1500
gaaaatgctg aggatatggg caatggttgt ttcaaaatat accacaaatg tgacaatgcc	1560
tgcataggat caatcagaaa tggaacttat gaccatgatg tatacagaga tgaagcatta	1620
aacaaccggt tccagatcaa aggcgttgag ctgaagtcag gatacaaaga ttggatacta	1680
tggatttcct ttgccatata atgttttttg ctttgtgttg ctttgttggg gttcatcatg	1740
tgggcctgcc aaaaaggcaa cattaggtgc aacatttgca tttgagagct c	1791

<210> 40

<211> 1848

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Clon

<400> 40

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta	60
attaattaat catcttgaga gaaaatgaag gcaataattg tactactcat ggtagtaaca	120
tccaatgcag atcgaatctg cactgggata acatcgtaaa actcaccaca tgttgtcaaa	180
actgctactc aaggggaggt caatgtgact ggtgtaatac cactgacaac aacaccacc	240
aaatctcatt ttgcaaactt caaaggaaca gaaaccagag ggaaactatg cccaaaatgc	300
ctcaactgca cagatctgga cgtggccttg ggcagaccaa aatgcacggg gaacataccc	360
tcggcaagag tttcaatact ccatgaagtc agacctgtta catctgggtg ctttcctata	420
atgcacgaca gaacaaaaat tagacagctg cctaaacttc tcagaggata cgaacatatt	480
aggttatcaa ctcataacgt tatcaatgca gaaaatgcac caggaggacc ctacaaaatt	540
ggaacctcag ggtcttgccc taacgttacc aatggaaacg gatttttcgc aacaatggct	600
tgggccgtcc caaaaaacga caacaacaaa acagcaacaa attcattaac aatagaagta	660
ccatacatctt gtacagaagg agaagaccaa attaccgttt ggggggtcca ctctgataac	720
gaaacccaaa tggcaaagct ctatggggac tcaaagcccc agaagttcac ctcatctgcc	780
aacggagtga ccacacatta cgtttcacag attggtggct tcccaaatca aacagaagac	840
ggaggactac cacaagcgg tagaattggt gttgattaca tggtgcaaaa atctgggaaa	900
acaggaacaa ttacctatca aagaggtatt ttattgcctc aaaaagtgtg gtgcgcaagt	960
ggcaggagca aggtataaaa aggatcggtg cctttaattg gagaagcaga ttgcctccac	1020
gaaaaatacg gtggattaaa caaaagcaag ccttactaca caggggaaca tgcaaaggcc	1080
ataggaaatt gcccaatatg ggtgaaaaca ccttgaagc tggccaatgg aaccaaatat	1140
agacctctg caaaactatt aaaggaaagg ggtttcttcg gagctattgc tggtttctta	1200
gaaggaggat gggaaaggaat gattgcaggt tggcacggat acacatcca tggggcacat	1260
ggagtagcgg tggcagcaga ccttaagagc actcaagagg ccataaacia gataacaaaa	1320
aatctcaact ctttgagtga gctggaagta aagaatcttc aaagactaag cggtgccatg	1380
gatgaactcc acaacgaaat actagaacta gacgagaaag tggatgatct cagagctgat	1440
acaataagct cacaataga actcgcagtc ctgctttcca atgaaggaat aataaacagt	1500
gaagatgagc atctcttgge gcttgaaaga aagctgaaga aaatgctggg cccctctgct	1560
gtagagatag ggaatggatg ctttgaaacc aaacacaagt gcaaccagac ctgtctcgac	1620
agaatagctg ctggtacctt tgatgcagga gaattttctc tccccacttt tgattcactg	1680
aatattactg ctgcatcttt aaatgacgat ggattggata atcactat actgctttac	1740
tactcaactg ctgcctccag tttggctgta acattgatga tagctatctt tgttgtttat	1800
atggtctcca gagacaatgt ttcttgctcc atctgtctat aagagctc	1848

<210> 41  
 <211> 1845  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Clon

<400> 41

10

```

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta      60
attaattaat catcttgaga gaaaatgaag gcaataattg tactactcat ggtagtaaca      120
tccaatgcag atcgaatctg cactggaata acatcttcaa actcacctca tgtgggtcaaa      180
acagccactc aaggggaggt caatgtgact ggtgtgatac cactaacaac aacaccaaca      240
aaatcttatt ttgcaaactc caaaggaaca aggaccagag ggaaactatg cccagactgt      300
ctcaactgca cagatctgga tgtggctttg ggcagaccaa tgtgtgtggg gaccacacct      360
tcggcgaagg cttcaatact ccacgaagtc aaacctgtta catccgggtg ctttccata      420
atgcacgaca gaacaaaaat caggcaacta cccaatcttc tcagaggata tgaaaatatc      480
aggctatcaa cccaaaacgt catcgatgcg gaaaaggcac caggaggacc ctacagactt      540
ggaacctcag gatcttgccc taacgctacc agtaagagcg gatttttcgc aacaatggct      600
tgggctgtcc caaaggacaa caacaaaaat gcaacgaacc cactaacagt agaagtacca      660
tacatttgta cagaagggga agaccaaata actgtttggg ggttccattc agataacaaa      720
acccaaatga agaacctcta tggagactca aatcctcaaa agttcacctc atctgctaata      780
ggagtaacca cacactatgt ttctcagatt ggcagcttcc cagatcaaac agaagacgga      840
ggactaccac aaagcggcag gattgttgtt gattacatga tgcaaaaacc tgggaaaaca      900
ggaacaattg tctaccaaag aggtgttttg ttgcctcaaa aggtgtgggt cgcgagtggc      960
aggagcaaag taataaaagg gtccttgcc ttaattgggt aagcagattg cttcatgaa      1020
aaatacgggt gattaaacaa aagcaagcct tactacacag gagaacatgc aaaagccata      1080
ggaaattgcc caatatgggt gaaaacacct ttgaagctcg ccaatggaac caaatataga      1140
cctcctgcaa aactattaaa ggaaaggggt ttcttcggag ctattgctgg ttctctagaa      1200
ggaggatggg aaggaatgat tgcaggctgg cacggatata catctcacgg agcacatgga      1260
gtggcagtgg cggcggacct taagagtacg caagaagcta taaacaagat aacaaaaaat      1320
ctcaattctt tgagtgagct agaagtaaag aatcttcaaa gactaagtgg tgccatggat      1380
gaactccaca acgaaatact cgagctggat gagaaagtgg atgatctcag agctgacact      1440
ataagctcgc aatagaact tgcagtcttg ctttccaacg aaggaataat aaacagtgaa      1500
    
```



gatgagcatc tattggcact tgagagaaaa ctaaagaaaa tgctgggtcc ctctgctgta	1560
gagataggaa atggatgctt cgaaaccaa cacaagtgca accagacctg cttagacagg	1620
atagctgctg gcacctttaa tgcaggagaa ttttctctcc ccacttttga ttcactgaac	1680
attactgctg catcttttaa tgatgatgga ttggataacc atactatact gctctattac	1740
tcaactgctg cttctagttt ggctgtaaca ttgatgctag ctatttttat tgtttatatg	1800
gtctccagag acaacgtttc atgctccatc tgtctataag agctc	1845

<210> 42

<211> 1779

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Clon

<400> 42

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta	60
attaattaat catcttgaga gaaaatggcc atcattttatc taattctcct gttcacagca	120
gtgagagggg accaaatatg cattgggatac catgccata attccacaga gaagggtgac	180
acaattctag agcgggaacgt cactgtgact catgccaaagg acattcttga gaagacccat	240
aacggaaagt tatgcaaact aaacggaatc cctccacttg aactagggga ctgtagcatt	300
gccggatggc tccttggaat tccagaatgt gataggcttc taagtgtgcc agaatgggtcc	360
tatataatgg agaaagaaaa cccgagagac ggtttgtgtt atccaggcag cttcaatgat	420
tatgaagaat tgaaacatct cctcagcagc gtgaaacatt tcgagaaagt aaagattctg	480
cccaaagata gatggacaca gcatacaaca actggagggt caggggcctg cgcggtgtct	540
ggtaatccat cattcttcag gaacatgggtc tggctgacaa agaaagaatc aaattatccg	600
gttgccaaag gatcgtacaa caatacaagc ggagaacaaa tgctaataat ttgggggggtg	660
caccatccca atgatgagac agaacaaaga acattgtacc agaattgtggg aacctatgtt	720
tccgtaggca catcaacatt gaacaaaagg tcaaccccag acatagcaac aaggcctaaa	780
gtgaatggac taggaagtag aatggagttc tcttggaccc tattggatat gtgggacacc	840
ataaattttg agagtactgg taatctaatt gcaccagagt atggattcaa aatatcgaaa	900
agaggtagtt cagggatcat gaaaacagaa ggaacacttg agaactgtga gaccaaagtc	960
caaactcctt tgggagcaat aaatacaaca ttgccttttc acaatgtcca cccactgaca	1020
atagggtgagt gcccacaaata tgtaaaatcg gagaagttgg tcttagcaac aggactaagg	1080
aatgttcccc agattgaatc aagaggattg tttggggcaa tagctggttt tatagaagga	1140
ggatggcaag gaatggttga tggttggtat ggataccatc acagcaatga ccagggatca	1200
gggtatgcag cagacaaaga atccactcaa aaggcatttg atggaatcac caacaaggta	1260
aattctgtga ttgaaaagat gaacacccaa tttgaagctg ttgggaaaga gttcagtaac	1320
ttagagagaa gactggagaa cttgaacaaa aagatggaag acgggtttct agatgtgtgg	1380
acatacaatg ctgagcttct agttctgatg gaaaatgaga ggacacttga ctttcatgat	1440
tctaattgtca agaattctgta tgataaagtc agaatgcagc tgagagacaa cgtcaaagaa	1500
ctaggaaatg gatgttttga attttatcac aaatgtgatg atgaatgcat gaatagtgtg	1560
aaaaacggga cgtatgatta tccaagtat gaagaagagt ctaaactaaa tagaaatgaa	1620
atcaaagggg taaaattgag cagcatgggg gtttatcaaa tccttgccat ttatgctaca	1680
gtagcagggt ctctgtcact ggcaatcatg atggctggga tctctttctg gatgtgtctc	1740
aacgggtctc tgcagtgcag gatctgcata tgagagctc	1779

&lt;210&gt; 43

&lt;211&gt; 1794

&lt;212&gt; ADN

5 &lt;213&gt; Secuencia artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Clon

&lt;400&gt; 43

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta	60
attaattaat catcttgaga gaaaatggag aaaatagtgc ttcttcttgc aatagtcagc	120
cttgttaaaa gtgatcagat ttgcattggt taccatgcaa acaactcgac agagcaggtt	180
gacacaataa tggaaaagaa cgttactggt acacatgccc aagacatact ggaaaagaca	240
cacaacggga agctctgcga tctagatgga gtgaagcctc tgattttaag agattgtagt	300
gtagctggat ggctcctcgg aaacccaatg tgtgacgagt tcatcaatgt gccggaatgg	360
tcttacatag tggagaaggc caaccagcc aatgacctct gttaccagg gaatttcaac	420
gactatgaag aactgaaaca cctattgagc agaataaacc attttgagaa aattcagatc	480
atccccaaaa gttcttggtc cgatcatgaa gcctcatcag gggtcagctc agcatgtcca	540
taccagggaa cgccctcctt tttcagaaat gtggtatggc ttatcaaaaa gaacaataca	600
taccaacaa taaagagaag ctacaataat accaaccagg aagatctttt gatactgtgg	660
gggattcatc attctaataa tgcggcagag cagacaaagc tctatcaaaa cccaaccacc	720
tatatttccg ttgggacatc aacactaaac cagagattgg taccaaaaaat agctactaga	780
tccaaagtaa acgggcaaag tgggaaggatg gatttcttct ggacaatttt aaaaccgaat	840
gatgcaatca acttcgagag taatggaaat ttcattgctc cagaatatgc atacaaaatt	900

10

gtcaagaaag gggactcagc aattgttaaa agtgaagtgg aatatggtaa ctgcaataca	960
aagtgtcaaa ctccaatagg ggcgataaac tctagtatgc cattccacaa catacacct	1020
ctcaccatcg gggaatgcc caaatatgtg aaatcaaaca aattagtcct tgcgactggg	1080
ctcagaaata gtcctctaag agaaagaaga agaaaaagag gactatttgg agctatagca	1140
gggttttatag agggaggatg gcaggggaatg gtagatgggtt ggtatgggta ccaccatagc	1200
aatgagcagg ggagtgggta cgctgcagac aaagaatcca ctcaaaaggc aatagatgga	1260
gtcaccaata aggtcaactc gatcattgac aaaatgaaca ctgagtttga ggccggttga	1320
agggaattta ataacttaga aaggagaata gagaatttaa acaagaaaat ggaagacgga	1380
ttcctagatg tctggactta taatgctgaa cttctgggtc tcatggaaaa tgagagaact	1440
ctagacttcc atgattcaaa tgtcaagaac ctttacgaca aggtccgact acagcttagg	1500
gataatgcaa aggagctggg taacggttgt ttcgagttct atcacaaatg tgataatgaa	1560
tgtatggaaa gtgtaagaaa cggaacgtat gactaccgc agtattcaga agaagcaaga	1620
ttaaaaagag aggaaataag tggagtaaaa ttggaatcaa taggaactta ccaaatactg	1680
tcaatttatt caacagttgc gagttctcta gcaactggcaa tcatggtggc tgggtctatct	1740
ttgtggatgt gctccaatgg gtcgttaciaa tgcagaattt gcatttaaga gctc	1794

<210> 44

<211> 1797

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Clon

<400> 44

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta	60
attaattaat catcttgaga gaaaatggag aaaatagtgc ttctttttgc aatagtcagt	120
cttggttaaaa gtgatcagat ttgcattggt taccatgcaa acaactcgac agagcagggt	180
gacacaataa tggaaaagaa cgttactggt acacatgccc aagacatact ggaaaagaca	240
cacaatggga agctctgcga tctagatgga gtgaagcctc taattttgag agattgtagt	300
gtagctggat ggctcctcgg aaacccaatg tgtgacgagt tcatcaatgt gccggaatgg	360
tcttacatag tggagaaggc caatccagtc aatgacctct gttacccagg ggatttcaat	420
gactatgaag aattgaaaca cctattgagc agaataaacc attttgagaa aattcagatc	480
atccccaaaa gttcttgggc cagtcatgaa gcctcattgg gggtcagctc agcatgtcca	540
taccagggaa agtcctcctt ttccagaaat gtggtatggc ttatcaaaaa gaacagtaca	600
tacccaacaa taaagaggag ctacaataat accaaccaag aagatctttt ggtactgtgg	660
gggattcacc atcctaata ga tgcggcagag cagacaaagc tctatcaaaa cccaaccacc	720
tatatttccg ttgggacatc tacactaaac cagagattgg taccaagaat agctactaga	780
tccaaagtaa acgggcaaag tggaaggatg gagttcttct ggacaatttt aaaaccgaat	840
gatgcaatca acttcgagag taatggaaat ttcattgctc cagaatatgc atacaaaatt	900
gtcaagaaag gggactcaac aattatgaaa agtgaattgg aatatggtaa ctgcaatacc	960
aagtgtcaaa ctccaatggg ggcgataaac tctagcatgc cattccacaa tatacacctt	1020
ctcaccatcg gggaatgcc caaatatgtg aaatcaaaca gattagtcct tgcgactggg	1080
ctcagaaata gccctcaaag agagagaaga agaaaaaaga gaggattatt tggagctata	1140
gcaggtttta tagagggagg atggcaggga atggtatagtg gttggtatgg gtaccaccat	1200
agcaacgagc aggggagtg gtacgctgca gacaaagaat ccactcaaaa ggcaatagat	1260
ggagtcacca ataaggtaaa ctcgattatt gacaaaatga aactcagtt tgaggccgtt	1320
ggaagggaaat ttaacaactt agaaaggaga atagagaatt taaacaagaa gatggaagac	1380
gggttcctag atgtctggac ttataatgct gaacttctag ttctcatgga aaacgagaga	1440
actctagact ttcattgactc aaatgtcaag aacctttacg acaagggtccg actacagctt	1500
agggataatg caaaggagct gggtaacggg tgtttcgagt tctatcataa atgtgataat	1560
gaatgtatgg aaagtgtgaa aaacggaacg tatgactacc cgcagtattc agaagaagca	1620
agactaaaaa gagaggaaat aagtggagta aaattggaat caataggaat ttaccaaata	1680
ttgtcaattt attctacagt ggccagctcc ctagcactgg caatcatggg agctggtcta	1740
tccttatgga tgtgctccaa tgggtcggtta caatgcagaa tttgcattta agagctc	1797

<210> 45

<211> 1791

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Clon

<400> 45

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta	60
attaattaat catcttgaga gaaaatgatt gcaatcattg taatagcaat actggcagca	120
gccggaaagt cagacaagat ctgcattggg tatcatgcca acaattcaac aacacaggta	180
gatacgatac ttgagaagaa tgtgactgtc acacactcaa ttgaattgct ggaaaatcag	240
aaggaagaaa gattctgcaa gatattgaac aaggccccctc tcgacttaag ggaatgtacc	300
atagagggtt ggatcttggg gaatccccaa tgcgacctat tgcttgggtga tcaaagctgg	360

tcatacattg tggaaagacc tactgetcaa aacgggatct gctacccagg aaccttaa	420
gaggtagaag aactgagggc acttatttga tcaggagaaa gggtagagag atttgagatg	480
tttcccaaaa gcacctggca aggagttgac accaacagtg gaacaacaag atcctgcctt	540
tattctactg gtgcgtcttt ctacagaaac ctctatgga taataaaaac caagacagca	600
gaatatccag taattaaggg aatttacaac aacactggaa cccagccaat cctctatttc	660
tgggggtgtgc atcatcctcc taacaccgac gagcaagata ctctgtatgg ctctgggtgat	720
cgatacgtta gaatgggaac tgaaagcatg aatttttgcca agagtccgga aattgaggca	780
aggcctgctg tgaatggaca aagaggcaga attgattatt attgggtcggg tttaaaacca	840
ggggaaacct tgaatgtgga atctaattgga aatctaattcg ccccttggtg tgcatacaaa	900
tttgtcaaca caaatagtaa aggagccgtc ttcagggtcag atttaccat cgagaactgc	960
gatgccacat gccagactat tgcagggggt ctaaggacca ataaacatt tcagaatgtg	1020
agtccccctgt ggataggaga atgtcccaaa tacgtgaaaa gtgaaagtct gaggcttgca	1080
actggactaa gaaatgttcc acagattgaa actagaggac tcttcggagc tattgcaggg	1140
tttattgaag gaggatggac tgggatgata gatgggtggt atggctatca ccatgaaaat	1200
tctcaagggg caggatatgc agcagacaga gaaagcactc aaaaggctgt aaacagaatt	1260
acaaataagg tcaattccat catcaacaaa atgaacacac aatttgaagc tgtcgatcac	1320
gaattttcaa atctggagag gagaattgac aatctgaaca aaagaatgca agatggattt	1380
ctggatgttt ggacatacaa tgctgaactg ttgggtcttc ttgaaaacga aagaacacta	1440
gacatgcatg acgcaaagt gaagaacctc catgaaaagg tcaaatacaca actaagggac	1500
aatgctacga tcttagggaa tgggtgcttt gaattttggc ataagtgtga caatgaatgc	1560
atagagtctg tcaaaaatgg tacatatgac tatcccaaat accagactga aagcaaatta	1620
aacaggctaa aaatagaatc agtaaagcta gagaaccttg gtgtgtatca aattcttgcc	1680
atttatagta cggtatcgag cagcctagtg ttggtagggc tgatcatggc aatgggtctt	1740
tggatgtgtt caaatgggtc aatgcagtgc aggatatgta tataagagct c	1791

<210> 46

<211> 1803

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Clon

<400> 46

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caagagaag agactaatta	60
attaattaat catcttgaga gaaaatgaac actcaaattc taatattage cacttcggca	120



ttcttctatg tacgtgcaga taaaatctgc ctaggacatc atgctgtgtc taatggaacc	180
aaagtagaca cccttactga aaaaggaata gaagttgtca atgcaacaga aacagttgaa	240
caaacaaaca tccctaagat ctgctcaaaa ggaaaacaga ctgttgacct tggccaatgt	300
ggattactag ggaccgttat tggctctccc caatgtgacc aatttcttga gttctctgct	360
aatttaatag ttgaaagaag ggaaggtaat gacatttgtt atccaggcaa atttgacaat	420
gaagaaacat tgagaaaaat actcagaaaa tccggaggaa ttaaaaagga gaatatggga	480
ttcacatata ccggagttag aaccaatgga gagactagcg catgtagaag gtcaagatct	540
tccttttatg cagagatgaa atggcttcta tccagcacag acaatgggac atttccacaa	600
atgacaaagt cctacaagaa cactaagaag gtaccagctc tgataatctg gggaatccac	660
cactcaggat caactactga acagactaga ttatatggaa gtgggaataa attgataaca	720
gtttggagtt ccaaatacca acaatctttt gtcccaaate ctggaccaag accgcaaag	780
aatggtcaat caggaagaat tgactttcac tggctgatgc tagatcccaa tgatactgtc	840
actttcagtt ttaatggggc ctttatagca cctgaccgcg ccagttttct aagaggtaaa	900
tctctaggaa tccaaagtga tgcacaactt gacaataatt gtgaagggtga atgctatcat	960
attggaggta ctataattag caacttgccc tttcaaaaca ttaatagtag ggcaatcgga	1020
aatgcccga gatacgtgaa gcagaagagc ttaatgctag caacaggaat gaaaaatgtt	1080
cctgaagctc ctgcacataa acaactaact catcacatgc gcaaaaaaag aggtttat	1140
ggtgcaatag caggattcat tgaaaatggg tgggaaggat taatagacgg atggtatgga	1200
tataagcatc agaatgcaca aggagaaggg actgctgcag actacaaaag tacacaatct	1260
gctatcaacc aaataaccgg aaaattgaac agactaatag aaaaaaccaa ccagcaattc	1320
gaactaatag ataatgagtt caatgaaata gaaaaacaaa ttggcaatgt tattaactgg	1380
actagagatt ctatcatcga agtatggtca tataatgcag agttcctcgt agcagtggag	1440
aatcaacaca ctattgattt aactgactca gaaatgaaca aactatatga aaaggtaaga	1500
agacaactga gagaaaatgc tgaggaagat ggtaatggct gttttgaaat attccaccaa	1560
tgtgacaatg attgcatggc cagcattaga aacaacacat atgaccataa aaaatacaga	1620
aaagaggcaa tacaaaacag aatccagatt gacgcagtaa agttgagcag tggttacaaa	1680
gatataatac tttggtttag cttcggggca tcatgtttct tatttcttgc cattgcaatg	1740
ggtcttgttt tcatatgtat aaaaaatgga aacatgcggt gcactatttg tatataagag	1800
ctc	1803

<211> 1773

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Clon

<400> 47

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta	60
attaattaat catcttgaga gaaaatggaa acaatatcac taataactat actactagta	120
gtaacagcaa gcaatgcaga taaaatctgc atcggccacc agtcaacaaa ctccacagaa	180
actgtggaca cgctaacaga aaccaatgtt cctgtgacac atgccaaaga attgctccac	240
acagagcata atggaatgct gtgtgcaaca agcctgggac atccccctcat tctagacaca	300
tgcactattg aaggactagt ctatggcaac ccttcttggtg acctgctgtt gggaggaaga	360
gaatggctct acatcgtcga aagatcatca gctgtaaatg gaacgtgtta ccctgggaat	420
gtagaaaacc tagaggaact caggacactt tttagttccg ctagttccta ccaaagaatc	480
caaatcttcc cagacacaac ctggaatgtg acttacactg gaacaagcag agcatgttca	540
ggttcattct acaggagtat gagatggctg actcaaaaga gcggttttta ccctgttcaa	600
gacgcccaat acacaaataa caggggaaag agcattcttt tcgtgtgggg catacatcac	660
ccaccacct ataccgagca aacaaatttg tacataagaa acgacacaac aacaagcgtg	720
acaacagaag atttgaatag gaccttcaaa ccagtgatag ggccaaggcc ccttgtcaat	780
ggtctgcagg gaagaattga ttattattgg tcggtactaa aaccaggcca aacattgcga	840
gtacgatcca atgggaatct aattgctcca tggtagggac acgttctttc aggagggagc	900
catggaagaa tcctgaagac tgatttaaaa ggtggtaatt gtgtagtgca atgtcagact	960
gaaaaagggtg gcttaaacag tacattgccca tccacaata tcagtaaata tgcatttgga	1020
acctgcccc aatatgtaag agttaatagt ctcaaactgg cagtcggtct gaggaacgtg	1080
cctgctagat caagtagagg actatttgga gccatagctg gattcataga aggaggttgg	1140
ccaggactag tcgctggctg gtatggtttc cagcattcaa atgatcaagg ggttggtatg	1200
gctgcagata gggattcaac tcaaaaggca attgataaaa taacatccaa ggtgaataat	1260
atagtcgaca agatgaacaa gcaatatgaa ataattgac atgaatttag tgaggttgaa	1320
actagactca atatgatcaa taataagatt gatgaccaa tacaagacgt atgggcatat	1380
aatgcagaat tgctagtact acttgaaaat caaaaaacac tcgatgagca tgatgcgaac	1440
gtgaacaatc tatataacaa ggtgaagagg gcactgggct ccaatgctat ggaagatggg	1500
aaaggctgtt tcgagctata ccataaatgt gatgatcagt gcatggaaac aattcggaac	1560
gggacctata ataggagaaa gtatagagag gaatcaagac tagaaaggca gaaaatagag	1620
ggggttaagc tggaatctga gggaacttac aaaatcctca ccatttattc gactgtcgcc	1680
tcattctctt tgcttgcaat ggggtttgct gccttcctgt tctgggccat gtccaatgga	1740
tcttgacagat gcaacatttg tatataagag ctc	1773

&lt;210&gt; 48

&lt;211&gt; 565

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Secuencia artificial

5 &lt;220&gt;

&lt;223&gt; Clon

&lt;400&gt; 48

Met Lys Val Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr  
1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr  
20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn  
35 40 45

Leu Leu Glu Asn Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Leu Leu Lys Gly Ile  
50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Asn Cys Ser Val Ala Gly Trp Ile Leu Gly  
65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Glu Leu Leu Ile Ser Lys Glu Ser Trp Ser Tyr Ile  
85 90 95

Val Glu Lys Pro Asn Pro Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly His Phe  
100 105 110

Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe  
115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Ser Ser Trp Pro Asn His Thr  
130 135 140

Val Thr Gly Val Ser Ala Ser Cys Ser His Asn Gly Glu Ser Ser Phe  
145 150 155 160

Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Gly Lys Asn Gly Leu Tyr Pro Asn  
165 170 175

Leu Ser Lys Ser Tyr Ala Asn Asn Lys Glu Lys Glu Val Leu Val Leu  
 180 185 190  
 Trp Gly Val His His Pro Pro Asn Ile Gly Asp Gln Lys Ala Leu Tyr  
 195 200 205  
 His Thr Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser His Tyr Ser Arg  
 210 215 220  
 Lys Phe Thr Pro Glu Ile Ala Lys Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln Glu  
 225 230 235 240  
 Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr Ile  
 245 250 255  
 Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Arg Tyr Ala Phe Ala  
 260 265 270  
 Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Asn Ser Asn Ala Pro Met  
 275 280 285  
 Asp Lys Cys Asp Ala Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn Ser  
 290 295 300  
 Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys Pro  
 305 310 315 320  
 Lys Tyr Val Arg Ser Ala Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn  
 325 330 335  
 Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe  
 340 345 350  
 Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His  
 355 360 365  
 His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr  
 370 375 380  
 Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu  
 385 390 395 400  
 Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys Leu  
 405 410 415

Glu Arg Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe Ile  
420 425 430

Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu  
435 440 445

Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys  
450 455 460

Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys  
465 470 475 480

Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp Glu Cys Met Glu Ser Val Lys  
485 490 495

Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn  
500 505 510

Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln  
515 520 525

Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Val Leu Leu Val  
530 535 540

Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln  
545 550 555 560

Cys Arg Ile Cys Ile  
565

<210> 49

5 <211> 565

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Clon

10 <400> 49

Met Lys Val Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr  
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr  
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn  
 35 40 45

Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Leu Leu Lys Gly Ile  
 50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Asn Cys Ser Val Ala Gly Trp Ile Leu Gly  
 65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Glu Leu Leu Ile Ser Arg Glu Ser Trp Ser Tyr Ile  
 85 90 95

Val Glu Lys Pro Asn Pro Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly His Phe  
 100 105 110

Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe  
 115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Ser Ser Trp Pro Asn His Thr  
 130 135 140

Thr Thr Gly Val Ser Ala Ser Cys Ser His Asn Gly Glu Ser Ser Phe  
 145 150 155 160

Tyr Lys Asn Leu Leu Trp Leu Thr Gly Lys Asn Gly Leu Tyr Pro Asn  
 165 170 175

Leu Ser Lys Ser Tyr Ala Asn Asn Lys Glu Lys Glu Val Leu Val Leu  
 180 185 190

Trp Gly Val His His Pro Pro Asn Ile Gly Asp Gln Arg Ala Leu Tyr  
 195 200 205

His Lys Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser His Tyr Ser Arg  
 210 215 220

Lys Phe Thr Pro Glu Ile Ala Lys Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln Glu  
 225 230 235 240

Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr Ile  
 245 250 255

Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Arg Tyr Ala Phe Ala  
 260 265 270

Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Asn Ser Asn Ala Pro Met  
 275 280 285



Asp Glu Cys Asp Ala Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn Ser  
 290 295 300  
 Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys Pro  
 305 310 315 320  
 Lys Tyr Val Arg Ser Ala Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn  
 325 330 335  
 Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe  
 340 345 350  
 Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His  
 355 360 365  
 His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr  
 370 375 380  
 Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu  
 385 390 395 400  
 Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys Leu  
 405 410 415  
 Glu Arg Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe Ile  
 420 425 430  
 Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu  
 435 440 445  
 Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys  
 450 455 460  
 Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys  
 465 470 475 480  
 Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp Glu Cys Met Glu Ser Val Lys  
 485 490 495  
 Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn  
 500 505 510  
 Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln  
 515 520 525  
 Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Val Leu Leu Val

530

535

540

Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln  
545 550 555 560

Cys Arg Ile Cys Ile  
565

<210> 50

<211> 566

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Clon

<400> 50

Met Lys Thr Ile Ile Ala Leu Ser Tyr Ile Leu Cys Leu Val Phe Thr  
 1 5 10 15

Gln Lys Leu Pro Gly Asn Asp Asn Ser Thr Ala Thr Leu Cys Leu Gly  
 20 25 30

His His Ala Val Pro Asn Gly Thr Ile Val Lys Thr Ile Thr Asn Asp  
 35 40 45

Gln Ile Glu Val Thr Asn Ala Thr Glu Leu Val Gln Ser Ser Ser Thr  
 50 55 60

Gly Glu Ile Cys Asp Ser Pro His Gln Ile Leu Asp Gly Glu Asn Cys  
 65 70 75 80

Thr Leu Ile Asp Ala Leu Leu Gly Asp Pro Gln Cys Asp Gly Phe Gln  
 85 90 95

Asn Lys Lys Trp Asp Leu Phe Val Glu Arg Ser Lys Ala Tyr Ser Asn  
 100 105 110

Cys Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Arg Ser Leu Val  
 115 120 125

Ala Ser Ser Gly Thr Leu Glu Phe Asn Asn Glu Ser Phe Asn Trp Thr  
 130 135 140

Gly Val Thr Gln Asn Gly Thr Ser Ser Ala Cys Ile Arg Arg Ser Asn  
 145 150 155 160

Asn Ser Phe Phe Ser Arg Leu Asn Trp Leu Thr His Leu Lys Phe Lys  
 165 170 175  
 Tyr Pro Ala Leu Asn Val Thr Met Pro Asn Asn Glu Lys Phe Asp Lys  
 180 185 190  
 Leu Tyr Ile Trp Gly Val His His Pro Gly Thr Asp Asn Asp Gln Ile  
 195 200 205  
 Phe Leu Tyr Ala Gln Ala Ser Gly Arg Ile Thr Val Ser Thr Lys Arg  
 210 215 220  
 Ser Gln Gln Thr Val Ile Pro Asn Ile Gly Ser Arg Pro Arg Val Arg  
 225 230 235 240  
 Asn Ile Pro Ser Arg Ile Ser Ile Tyr Trp Thr Ile Val Lys Pro Gly  
 245 250 255  
 Asp Ile Leu Leu Ile Asn Ser Thr Gly Asn Leu Ile Ala Pro Arg Gly  
 260 265 270  
 Tyr Phe Lys Ile Arg Ser Gly Lys Ser Ser Ile Met Arg Ser Asp Ala  
 275 280 285  
 Pro Ile Gly Lys Cys Asn Ser Glu Cys Ile Thr Pro Asn Gly Ser Ile  
 290 295 300  
 Pro Asn Asp Lys Pro Phe Gln Asn Val Asn Arg Ile Thr Tyr Gly Ala  
 305 310 315 320  
 Cys Pro Arg Tyr Val Lys Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly Met  
 325 330 335  
 Arg Asn Val Pro Glu Lys Gln Thr Arg Gly Ile Phe Gly Ala Ile Ala  
 340 345 350  
 Gly Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly  
 355 360 365  
 Phe Arg His Gln Asn Ser Glu Gly Ile Gly Gln Ala Ala Asp Leu Lys  
 370 375 380  
 Ser Thr Gln Ala Ala Ile Asp Gln Ile Asn Gly Lys Leu Asn Arg Leu  
 385 390 395 400  
 Ile Gly Lys Thr Asn Glu Lys Phe His Gln Ile Glu Lys Glu Phe Ser

405	410	415
Glu Val Glu Gly Arg Ile Gln Asp Leu Glu Lys Tyr Val Glu Asp Thr		
420	425	430
Lys Ile Asp Leu Trp Ser Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Ala Leu Glu		
435	440	445
Asn Gln His Thr Ile Asp Leu Thr Asp Ser Glu Met Asn Lys Leu Phe		
450	455	460
Glu Lys Thr Lys Lys Gln Leu Arg Glu Asn Ala Glu Asp Met Gly Asn		
465	470	475
Gly Cys Phe Lys Ile Tyr His Lys Cys Asp Asn Ala Cys Ile Gly Ser		
485	490	495
Ile Arg Asn Gly Thr Tyr Asp His Asp Val Tyr Arg Asp Glu Ala Leu		
500	505	510
Asn Asn Arg Phe Gln Ile Lys Gly Val Glu Leu Lys Ser Gly Tyr Lys		
515	520	525
Asp Trp Ile Leu Trp Ile Ser Phe Ala Ile Ser Cys Phe Leu Leu Cys		
530	535	540
Val Ala Leu Leu Gly Phe Ile Met Trp Ala Cys Gln Lys Gly Asn Ile		
545	550	555
Arg Cys Asn Ile Cys Ile		
565		

<210> 51

<211> 566

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Clon

<400> 51

Met Lys Thr Ile Ile Ala Leu Ser Tyr Ile Leu Cys Leu Val Phe Thr  
1 5 10 15

Gln Lys Leu Pro Gly Asn Asp Asn Ser Thr Ala Thr Leu Cys Leu Gly  
20 25 30

His His Ala Val Pro Asn Gly Thr Ile Val Lys Thr Ile Thr Asn Asp  
 35 40 45  
 Gln Ile Glu Val Thr Asn Ala Thr Glu Leu Val Gln Ser Ser Ser Thr  
 50 55 60  
 Gly Gly Ile Cys Asp Ser Pro His Gln Ile Leu Asp Gly Glu Asn Cys  
 65 70 75 80  
 Thr Leu Ile Asp Ala Leu Leu Gly Asp Pro Gln Cys Asp Gly Phe Gln  
 85 90 95  
 Asn Lys Lys Trp Asp Leu Phe Val Glu Arg Ser Lys Ala Tyr Ser Asn  
 100 105 110  
 Cys Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Arg Ser Leu Val  
 115 120 125  
 Ala Ser Ser Gly Thr Leu Glu Phe Asn Asp Glu Ser Phe Asn Trp Thr  
 130 135 140  
 Gly Val Thr Gln Asn Gly Thr Ser Ser Ala Cys Lys Arg Arg Ser Asn  
 145 150 155 160  
 Asn Ser Phe Phe Ser Arg Leu Asn Trp Leu Thr His Leu Lys Phe Lys  
 165 170 175  
 Tyr Pro Ala Leu Asn Val Thr Met Pro Asn Asn Glu Lys Phe Asp Lys  
 180 185 190  
 Leu Tyr Ile Trp Gly Val His His Pro Gly Thr Asp Asn Asp Gln Ile  
 195 200 205  
 Phe Leu His Ala Gln Ala Ser Gly Arg Ile Thr Val Ser Thr Lys Arg  
 210 215 220  
 Ser Gln Gln Thr Val Ile Pro Asn Ile Gly Ser Arg Pro Arg Ile Arg  
 225 230 235 240  
 Asn Ile Pro Ser Arg Ile Ser Ile Tyr Trp Thr Ile Val Lys Pro Gly  
 245 250 255  
 Asp Ile Leu Leu Ile Asn Ser Thr Gly Asn Leu Ile Ala Pro Arg Gly  
 260 265 270  
 Tyr Phe Lys Ile Arg Ser Gly Lys Ser Ser Ile Met Arg Ser Asp Ala

275	280	285
Pro Ile Gly Lys Cys Asn Ser Glu Cys Ile Thr	Pro Asn Gly Ser Ile	
290	295	300
Pro Asn Asp Lys Pro Phe Gln Asn Val Asn Arg Ile Thr Tyr Gly Ala		
305	310	315 320
Cys Pro Arg Tyr Val Lys Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly Met		
325	330	335
Arg Asn Val Pro Glu Lys Gln Thr Arg Gly Ile Phe Gly Ala Ile Ala		
340	345	350
Gly Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly		
355	360	365
Phe Arg His Gln Asn Ser Glu Gly Ile Gly Gln Ala Ala Asp Leu Lys		
370	375	380
Ser Thr Gln Ala Ala Ile Asn Gln Ile Asn Gly Lys Leu Asn Arg Leu		
385	390	395 400
Ile Gly Lys Thr Asn Glu Lys Phe His Gln Ile Glu Lys Glu Phe Ser		
405	410	415
Glu Val Glu Gly Arg Ile Gln Asp Leu Glu Lys Tyr Val Glu Asp Thr		
420	425	430
Lys Ile Asp Leu Trp Ser Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Ala Leu Glu		
435	440	445
Asn Gln His Thr Ile Asp Leu Thr Asp Ser Glu Met Asn Lys Leu Phe		
450	455	460
Glu Arg Thr Lys Lys Gln Leu Arg Glu Asn Ala Glu Asp Met Gly Asn		
465	470	475 480
Gly Cys Phe Lys Ile Tyr His Lys Cys Asp Asn Ala Cys Ile Gly Ser		
485	490	495
Ile Arg Asn Gly Thr Tyr Asp His Asp Val Tyr Arg Asp Glu Ala Leu		
500	505	510
Asn Asn Arg Phe Gln Ile Lys Gly Val Glu Leu Lys Ser Gly Tyr Lys		
515	520	525



Asp Trp Ile Leu Trp Ile Ser Phe Ala Ile Ser Cys Phe Leu Leu Cys  
530 535 540

Val Ala Leu Leu Gly Phe Ile Met Trp Ala Cys Gln Lys Gly Asn Ile  
545 550 555 560

Arg Cys Asn Ile Cys Ile  
565

<210> 52

<211> 585

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Clon

<400> 52

Met Lys Ala Ile Ile Val Leu Leu Met Val Val Thr Ser Asn Ala Asp  
 1 5 10 15

Arg Ile Cys Thr Gly Ile Thr Ser Ser Asn Ser Pro His Val Val Lys  
 20 25 30

Thr Ala Thr Gln Gly Glu Val Asn Val Thr Gly Val Ile Pro Leu Thr  
 35 40 45

Thr Thr Pro Thr Lys Ser His Phe Ala Asn Leu Lys Gly Thr Glu Thr  
 50 55 60

Arg Gly Lys Leu Cys Pro Lys Cys Leu Asn Cys Thr Asp Leu Asp Val  
 65 70 75 80

Ala Leu Gly Arg Pro Lys Cys Thr Gly Asn Ile Pro Ser Ala Arg Val  
 85 90 95

Ser Ile Leu His Glu Val Arg Pro Val Thr Ser Gly Cys Phe Pro Ile  
 100 105 110

Met His Asp Arg Thr Lys Ile Arg Gln Leu Pro Lys Leu Leu Arg Gly  
 115 120 125

Tyr Glu His Ile Arg Leu Ser Thr His Asn Val Ile Asn Ala Glu Asn  
 130 135 140

Ala Pro Gly Gly Pro Tyr Lys Ile Gly Thr Ser Gly Ser Cys Pro Asn

145		150		155		160
Val Thr Asn Gly	Asn Gly Phe Phe Ala Thr Met Ala Trp Ala Val Pro					
	165		170			175
Lys Asn Asp	Asn Asn Lys Thr Ala Thr Asn Ser Leu Thr Ile Glu Val					
	180		185			190
Pro Tyr Ile Cys Thr Glu Gly Glu Asp Gln Ile Thr Val Trp Gly Phe						
	195		200			205
His Ser Asp Asn Glu Thr Gln Met Ala Lys Leu Tyr Gly Asp Ser Lys						
	210		215			220
Pro Gln Lys Phe Thr Ser Ser Ala Asn Gly Val Thr Thr His Tyr Val						
	225		230			240
Ser Gln Ile Gly Gly Phe Pro Asn Gln Thr Glu Asp Gly Gly Leu Pro						
	245		250			255
Gln Ser Gly Arg Ile Val Val Asp Tyr Met Val Gln Lys Ser Gly Lys						
	260		265			270
Thr Gly Thr Ile Thr Tyr Gln Arg Gly Ile Leu Leu Pro Gln Lys Val						
	275		280			285
Trp Cys Ala Ser Gly Arg Ser Lys Val Ile Lys Gly Ser Leu Pro Leu						
	290		295			300
Ile Gly Glu Ala Asp Cys Leu His Glu Lys Tyr Gly Gly Leu Asn Lys						
	305		310			320
Ser Lys Pro Tyr Tyr Thr Gly Glu His Ala Lys Ala Ile Gly Asn Cys						
	325		330			335
Pro Ile Trp Val Lys Thr Pro Leu Lys Leu Ala Asn Gly Thr Lys Tyr						
	340		345			350
Arg Pro Pro Ala Lys Leu Leu Lys Glu Arg Gly Phe Phe Gly Ala Ile						
	355		360			365
Ala Gly Phe Leu Glu Gly Gly Trp Glu Gly Met Ile Ala Gly Trp His						
	370		375			380
Gly Tyr Thr Ser His Gly Ala His Gly Val Ala Val Ala Ala Asp Leu						
	385		390			400

Lys Ser Thr Gln Glu Ala Ile Asn Lys Ile Thr Lys Asn Leu Asn Ser  
405 410 415

Leu Ser Glu Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Arg Leu Ser Gly Ala Met  
420 425 430

Asp Glu Leu His Asn Glu Ile Leu Glu Leu Asp Glu Lys Val Asp Asp  
435 440 445

Leu Arg Ala Asp Thr Ile Ser Ser Gln Ile Glu Leu Ala Val Leu Leu  
450 455 460

Ser Asn Glu Gly Ile Ile Asn Ser Glu Asp Glu His Leu Leu Ala Leu  
465 470 475 480

Glu Arg Lys Leu Lys Lys Met Leu Gly Pro Ser Ala Val Glu Ile Gly  
485 490 495

Asn Gly Cys Phe Glu Thr Lys His Lys Cys Asn Gln Thr Cys Leu Asp  
500 505 510

Arg Ile Ala Ala Gly Thr Phe Asp Ala Gly Glu Phe Ser Leu Pro Thr  
515 520 525

Phe Asp Ser Leu Asn Ile Thr Ala Ala Ser Leu Asn Asp Asp Gly Leu  
530 535 540

Asp Asn His Thr Ile Leu Leu Tyr Tyr Ser Thr Ala Ala Ser Ser Leu  
545 550 555 560

Ala Val Thr Leu Met Ile Ala Ile Phe Val Val Tyr Met Val Ser Arg  
565 570 575

Asp Asn Val Ser Cys Ser Ile Cys Leu  
580 585

<210> 53

<211> 584

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Clon

5 <400> 53

**Met Lys Ala Ile Ile Val Leu Leu Met Val Val Thr Ser Asn Ala Asp**

1	5	10	15
Arg Ile Cys Thr Gly Ile Thr Ser Ser Asn Ser Pro His Val Val Lys	20	25	30
Thr Ala Thr Gln Gly Glu Val Asn Val Thr Gly Val Ile Pro Leu Thr	35	40	45
Thr Thr Pro Thr Lys Ser Tyr Phe Ala Asn Leu Lys Gly Thr Arg Thr	50	55	60
Arg Gly Lys Leu Cys Pro Asp Cys Leu Asn Cys Thr Asp Leu Asp Val	65	70	75
Ala Leu Gly Arg Pro Met Cys Val Gly Thr Thr Pro Ser Ala Lys Ala	85	90	95
Ser Ile Leu His Glu Val Lys Pro Val Thr Ser Gly Cys Phe Pro Ile	100	105	110
Met His Asp Arg Thr Lys Ile Arg Gln Leu Pro Asn Leu Leu Arg Gly	115	120	125
Tyr Glu Asn Ile Arg Leu Ser Thr Gln Asn Val Ile Asp Ala Glu Lys	130	135	140
Ala Pro Gly Gly Pro Tyr Arg Leu Gly Thr Ser Gly Ser Cys Pro Asn	145	150	155
Ala Thr Ser Lys Ser Gly Phe Phe Ala Thr Met Ala Trp Ala Val Pro	165	170	175
Lys Asp Asn Asn Lys Asn Ala Thr Asn Pro Leu Thr Val Glu Val Pro	180	185	190
Tyr Ile Cys Thr Glu Gly Glu Asp Gln Ile Thr Val Trp Gly Phe His	195	200	205
Ser Asp Asn Lys Thr Gln Met Lys Asn Leu Tyr Gly Asp Ser Asn Pro	210	215	220
Gln Lys Phe Thr Ser Ser Ala Asn Gly Val Thr Thr His Tyr Val Ser	225	230	235
Gln Ile Gly Ser Phe Pro Asp Gln Thr Glu Asp Gly Gly Leu Pro Gln	245	250	255

Ser Gly Arg Ile Val Val Asp Tyr Met Met Gln Lys Pro Gly Lys Thr  
260 265 270

Gly Thr Ile Val Tyr Gln Arg Gly Val Leu Leu Pro Gln Lys Val Trp  
275 280 285

Cys Ala Ser Gly Arg Ser Lys Val Ile Lys Gly Ser Leu Pro Leu Ile  
290 295 300

Gly Glu Ala Asp Cys Leu His Glu Lys Tyr Gly Gly Leu Asn Lys Ser  
305 310 315 320

Lys Pro Tyr Tyr Thr Gly Glu His Ala Lys Ala Ile Gly Asn Cys Pro  
325 330 335

Ile Trp Val Lys Thr Pro Leu Lys Leu Ala Asn Gly Thr Lys Tyr Arg  
340 345 350

Pro Pro Ala Lys Leu Leu Lys Glu Arg Gly Phe Phe Gly Ala Ile Ala  
355 360 365

Gly Phe Leu Glu Gly Gly Trp Glu Gly Met Ile Ala Gly Trp His Gly  
370 375 380

Tyr Thr Ser His Gly Ala His Gly Val Ala Val Ala Ala Asp Leu Lys  
385 390 395 400

Ser Thr Gln Glu Ala Ile Asn Lys Ile Thr Lys Asn Leu Asn Ser Leu  
405 410 415

Ser Glu Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Arg Leu Ser Gly Ala Met Asp  
420 425 430

Glu Leu His Asn Glu Ile Leu Glu Leu Asp Glu Lys Val Asp Asp Leu  
435 440 445

Arg Ala Asp Thr Ile Ser Ser Gln Ile Glu Leu Ala Val Leu Leu Ser  
450 455 460

Asn Glu Gly Ile Ile Asn Ser Glu Asp Glu His Leu Leu Ala Leu Glu  
465 470 475 480

Arg Lys Leu Lys Lys Met Leu Gly Pro Ser Ala Val Glu Ile Gly Asn  
485 490 495

Gly Cys Phe Glu Thr Lys His Lys Cys Asn Gln Thr Cys Leu Asp Arg  
500 505 510

Ile Ala Ala Gly Thr Phe Asn Ala Gly Glu Phe Ser Leu Pro Thr Phe  
515 520 525

Asp Ser Leu Asn Ile Thr Ala Ala Ser Leu Asn Asp Asp Gly Leu Asp  
530 535 540

Asn His Thr Ile Leu Leu Tyr Tyr Ser Thr Ala Ala Ser Ser Leu Ala  
545 550 555 560

Val Thr Leu Met Leu Ala Ile Phe Ile Val Tyr Met Val Ser Arg Asp  
565 570 575

Asn Val Ser Cys Ser Ile Cys Leu  
580

<210> 54

<211> 562

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Clon

<400> 54



Met	Ala	Ile	Ile	Tyr	Leu	Ile	Leu	Leu	Phe	Thr	Ala	Val	Arg	Gly	Asp
1				5					10					15	
Gln	Ile	Cys	Ile	Gly	Tyr	His	Ala	Asn	Asn	Ser	Thr	Glu	Lys	Val	Asp
			20					25					30		
Thr	Ile	Leu	Glu	Arg	Asn	Val	Thr	Val	Thr	His	Ala	Lys	Asp	Ile	Leu
			35				40					45			
Glu	Lys	Thr	His	Asn	Gly	Lys	Leu	Cys	Lys	Leu	Asn	Gly	Ile	Pro	Pro
	50					55					60				
Leu	Glu	Leu	Gly	Asp	Cys	Ser	Ile	Ala	Gly	Trp	Leu	Leu	Gly	Asn	Pro
65					70					75					80
Glu	Cys	Asp	Arg	Leu	Leu	Ser	Val	Pro	Glu	Trp	Ser	Tyr	Ile	Met	Glu
				85					90					95	
Lys	Glu	Asn	Pro	Arg	Asp	Gly	Leu	Cys	Tyr	Pro	Gly	Ser	Phe	Asn	Asp
			100					105					110		

Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Ser Val Lys His Phe Glu Lys  
 115 120 125  
 Val Lys Ile Leu Pro Lys Asp Arg Trp Thr Gln His Thr Thr Thr Gly  
 130 135 140  
 Gly Ser Arg Ala Cys Ala Val Ser Gly Asn Pro Ser Phe Phe Arg Asn  
 145 150 155 160  
 Met Val Trp Leu Thr Lys Lys Glu Ser Asn Tyr Pro Val Ala Lys Gly  
 165 170 175  
 Ser Tyr Asn Asn Thr Ser Gly Glu Gln Met Leu Ile Ile Trp Gly Val  
 180 185 190  
 His His Pro Asn Asp Glu Thr Glu Gln Arg Thr Leu Tyr Gln Asn Val  
 195 200 205  
 Gly Thr Tyr Val Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Lys Arg Ser Thr  
 210 215 220  
 Pro Asp Ile Ala Thr Arg Pro Lys Val Asn Gly Leu Gly Ser Arg Met  
 225 230 235 240  
 Glu Phe Ser Trp Thr Leu Leu Asp Met Trp Asp Thr Ile Asn Phe Glu  
 245 250 255  
 Ser Thr Gly Asn Leu Ile Ala Pro Glu Tyr Gly Phe Lys Ile Ser Lys  
 260 265 270  
 Arg Gly Ser Ser Gly Ile Met Lys Thr Glu Gly Thr Leu Glu Asn Cys  
 275 280 285  
 Glu Thr Lys Cys Gln Thr Pro Leu Gly Ala Ile Asn Thr Thr Leu Pro  
 290 295 300  
 Phe His Asn Val His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys Tyr Val  
 305 310 315 320  
 Lys Ser Glu Lys Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Val Pro Gln  
 325 330 335  
 Ile Glu Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly  
 340 345 350

Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Ser Asn  
 355 360 365

Asp Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys Glu Ser Thr Gln Lys Ala  
 370 375 380

Phe Asp Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn  
 385 390 395 400

Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Lys Glu Phe Ser Asn Leu Glu Arg Arg  
 405 410 415

Leu Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp  
 420 425 430

Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu  
 435 440 445

Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg Met  
 450 455 460

Gln Leu Arg Asp Asn Val Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe  
 465 470 475 480

Tyr His Lys Cys Asp Asp Glu Cys Met Asn Ser Val Lys Asn Gly Thr  
 485 490 495

Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Glu Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Asn Glu  
 500 505 510

Ile Lys Gly Val Lys Leu Ser Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile Leu Ala  
 515 520 525

Ile Tyr Ala Thr Val Ala Gly Ser Leu Ser Leu Ala Ile Met Met Ala  
 530 535 540

Gly Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln Cys Arg Ile  
 545 550 555 560

Cys Ile

<210> 55

<211> 567

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Clon

<400> 55

Met	Glu	Lys	Ile	Val	Leu	Leu	Leu	Ala	Ile	Val	Ser	Leu	Val	Lys	Ser	1	5	10	15
Asp	Gln	Ile	Cys	Ile	Gly	Tyr	His	Ala	Asn	Asn	Ser	Thr	Glu	Gln	Val	20	25	30	
Asp	Thr	Ile	Met	Glu	Lys	Asn	Val	Thr	Val	Thr	His	Ala	Gln	Asp	Ile	35	40	45	
Leu	Glu	Lys	Thr	His	Asn	Gly	Lys	Leu	Cys	Asp	Leu	Asp	Gly	Val	Lys	50	55	60	
Pro	Leu	Ile	Leu	Arg	Asp	Cys	Ser	Val	Ala	Gly	Trp	Leu	Leu	Gly	Asn	65	70	75	80
Pro	Met	Cys	Asp	Glu	Phe	Ile	Asn	Val	Pro	Glu	Trp	Ser	Tyr	Ile	Val	85	90	95	
Glu	Lys	Ala	Asn	Pro	Ala	Asn	Asp	Leu	Cys	Tyr	Pro	Gly	Asn	Phe	Asn	100	105	110	
Asp	Tyr	Glu	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Leu	Ser	Arg	Ile	Asn	His	Phe	Glu	115	120	125	
Lys	Ile	Gln	Ile	Ile	Pro	Lys	Ser	Ser	Trp	Ser	Asp	His	Glu	Ala	Ser	130	135	140	
Ser	Gly	Val	Ser	Ser	Ala	Cys	Pro	Tyr	Gln	Gly	Thr	Pro	Ser	Phe	Phe	145	150	155	160
Arg	Asn	Val	Val	Trp	Leu	Ile	Lys	Lys	Asn	Asn	Thr	Tyr	Pro	Thr	Ile	165	170	175	
Lys	Arg	Ser	Tyr	Asn	Asn	Thr	Asn	Gln	Glu	Asp	Leu	Leu	Ile	Leu	Trp	180	185	190	
Gly	Ile	His	His	Ser	Asn	Asp	Ala	Ala	Glu	Gln	Thr	Lys	Leu	Tyr	Gln	195	200	205	
Asn	Pro	Thr	Thr	Tyr	Ile	Ser	Val	Gly	Thr	Ser	Thr	Leu	Asn	Gln	Arg	210	215	220	

Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly  
 225 230 235 240

Arg Met Asp Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Pro Asn Asp Ala Ile Asn  
 245 250 255

Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Tyr Ala Tyr Lys Ile  
 260 265 270

Val Lys Lys Gly Asp Ser Ala Ile Val Lys Ser Glu Val Glu Tyr Gly  
 275 280 285

Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser  
 290 295 300

Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys  
 305 310 315 320

Tyr Val Lys Ser Asn Lys Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser  
 325 330 335

Pro Leu Arg Glu Arg Arg Arg Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala  
 340 345 350

Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly  
 355 360 365

Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys Glu  
 370 375 380

Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser Ile  
 385 390 395 400

Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe Asn  
 405 410 415

Asn Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly  
 420 425 430

Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu  
 435 440 445

Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr  
 450 455 460

Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly Asn  
465 470 475 480

Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser  
485 490 495

Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala Arg  
500 505 510

Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly Thr  
515 520 525

Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala Leu  
530 535 540

Ala Ile Met Val Ala Gly Leu Ser Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser  
545 550 555 560

Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile  
565

<210> 56

<211> 568

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Clon

<400> 56

Met Glu Lys Ile Val Leu Leu Phe Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser  
1 5 10 15

Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val  
20 25 30

Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile  
35 40 45

Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys  
50 55 60

Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn  
65 70 75 80

Pro Met Cys Asp Glu Phe Ile Asn Val Pro Glu Trp Ser Tyr Ile Val  
85 90 95



Glu Lys Ala Asn Pro Val Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asp Phe Asn  
 100 105 110  
 Asp Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn His Phe Glu  
 115 120 125  
 Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Ser Ser His Glu Ala Ser  
 130 135 140  
 Leu Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Lys Ser Ser Phe Phe  
 145 150 155 160  
 Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Ser Thr Tyr Pro Thr Ile  
 165 170 175  
 Lys Arg Ser Tyr Asn Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp  
 180 185 190  
 Gly Ile His His Pro Asn Asp Ala Ala Glu Gln Thr Lys Leu Tyr Gln  
 195 200 205  
 Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg  
 210 215 220  
 Leu Val Pro Arg Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly  
 225 230 235 240  
 Arg Met Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Pro Asn Asp Ala Ile Asn  
 245 250 255  
 Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Tyr Ala Tyr Lys Ile  
 260 265 270  
 Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly  
 275 280 285  
 Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Met Gly Ala Ile Asn Ser Ser  
 290 295 300  
 Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys  
 305 310 315 320  
 Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser  
 325 330 335

Pro Gln Arg Glu Arg Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile  
 340 345 350  
 Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr  
 355 360 365  
 Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys  
 370 375 380  
 Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser  
 385 390 395 400  
 Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe  
 405 410 415  
 Asn Asn Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp  
 420 425 430  
 Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met  
 435 440 445  
 Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu  
 450 455 460  
 Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly  
 465 470 475 480  
 Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu  
 485 490 495  
 Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala  
 500 505 510  
 Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly  
 515 520 525  
 Ile Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala  
 530 535 540  
 Leu Ala Ile Met Val Ala Gly Leu Ser Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly  
 545 550 555 560  
 Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile  
 565

<210> 57

<211> 566

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Clon

<400> 57

Met	Ile	Ala	Ile	Ile	Val	Ile	Ala	Ile	Leu	Ala	Ala	Ala	Gly	Lys	Ser	1	5	10	15
Asp	Lys	Ile	Cys	Ile	Gly	Tyr	His	Ala	Asn	Asn	Ser	Thr	Thr	Gln	Val	20	25	30	
Asp	Thr	Ile	Leu	Glu	Lys	Asn	Val	Thr	Val	Thr	His	Ser	Ile	Glu	Leu	35	40	45	
Leu	Glu	Asn	Gln	Lys	Glu	Glu	Arg	Phe	Cys	Lys	Ile	Leu	Asn	Lys	Ala	50	55	60	
Pro	Leu	Asp	Leu	Arg	Glu	Cys	Thr	Ile	Glu	Gly	Trp	Ile	Leu	Gly	Asn	65	70	75	80
Pro	Gln	Cys	Asp	Leu	Leu	Leu	Gly	Asp	Gln	Ser	Trp	Ser	Tyr	Ile	Val	85	90	95	
Glu	Arg	Pro	Thr	Ala	Gln	Asn	Gly	Ile	Cys	Tyr	Pro	Gly	Thr	Leu	Asn	100	105	110	
Glu	Val	Glu	Glu	Leu	Arg	Ala	Leu	Ile	Gly	Ser	Gly	Glu	Arg	Val	Glu	115	120	125	
Arg	Phe	Glu	Met	Phe	Pro	Gln	Ser	Thr	Trp	Gln	Gly	Val	Asp	Thr	Asn	130	135	140	
Ser	Gly	Thr	Thr	Arg	Ser	Cys	Pro	Tyr	Ser	Thr	Gly	Ala	Ser	Phe	Tyr	145	150	155	160
Arg	Asn	Leu	Leu	Trp	Ile	Ile	Lys	Thr	Lys	Thr	Ala	Glu	Tyr	Pro	Val	165	170	175	
Ile	Lys	Gly	Ile	Tyr	Asn	Asn	Thr	Gly	Thr	Gln	Pro	Ile	Leu	Tyr	Phe	180	185	190	
Trp	Gly	Val	His	His	Pro	Pro	Asn	Thr	Asp	Glu	Gln	Asp	Thr	Leu	Tyr	195	200	205	

Gly Ser Gly Asp Arg Tyr Val Arg Met Gly Thr Glu Ser Met Asn Phe  
 210 215 220  
 Ala Lys Ser Pro Glu Ile Ala Ala Arg Pro Ala Val Asn Gly Gln Arg  
 225 230 235 240  
 Gly Arg Ile Asp Tyr Tyr Trp Ser Val Leu Lys Pro Gly Glu Thr Leu  
 245 250 255  
 Asn Val Glu Ser Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Tyr Lys  
 260 265 270  
 Phe Val Asn Thr Asn Ser Lys Gly Ala Val Phe Arg Ser Asp Leu Pro  
 275 280 285  
 Ile Glu Asn Cys Asp Ala Thr Cys Gln Thr Ile Ala Gly Val Leu Arg  
 290 295 300  
 Thr Asn Lys Thr Phe Gln Asn Val Ser Pro Leu Trp Ile Gly Glu Cys  
 305 310 315 320  
 Pro Lys Tyr Val Lys Ser Glu Ser Leu Arg Leu Ala Thr Gly Leu Arg  
 325 330 335  
 Asn Val Pro Gln Ile Glu Thr Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly  
 340 345 350  
 Phe Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr  
 355 360 365  
 His His Glu Asn Ser Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Arg Glu Ser  
 370 375 380  
 Thr Gln Lys Ala Val Asn Arg Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Ile Ile  
 385 390 395 400  
 Asn Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Asp His Glu Phe Ser Asn  
 405 410 415  
 Leu Glu Arg Arg Ile Asp Asn Leu Asn Lys Arg Met Gln Asp Gly Phe  
 420 425 430  
 Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn  
 435 440 445  
 Glu Arg Thr Leu Asp Met His Asp Ala Asn Val Lys Asn Leu His Glu

450		455		460
Lys Val Lys Ser Gln Leu Arg Asp Asn Ala Thr Ile Leu Gly Asn Gly				
465		470		475
Cys Phe Glu Phe Trp His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Ile Glu Ser Val				
		485		490
				495
Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Gln Thr Glu Ser Lys Leu				
		500		505
				510
Asn Arg Leu Lys Ile Glu Ser Val Lys Leu Glu Asn Leu Gly Val Tyr				
		515		520
				525
Gln Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val Ser Ser Ser Leu Val Leu Val				
		530		535
				540
Gly Leu Ile Met Ala Met Gly Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Met				
545		550		555
				560
Gln Cys Arg Ile Cys Ile				
		565		

<210> 58

<211> 570

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Clon

<400> 58

Met Asn Thr Gln Ile Leu Ile Leu Ala Thr Ser Ala Phe Phe Tyr Val  
1 5 10 15

Arg Ala Asp Lys Ile Cys Leu Gly His His Ala Val Ser Asn Gly Thr  
20 25 30

Lys Val Asp Thr Leu Thr Glu Lys Gly Ile Glu Val Val Asn Ala Thr  
35 40 45

Glu Thr Val Glu Gln Thr Asn Ile Pro Lys Ile Cys Ser Lys Gly Lys  
50 55 60

Gln Thr Val Asp Leu Gly Gln Cys Gly Leu Leu Gly Thr Val Ile Gly  
65 70 75 80

Pro Pro Gln Cys Asp Gln Phe Leu Glu Phe Ser Ala Asn Leu Ile Val  
 85 90 95  
 Glu Arg Arg Glu Gly Asn Asp Ile Cys Tyr Pro Gly Lys Phe Asp Asn  
 100 105 110  
 Glu Glu Thr Leu Arg Lys Ile Leu Arg Lys Ser Gly Gly Ile Lys Lys  
 115 120 125  
 Glu Asn Met Gly Phe Thr Tyr Thr Gly Val Arg Thr Asn Gly Glu Thr  
 130 135 140  
 Ser Ala Cys Arg Arg Ser Arg Ser Ser Phe Tyr Ala Glu Met Lys Trp  
 145 150 155 160  
 Leu Leu Ser Ser Thr Asp Asn Gly Thr Phe Pro Gln Met Thr Lys Ser  
 165 170 175  
 Tyr Lys Asn Thr Lys Lys Val Pro Ala Leu Ile Ile Trp Gly Ile His  
 180 185 190  
 His Ser Gly Ser Thr Thr Glu Gln Thr Arg Leu Tyr Gly Ser Gly Asn  
 195 200 205  
 Lys Leu Ile Thr Val Trp Ser Ser Lys Tyr Gln Gln Ser Phe Val Pro  
 210 215 220  
 Asn Pro Gly Pro Arg Pro Gln Met Asn Gly Gln Ser Gly Arg Ile Asp  
 225 230 235 240  
 Phe His Trp Leu Met Leu Asp Pro Asn Asp Thr Val Thr Phe Ser Phe  
 245 250 255  
 Asn Gly Ala Phe Ile Ala Pro Asp Arg Ala Ser Phe Leu Arg Gly Lys  
 260 265 270  
 Ser Leu Gly Ile Gln Ser Asp Ala Gln Leu Asp Asn Asn Cys Glu Gly  
 275 280 285  
 Glu Cys Tyr His Ile Gly Gly Thr Ile Ile Ser Asn Leu Pro Phe Gln  
 290 295 300  
 Asn Ile Asn Ser Arg Ala Ile Gly Lys Cys Pro Arg Tyr Val Lys Gln  
 305 310 315 320  
 Lys Ser Leu Met Leu Ala Thr Gly Met Lys Asn Val Pro Glu Ala Pro



325	330	335
Ala His Lys Gln Leu Thr His His Met Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe		
340	345	350
Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Leu Ile Asp		
355	360	365
Gly Trp Tyr Gly Tyr Lys His Gln Asn Ala Gln Gly Glu Gly Thr Ala		
370	375	380
Ala Asp Tyr Lys Ser Thr Gln Ser Ala Ile Asn Gln Ile Thr Gly Lys		
385	390	395
Leu Asn Arg Leu Ile Glu Lys Thr Asn Gln Gln Phe Glu Leu Ile Asp		
405	410	415
Asn Glu Phe Asn Glu Ile Glu Lys Gln Ile Gly Asn Val Ile Asn Trp		
420	425	430
Thr Arg Asp Ser Ile Ile Glu Val Trp Ser Tyr Asn Ala Glu Phe Leu		
435	440	445
Val Ala Val Glu Asn Gln His Thr Ile Asp Leu Thr Asp Ser Glu Met		
450	455	460
Asn Lys Leu Tyr Glu Lys Val Arg Arg Gln Leu Arg Glu Asn Ala Glu		
465	470	475
Glu Asp Gly Asn Gly Cys Phe Glu Ile Phe His Gln Cys Asp Asn Asp		
485	490	495
Cys Met Ala Ser Ile Arg Asn Asn Thr Tyr Asp His Lys Lys Tyr Arg		
500	505	510
Lys Glu Ala Ile Gln Asn Arg Ile Gln Ile Asp Ala Val Lys Leu Ser		
515	520	525
Ser Gly Tyr Lys Asp Ile Ile Leu Trp Phe Ser Phe Gly Ala Ser Cys		
530	535	540
Phe Leu Phe Leu Ala Ile Ala Met Gly Leu Val Phe Ile Cys Ile Lys		
545	550	555
Asn Gly Asn Met Arg Cys Thr Ile Cys Ile		
565	570	

<210> 59

<211> 560

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Clon

<400> 59

Met Glu Thr Ile Ser Leu Ile Thr Ile Leu Leu Val Val Thr Ala Ser  
1 5 10 15

Asn Ala Asp Lys Ile Cys Ile Gly His Gln Ser Thr Asn Ser Thr Glu  
20 25 30

Thr Val Asp Thr Leu Thr Glu Thr Asn Val Pro Val Thr His Ala Lys  
35 40 45

Glu Leu Leu His Thr Glu His Asn Gly Met Leu Cys Ala Thr Ser Leu  
50 55 60

Gly His Pro Leu Ile Leu Asp Thr Cys Thr Ile Glu Gly Leu Val Tyr  
65 70 75 80

Gly Asn Pro Ser Cys Asp Leu Leu Leu Gly Gly Arg Glu Trp Ser Tyr  
85 90 95

Ile Val Glu Arg Ser Ser Ala Val Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Asn  
100 105 110

Val Glu Asn Leu Glu Glu Leu Arg Thr Leu Phe Ser Ser Ala Ser Ser  
115 120 125

Tyr Gln Arg Ile Gln Ile Phe Pro Asp Thr Thr Trp Asn Val Thr Tyr  
130 135 140

Thr Gly Thr Ser Arg Ala Cys Ser Gly Ser Phe Tyr Arg Ser Met Arg  
145 150 155 160

Trp Leu Thr Gln Lys Ser Gly Phe Tyr Pro Val Gln Asp Ala Gln Tyr  
165 170 175

Thr Asn Asn Arg Gly Lys Ser Ile Leu Phe Val Trp Gly Ile His His  
180 185 190

Pro Pro Thr Tyr Thr Glu Gln Thr Asn Leu Tyr Ile Arg Asn Asp Thr

195	200	205
Thr Thr Ser Val Thr Thr Glu Asp Leu Asn Arg Thr Phe Lys Pro Val 210 215 220		
Ile Gly Pro Arg Pro Leu Val Asn Gly Leu Gln Gly Arg Ile Asp Tyr 225 230 235 240		
Tyr Trp Ser Val Leu Lys Pro Gly Gln Thr Leu Arg Val Arg Ser Asn 245 250 255		
Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Gly His Val Leu Ser Gly Gly Ser 260 265 270		
His Gly Arg Ile Leu Lys Thr Asp Leu Lys Gly Gly Asn Cys Val Val 275 280 285		
Gln Cys Gln Thr Glu Lys Gly Gly Leu Asn Ser Thr Leu Pro Phe His 290 295 300		
Asn Ile Ser Lys Tyr Ala Phe Gly Thr Cys Pro Lys Tyr Val Arg Val 305 310 315 320		
Asn Ser Leu Lys Leu Ala Val Gly Leu Arg Asn Val Pro Ala Arg Ser 325 330 335		
Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp 340 345 350		
Pro Gly Leu Val Ala Gly Trp Tyr Gly Phe Gln His Ser Asn Asp Gln 355 360 365		
Gly Val Gly Met Ala Ala Asp Arg Asp Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp 370 375 380		
Lys Ile Thr Ser Lys Val Asn Asn Ile Val Asp Lys Met Asn Lys Gln 385 390 395 400		
Tyr Glu Ile Ile Asp His Glu Phe Ser Glu Val Glu Thr Arg Leu Asn 405 410 415		
Met Ile Asn Asn Lys Ile Asp Asp Gln Ile Gln Asp Val Trp Ala Tyr 420 425 430		
Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Lys Thr Leu Asp Glu 435 440 445		

His Asp Ala Asn Val Asn Asn Leu Tyr Asn Lys Val Lys Arg Ala Leu  
450 455 460

Gly Ser Asn Ala Met Glu Asp Gly Lys Gly Cys Phe Glu Leu Tyr His  
465 470 475 480

Lys Cys Asp Asp Gln Cys Met Glu Thr Ile Arg Asn Gly Thr Tyr Asn  
485 490 495

Arg Arg Lys Tyr Arg Glu Glu Ser Arg Leu Glu Arg Gln Lys Ile Glu  
500 505 510

Gly Val Lys Leu Glu Ser Glu Gly Thr Tyr Lys Ile Leu Thr Ile Tyr  
515 520 525

Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Val Leu Ala Met Gly Phe Ala Ala Phe  
530 535 540

Leu Phe Trp Ala Met Ser Asn Gly Ser Cys Arg Cys Asn Ile Cys Ile  
545 550 555 560

<210> 60

<211> 3111

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de expresión

<400> 60

agaggtaccc cgggctggta tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt	60
taagttagca agtgtgtaca tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa	120
atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt	180
tgacaacaat tttgttgcaa cttttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattgggtca	240
aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga	300
gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa	360
aagctacaca aataaggggtt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg	420
taccattaga gaatttttgg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta	480
aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaatga attgatgaaa gagttggatt	540
aaagttgtat tagtaattag aatttggtgt caaatttaat ttgacatttg atcttttctt	600
atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa	660

ataacggtat attaatccct ccaaaaaaaaa aaaacggtat atttactaaa aaatctaagc	720
cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacaaac	780
aatcctgatg agataaccca ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa	840
atcacacatt cttccacaca tctgagccac acaaaaaacca atccacatct ttatcaccca	900
ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag	960
agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tggagaaaat agtgcttctt	1020
cttgcaatag tcagtcttgt taaaagtgat cagatttgca ttggttacca tgcaaacaat	1080
tcaacagagc aggttgacac aatcatggaa aagaacgtta ctgttacaca tgcccaagac	1140
atactggaaa agacacacaa cgggaagctc tgcgatctag atggagtga gctctaat	1200
ttaagagatt gtagtgtagc tggatggctc ctcggaacc caatgtgtga cgaattcatc	1260
aatgtaccgg aatggtctta catagtggag aaggccaatc caaccaatga cctctgttac	1320
ccagggagtt tcaacgacta tgaagaactg aaacacctat tgagcagaat aaaccatttt	1380
gagaaaattc aaatcatccc caaaagttct tggtcgatac atgaagcctc atcaggagtt	1440
agctcagcat gtccatacct ggggaagtcct tcttttttta gaaatgtggt atggcttate	1500
aaaaagaaca gtacataccc aacaataaag aaaagctaca ataataccaa ccaagaggat	1560
cttttggtac tgtggggaat tcaccatcct aatgatgagg cagagcagac aaggctatat	1620
caaaacccaa ccacctatat ttccattggg acatcaacac taaaccagag attggtacca	1680
aaaatagcta ctagatccaa agtaaacggg caaagtggaa ggatggagtt cttctggaca	1740
attttaaaac ctaatgatgc aatcaacttc gagagtaatg gaaatttcat tgctccagaa	1800
tatgcataca aaattgtcaa gaaaggggac tcagcaatta tgaaaagtga attggaatat	1860
ggtaactgca acaccaagtg tcaaactcca atgggggcca taaactctag tatgccattc	1920
cacaacatac acctctcac catcggggaa tgccccaaat atgtgaaatc aaacagatta	1980
gtccttgcaa cagggctcag aaatagccct caaagagaga gcagaagaaa aaagagagga	2040
ctatttgag ctatagcagg ttttatagag ggaggatggc agggaatggt agatggttgg	2100
tatgggtacc accatagcaa tgagcagggg agtgggtacg ctgcagacaa agaattcact	2160
caaaaggcaa tagatggagt caccaataag gtcaactcaa tcattgacaa aatgaacact	2220
cagtttgagg ccgttggaag ggaatttaac aacttagaaa ggagaataga gaatttaaac	2280
aagaagatgg aagacgggtt tctagatgtc tggacttata atgccgaact tctggttctc	2340
atggaaaatg agagaactct agactttcat gactcaaatg ttaagaacct ctacgacaag	2400
gtccgactac agcttaggga taatgcaaag gagctgggta acggttggtt cgagttctat	2460
cacaaatgtg ataatgaatg tatggaaagt ataagaaacg gaacgtacaa ctatccgcag	2520

tattcagaag aagcaagatt aaaaagagag gaaataagtg gggtaaaatt ggaatcaata	2580
ggaacttacc aaatactgtc aatttattca acagtggcga gttccctagc actggcaatc	2640
atgatggctg gtctatcttt atggatgtgc tccaatggat cgttacaatg cagaatttgc	2700
atttaagagc tctaagttaa aatgcttctt cgtctcctat ttataatatg gtttggttatt	2760
gttaattttg ttcttgtaga agagcttaat taatcgttgt tggtatgaaa tactatttgt	2820
atgagatgaa ctggtgtaat gtaattcatt tacataagtg gagtcagaat cagaatgttt	2880
cctccataac taactagaca tgaagacctg ccgcgtacaa ttgtcttata tttgaacaac	2940
taaaattgaa catcttttgc cacaacttta taagtggta atatagctca aatatatggt	3000
caagttcaat agattaataa tggaaatata agttatcgaa attcattaac aatcaactta	3060
acgttattaa ctactaattt tatatcatcc cctttgataa atgatagtac a	3111

<210> 61

<211> 3123

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de expresión

<400> 61



agaggtaccc cgggctggta tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt	60
taagttagca agtgtgtaca tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa	120
atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt	180
tgacaacaat tttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattgggtca	240
aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga	300
gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa	360
aagctacaca aataaggggt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg	420
taccattaga gaatttttgg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta	480
aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaatga attgatgaaa gagttggatt	540
aaagttgtat tagtaattag aatttggtgt caaatttaat ttgacatttg atcttttctt	600
atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa	660
ataacggtat attaatccct ccaaaaaaaaa aaaacggtat atttactaaa aaatctaagc	720
cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacac	780
aatcctgatg agataaccca ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa	840
atcacacatt ctccacaca tetgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca	900

ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaaag	960
agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tggcgaaaaa cggtgcgatt	1020
ttcggcttat tgttttctct tcttggttg gttccttctc agatcttcgc tgacacaata	1080
tgtataggct accatgccaa caactcaacc gacactgttg acacagtact tgagaagaat	1140
gtgacagtga cacactctgt caacctactt gaggacagtc acaatggaaa actatgtcta	1200
ctaaaaggaa tagccccact acaattgggt aattgcagcg ttgccggatg gatcttagga	1260
aaccagaat gcgaattact gatttccaag gaatcatggt cctacattgt agaaacacca	1320
aatcctgaga atggaacatg ttaccagggt tatttcgccg actatgagga actgagggag	1380
caattgagtt cagtatcttc atttgagaga ttcgaaatat tcccaaaga aagctcatgg	1440
cccaaccaca ccgtaaccgg agtatcagca tcatgctccc ataatgggaa aagcagtttt	1500
tacagaaatt tgctatggct gacggggaag aatggtttgt acccaaacct gagcaagtcc	1560
tatgtaaaca acaaagagaa agaagtcctt gtactatggg gtgttcatca cccgcctaac	1620
atagggaaacc aaagggcact ctatcataca gaaaatgctt atgtctctgt agtgtcttca	1680
cattatagca gaagattcac ccagaaata gccaaaagac ccaaagtaag agatcaggaa	1740
ggaagaatca actactactg gactctgctg gaacctgggg atacaataat atttgaggca	1800
aatggaaatc taatagcgcc atggtatgct tttgactga gtagaggctt tggatcagga	1860
atcatcacct caaatgcacc aatggatgaa tgtgatgca agtgtcaaac acctcagggg	1920
gctataaaca gcagtcttcc tttccagaat gtacaccag tcacaatagg agagtgtcca	1980
aagtatgtca ggagtgcaa attaaggatg gttacaggac taaggaacat cccatccatt	2040
caatccagag gtttggttg agccattgcc ggtttcattg aaggggggtg gactggaatg	2100
gtagatgggt ggtatggtta tcatcatcag aatgagcaag gatctggcta tgctgcagat	2160
caaaaaagta cacaaaatgc cattaacggg attacaaaca aggtcaattc tgtaattgag	2220
aaaatgaaca ctcaattcac agctgtgggc aaagagttca acaaattgga aagaaggatg	2280
gaaaacttaa ataaaaaagt tgatgatggg tttctagaca tttggacata taatgcagaa	2340
ttgttggttc tactggaaaa tgaaaggact ttggatttcc atgactccaa tgtgaagaat	2400
ctgtatgaga aagtaaaaag ccaattaaag aataatgcca aagaaatagg aaacgggtgt	2460
tttgagttct atcacaagtg taacaatgaa tgcattgaga gtgtgaaaaa tgggtacctat	2520
gactatccaa aatattccga agaatcaaag ttaaacaggg agaaaattga tggagtga	2580
ttggaatcaa tgggagtata ccagattctg gcgactctact caactgtcgc cagttccctg	2640
gttcttttgg tctccctggg ggcaatcagc ttctggatgt gttccaatgg gtctttgcag	2700
tgtagaatat gcatctaaga gctctaagtt aaaatgcttc ttcgtctcct atttataata	2760

tggtttgtta ttgttaattt tgttcttgta gaagagctta attaatcggt gttgttatga	2820
aatactattt gtatgagatg aactgggtgta atgtaattca ttacataag tggagtcaga	2880
atcagaatgt ttctccata actaactaga catgaagacc tgccgcgtac aattgtctta	2940
tatttgaaca actaaaattg aacatctttt gccacaactt tataagtggg taatatagct	3000
caaatatatg gtcaagttca atagattaat aatggaaata tcagttatcg aaattcatta	3060
acaatcaact taacggttatt aactactaat tttatatcat cccctttgat aaatgatagt	3120
aca	3123

<210> 62

<211> 3088

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de expresión

<400> 62

ctggtatatt tatatgttgt caaataactc aaaaaccata aaagtttaag ttagcaagtg	60
tgtacatddd tacttgaaca aaaatattca cctactactg ttataaatca ttattaaaca	120
ttagagtaaa gaaatatgga tgataagaac aagagtagtg atatdddtag aacaatdddg	180
ttgcaacatt tgagaaaatt ttgttgttct ctctdddcat tggdcaaaaa caatagagag	240
agaaaaagga agagggagaa taaaaacata atgtgagtat gagagagaaa gttgtacaaa	300
agttgtacca aaatagttgt acaaatatca ttgaggaatt tgacaaaagc tacacaaata	360
agggttaatt gctgtaaata aataaggatg acgcattaga gagatgtacc attagagaat	420
dddtdgcaag tcattaaaaa gaaagaataa attatdddta aaattaaaag ttgagtcatt	480
tgattaaaca tgtgattatt taatgaattg atgaaagagt tggattaaag ttgtattagt	540
aattagaatt tggdgtcaaa ttdaatttga catttgatct ttdcctatat attgccccat	600
agagtcagtt aactcattddd tatatdddcat agatcaaata agagaaataa cggtatatta	660
atccctcaa aaaaaaaaaa cggtatatddd actaaaaaat ctaagccacg taggaggata	720
acaggatccc cgtaggagga taacatccaa tccaaccaat cacaacaatc ctgatgagat	780
aaccactddd aagccccacg atctgtggca catctacatt atctaaatca cacattcttc	840
cacacatctg agccacacaa aaaccaatcc acatctdddta caccattct ataaaaaatc	900
acacttdtg agtctacact ttgattccct tcaaacacat acaaagagaa gagactaatt	960
aattaattaa tcatcttgag agaaaatgaa agtaaaacta ctggtcctgt tatgcacatt	1020
tacagctaca tatgcagaca caatatgtat aggctacat gctaacaact cgaccgacac	1080

tgttgacaca gtacttgaaa agaattgtgac agtgacacac tctgtcaacc tgcttgagaa	1140
cagtcacaat ggaaaactat gtctattaaa aggaatagcc ccactacaat tgggtaattg	1200
cagcgttgcc ggggtggatct taggaaaccc agaatgcgaa ttactgattt ccaaggagtc	1260
atggtectac attgtagaaa aaccaaattcc tgagaatgga acatgttacc cagggcattt	1320
cgctgactat gaggaactga gggagcaatt gagttcagta tcttcatttg agagggttca	1380
aatattcccc aaagaaagct catggcccaa ccacaccgta accggagtgt cagcatcatg	1440
ctcccataat ggggaaagca gtttttacag aaatttgcta tggctgacgg ggaagaatgg	1500
tttgtacca aacctgagca agtcctatgc aaacaacaaa gaaaaagaag tccttgtact	1560
atgggggtgt catcaccgc caaacatagg tgacaaaag gccctctatc atacagaaaa	1620
tgcttatgtc tctgtagtgt cttcacatta tagcagaaaa ttcaccccag aaatagccaa	1680
aagacccaaa gtaagagatc aagaaggaag aatcaattac tactggactc tgcttgaacc	1740
cggggataca ataatttttg aggcaaatgg aaatctaata gcgccaagat atgctttcgc	1800
actgagtaga ggctttggat caggaatcat caactcaaat gcaccaatgg ataaatgtga	1860
tgcgaaagtgc caaacacctc agggagctat aaacagcagt cttcctttcc agaacgtaca	1920
cccagtcaca ataggagagt gtccaaagta tgtcaggagt gcaaaaattaa ggatgggttac	1980
aggactaagg aacatcccat ccattcaatc cagagggttg tttggagcca ttgccggttt	2040
cattgaaggg ggggtggactg gaatggtaga tggttggtat ggttatcatc atcagaatga	2100
gcaaggatct ggctatgctg cagatcaaaa aagcacacaa aatgccatta atgggattac	2160
aaacaaggtc aattctgtaa ttgagaaaat gaacactcaa ttcacagcag tgggcaaaga	2220
gttcaacaaa ttggaaagaa ggatggaaaa cttgaataaa aaagttgatg atgggtttat	2280
agacatttgg acatataatg cagaactgtt ggttctactg gaaaatgaaa ggactttgga	2340
tttccatgac tccaatgtga agaattctgta tgagaaagta aaaagccagt taaagaataa	2400
tgctaaagaa ataggaaatg ggtgttttga gttctatcac aagtgtaacg atgaatgcat	2460
ggagagtgt aagaatggaa cttatgacta tccaaaatat tccgaagaat caaagttaaa	2520
cagggagaaa attgatggag tgaaattgga atcaatggga gtctatcaga ttctggcgat	2580
ctactcaaca gtcgccagtt ctctggttct tttgggtctc ctggggggcaa tcagcttctg	2640
gatgtgttcc aatgggtctt tacagtgtag aatatgcac taagagctct aagttaaaat	2700
gcttcttctg ctctattta taatatggtt tgttattgtt aattttgttc ttgtagaaga	2760
gcttaattaa tcgttggtgt tatgaaatac tatttgtagt agatgaactg gtgtaatgta	2820
attcatttac ataagtggag tcagaatcag aatgtttcct ccataactaa ctagacatga	2880
agacctgccg cgtacaattg tcttatattt gaacaactaa aattgaacat cttttgccac	2940

aactttataa gtgggtaata tagctcaa atattgggtcaa gttcaataga ttaataatgg 3000  
 aaatatcagt tatcgaaatt cattaacaat caacttaacg ttattaacta ctaattttat 3060  
 atcatccct ttgataaatg atagtaca 3088

<210> 63  
 <211> 3102  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Casete de expresión

<400> 63

agagggtaccc cgggctggta tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt 60  
 taagtttagca agtgtgtaca tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa 120  
 atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt 180  
 tgacaacaat tttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattgggtca 240  
 aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga 300  
 gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa 360  
 aagctacaca aataagggtt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg 420  
 taccattaga gaatttttgg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta 480  
 aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaataga attgatgaaa gagttggatt 540  
 aaagttgtat tagtaattag aatttggtgt caaatttaat ttgacatttg atcttttccct 600  
 atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa 660  
 ataacggtat attaatccct ccaaaaaaaaa aaaacggtat atttactaaa aaatctaagc 720  
 cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacac 780  
 aatcctgatg agataaccca ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa 840  
 atcacacatt ctccacaca tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca 900  
 ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag 960  
 agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tgaaagtaaa actactggtc 1020  
 ctgttatgca catttacagc tacatatgca gacacaatat gtataggcta ccatgccaac 1080  
 aactcaaccg acactgttga cacagtactt gagaagaatg tgacagtgc acactctgtc 1140  
 aacctgcttg aggacagtca caatggaaaa ttatgtctat taaaaggaat agccccacta 1200  
 caattgggta attgcagcgt tgccggatgg atcttaggaa acccagaatg cgaattactg 1260  
 atttccaggg aatcatggtc ctacattgta gaaaaaccaa atcctgagaa tggaacatgt 1320

tacccagggc atttcgccga ctatgaggaa ctgagggagc aattgagttc agtatcttca	1380
tttgagagat tcgaaatatt ccccaaagaa agctcatggc ccaaccacac cacaaccgga	1440
gtatcagcat catgctccca taatggggaa agcagttttt acaaaaattt gctatggctg	1500
acggggaaga atggtttgta cccaaacctg agcaagtcct atgcaaaca caaagagaaa	1560
gaagtccttg tactatgggg tgttcatcac ccgcctaaca taggtgacca aagggtcttc	1620
tatcataaag aaaatgctta tgtctctgta gtgtcttcac attatagcag aaaattcacc	1680
ccagaaatag ccaaaagacc caaagtaaga gatcaagaag gaagaatcaa ctactactgg	1740
actctacttg aacccgggga tacaataata tttgaggcaa atggaaatct aatagcgcca	1800
agatatgctt tcgcactgag tagaggcttt ggatcaggaa tcatcaactc aaatgcacca	1860
atggatgaat gtgatgcgaa gtgccaaaca cctcaggag ctataaacag cagtcttcct	1920
ttccagaatg tacacctgt cacaatagga gagtgtccaa agtatgtcag gagtgcaaaa	1980
ttaaggatgg ttacaggact aaggaacatc ccatccattc aatccagagg tttgtttgga	2040
gccattgccg gtttcattga aggggggtgg actggaatgg tagatgggtg gtatggttat	2100
catcatcaga atgagcaagg atctggctat gctgcagatc aaaaaagcac acaaaatgcc	2160
attaatggga ttacaaacaa ggtcaattct gtaattgaga aaatgaacac tcaattcaca	2220
gctgtgggca aagagttcaa caaattggaa agaaggatgg aaaacttaaa taaaaaagtt	2280
gatgatgggt ttatagacat ttggacatat aatgcagaat tgttggttct actggaaaat	2340
gaaaggactt tggatttcca tgactccaat gtgaagaatc tgtatgagaa agtaaaaagc	2400
caattaaaga ataatgccaa agaaatagga aatgggtgtt ttgagttcta tcataagtgt	2460
aacgatgaat gcatggagag tgtaaaaaat ggaacttatg actatccaaa atattccgaa	2520
gaatcaaagt taaacaggga gaaaattgat ggagtgaaat tggaatcaat gggagtctat	2580
cagattctgg cgatctactc aacagtcgcc agttctctgg ttcttttggt ctccctgggg	2640
gcaatcagct tctggatgtg ttccaatggg tctttgcagt gtagaatatg catctgagag	2700
ctctaagtta aaatgcttct tcgtctccta ttataatat ggtttggtat tgttaatttt	2760
gttcttgtag aagagcttaa ttaatcggtg ttgttatgaa atactatttg tatgagatga	2820
actggtgtaa tgtaattcat ttacataagt ggagtcagaa tcagaatgtt tcctccataa	2880
ctaactagac atgaagacct gccgcgtaca attgtcttat atttgaacaa ctaaaattga	2940
acatcttttg ccacaacttt ataagtggtt aatatagctc aaatatatgg tcaagttcaa	3000
tagattaata atggaaatat cagttatcga aattcattaa caatcaactt aacgttatta	3060
actactaatt ttatatcatc ccctttgata aatgatagta ca	3102

<210> 64

<211> 3093

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Casete de expresión

<400> 64



agaggtaccc cgggctggta tttttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt	60
taagttagca agtgtgtaca tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa	120
atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt	180
tgacaacaat tttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattgggtca	240
aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga	300
gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa	360
aagctacaca aataaggggtt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg	420
taccattaga gaatttttgg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta	480
aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tattttaatga attgatgaaa gagttggatt	540
aaagttgtat tagtaattag aatttggtgt caaatttaat ttgacatttg atcttttctt	600
atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa	660
ataacggtat attaatccct ccaaaaaaaaa aaaacggtat atttactaaa aaatctaagc	720
cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacaac	780
aatcctgatg agataacceca ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa	840
atcacacatt ctccacaca tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca	900
ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag	960
agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tggccatcat ttatctaatt	1020
ctcctgttca cagcagtgag aggggaccaa atatgcattg gataccatgc caataattcc	1080
acagagaagg tcgacacaat tctagagcgg aacgtcactg tgactcatgc caaggacatt	1140
cttgagaaga ccataacgg aaagttatgc aaactaaacg gaatccctcc acttgaacta	1200
ggggactgta gcattgccgg atggctcctt ggaaatccag aatgtgatag gcttctaagt	1260
gtgccagaat ggtcctatat aatggagaaa gaaaaccga gagacgggtt gtgttatcca	1320
ggcagcttca atgattatga agaattgaaa catctcctca gcagcgtgaa acatttcgag	1380
aaagtaaaga ttctgcccaa agatagatgg acacagcata caacaactgg aggttcacgg	1440
gcctgcgcgg tgtctggtaa tccatcatte ttcaggaaca tggctctggct gacaaagaaa	1500
gaatcaaatt atccggttgc caaaggatcg tacaacaata caagcggaga acaaatgcta	1560

ataatttggg ggggtgcacca tcccaatgat gagacagaac aaagaacatt gtaccagaat	1620
gtgggaacct atgtttccgt aggcacatca acattgaaca aaagggtcaac cccagacata	1680
gcaacaaggc ctaaagtga tggactagga agtagaatgg agttctcttg gacctattg	1740
gatatgtggg acaccataaa ttttgagagt actggtaatc taattgcacc agagtatgga	1800
ttcaaaatat cgaaaagagg tagttcaggg atcatgaaaa cagaaggaac acttgagaac	1860
tgtgagacca aatgccaaac tcctttggga gcaataaata caacattgcc ttttcacaat	1920
gtccaccac tgacaatagg tgagtgcgcc aaatatgtaa aatcggagaa gttgggtctta	1980
gcaacaggac taaggaatgt tccccagatt gaatcaagag gattgtttgg ggcaatagct	2040
ggttttatag aaggaggatg gcaaggaatg gttgatgggt ggtatggata ccatcacagc	2100
aatgaccagg gatcagggtg tgcagcagac aaagaatcca ctcaaaaggc atttgatgga	2160
atcaccaaca aggtaaattc tgtgattgaa aagatgaaca cccaatttga agctgttggg	2220
aaagagttca gtaacttaga gagaagactg gagaacttga acaaaaagat ggaagacggg	2280
tttctagatg tgtggacata caatgctgag cttctagttc tgatggaaaa tgagaggaca	2340
cttgactttc atgattctaa tgtcaagaat ctgtatgata aagtcagaat gcagctgaga	2400
gacaacgtca aagaactagg aaatggatgt tttgaatttt atcacaaatg tgatgatgaa	2460
tgcatgaata gtgtgaaaaa cgggacgtat gattatccca agtatgaaga agagtctaaa	2520
ctaaatagaa atgaaatcaa aggggtaaaa ttgagcagca tgggggttta tcaaatectt	2580
gccatttatg ctacagtagc aggttctctg tcaactggcaa tcatgatggc tgggatctct	2640
ttctggatgt gtcceaagg gtctctgcag tgcaggatct gcatatgaga gctctaagtt	2700
aaaatgcttc ttcgtctcct atttataata tggtttgta ttgttaattt tgttcttgta	2760
gaagagctta attaatcgtt gttgttatga aatactatct gtatgagatg aactgggtgta	2820
atgtaattca tttacataag tggagtcaga atcagaatgt ttctccata actaactaga	2880
catgaagacc tgccgcgtac aattgtctta tatttgaaca actaaaattg aacatctttt	2940
gccacaactt tataagtggg taatatagct caaatatatg gtcaagttca atagattaat	3000
aatggaaata tcagttatcg aaattcatta acaatcaact taacgttatt aactactaat	3060
tttatatcat cccctttgat aaatgatagt aca	3093

<210> 65

<211> 3108

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de expresión

<400> 65

agagggtaccc cgggctggta tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt	60
taagtttagca agtgtgtaca tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgtttataa	120
atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt	180
tgacaacaat tttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattgggtca	240
aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga	300
gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa	360
aagctacaca aataaggggt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg	420
taccattaga gaatttttgg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta	480
aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaatga attgatgaaa gagttggatt	540
aaagttgtat tagtaattag aatttgggtg caaatttaat ttgacatttg atcttttctt	600
atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa	660
ataacggtat attaatccct ccaaaaaaaaa aaaacggtat atttactaaa aaatctaagc	720
cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacaac	780
aatcctgatg agataacca ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa	840
atcacacatt cttccacaca tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca	900
ttctataaaa aatcacactt tgtgagteta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag	960
agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tggagaaaat agtgcttctt	1020
cttgcaatag tcagccttgt taaaagtgat cagatttgca ttggttacca tgcaacaac	1080
tcgacagagc aggttgacac aataatggaa aagaacgtta ctgttacaca tgccaagac	1140
atactggaaa agacacacaa cgggaagctc tgcgatctag atggagtga gcctctgatt	1200
ttaagagatt gtagttagc tggatggctc ctcgaaacc caatgtgtga cgagttcatc	1260
aatgtgccgg aatggtctta catagtggag aaggccaacc cagccaatga cctctgttac	1320
ccaggggaatt tcaacgacta tgaagaactg aaacacctat tgagcagaat aaaccatttt	1380
gagaaaattc agatcatccc caaaagttct tgggtccgatc atgaagcctc atcaggggtc	1440
agctcagcat gtccatacca gggaacgccc tcctttttca gaaatgtgggt atggcttatac	1500
aaaaagaaca atacataccc aacaataaag agaagctaca ataataccaa ccaggaagat	1560
cttttgatac tgtgggggat tcatcattct aatgatgcgg cagagcagac aaagctctat	1620
caaaacccaa ccacctatat ttccgttggg acatcaacac taaaccagag attggtacca	1680
aaaatagcta ctagatccaa agtaaacggg caaagtggaa ggatggattt cttctggaca	1740
attttaaaac cgaatgatgc aatcaacttc gagagtaatg gaaatttcat tgctccagaa	1800

tatgcataca aaattgtcaa gaaaggggac tcagcaattg ttaaaagtga agtggaatat	1860
ggtaactgca atacaaagtg tcaaactcca ataggggcca taaactctag tatgccattc	1920
cacaacatac accctctcac catcggggaa tgccccaat atgtgaaatc aaacaaatta	1980
gtccttgcca ctgggctcag aaatagtcct ctaagagaaa gaagaagaaa aagaggacta	2040
tttggagcta tagcagggtt tatagaggga ggatggcagg gaatggtaga tggttgggtat	2100
gggtaccacc atagcaatga gcaggggagt gggtagctg cagacaaaga atccactcaa	2160
aaggcaatag atggagtcac caataaggtc aactcgatca ttgacaaaat gaacactcag	2220
tttgaggccg ttggaaggga atttaataac ttagaaagga gaatagagaa tttaacaag	2280
aaaatggaag acggattcct agatgtctgg acttataatg ctgaacttct ggttctcatg	2340
gaaaatgaga gaactctaga cttccatgat tcaaatgtca agaaccctta cgacaaggtc	2400
cgactacagc ttagggataa tgcaaaggag ctgggtaacg gttgtttcga gttctatcac	2460
aatgtgata atgaatgtat ggaaagtga agaaacggaa cgtatgacta cccgcagtat	2520
tcagaagaag caagattaaa aagagaggaa ataagtggag taaaattgga atcaatagga	2580
acttaccaaa tactgtcaat ttattcaaca gttgcgagtt ctctagcact ggcaatcatg	2640
gtggctggtc tatctttgtg gatgtgtccc aatgggtcgt tacaatgcag aatttgcatt	2700
taagagctct aagttaaaat gcttcttcgt ctctatttta taatatgggt tgttattgtt	2760
aattttgttc ttgtagaaga gcttaattaa tcgttgttgt tatgaaatac tatttgtatg	2820
agatgaactg gtgtaatgta attcatttac ataagtggag tcagaatcag aatgtttcct	2880
ccataactaa ctagacatga agacctgccg cgtacaattg tcttatattt gaacaactaa	2940
aattgaacat cttttgccac aactttataa gtggttaata tagctcaa atatgggtcaa	3000
gttcaataga ttaataatgg aaatatcagt tatcgaaatt cattaacaat caacttaacg	3060
ttattaacta ctaattttat atcatccct ttgataaatg atagtaca	3108

<210> 66

<211> 3111

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de expresión

<400> 66

agaggtaccc cgggctggta tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt	60
taagttagca agtgtgtaca tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa	120
atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt	180
tgacaacaat ttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattgggtca	240

aaaaCaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga	300
gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa	360
aagctacaca aataaggggt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg	420
taccattaga gaatttttgg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta	480
aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaataga attgatgaaa gagttggatt	540
aaagttgtat tagtaattag aatttggtgt caaatttaat ttgacatttg atcttttcct	600
atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa	660
ataacgggat attaatccct ccaaaaaaaaa aaaacgggat atttactaaa aaatctaagc	720
cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacac	780
aatcctgatg agataacca ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa	840
atcacacatt ctccacaca tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca	900
ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag	960
agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tggagaaaat agtgcttctt	1020
tttgcaatag tcagtcttgt taaaagtgat cagatttgca ttggttacca tgcaaacac	1080
tcgacagagc aggttgacac aataatggaa aagaacgtta ctgttacaca tgcccaagac	1140
atactggaaa agacacacaa tgggaagctc tcgcatctag atggagtga gcctctaatt	1200
ttgagagatt gtagtgtagc tggatggctc ctcggaacc caatgtgtga cgagttcatc	1260
aatgtgccgg aatggtctta catagtggag aaggccaatc cagtcaatga cctctgttac	1320
ccaggggatt tcaatgacta tgaagaattg aaacacctat tgagcagaat aaaccatttt	1380
gagaaaattc agatcatccc caaaagttct tgggccagtc atgaagcctc attgggggctc	1440
agctcagcat gtccatacca gggaaagtcc tcctttttca gaaatgtgggt atggcttctc	1500
aaaaagaaca gtacataccc aacaataaag aggagctaca ataataccaa ccaagaagat	1560
cttttggtac tgtgggggat tcaccatcct aatgatgcgg cagagcagac aaagctctat	1620
caaaacccaa ccacctatat ttccgttggg acatctacac taaaccagag attggtacca	1680
agaatagcta ctagatccaa agtaaacggg caaagtggaa ggatggagtt cttctggaca	1740
attttaaaac cgaatgatgc aatcaacttc gagagtaatg gaaatttcat tgctccagaa	1800
tatgcataca aaattgtcaa gaaaggggac tcaacaatta tgaaaagtga attggaatat	1860
ggtaactgca ataccaagtg tcaaactcca atggggggca taaactctag catgccattc	1920
cacaatatac accctctcac catcggggaa tgccccaat atgtgaaatc aaacagattc	1980
gtccttgcca ctgggctcag aaatagccct caaagagaga gaagaagaaa aaagagagga	2040

```

ttatttggag ctatagcagg ttttatagag ggaggatggc agggaatggt agatggttgg 2100
tatgggtacc accatagcaa cgagcagggg agtgggtacg ctgcagacaa agaatccact 2160
caaaaggcaa tagatggagt caccaataag gtcaactcga ttattgacaa aatgaacact 2220
cagtttgagg ccgttggaag ggaatttaac aacttagaaa ggagaataga gaatttaaac 2280
aagaagatgg aagacgggtt cctagatgtc tggacttata atgctgaact tctagttctc 2340
atggaaaacg agagaactct agactttcat gactcaaatg tcaagaacct ttacgacaag 2400
gtccgactac agcttaggga taatgcaaag gagctgggta acggttggtt cgagttctat 2460
cataaatgtg ataatgaatg tatggaaagt gtaagaaacg gaacgtatga ctaccgcag 2520
tattcagaag aagcaagact aaaaagagag gaaataagtg gagtaaaatt ggaatcaata 2580
ggaatttacc aaatattgtc aatttattct acagtggcca gtcacctagc actggcaatc 2640
atggtagctg gtctatcctt atggatgtgc tccaatgggt cgttacaatg cagaatttgc 2700
atttaagagc tctaagttaa aatgcttctt cgtctcctat ttataatatg gtttgttatt 2760
gttaattttg ttcttgtaga agagcttaat taatcgttgt tgttatgaaa tactatttgt 2820
atgagatgaa ctggtgtaat gtaattcatt tacataagtg gagtcagaat cagaatgttt 2880
cctccataac taactagaca tgaagacctg ccgcgtacaa ttgtcttata tttgaacaac 2940
taaaattgaa catcttttgc cacaacttta taagtgggta atatagctca aatatatggt 3000
caagttcaat agattaataa tggaaatatc agttatcgaa attcattaac aatcaactta 3060
acgttattaa ctactaattt tatatcatcc cctttgataa atgatagtac a 3111

```

<210> 67

<211> 3105

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de expresión

<400> 67



agaggtaccc cgggctggta tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt	60
taagttagca agtgtgtaca tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actggtataa	120
atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt	180
tgacaacaat tttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattggtca	240
aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga	300
gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa	360
aagctacaca aataagggtt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg	420
taccattaga gaatttttgg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta	480

aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaatga attgatgaaa gagttggatt	540
aaagttgtat tagtaattag aatttggtgt caaatttaat ttgacatttg atcttttctt	600
atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa	660
ataacggtat attaatccct ccaaaaaaaaa aaaacggtat atttactaaa aaatctaagc	720
cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacaac	780
aatcctgatg agataacca ctttaagccc acgcatctgt ggacacatcta cattatctaa	840
atcacacatt ctccacaca tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca	900
ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag	960
agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tgattgcaat cattgtaata	1020
gcaatactgg cagcagccgg aaagtcagac aagatctgca ttgggtatca tgccaacaat	1080
tcaacaacac aggtagatac gatacttgag aagaatgtga ctgtcacaca ctcaattgaa	1140
ttgctggaaa atcagaagga agaaagattc tgcaagatat tgaacaaggc ccctctcgac	1200
ttaagggaat gtaccataga gggttggatc ttggggaatc cccaatgcga cctattgctt	1260
ggtgatcaaa gctggtcata cattgtggaa agacctactg ctcaaaacgg gatctgctac	1320
ccaggaacct taaatgaggt agaagaactg agggcactta ttggatcagg agaaagggta	1380
gagagatttg agatgtttcc ccaaagcacc tggcaaggag ttgacaccaa cagtggaaca	1440
acaagatcct gcccttattc tactggtgcg tctttctaca gaaacctcct atggataata	1500
aaaaccaaga cagcagaata tccagtaatt aagggaattt acaacaacac tggaaccag	1560
ccaatcctct atttctgggg tgtgcatcat cctcctaaca ccgacgagca agatactctg	1620
tatggctctg gtgatcgata cgttagaatg ggaactgaaa gcatgaattt tgccaagagt	1680
ccggaaattg cggcaaggcc tgctgtgaat ggacaaagag gcagaattga ttattattgg	1740
tcggttttaa aaccagggga aaccttgaat gtggaatcta atggaaatct aatcgccct	1800
tggtatgcat acaaatttgt caacacaaat agtaaaggag ccgtcttcag gtcagattta	1860
ccaatcgaga actgcgatgc cacatgccag actattgcag gggttctaag gaccaataaa	1920
acatttcaga atgtgagtc cctgtggata ggagaatgtc ccaaatacgt gaaaagtgaa	1980
agtctgaggc ttgcaactgg actaagaaat gttccacaga ttgaaactag aggactcttc	2040
ggagctattg cagggtttat tgaaggagga tggactggga tgatagatgg gtggtatggc	2100
tatcaccatg aaaattctca agggtcagga tatgcagcag acagagaaag cactcaaaag	2160
gctgtaaaca gaattacaaa taagggtcaat tccatcatca acaaaatgaa cacacaattt	2220
gaagctgtcg atcacgaatt ttcaaactct gagaggagaa ttgacaatct gaacaaaaga	2280

atgcaagatg gatttctgga tgtttggaca tacaatgctg aactgttggt tcttcttgaa	2340
aacgaaagaa cactagacat gcatgacgca aatgtgaaga acctacatga aaaggtcaaa	2400
tcacaactaa gggacaatgc tacgatctta gggaaatgggt gctttgaatt ttggcataag	2460
tgtgacaatg aatgcataga gtctgtcaaa aatggtacat atgactatcc caaataccag	2520
actgaaagca aattaaacag gctaaaaata gaatcagtaa agctagagaa ccttggtgtg	2580
tatcaaattc ttgccattta tagtacggtg tgcagcagcc tagtggtggg agggctgac	2640
atggcaatgg gtctttggat gtgttcaaat ggttcaatgc agtgcaggat atgtatataa	2700
gagctctaag ttaaaatgct tcttcgtctc ctatttataa tatggtttgt tattgttaat	2760
tttgttcttg tagaagagct taattaatcg ttgttggtat gaaatactat ttgtatgaga	2820
tgaactgggtg taatgtaatt catttacata agtggagtca gaatcagaat gtttctcca	2880
taactaacta gacatgaaga cctgccgctg acaattgtct tatatttgaa caactaaaat	2940
tgaacatctt ttgccacaac ttataagtg gttaatatag ctcaaataa tggtaagtt	3000
caatagatta ataatggaaa tatcagttat cgaaattcat taacaatcaa cttaacgtta	3060
ttaactacta attttatatc atccccttg ataaatgata gtaca	3105

<210> 68

<211> 3087

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de expresión

<400> 68

agaggtaccc cgggctggta tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt	60
taagtttagca agtgtgtaca tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa	120
atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt	180
tgacaacaat tttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattgggtca	240
aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga	300
gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa	360
aagctacaca aataaggggt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg	420
taccattaga gaatttttgg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta	480
aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaatga attgatgaaa gagttggatt	540
aaagttgtat tagtaattag aatttggtgt caaatttaaat ttgacatttg atcttttcct	600
atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa	660
ataacggtat attaatccct ccaaaaaaaaa aaaacggtat atttactaaa aaatctaagc	720

cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacaac	780
aatcctgatg agataaccca ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa	840
atcacacatt cttccacaca tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca	900
ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag	960
agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tggaaacaat atcactaata	1020
actatactac tagtagtaac agcaagcaat gcagataaaa tctgcatcgg ccaccagtca	1080
acaaactcca cagaaactgt ggacacgcta acagaaacca atgttcctgt gacacatgcc	1140
aaagaattgc tccacacaga gcataatgga atgctgtgtg caacaagcct gggacatccc	1200
ctcattctag acacatgcac tattgaagga ctagtctatg gcaacccttc ttgtgacctg	1260
ctgttggggag gaagagaatg gtcctacatc gtcgaaagat catcagctgt aaatggaacg	1320
tgttaccctg ggaatgtaga aaacctagag gaactcagga cacttttttag ttccgctagt	1380
tcctaccaa gaatccaaat cttcccagac acaacctgga atgtgactta cactggaaca	1440
agcagagcat gttcagggtc attctacagg agtatgagat ggctgactca aaagagcggc	1500
ttttaccctg ttcaagacgc ccaatacaca aataacaggg gaaagagcat tcttttcgtg	1560
tggggcatac atcacccacc cacctatacc gagcaaaca atttgtacat aagaaacgac	1620
acaacaacaa gcgtgacaac agaagatttg aataggacct tcaaaccagt gatagggcca	1680
aggcccttg tcaatggctc gcagggaaga attgattatt attggtcggt actaaaacca	1740
ggccaaacat tgcgagtacg atccaatggg aatctaattg ctccatggta tggacacggt	1800
ctttcaggag ggagccatgg aagaatcctg aagactgatt taaaagggtg taattgtgta	1860
gtgcaatgtc agactgaaaa aggtggctta aacagtacat tgccattcca caatatcagt	1920
aatatgcat ttggaacctg ccccaaatat gtaagagtta atagtctcaa actggcagtc	1980
ggtctgagga acgtgcctgc tagatcaagt agaggactat ttggagccat agctggattc	2040
atagaaggag gttggccagg actagtcgct ggctggtatg gtttcagca ttcaaatgat	2100
caaggggttg gtatggctgc agataggat tcaactcaa aggcaattga taaaataaca	2160
tccaagggtga ataatatagt cgacaagatg aacaagcaat atgaaataat tgatcatgaa	2220
tttagtgagg ttgaaactag actcaatatg atcaataata agattgatga ccaaatacaa	2280
gacgtatggg catataatgc agaattgcta gtactacttg aaaatcaaaa aacactcgat	2340
gagcatgatg cgaacgtgaa caatctatat aacaagggtga agagggcact gggctccaat	2400
gctatggaag atgggaaagg ctgtttcgag ctataccata aatgtgatga tcagtgcagt	2460
gaaacaattc ggaacgggac ctataatagg agaaagtata gagaggaatc aagactagaa	2520

```

aggcagaaaa tagaggggggt taagctggaa tctgagggaa cttacaaaat cctcaccatt 2580
tattcgactg tgcctcatc tcttgtgctt gcaatgggggt ttgctgcctt cctgttctgg 2640
gccatgtcca atggatcttg cagatgcaac atttgtatat aagagctcta agttaaagt 2700
cttcttcgtc tcctatztat aatatgggtt gttattgtta attttgttct tgtagaagag 2760
cttaattaat cggtgttgtt atgaaatact atttgtatga gatgaactgg tgtaatgtaa 2820
ttcatttaca taagtggagt cagaatcaga atgtttcctc cataactaac tagacatgaa 2880
gacctgccgc gtacaattgt cttatatttg aacaactaaa attgaacatc ttttgccaca 2940
actttataag tggttaatat agctcaaata tatggtaag ttcaatagat taataatgga 3000
aatatcagtt atcgaaattc attaacaatc aacttaacgt tattaactac taattttata 3060
tcatcccctt tgataaatga tagtaca 3087

```

<210> 69

<211> 3105

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de expresión

<400> 69

agaggtaccc cgggctggta tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt	60
taagtttagca agtgtgtaca tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa	120
atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt	180
tgacaacaat tttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattgggtca	240
aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga	300
gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa	360
aagctacaca aataaggggt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg	420
taccattaga gaatttttgg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta	480
aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaataa attgatgaaa gagttggatt	540
aaagttgtat tagtaattag aatttggtgt caaatttaata ttgacatttg atcttttctt	600
atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa	660
ataacggtat attaatccct ccaaaaaaaaa aaaacggtat atttactaaa aaatctaagc	720
cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacaac	780
aatcctgatg agataaccca cttaageccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa	840
atcacacatt cttccacaca tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca	900
ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag	960

agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tgaagactat cattgctttg	1020
agctacattc tatgtctggt ttctactcaa aaacttcccc gaaatgacaa cagcacggca	1080
acgctgtgcc ttgggcacca tgcagtacca aacggaacga tagtgaaaac aatcacgaat	1140
gaccaaattg aagttactaa tgctactgag ctggttcaga gttcctcaac aggtgaaata	1200
tgcgacagtc ctcatcagat ccttgatgga gaaaactgca cactaataga tgctctattg	1260
ggagaccctc agtgtgatgg ctccaaaat aagaaatggg acctttttgt tgaacgcagc	1320
aaagcctaca gcaactgtta cccttatgat gtgccggatt atgcctccct taggtcacta	1380
gttgccctcat ccggcacact ggagtttaac aatgaaagtt tcaattggac tggagtcact	1440
caaaacggaa caagctctgc ttgcataagg agatctaata acagtttctt tagtagattg	1500
aattggttga ccacttaaa attcaaatac ccagcattga acgtgactat gccaaacaat	1560
gaaaaatttg acaaattgta catttggggg gttcaccacc cgggtacgga caatgaccaa	1620
atcttctgt atgtcaagc atcaggaaga atcacagtct ctaccaaag aagccaacaa	1680
actgtaatcc cgaatatcgg atctagacc agagtaagga atatccccag cagaataagc	1740
atctattgga caatagtaaa accgggagac atacttttga ttaacagcac agggaatcta	1800
attgctccta ggggttactt caaaatacga agtgggaaaa gctcaataat gagatcagat	1860
gcaccattg gcaaagcaa ttctgaatgc atcactccaa acggaagcat tcccaatgac	1920
aaaccattcc aaaatgtaaa caggatcaca tacggggcct gtcccagata tgttaagcaa	1980
aacactctga aattggcaac agggatgcga aatgtaccag agaaacaaac tagaggcata	2040
tttggcgcaa tcgcggggtt catagaaaat ggttgggagg gaatggtgga tggttggtat	2100
ggtttcaggc atcaaaattc tgagggaata ggacaagcag cagatctcaa aagcactcaa	2160
gcagcaatcg atcaaatcaa tgggaagctg aataggttga tcgggaaaac caacgagaaa	2220
ttccatcaga ttgaaaaaga gttctcagaa gtcgaaggga gaatccagga ccttgagaaa	2280
tatgttgagg acacaaaaat agatctctgg tcatacaacg cggagcttct tgttgccctg	2340
gagaaccaac atacaattga tctaactgac tcagaaatga acaaactgtt tgaaaaaaca	2400
aagaagcaac tgagggaaaa tgctgaggat atgggcaatg gttgtttcaa aatataccac	2460
aatgtgaca atgcctgcat aggatcaatc agaaatggaa cttatgacca cgatgtatac	2520
agagatgaag cattaaacaa ccggttccag atcaagggcg ttgagctgaa gtcaggatac	2580
aaagattgga tactatggat ttcccttgcc atatcatgtt ttttgctttg tgttgctttg	2640
ttggggttca tcatgtgggc ctgccaaaaa ggcaacatta ggtgcaacat ttgcatttga	2700
gagctetaag ttaaaatgct tcttcgtctc ctatttataa tatggtttgt tattgttaat	2760



tttgttcttg tagaagagct taattaatcg ttgttggtat gaaatactat ttgtatgaga	2820
tgaactgggtg taatgtaatt catttacata agtggagtca gaatcagaat gtttcctcca	2880
taactaacta gacatgaaga cctgccgcgt acaattgtct tatatttgaa caactaaaat	2940
tgaacatctt ttgccacaac ttataagtg gttaatatag ctcaaata tggtcaagtt	3000
caatagatta ataattgaaa ttcagttat cgaaattcat taacaatcaa cttaacgtta	3060
ttaactacta attttatatc atccccttg ataatgata gtaca	3105

<210> 70

<211> 3105

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de expresión

<400> 70

agaggtaccc	cgggctggta	tatttatatg	ttgtcaaata	actcaaaaac	cataaaagtt	60
taagttagca	agtgtgtaca	tttttacttg	aacaaaaata	ttcacctact	actgttataa	120
atcattatta	aacattagag	taaagaaata	tggatgataa	gaacaagagt	agtgatat	180
tgacaacaat	tttgttgcaa	catttgagaa	aattttgttg	ttctctcttt	tcattgggtca	240
aaaacaatag	agagagaaaa	aggaagaggg	agaataaaaa	cataatgtga	gtatgagaga	300
gaaagttgta	caaaagttgt	accaaataag	ttgtacaaat	atcattgagg	aatttgacaa	360
aagctacaca	aataaggggt	aattgctgta	aataaataag	gatgacgcat	tagagagatg	420
taccattaga	gaatttttgg	caagtcatta	aaaagaaaga	ataaattatt	tttaaaatta	480
aaagttgagt	catttgatta	aacatgtgat	tatttaatat	attgatgaaa	gagttggatt	540
aaagttgtat	tagtaattag	aatttggtgt	caaatttaata	ttgacatttg	atcttttcct	600
atatattgcc	ccatagagtc	agttaactca	tttttatatt	tcatagatca	aataagagaa	660
ataacggtat	attaatccct	ccaaaaaaaa	aaaacggtat	atttactaaa	aaatctaagc	720
cacgtaggag	gataacagga	tccccgtagg	aggataacat	ccaatccaac	caatcacac	780
aatcctgatg	agataaccca	ctttaagccc	acgcatctgt	ggcacatcta	cattatctaa	840
atcacacatt	cttcacaca	tctgagccac	acaaaaacca	atccacatct	ttatcaccca	900
ttctataaaa	aatcacactt	tgtgagtcta	cactttgatt	cccttcaaac	acatacaaag	960
agaagagact	aattaattaa	ttaatcatct	tgagagaaaa	tgaagactat	cattgctttg	1020
agctacattc	tatgtctggg	tttcaactca	aaacttcccg	gaaatgacaa	cagcacggca	1080
acgctgtgcc	ttgggcacca	tgcagtacca	aacggaacga	tagtgaaaac	aatcacgaat	1140
gaccaaattg	aagttactaa	tgctactgag	ctgggtcaga	gttcctcaac	aggtggaata	1200

tgcgacagtc ctcacacagat ccttgatgga gaaaactgca cactaataga tgctctattg	1260
ggagaccctc agtgtgatgg cttccaaaat aagaaatggg acctttttgt tgaacgcagc	1320
aaagcctaca gcaactgtta cccttatgat gtgccggatt atgcctccct taggtcacta	1380
gttgccctcat cgggcacact ggagtttaac gatgaaagtt tcaattggac tggagtcact	1440
caaaatggaa caagctctgc ttgcaaaagg agatctaata acagtttctt tagtagattg	1500
aattgggtga ccactttaa attcaaatac ccagcattga acgtgactat gccaaacaat	1560
gaaaaatttg acaaattgta catttggggg gttcaccacc cgggtacgga caatgaccaa	1620
atcttcctgc atgctcaagc atcaggaaga atcacagtct ctaccaaag aagccaacaa	1680
actgtaatcc cgaatatcgg atctagacc agaataagga atatccccag cagaataagc	1740
atctattgga caatagtaaa accgggagac atacttttga ttaacagcac agggaatcta	1800
attgctccta ggggttactt caaaatacga agtgggaaaa gctcaataat gagatcagat	1860
gcacccattg gcaaattgcaa ttctgaatgc atcactccaa atggaagcat tcccaatgac	1920
aaaccatttc aaaatgtaaa caggatcaca tatggggcct gtccagata tgtaagcaa	1980
aacactctga aattggcaac agggatgcca aatgtaccag agaaacaaac tagaggcata	2040
tttggcgcaa tcgcggttt catagaaaat ggttgggagg gaatggtgga tggttggtac	2100
ggtttcaggc atcaaaattc tgagggaata ggacaagcag cagatctcaa aagcactcaa	2160
gcagcaatca atcaaatcaa tgggaagctg aataggttga tcgggaaaac caacgagaaa	2220
ttccatcaga ttgaaaaaga gttctcagaa gtagaaggga gaatccagga cctcgagaaa	2280
tatgttgagg aactaaaaat agatctctgg tcatacaacg cggagcttct tgttgccctg	2340
gagaaccaac atacaattga tctaactgac tcagaaatga acaaactgtt tgaaagaaca	2400
aagaagcaac tgagggaata tgctgaggat atgggcaatg gttgtttcaa aatataccac	2460
aatgtgaca atgcctgcat aggatcaatc agaaatggaa cttatgacca tgatgtatac	2520
agagatgaag cattaaacaa ccggttccag atcaaaggcg ttgagctgaa gtcaggatac	2580
aaagattgga tactatggat ttcccttgcc atatcatgtt ttttgcttg tgttgcttg	2640
ttggggttca tcatgtgggc ctgccaaaaa ggcaacatta ggtgcaacat ttgcatttga	2700
gagctctaag ttaaaatgct tcttcgtctc ctatttataa tatggtttgt tattgttaat	2760
tttgttcttg tagaagagct taattaatcg ttgttggtat gaaatactat ttgtatgaga	2820
tgaactggtg taatgtaatt catttacata agtggagtca gaatcagaat gtttccctcca	2880
taactaacta gacatgaaga cctgccgcgt acaattgtct tatatttgaa caactaaaat	2940
tgaacatctt ttgccacaac ttataaagtg gttaatatag ctcaaatata tggtaagtt	3000

caatagatta ataatggaaa ttcagttat cgaaattcat taacaatcaa cttaacgtta 3060  
 ttaactacta attttatatc atcccccttg ataaatgata gtaca 3105

- 5 <210> 71
- <211> 3117
- <212> ADN
- <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
- <223> Casete de expresión
- <400> 71

agaggtaccc cgggctggta tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt	60
taagttagca agtgtgtaca tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa	120
atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt	180
tgacaacaat tttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattgggtca	240
aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga	300
gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa	360
aagctacaca aataaggggt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg	420
taccattaga gaatttttgg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta	480
aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaatga attgatgaaa gagttggatt	540
aaagttgtat tagtaattag aatttggtgt caaatttaaat ttgacatttg atcttttctt	600
atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa	660
ataacggtat attaatccct ccaaaaaaaaa aaaacggtat atttactaaa aaatctaagc	720
cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacac	780
aatcctgatg agataacca ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa	840
atcacacatt ctccacaca tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca	900
ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag	960
agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tgaacactca aattctaata	1020
ttagccactt cggcattctt ctatgtacgt gcagataaaa tctgcctagg acatcatgct	1080
gtgtctaatt gaaccaaagt agacaccctt actgaaaaag gaatagaagt tgtcaatgca	1140
acagaaacag ttgaacaaac aaacatccct aagatctgct caaaaggaaa acagactgtt	1200
gaccttggtc aatgtggatt actagggacc gttattggtc ctccccaatg tgaccaattt	1260
cttgagttct ctgctaattt aatagttgaa agaaggggaag gtaatgacat ttgttatcca	1320
ggcaaatttg acaatgaaga aacattgaga aaaatactca gaaaatccgg aggaattaaa	1380
aaggagaata tgggattcac atataccgga gtgagaacca atggagagac tagcgcatgt	1440

agaagggtcaa gatcttcctt ttatgcagag atgaaatggc ttctatccag cacagacaat	1500
gggacatttc cacaaatgac aaagtcctac aagaacacta agaagggtacc agctctgata	1560
atctggggaa tccaccactc aggatcaact actgaacaga ctagattata tggaagtggg	1620
aataaattga taacagtttg gagttccaaa taccaacaat cttttgtccc aaatcctgga	1680
ccaagaccgc aaatgaatgg tcaatcagga agaattgact ttactgggt gatgctagat	1740
cccaatgata ctgtcacttt cagttttaat ggggccttta tagcacctga ccgcgccagt	1800
tttctaagag gttaaattctt aggaatccaa agtgatgcac aacttgacaa taattgtgaa	1860
ggtgaatgct atcatattgg aggtactata attagcaact tgccctttca aaacattaat	1920
agtagggcaa tcggaaaatg cccagatac gtgaagcaga agagcttaat gctagcaaca	1980
ggaatgaaaa atgttcctga agtccttgca cataaacaac taactcatca catgcgcaaa	2040
aaaagaggtt tatttggtgc aatagcagga ttcattgaaa atgggtggga aggattaata	2100
gacggatggg atggatataa gcatcagaat gcacaaggag aagggactgc tgcagactac	2160
aaaagtacac aatctgctat caaccaata accggaaaat tgaacagact aatagaaaaa	2220
accaaccage aattcgaact aatagataat gagttcaatg aaatagaaaa acaaattggc	2280
aatgttatta actggactag agattctatc atcgaagtat ggcatataa tgcagagttc	2340
ctcgtagcag tggagaatca acacactatt gatttaactg actcagaaat gaacaaacta	2400
tatgaaaagg taagaagaca actgagagaa aatgctgagg aagatggtaa tggctgtttt	2460
gaaatattcc accaatgtga caatgattgc atggccagca ttagaaacaa cacatatgac	2520
cataaaaaat acagaaaaga ggcaatacaa aacagaatcc agattgacgc agtaaagttg	2580
agcagtgggt acaaagatat aatactttgg tttagcttcg gggcatcatg tttcttattt	2640
cttgccattg caatgggtct tgttttcata tgtataaaaa atggaaacat gcggtgcact	2700
atttgtatat aagagctcta agttaaaatg cttcttcgtc tcctatttat aatatggttt	2760
gttattgtta attttgttct tgtagaagag ctttaattaat cgttgttggt atgaaatact	2820
atttgtatga gatgaactgg tgtaatgtaa ttcatttaca taagtggagt cagaatcaga	2880
atgtttcctc cataactaac tagacatgaa gacctgccgc gtacaattgt cttatatattg	2940
aacaactaaa attgaacatc ttttgccaca actttataag tggttaatat agctcaaata	3000
tatgggtcaag ttcaatagat taataatgga aatatcagtt atcgaaattc attaacaatc	3060
aacttaacgt tattaactac taattttata tcatccccct tgataaatga tagtaca	3117

<211> 3162

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Casete de expresión

<400> 72

agaggtaccc cgggctggta tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt	60
taagttagca agtgtgtaca tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa	120
atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt	180
tgacaacaat tttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattgggtca	240
aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga	300
gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa	360
aagctacaca aataaggggtt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg	420
taccattaga gaatTTTTTgg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta	480
aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaatga attgatgaaa gagttggatt	540
aaagttgtat tagtaattag aatttgggtg caaatttaat ttgacatttg atcttttctt	600
atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa	660
ataacgggtat attaatccct ccaaaaaaaaa aaaacgggtat atttactaaa aaatctaagc	720
cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacaac	780
aatcctgatg agataacca ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa	840
atcacacatt cttccacaca tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca	900
ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag	960
agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tgaaggcaat aattgtacta	1020
ctcatggtag taacatccaa tgcagatcga atctgcactg ggataacatc gtcaaaactca	1080
ccacatggtg tcaaaactgc tactcaaggg gaggtcaatg tgactgggtg aataccactg	1140
acaacaacac ccaccaaate tcatttttgca aatctcaaag gaacagaaac cagagggaaa	1200
ctatgccccaa aatgcctcaa ctgcacagat ctggacgtgg ccttgggcag accaaaatgc	1260
acggggaaca taccctcggc aagagtttca atactccatg aagtcagacc tgttacatct	1320
gggtgctttc ctataatgca cgacagaaca aaaattagac agctgcctaa acttctcaga	1380
ggatacgaac atatcaggtt atcaactcat aacgttatca atgcagaaaa tgcaccagga	1440
ggaccctaca aaattggaac ctcaggggtct tgccctaacg ttaccaatgg aaacggattt	1500
ttcgcaacaa tggcttgggc cgtcccaaaa aacgacaaca acaaaacagc acaaaattca	1560
ttaacaatag aagtaccata catttgtaca gaaggagaag accaaattac cgtttggggg	1620
ttcactctg ataacgaaac ccaaatggca aagctctatg gggaactcaa gccccagaag	1680



ttcacctcat ctgccaacgg agtgaccaca cattacgttt cacagattgg tggtttccca	1740
aatcaaacag aagacggagg actaccacaa agcggtagaa ttgttggtga ttacatggtg	1800
caaaaatctg ggaaaacagg aacaattacc tatcaaagag gtattttatt gcctcaaaaa	1860
gtgtggtgcg caagtggcag gagcaaggta ataaaaggat cgttgccttt aattggagaa	1920
gcagattgcc tccacgaaaa atacggtgga ttaaacaaaa gcaagcctta ctacacaggg	1980
gaacatgcaa aggccatagg aaattgcccc atatgggtga aaacaccctt gaagctggcc	2040
aatggaacca aatatagacc tcctgcaaaa ctattaaagg aaaggggttt ctctggagct	2100
attgctggtt tcttagaagg aggatgggaa ggaatgattg caggttgga cggatacaca	2160
tcccatgggg cacatggagt agcgggtgga gcagacctta agagcactca agaggccata	2220
aacaagataa caaaaaatct caactctttg agtgagctgg aagtaaagaa tcttcaaaga	2280
ctaagcgggtg ccatggatga actccacaac gaaatactag aactagacga gaaagtggat	2340
gatctcagag ctgatacaat aagctcacia atagaactcg cagtctctgt ttccaatgaa	2400
ggaataataa acagtgaaga tgagcatctc ttggcgcttg aaagaaagct gaagaaaatg	2460
ctggggccct ctgctgtaga gatagggaaat ggatgctttg aaaccaaa caagtgaac	2520
cagacctgtc tcgacagaat agctgctggt acctttgatg caggagaatt ttctctcccc	2580
acttttgatt cactgaatat tactgctgca tctttaaatg acgatggatt ggataatcat	2640
actatactgc tttactactc aactgctgcc tccagtttgg ctgtaacatt gatgatagct	2700
atctttgttg tttatatggt ctccagagac aatgtttctt gctccatctg tctataagag	2760
ctctaagtta aaatgcttct tcgtctccta tttataatat ggtttgttat tgttaatttt	2820
gttctttag aagagcttaa ttaatcggtt ttgttatgaa atactatttg tatgagatga	2880
actggtgtaa tgtaattcat ttacataagt ggagtcagaa tcagaatgtt tcctccataa	2940
ctaactagac atgaagacct gccgcgtaca attgtcttat atttgaacaa ctaaaattga	3000
acatcttttg ccacaacttt ataagtgggt aatatagctc aaatatatgg tcaagttcaa	3060
tagattaata atggaaatat cagttatcga aattcattaa caatcaactt aacgttatta	3120
actactaatt ttatatcatc ccctttgata aatgatagta ca	3162

<210> 73

<211> 3159

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de expresión

<400> 73

agagggtaccc cgggctggta tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt	60
taagtttagca agtgtgtaca tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actggtataa	120
atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatat	180
tgacaacaat tttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattgggtca	240
aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga	300
gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa	360
aagctacaca aataaggggt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg	420
taccattaga gaatttttgg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta	480
aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaataa attgatgaaa gagttggatt	540
aaagttgtat tagtaattag aatttggtgt caaatttaat ttgacatttg atcttttctt	600
atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa	660
ataacgggtat attaatccct ccaaaaaaaaa aaaacgggtat atttactaaa aaatctaagc	720
cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacaac	780
aatcctgatg agataaccca ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa	840
atcacacatt ctccacaca tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca	900
ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt cctttcaaac acatacaaag	960
agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tgaaggcaat aattgtacta	1020
ctcatggtag taacatccaa tgcagatcga atctgcactg gaataacatc ttcaaactca	1080
cctcatgtgg tcaaaacagc cactcaaggg gaggtcaatg tgactgggtg gataccacta	1140
acaacaacac caacaaaatc ttattttgca aatctcaaag gaacaaggac cagagggaaa	1200
ctatgccag actgtetcaa ctgcacagat ctggatgtgg ctttgggcag accaatgtgt	1260
gtggggacca caccttcggc gaaggcttca atactccacg aagtc aaacc tgttacatcc	1320
gggtgctttc ctataatgca cgacagaaca aaaatcaggc aactacccaa tcttctcaga	1380
ggatgatgaaa atatcaggct atcaacccaa aacgtcatcg atgcggaaaa ggcaccagga	1440
ggaccctaca gacttggaac ctccaggatct tgccetaacg ctaccagtaa gagcggattt	1500
ttcgcaacaa tggcttgggc tgtcccaaag gacaacaaca aaaatgcaac gaaccacta	1560
acagtagaag taccatacat ttgtacagaa ggggaagacc aaatcactgt ttgggggttc	1620
cattcagata acaaaaacca aatgaagaac ctctatggag actcaaactc tcaaaagttc	1680
acctcatctg ctaatggagt aaccacacac tatgtttctc agattggcag cttcccagat	1740
caaacagaag acggaggact accacaaagc ggcaggattg ttgttgatta catgatgcaa	1800
aaacctggga aaacaggaac aattgtctac caaagagggtg ttttgttgcc tcaaaagggtg	1860

tggtgcgcga gtggcaggag caaagtaata aaagggtcct tgcctttaat tggatgaagca	1920
gattgccttc atgaaaaata cgggtggatta aacaaaagca agccttacta cacaggagaa	1980
catgcaaaag ccataggaaa ttgcccataa tgggtgaaaa cacctttgaa gctcgccaat	2040
ggaaccaa atagacctcc tgcaaaaacta ttaaaggaaa ggggtttctt cggagctatt	2100
gctggtttcc tagaaggagg atgggaagga atgattgcag gctggcacgg atacacatct	2160
cacggagcac atggagtggc agtggcgggc gaccttaaga gtacgcaaga agctataaac	2220
aagataacaa aaaatctcaa ttctttgagt gagctagaag taaagaatct tcaaagacta	2280
agtggtgcca tggatgaact ccacaacgaa atactcgagc tggatgagaa agtggatgat	2340
ctcagagctg acactataag ctgcgaaata gaacttgagc tcttgcttcc caacgaagga	2400
ataataaaca gtgaagatga gcatctattg gcacttgaga gaaaactaaa gaaaatgctg	2460
ggtcctctg ctgtagagat aggaaatgga tgcttcgaaa ccaaacacaa gtgcaaccag	2520
acctgcttag acaggatagc tgctggcacc tttaatgcag gagaattttc tctccccact	2580
tttgattcac tgaacattac tgctgcatct ttaaatgatg atggattgga taaccatact	2640
atactgctct attactcaac tgctgcttct agtttggtctg taacattgat gctagctatt	2700
tttattgttt atatggtctc cagagacaac gtttcatgct ccatctgtct ataagagctc	2760
taagttaaaa tgcttcttcg tctcctattt ataatatggt ttgttattgt taattttgtt	2820
cttgtagaag agcttaatta atcggtgttg ttatgaaata ctatttgtat gagatgaact	2880
ggtgtaattg aattcattta cataagtgga gtcagaatca gaatgtttcc tccataacta	2940
actagacatg aagacctgcc gcgtacaatt gtcttatatt tgaacaacta aaattgaaca	3000
tcttttgcca caactttata agtgggtta atagctcaaa tatatggtca agttcaatag	3060
attaataatg gaaatatcag ttatcgaaat tcattaacaa tcaacttaac gttattaact	3120
actaatttta tatcatcccc ttgataaat gatagtaca	3159

<210> 74

<211> 565

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Consenso

<220>

10 <221> característica nueva

- <222> (3)..(3)
- <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
- <220>
- <221> característica nueva
- 5 <222> (52)..(52)
- <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
- <220>
- <221> característica nueva
- <222> (90)..(90)
- 10 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
- <220>
- <221> característica nueva
- <222> (99)..(99)
- <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
- 15 <220>
- <221> característica nueva
- <222> (111)..(111)
- <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
- <220>
- 20 <221> característica nueva
- <222> (145)..(145)
- <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
- <220>
- <221> característica nueva
- 25 <222> (157)..(157)
- <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
- <220>
- <221> característica nueva
- <222> (162)..(162)
- 30 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

- <220>
- <221> característica nueva
- <222> (182)..(182)
- <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
- 5 <220>
- <221> característica nueva
- <222> (203)..(203)
- <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
- <220>
- 10 <221> característica nueva
- <222> (205)..(205)
- <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
- <220>
- <221> característica nueva
- 15 <222> (210)..(210)
- <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
- <220>
- <221> característica nueva
- <222> (225)..(225)
- 20 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
- <220>
- <221> característica nueva
- <222> (268)..(268)
- <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
- 25 <220>
- <221> característica nueva
- <222> (283)..(283)
- <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
- <220>
- 30 <221> característica nueva

<222> (290)..(290)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<220>

<221> característica nueva

5 <222> (432)..(432)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<220>

<221> característica nueva

<222> (489)..(489)

10 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<400> 74

Met Lys Xaa Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr  
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr  
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn  
 35 40 45

Leu Leu Glu Xaa Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Leu Leu Lys Gly Ile  
 50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Asn Cys Ser Val Ala Gly Trp Ile Leu Gly  
 65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Glu Leu Leu Ile Ser Xaa Glu Ser Trp Ser Tyr Ile  
 85 90 95

Val Glu Xaa Pro Asn Pro Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Xaa Phe  
 100 105 110

Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe  
 115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Ser Ser Trp Pro Asn His Thr  
 130 135 140



Xaa Thr Gly Val Ser Ala Ser Cys Ser His Asn Gly Xaa Ser Ser Phe  
 145 150 155 160

Tyr Xaa Asn Leu Leu Trp Leu Thr Gly Lys Asn Gly Leu Tyr Pro Asn  
 165 170 175

Leu Ser Lys Ser Tyr Xaa Asn Asn Lys Glu Lys Glu Val Leu Val Leu  
 180 185 190

Trp Gly Val His His Pro Pro Asn Ile Gly Xaa Gln Xaa Ala Leu Tyr  
 195 200 205

His Xaa Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser His Tyr Ser Arg  
 210 215 220

Xaa Phe Thr Pro Glu Ile Ala Lys Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln Glu  
 225 230 235 240

Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr Ile  
 245 250 255

Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Xaa Tyr Ala Phe Ala  
 260 265 270

Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Xaa Ser Asn Ala Pro Met  
 275 280 285

Asp Xaa Cys Asp Ala Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn Ser  
 290 295 300

Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys Pro  
 305 310 315 320

Lys Tyr Val Arg Ser Ala Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn  
 325 330 335

Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe  
 340 345 350

Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His  
 355 360 365

His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr  
 370 375 380

Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu

385		390		395		400
Lys Met Asn Thr	Gln Phe Thr Ala Val	Gly Lys Glu Phe Asn Lys Leu				
	405	410			415	
Glu Arg Arg Met	Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe Xaa					
	420	425			430	
Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu						
	435	440			445	
Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys						
	450	455			460	
Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys						
	465	470			475	480
Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Xaa Glu Cys Met Glu Ser Val Lys						
	485	490			495	
Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn						
	500	505			510	
Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln						
	515	520			525	
Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Val Leu Leu Val						
	530	535			540	
Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln						
	545	550			555	560
Cys Arg Ile Cys Ile						
	565					

&lt;210&gt; 75

&lt;211&gt; 565

5 &lt;212&gt; PRT

<213> Virus de la influenza

<400> 75

Met	Lys	Ala	Lys	Leu	Leu	Val	Leu	Leu	Cys	Thr	Phe	Thr	Ala	Thr	Tyr
1				5					10					15	

Ala	Asp	Thr	Ile	Cys	Ile	Gly	Tyr	His	Ala	Asn	Asn	Ser	Thr	Asp	Thr
			20					25					30		

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn  
 35 40 45  
 Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Leu Leu Lys Gly Ile  
 50 55 60  
 Ala Pro Leu Gln Leu Gly Asn Cys Ser Val Ala Gly Trp Ile Leu Gly  
 65 70 75 80  
 Asn Pro Glu Cys Glu Leu Leu Ile Ser Lys Glu Ser Trp Ser Tyr Ile  
 85 90 95  
 Val Glu Thr Pro Asn Pro Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Tyr Phe  
 100 105 110  
 Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe  
 115 120 125  
 Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Ser Ser Trp Pro Asn His Thr  
 130 135 140  
 Val Thr Gly Val Ser Ala Ser Cys Ser His Asn Gly Lys Ser Ser Phe  
 145 150 155 160  
 Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Gly Lys Asn Gly Leu Tyr Pro Asn  
 165 170 175  
 Leu Ser Lys Ser Tyr Val Asn Asn Lys Glu Lys Glu Val Leu Val Leu  
 180 185 190  
 Trp Gly Val His His Pro Pro Asn Ile Gly Asn Gln Arg Ala Leu Tyr  
 195 200 205  
 His Thr Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser His Tyr Ser Arg  
 210 215 220  
 Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Lys Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln Glu  
 225 230 235 240  
 Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr Ile  
 245 250 255  
 Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Phe Ala  
 260 265 270

Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr Ser Asn Ala Pro Met  
 275 280 285  
 Asp Glu Cys Asp Ala Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn Ser  
 290 295 300  
 Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys Pro  
 305 310 315 320  
 Lys Tyr Val Arg Ser Ala Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn  
 325 330 335  
 Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe  
 340 345 350  
 Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His  
 355 360 365  
 His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr  
 370 375 380  
 Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu  
 385 390 395 400  
 Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys Leu  
 405 410 415  
 Glu Arg Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe Leu  
 420 425 430  
 Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu  
 435 440 445  
 Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys  
 450 455 460  
 Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys  
 465 470 475 480  
 Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Lys  
 485 490 495  
 Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn  
 500 505 510  
 Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln

515

520

525

Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Val Leu Leu Val  
530 535 540

Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln  
545 550 555 560

Cys Arg Ile Cys Ile  
565

<210> 76

<211> 252

5 <212> PRT

<213> Virus de la influenza

<400> 76

Met Ser Leu Leu Thr Glu Val Glu Thr Tyr Val Leu Ser Ile Ile Pro  
 1 5 10 15

Ser Gly Pro Leu Lys Ala Glu Ile Ala Gln Arg Leu Glu Asp Val Phe  
 20 25 30

Ala Gly Lys Asn Thr Asp Leu Glu Val Leu Met Glu Trp Leu Lys Thr  
 35 40 45

Arg Pro Ile Leu Ser Pro Leu Thr Lys Gly Ile Leu Gly Phe Val Phe  
 50 55 60

Thr Leu Thr Val Pro Ser Glu Arg Gly Leu Gln Arg Arg Arg Phe Val  
 65 70 75 80

Gln Asn Ala Leu Asn Gly Asn Gly Asp Pro Asn Asn Met Asp Lys Ala  
 85 90 95

Val Lys Leu Tyr Arg Lys Leu Lys Arg Glu Ile Thr Phe His Gly Ala  
 100 105 110

Lys Glu Ile Ser Leu Ser Tyr Ser Ala Gly Ala Leu Ala Ser Cys Met  
 115 120 125

Gly Leu Ile Tyr Asn Arg Met Gly Ala Val Thr Thr Glu Val Ala Phe  
 130 135 140

Gly Leu Val Cys Ala Thr Cys Glu Gln Ile Ala Asp Ser Gln His Arg  
 145 150 155 160

Ser His Arg Gln Met Val Thr Thr Thr Asn Pro Leu Ile Arg His Glu  
165 170 175

Asn Arg Met Val Leu Ala Ser Thr Thr Ala Lys Ala Met Glu Gln Met  
180 185 190

Ala Gly Ser Ser Glu Gln Ala Ala Glu Ala Met Glu Val Ala Ser Gln  
195 200 205

Ala Arg Gln Met Val Gln Ala Met Arg Thr Ile Gly Thr His Pro Ser  
210 215 220

Ser Ser Ala Gly Leu Lys Asn Asp Leu Leu Glu Asn Leu Gln Ala Tyr  
225 230 235 240

Gln Lys Arg Met Gly Val Gln Met Gln Arg Phe Lys  
245 250

Referencias:

- 5 Aymard, H. M., M. T. Coleman, W. R. Dowdle, W. G. Laver, G. C. Schild, and R. G. Webster. 1973. Influenza virus neuraminidase-inhibition test procedures. Bull. W.h.O. 48: 199 - 202
- Bollag, D. M., Rozycki, M. D., and Edelstein, S. J. (1996) Protein nmthods (ZM edition). Wi1ey-Liss, New York, USA.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. Can. J. Med. SCL 37, 911 - 917 (1959).
- 10 Chen, B. J., Leser, G. P., Morita, E., and Lamb R. A. (2007) Influenza virus hemagglutinin and neuraminidase, but not the matrix protein, are required for assembly and budding of plasmid-derived virus-like particles. J. Virol. 81, 7111 - 7123.
- Chen Z, Aspelund A, Jin H. 2008 Stabilizing the glycosylation pattern of influenza B hemagglutinin following adaptation to growth in eggs. Vaccine vol 26 p 361 - 371.
- 15 Crawford, J. , Wilkinson, B. , Vosnesensky, A. smith, G. , Garcia, M. , Stone, H. , and Perdue, M. L. (1999). BaculoVirus-derived hemagglutinin vaccines protect against lethal influenza infections by avian H5 and H7 subtypes. Vaccine 17, 2265 - 2274.
- Darveau, A., Pelletier, A. & Perreault, J. PCR-mediated. synthesis of chimeric molecules. Methods .Neurosc. 26, 77 - 85 (1995).
- Grgacic EVL, Anderson DA. Virus-1ike particlesz passport to immune recognition. Methods 2006; 40: 60 - 65.
- 20 Gillim-Ross, L., and Subbarao, K. (2006) Emerging respiratory viruses: chanllenges and vaccine strategies. Clin. Microbiol. Rev. 19, 614 - 636.
- Gomez-Puertas, P., Mena, I., Castillo, M., Vivo, A., Perez-Pastrana, E. and Portela, A. (1999) Efficient formation of influenza Virus-1ike particles: dependence on the expression level of viral proteins. J. Gen. Virol. 80, 1635 - 1645.
- 25 Gomez-Puertas, P., Albo, C, Perez-Pastrana, E., Vivo, A., and Portela, A. (2000) Influenza Virus protein is the major driving force in virus budding. J Virol. 74, 11538 - 11547.



- Hamilton, A., Voinnet, O., Chappell, L. Baulcombe, D. Two classes of short interfering RNA in RNA silencing. *EMBO J.* 21, 4671 - 4679 (2002).
- Höfgen, R. & Willmitzer, L. Storage of competent cells for *Agrobacterium* transformation. *Nucleic Acid Res.* 16, 9877 (1988).
- 5 Harbury PB, Zhang T, Kim PS, Alber T. (1993) A switch between two-, three-, and four-stranded coiled coils in GCN4 leucine zipper mutants. *Science*; 262: 1401 - 1407)
- Horimoto T., Kawaoka Y. Strategies for developing vaccines against h5N1 influenza A viruses. *Trends in Mol. Med.* 2006; 12(11): 506 - 514.
- 10 Huang Z, Elkin G, Maloney B. J., Beuhner N, Arntzen C. J., Thanavala Y, Mason H. S. Virus-like particle expression and assembly in plants: hepatitis B and Norwalk viruses. *Vaccine*. 2005 Mar 7; 23(15): 1851-8.
- Johansson, B. E. (1999). Immunization with influenza A virus hemagglutinin and neuraminidase produced in recombinant baculovirus results in a balanced and broadened immune response superior to conventional vaccine. *Vaccine* 17, 2073 - 2080.
- 15 Latham, T. , and Galarza, J. M. (2001). Formation of wild-type and chimeric influenza virus-like particles following simultaneous expression of only four structural proteins. *J. Virol.* 75, 6154 - 6165.
- Lefebvre, B. et al. *Plant Physiol.* 144, 402 - 418 (2007).
- Leutwiler LS et al 1986. *Nucleic Acid Research* 14(9): 4051 - 64
- Liu, L & Lomonosoff, G. P. Agroinfection as a rapid method for propagating Cowpea mosaic virus-based constructs. *J. Virol. Methods* 105, 343 - 348 (2002).
- 20 Macala, L. J., Yo, R. K. & Ando, S. J. *Lipid Res.* 24, 1243 - 1250 (1983)
- Mattanovich, D., Rüker, F., da Camara Machado, A., Laimer, M., Regner, F., Steinkellner, H., Himmler, G., and Katinger, H. (1989) Efficient transformation of *Agrobacterium* spp. By electroporation. *Nucl. Ac. Res.* 17, 6747.
- Mena, I, Vivo, A., Perez, E., and Portela, A. (1996) Rescue of synthetic chloramphenicol acetyltransferase RNA into influenza virus-like particles obtained from recombinant plasmids. *J. Virol.* 70, 5016 - 5024.
- 25 Mongrand S, Morel J, Laroche J, Claverol S, Carde J. P., Hartmann M. A. et al.. Lipid rafts in higher plant cells. *The Journal of Biological Chemistry* 2004; 279(35): 36277 - 36286.
- Neumann, G., Watanabe, T., and Kawaoka, Y. (2000) Plasmid-driven formation of virus-like particles. *J. Virol.* 74, 547 - 551.
- 30 Nayak D. P., Reichl U. (2004) Neuraminidase activity assays for monitoring" MDCK cell culture derived influenza virus. *J Virol Methods* 122(1): 9 - 15.
- Olsen, C. W. , McGregor, M. W. , Dybdahl-Sissoko, N. , Schram, B. R. , Nelson, K. M. , Lunn, D., Macklin, M. D. and Swain, W. F. (1997). Immunogenicity and efficacy of baculovirus- expressed and DNA-based equine influenza virus hemagglutinin vaccines in mice. *Vaccine* 15, 1149 - 1156.
- 35 Quan F. S., Huang C, Compans R. W., Kang SM. Virus-like particle Vaccine induces protective immunity against homologous and heterologous strains of influenza virus. *Journal of Virology* 2007; 81(7): 3514 - 3524.
- Rowe, T. et al. 1999. Detection of antibody to avian influenza A (H5N1) virus in human serum by using a combination of serologic assays. *J. Clin Microbiol* 37(4): 937 - 43.
- Saint-Jore-Dupas Cc et al. 2007. From planta to pharma with glycosylation in the toolbox. *Trends in Biotechnology* 25(7): 317 - 23.
- 40 Sambrook J, and Russell DW. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor, N. Y. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.

Stockhaus J et al 1987. Analysis of cis-active sequences involved in the leaf-specific expression of a potato gene in transgenic plants. Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.S. 84(22): 7943 - 7947.

Stockhaus J et al 1989. Identification of enhancer elements in the upstream region of the nuclear photosynthetic gene ST-LS1. Plant Cell. 1(8): 805 - 13.

- 5 Suzuki, Y. (2005) Sialobiology of influenza. Molecular mechanism of host range Variation of influenza viruses. Biol. Pharm. Bull 28, 399 - 408.

Tsuji M., Cell. MOI. Life SCL, 63 (2006); 1889 - 1898

Wakefield L., G. G. Brownlee Nuc Acid Res. 17 (1989); 8569 - 8580.

- 10 Kendal, A. P., Pereira M. S., Skehel J. Concepts and procedures for laboratory-based influenza surveillance. Atlanta: CDC; 1982. p.B17 - B35.

WHO. Manual on animal influenza diagnosis and surveillance. Department of communicable disease surveillance and response. world Health Organisation Global Influenza Program. 2002.

Skehel J. J. and Wildy D. C. Ann Rev Biochem 2000 69:531 - 69.

Vaccaro L et al 2005. Biophysical J. 88: 25 - 36.

- 15 Gamblin, S. J., Haire, L. F., Russell, R. J., Stevens, D. J., Xiao, B., Ha, Y., Vasisht, N., Steinhauer, D. A., Daniels, R. S., Elliot, A., Wiley, D. C., Skehel, J. J. (2004) The structure and receptor binding properties of the 1918 influenza hemagglutinin. Science 303: 1838 - 1842.

## REIVINDICACIONES

1. Un método para producir partículas similares al virus de la influenza (VLP) en una planta, que comprende:
  - a) introducir un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótido que codifica una hemaglutinina de influenza (HA) operativamente enlazada a una región reguladora activa en la planta dentro de la planta, o en una porción de la misma,
  - b) incubar la planta bajo condiciones que permitan la expresión del ácido nucleico, produciendo así las VLP,
  - c) cosechar la planta, y
  - d) purificar las VLP, en donde las VLP están en un intervalo de tamaño de 80 - 300 nm.
2. El método de la reivindicación 1, en donde la secuencia de nucleótidos se selecciona del grupo que consiste de H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 y H16.
3. El método de la reivindicación 2, en donde en la etapa de introducción (etapa a), el ácido nucleico se expresa en forma transitoria en la planta.
4. El método de la reivindicación 1 o 2, en donde en la etapa de introducción (etapa a), el ácido nucleico se expresa en forma estable en la planta.
5. Una partícula similar a un virus (VLP) producida mediante el método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende una proteína de hemaglutinina del virus de la influenza (HA) y uno o más de un lípido derivado de una planta.
6. La VLP de la reivindicación 5, en donde la proteína HA de influenza es Indonesia H5.
7. Una composición que comprende una dosis efectiva de la VLP de la reivindicación 5 o la reivindicación 6 para inducir una respuesta inmunológica y un portador farmacéuticamente aceptable.
8. Una VLP producida por medio del método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o la VLP de la reivindicación 5 o la reivindicación 6, en donde la HA del virus de la influenza comprende N-glicanos, o N-glicanos modificados específicos de la planta.
9. La VLP de cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6 o la reivindicación 8, o la composición de la reivindicación 7, para uso en la inducción de inmunidad para una infección causada por virus de la influenza en un individuo.
10. La VLP de la reivindicación 9, en donde la VLP es adecuada para administración oral, intradérmica, intranasal, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa o subcutánea.
11. Una composición que comprende una dosis efectiva de la VLP de la reivindicación 8 para inducir una respuesta inmune, y un portador farmacéuticamente aceptable.
12. La composición de la reivindicación 11 para uso en la inducción de inmunidad para una infección causada por virus de la influenza en un individuo.
13. La composición de la reivindicación 12, en donde la composición es adecuada para administración oral, intradérmica, intranasal, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa o subcutánea.
14. Un alimento suplementado que comprende la VLP como se describe en cualquiera de las reivindicaciones 5, 6 u 8.

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATA  
 AAAGTTTAAAGTTAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTAC  
 TACTGTTATAAATCATTATTAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAAC  
 AAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGTTGCAACATTTGAGAAAATTTTGTT  
 GTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAGAAAAAGGAAGAGGGAG  
 AATAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAA  
 ATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTT  
 AATTGCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAAT  
 TTTTGGCAAGTCATTAAAAAGAAAGATAAATTATTTTTAAATTTAAAGTTGAG  
 TCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAG  
 TTGTATTAGTAATTAGAAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCCT  
 ATATATTGCCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTCATAGATCAAATAA  
 GAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAAAAAAAAACGGTATATTTACTAAA  
 AAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATAACATCCA  
 ATCCAACCAATCACACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCCACGCATC  
 TGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATTCTTCCACACATCTGAGCCACA  
 CAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAG  
 TCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAAT  
 TAATCATCTTGAGAGAAAATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTT  
TCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCT

**GAGCTCTAAGTTAAATGCTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTTATTG**  
 TTAATTTTGTTCTTGTAGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATT  
 TGTATGAGATGAACTGGTGTAAATGTAATTCATTTACATAAGTGGAGTCAGAATC  
 AGAATGTTTCCTCCATAACTAAGTACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTGTC  
 TTATATTTGAACAACATAAAATTGAACATCTTTTGCCACAACCTTTATAAGTGGTTA  
 ATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTA  
 TCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAATACTAATTTTATATCATCCC  
 CTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 1A

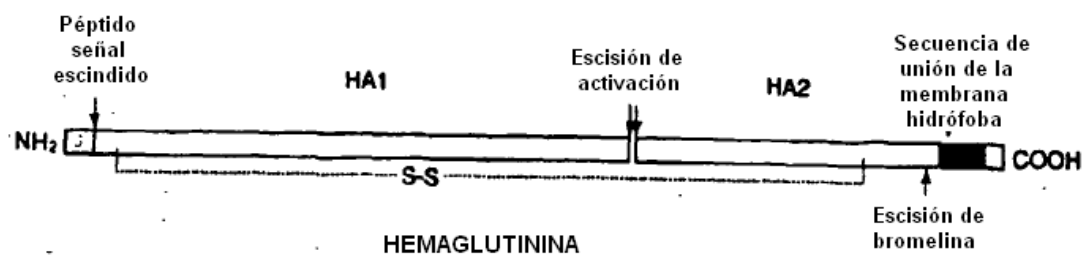


Fig. 1B

FIG. 2A

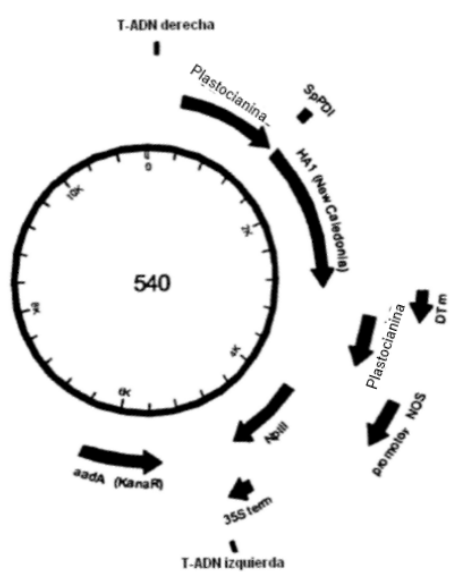
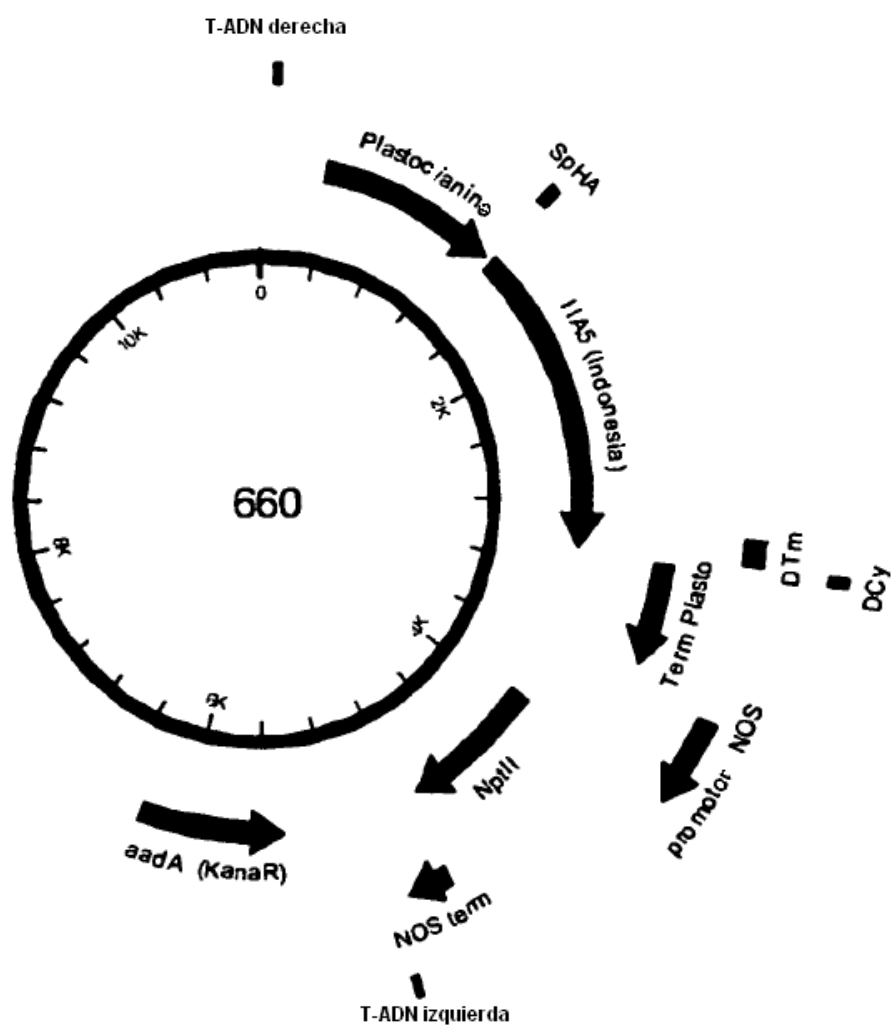
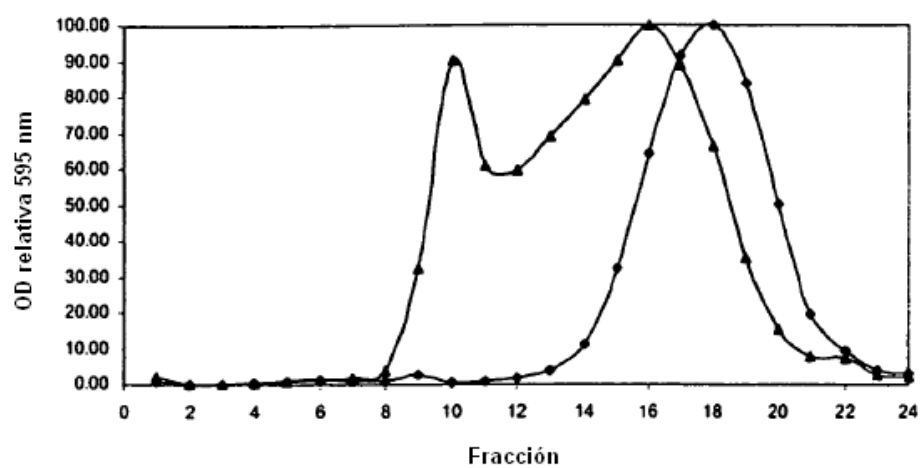


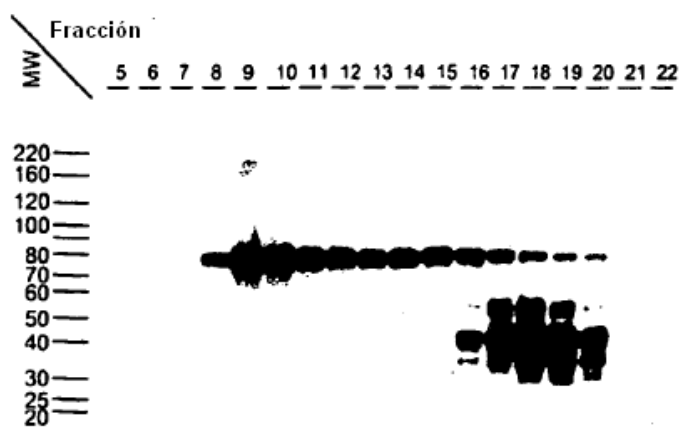
Fig. 2B



**Fig. 3A**

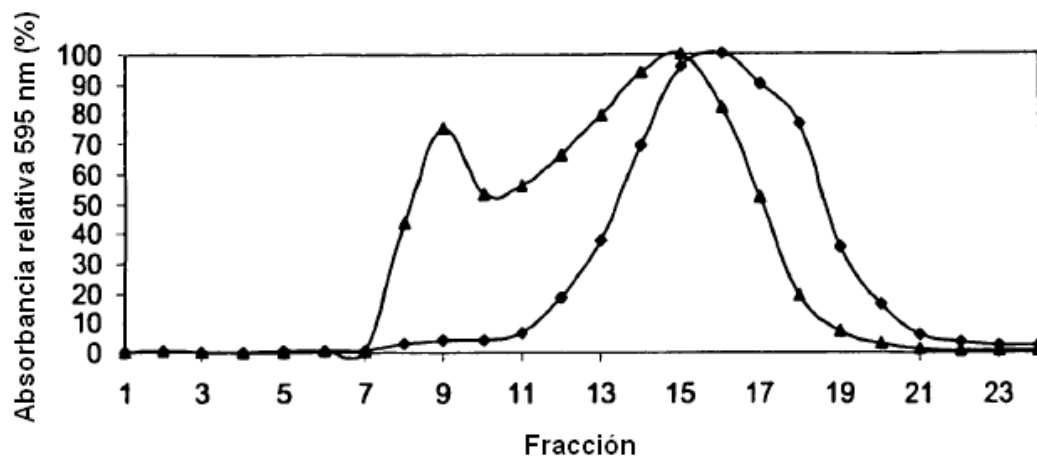


**Fig. 3B**

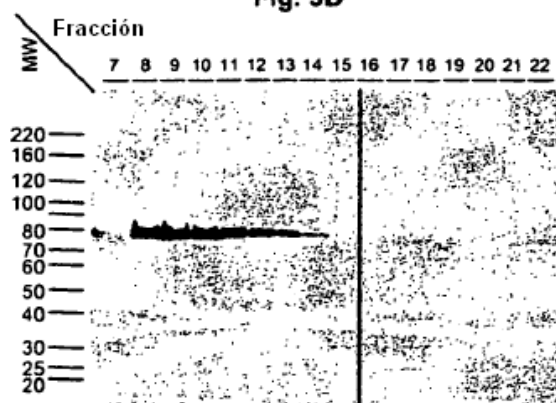




**Fig. 3C**



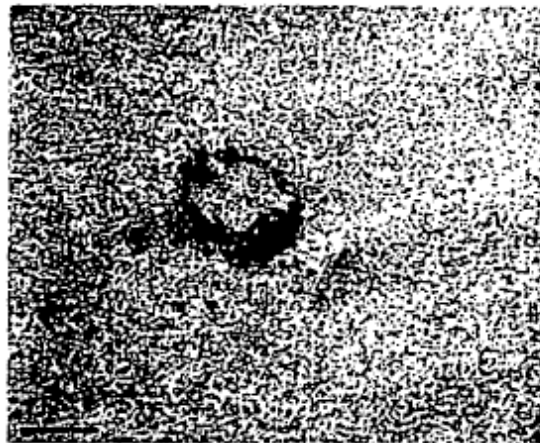
**Fig. 3D**



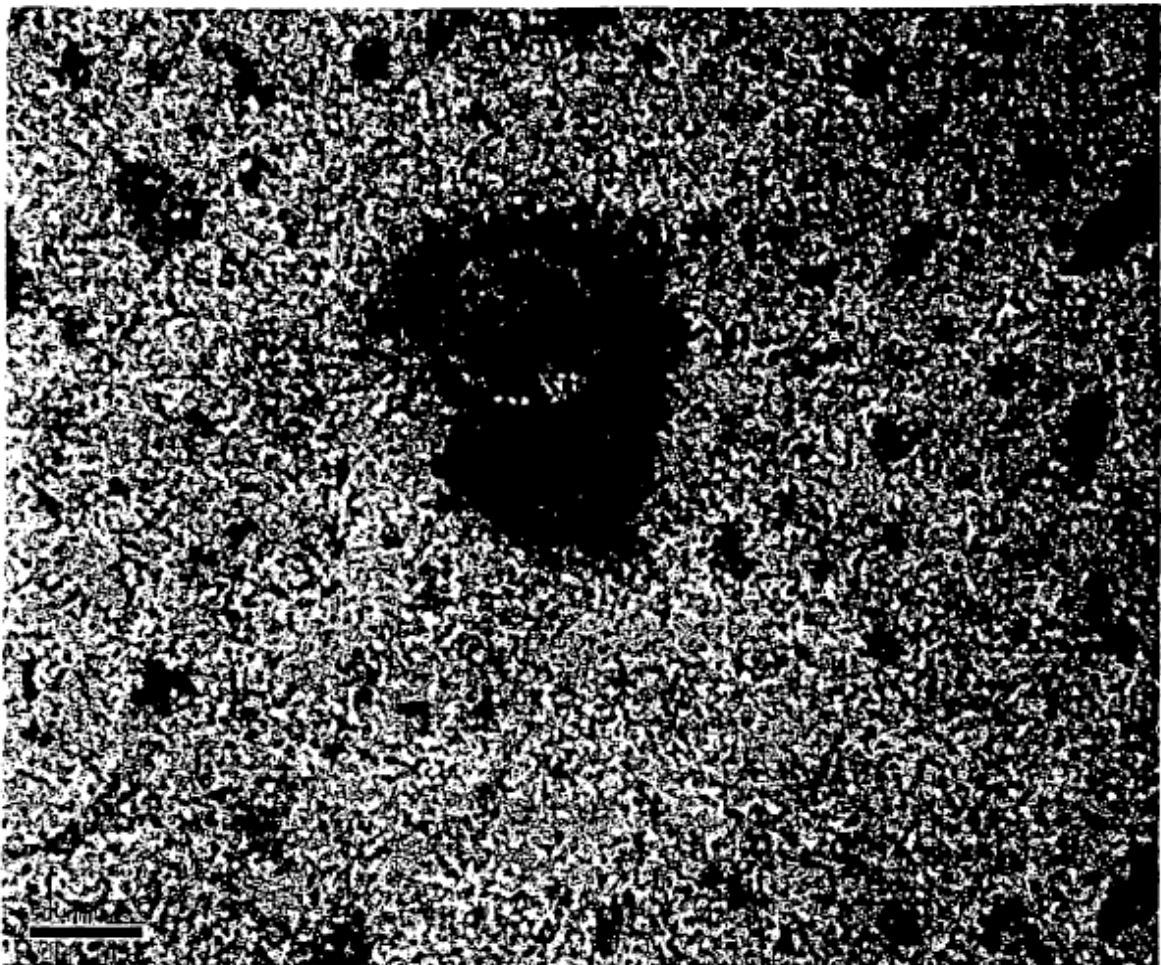
**Fig. 4A**



**Fig. 4B**



**Fig. 4C**



**Fig. 5A**

SEQ ID NO. 1

AGATCTTCGCTGACACAATATGTATAGGCTACCATGCCAACAACTCAACCGACACTGTTGACACAGTAC  
TTGAGAAGAATGTGACAGTGACACACTCTGTCAACCTACTTGAGGACAGTCACAATGGAAAACTATGTCT  
ACTAAAAGGAATAGCCCCACTACAATTGGGTAATTGCAGCGTTGCCGGATGGATCTTAGGAAACCCAGA  
ATGCGAATTACTGATTTCCAAGGAATCATGGTCCTACATTGTAGAAACACCAAATCCTGAGAATGGAACA  
TGTTACCCAGGGTATTTCCGCCACTATGAGGAACTGAGGGAGCAATTGAGTTCAGTATCTTCATTTGAG  
AGATTGCAAATATTTCCCAAAGAAAGCTCATGGCCCAACCAACCGTAACCGGAGTATCAGCATCATGC  
TCCATAATGGGAAAAGCAGTTTTTACAGAAATTTGCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTTGTACCCA  
AACCTGAGCAAGTCCTATGTAAACAACAAAGAGAGAAAGAAGTCCTTGTACTATGGGGTGTTTCATCACCCG  
CCTAACATAGGGAACCAAAGGGCACTCTATCATACAGAAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATT  
ATAGCAGAAGATTCACCCAGAAATAGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAGGAAGGAAGAATCAACT  
ACTACTGGACTCTGCTGGAACCTGGGGATACAATAATTTGAGGCAAATGGAAATCTAATAGCGCCAT  
GGTATGCTTTTGAAGTGAAGGCTTTGGATCAGGAATCATCACCTCAAATGCACCAATGGATGAAT  
GTGATGCGAAGTGTCAAACACCTCAGGGAGCTATAAACAGCAGTCTTCCTTTCCAGAATGTACACCCAG  
TCACAATAGGAGAGTGTCCAAAGTATGTCAGGAGTGCAAAATTAAGGATGGTTACAGGACTAAGGAACA  
TCCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGGAGCCATTGCCGTTTCATTGAAGGGGGTGGACTGGAA  
TGGTAGATGGGTGGTATGGTTATCATCATCAGAATGAGCAAGGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAA  
GTACACAAAATGCCATTAACGGGATTACAAACAAGGTCAATTCTGTAATTGAGAAAATGAACACTCAATT  
CACAGCTGTGGGCAAAGAGTTCAACAAATTGGAAAGAAGGATGGAAAACTTAAATAAAAAAGTTGATGAT  
GGGTTTCTAGACATTTGGACATATAATGCAGAAATTGTTGGTTCTACTGGAAAATGAAAGGACTTTGGATT  
TCCATGACTCCAATGTGAAGAATCTGTATGAGAAAGTAAAAAGCCAATTAAAGAATAATGCCAAAGAAAT  
AGGAAACGGGTGTTTTGAGTTCTATCACAAGTGTAACAATGAATGCATGGAGAGTGTGAAAAATGGTAC  
CTATGACTATCCAAAATATTCCGAAGAATCAAAGTTAAACAGGGAGAAAAATTGATGGAGTGAAATTGGAA  
TCAATGGGAGTATACTAAGAGCTCAGGCCT

**Fig. 5B**

SEQ ID NO. 2

GGTACCTATGACTATCCAAAATATTCCGAAGAATCAAAGTTAAACAGGGAGAAAAATTGATGGAGTGAAAT  
TGGAATCAATGGGAGTATACCAGATTCTGGCGATCTACTCAACTGTCGCCAGTTCCTGGTTCTTTGGT  
CTCCCTGGGGCAATCAGCTTCTGGATGTGTTCCAATGGGTCTTTGCAGTGTAGAATATGCATCTAAGA  
GCTCAGGCCT

**Fig. 5C**

HA0 de H1 (SEQ ID NO: 28)

AGATCTTCGCTGACACAATATGTATAGGCTACCATGCCAACAACCTCAACCGACACTGTTGACA  
CAGTACTTGAGAAGAATGTGACAGTGACACACTCTGTCAACCTACTTGAGGACAGTCACAATG  
GAAACTATGTCTACTAAAAGGAATAGCCCCACTACAATTGGGTAATTGCAGCGTTGCCGGAT  
GGATCTTAGGAAACCCAGAATGCGAATTACTGATTTCCAAGGAATCATGGTCCTACATTGTAG  
AAACACCAAATCCTGAGAATGGAACATGTTACCCAGGGTATTTCCGCCACTATGAGGAACTGA  
GGGAGCAATTGAGTTCAGTATCTTCATTTGAGAGATTGAAATATTCCCCAAAGAAAGCTCAT  
GGCCCAACCCACACCGTAACCGGAGTATCAGCATCATGCTCCCATAAATGGGAAAAGCAGTTTTT  
ACAGAAATTTGCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTTGTACCCAAACCTGAGCAAGTCCTATG  
TAAACAACAAAGAGAAAGAAGTCCTTGTAATGTTGTTTGTATGTTGTTTGTATGTTGTTTGT  
ACCAAAGGGCACTCTATCATAACAGAAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATTATAGCAG  
AAGATTCACCCCAGAAATAGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAGGAAGGAAGAATCAACTA  
CTACTGGACTCTGCTGGAACCTGGGGATACAATAATTTGAGGCAAATGGAAATCTAATAGC  
GCCATGGTATGCTTTTGCCTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCACCTCAAATGCACC  
AATGGATGAATGTGATGCGAAGTGCAACACCTCAGGGAGCTATAAACAGCAGTCTTCCTTT  
CCAGAAATGTACACCCAGTCACAATAGGAGAGTGTCCAAAGTATGTCAGGAGTGCAAAATTAAG  
GATGGTTACAGGACTAAGGAACATCCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGGAGCCATTGC  
CGGTTTCATTGAAGGGGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGGTGGTATGGTTATCATCATCAGA  
ATGAGCAAGGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAAGTACACAAAATGCCATTAACGGGATTA  
CAACAAGGTCAATTCTGTAATTGAGAAAATGAACACTCAATTCACAGCTGTGGGCAAAGAGT  
TCAACAAATTGGAAAGAAGGATGGAAAACCTAAATAAAAAAGTTGATGATGGGTTTCTAGACAT  
TTGGACATATAATGCAGAATTGTTGGTTCTACTGGAAAATGAAAGGACTTTGGATTTCCATGAC  
TCCAATGTGAAGAATCTGTATGAGAAAAGTAAAAAGCCAATTAAGAATAATGCCAAAGAAATAG  
GAAACGGGTGTTTTGAGTTCTATCACAAGTGTAACAATGAATGCATGGAGAGTGTGAAAAATG  
GTACCTATGACTATCCAAAATATTCCGAAGAATCAAAGTTAAACAGGGAGAAAATTGATGGAG  
TGAAATTGGAATCAATGGGAGTATACCAAGATTCTGGCGATCTACTCAACTGTCCGCCAGTTCCC  
TGGTTCTTTTGGTCTCCCTGGGGGCAATCAGCTTCTGGATGTGTTCCAATGGGTCTTTCAGT  
GTAGAATATGCATCTAAGAGCTCAGGCCT

Fig. 6

SEQ ID NO. 3

AAGCTTATGGAGAAATAGTGCTTCTTCTTGCAATAGTCAGTCTTGTTAAAAGTGATCAGATTTGCATTGG  
TTACCATGCAACAATTCAACAGAGCAGGTTGACACAATCATGGAAAAAGAACGTTACTGTTACACATGCC  
CAAGACATACTGGAAAAGACACACAACGGGAAGCTCTGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTAATTTTA  
AGAGATTGTAGTGTAGCTGGATGGCTCCTCGGGAACCCCAATGTGTGACGAATTCATCAATGTACCGGAA  
TGGTCTTACATAGTGGAGAAGGCCAATCCAACCAATGACCTCTGTTACCCAGGGAGTTTCAACGACTAT  
GAAGAACTGAAACACCTATTGAGCAGAATAAACCAATTTTGAAGAAATCAAATCATCCCCAAAAGTTCTTG  
GTCCGATCATGAAGCCTCATCAGGAGTTAGCTCAGCATGTCCATACCTGGGAAGTCCCTCCTTTTTTAGA  
AATGTGGTATGGCTTATCAAAAAGAACAGTACATACCCAACAATAAAGAAAAGCTACAATAATACCAACCA  
AGAGGATCTTTTGGTACTGTGGGGAATTCACCATCCTAATGATGCGGCAGAGCAGACAAGGCTATATCA  
AAACCAACCCACCTATATTTCCATTGGGACATCAACACTAAACCAGAGATTGGTACCAAAAATAGCTACT  
AGATCCAAAGTAAACGGGCAAAGTGGAAGGATGGAGTTCTTCTGGACAATTTTAAAACCTAATGATGCAA  
TCAACTTCGAGAGTAATGGAAATTTCAATTGCTCCAGAATATGCATACAAAATTGTCAAGAAAGGGGACTC  
AGCAATTATGAAAAGTGAATTGGAATATGGTAAGTCAACACCAAGTGTCAAACCTCCAATGGGGGCGATA  
AACTCTAGTATGCCATTCCACAACATACACCCTCTCACCATCGGGGAATGCCCAAATATGTGAAATCAA  
ACAGATTAGTCCTTGCAACAGGGCTCAGAAATAGCCCTCAAAGAGAGAGCAGAAGAAAAAGAGAGGAC  
TATTTGGAGCTATAGCAGGTTTTATAGAGGGAGGATGGCAGGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGGTACC  
ACCATAGCAATGAGCAGGGGAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAATCCACTCAAAGGCAATAGATGGA  
GTCACCAATAAGGTCAACTCAATCATTGACAAAATGAACACTCAGTTTGAGGCCGTTGGAAGGGAATTTA  
ATAACTTAGAAAGGAGAATAGAGAATTTAAACAAGAAGATGGAAGACGGGTTTCTAGATGTCTGGACTTA  
TAATGCCGAACCTTCTGGTTCTCATGGAAAATGAGAGAACTCTAGACTTTTCTAGACTCAAATGTGAAGA  
CTCTACGACAAGGTCCGACTACAGCTTAGGGATAATGCAAAGGAGCTGGGTAACGGTTGTTTCGAGTTC  
TATCACAATGTGATAATGAATGTATGGAAAGTATAAGAAACGGAACGTACAACCTATCCGCAGTATTAG  
AAGAAGCAAGATTAAGAAAGAGAGGAAATAAGTGGGGTAAAATTGGAATCAATAGGAACTTACCAATACT  
GTCAATTTATTCAACAGTGGCGAGTTCCTAGCACTGGCAATCATGATGGCTGGTCTATCTTTATGGATG  
TGCTCCAATGGATCGTTACAATGCAGAATTTGCATTTAAGAGCTC

**Fig. 7A**

SEQ ID NO. 4

5'-GTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTC-3'

**Fig. 7B**

SEQ ID NO. 5

5'-GCAAGAAGAAGCACTATTTTCTCCATTTCTCTCAAGATGATTA-3'

**Fig. 7C**

SEQ ID NO. 6

5'-TTAATCATCTTGAGAGAAAATGGAGAAAATAGTGCTTCTTCTTGC-3'

**Fig. 7D**

SEQ ID NO. 7

5'-ACTTTGAGCTCTTAAATGCAAATTCTGCATTGTAACGA-3'

**Fig. 8A**

Secuencia del péptido HA1 (SEQ ID NO: 9)

**MKAKLLVLLCTFTATYADTICIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTHSVNLLLED SHNGKLCLLKGIAPLQ  
LGNC SVAGWILGNPECELLISKESWSYIVETPNPENGTCYPGYFADYEELREQLSSVSSFERFEIFPK  
ESSWPNHVTVTGVSASCSHNGKSSFYRNLLWLTGKNGLYPNLSKSYVNNKEKEVLVLWG VHHPPNI  
GNQRALYHTENAYVSVVSSHYSRRFTPEIAKRPKVRDQEGRINYWTLL EPGDTIIFEANGNLIAPWY  
AFALSRGFGSGIITSNAPMDECDACQTPQGAINSSLPFQNVHPVTIGEC PKYVRS AKLRMTGLRNI  
PSIQSRGLFGAIAGFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGSYAADQKSTQNAINGITNKVNSVIEKMN  
TQFTAVGKEFNKLERRMENLNKKVDDGFLDIWTYNAELLV LLENERTLDFHDSNVKNLYEKVKSQK  
NNAKEIGNGC FEYHKCNNECMESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMGVYQILAIYSTVA  
SSLVLLVSLGAISFWMC SNGSLQCRICI\***

**Fig. 8B**

Secuencia del péptido HA5 (SEQ ID NO: 10)

**MEKIVLLLAIVSLVKSDQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVTHAQDILEKTHNGKLC DLDGVKPLILR  
DCSVAGWLLGNPMCDEFINVP EWSYIVEKANPTNDLCYPGSFNDYEELKHLLSRINHF EKIQIIPKSS  
WSDHEASSGVSSACPYLGSPSFFRN VVWLKKNSTYPTIKKSYNNTNQEDLLVLWGIHHPNDAAEQ  
TRLYQNPTTYISIGTSTLNQRLVPKIATR SKVNGQSGRMEFFWTILKPNDAINFESNGNFI APEYAYKI  
VKKGDSAIMKSELEYGNCNTKCQTPMGA INSSMPFHNIHPLTIGEC PKYVKS NRLVLATGLRNSPQR  
ESRRKKRGLFGAIAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQSGSYAADKESTQKAIDGV TNKVN SIIDK  
MNTQFEAVGREFNNLERRIENLNKKMEDGFLDWWTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRL  
QLRDN AKELGNGCFEYHKCDNECMESIRNGTYNYPQYSEEARLKREEISGVKLESIGTYQILSIYST  
VASSLALAIMMAGLSLWMCSNGSLQCRICI\***



Fig. 9

**Subtipo H7 (SEQ ID NO: 11)**

>BHB940420 I gb : AF071776 I Símbolo : HA I Nombre : precursor de hemaglutinina I Organismo : Virus de influenza A A/pollo/Nueva York/1995 I Cromosoma : 4 I Subtipo : H7 I Huésped : Aviar

```
GACAAAATATGTCTTGGGCACCATGCTGTGGCAAATGGAACAAAAGTGAACACATTAACAGAGAGGGGGA
TTGAAGTAGTGAACGCCACAGAGACGGTGGAAACTGCGAATATCAAGAAAATATGTATTCAAGGGAAAAG
GCCAACAGATCTGGGACAATGTGGACTTCTAGGAACCCTAATAGGACCTCCCCAATGTGATCAATTCCTG
GAGTTTTACTCTGATTTGATAATTGAGCGAAGAGAAGGAACCGATGTGTGCTATCCCGGTAAATTCACAA
ATGAAGAATCACTGAGGCAGATCCTTCGAGGGTCAGGAGGAATTGATAAGGAGTCAATGGGTTTCACCTA
TAGTGGAATAAGAACCAATGGAGCGACAAGTGCCTGCAAAAGATCAGGTTCTTCTTTCTATGCAGAGATG
AAGTGGTTGCTGTGCAATTCAGACAATGCGGCATTCCCTCAAATGACAAAGTCGTATAGAAATCCCAGAA
ACAAACCAGCTCTGATAATTTGGGGAGTTCATCACTCTGGATCGGTTAGCGAGCAGACCAAACTCTATGG
AAGTGGAAACAAGTTGATAACAGTAGGAAGCTCAAAATACCAGCAATCATTACCCCCAAGTCCGGGAGCA
CGGCCACAAGTGAATGGACAATCAGGGAGAATCGATTTTCACTGGCTACTCCTTGATCCCAATGACACAG
TGACCTTCACTTTCAATGGGGCATTTCATAGCCCCTGACAGGGCAAGTTTCTTTAGAGGAGAATCACTAGG
AGTCCAGAGTGATGTTCTCTGGATTCTAGTTGTGGAGGGGATTGCTTTCACAGTGGGGGTACGATAGTC
AGTTCCCTGCCATTCCAAAACATCAACCCTAGAAGTGTGGGGAGATGCCCTCGGTATGTCAAACAGACAA
GCCTCCTTTTGGCTACAGGAATGAGAAATGTTCCAGAGAATCCAAAGCCCAGAGGCCTTTTTGGAGCAAT
TGCTGGATTTCATAGAGAATGGATGGGAGGGTCTCATCGATGGATGGTATGGTTTCAGACATCAAATGCA
CAAGGGGAAGGAACTGCAGCTGACTACAAAAGCACCCAATCTGCAATAGATCAGATCACAGGCAAATTGA
ATCGTCTGATTGACAAAACAAATCAGCAGTTTGAGCTGATAGACAATGAGTTCAATGAGATAGAACAACA
AATAGGAAATGTCATTAATTGGACACGAGACGCAATGACTGAGGTATGGTCGTATAATGCTGAGCTGTTG
GTGGCAATGGAAAATCAGCATAACAATAGATCTTGCGGACTCAGAAATGAACAACTTTATGAGCGTGTCA
GAAACAACCT/AGGGGAGAATGCTGAAGAAGATGGAAGTGGATGTTTTGAGATATTCCATAAGTGTGATGA
TCAGTGCATGGAGAGCATAAGGAACAACACTTATGACCATACTCAATACAGAACAGAGTCATTGCAGAAT
AGAATACAGATAGACCCAGTGAAATTGAGTAGTGGATACAAAGACATAATCTTATGGTTTTAGCTTCGGGG
CATCATGTTTTCTTCTTAGCCGTTGTAATGGGATTGGTTTTTCATTTGCATAAAGAATGGAAACATGCG
GTGCACCATTTGTATATAA
```

Fig. 10A

**Subtipo H2 (SEQ ID NO: 12)**

>gil 408516 | gb | L11132.1 | Virus de influenza A FLADE88HA (A/gaviota argénteo/DE/677/88 (H2N8)) gen de hemaglutinina (HA), cds completo

```

AGCAAAGCAGGGGTTATACCATAGACAACCAAAGGCAAGACAATGGCCATCATTTATCTAATTCTTCTG
TTCACAGCAGTGAGAGGGGACCAATATGCATTGGATACCATTCCAACAATCCACAGAAAAGGTTGACA
CAATCCTAGAGAGAAAATGTCACTGTGACTCAGCTGAGGACATTCTTGAGAAGACTCACAATGGGAAGTT
ATGCAAACATAAATGGAATCCCTCCACTTGAATTAAGGGATTGCAGCATTGCCGGATGGCTCCTTGGGAAT
CCAGAATGTGATATACTTCTAACTGTGCCAGAATGGTCATACATAATAGAAAAAGAAAATCCAAGGAACG
GCTTGTGCTACCCAGGCAGTTTCAATGATTATGAAGAATTGAAGCATCTTATCAGCAGCGTGACACATTT
TGAGAAAGTAAAGATTCTGCCAGAAATGAATGGACACAGCATACAACAAGTGGAGGTTTACAGGCTTG
GCAGACTATGGTGGTCCGTCAATCTTCCGGAACATGGTCTGGTTGACAAAGAAAGGGTCGAATTATCCAA
TTGCCAAAAGATCTTACAACAATACAAGTGGGGAACAAATGCTGATCATTTGGGGGATACATCACCCCAA
TGATGAAAGTGAACAAAGAGCATTGTATCAGAATGTGGGGACCTATGTGTCAGTAGGAACATCAACACTG
AACAAAAGATCATCCCCAGAAATAGCAACAAGACCTAAAGTGAATGGACAAGGAGGCAGAATGGAATTCT
CGTGGACTATCTTAGATATATGGGACACAATAAATTTTGAGAGTACTGGCAATCTAATTGCACCAGAATA
TGGTTTCAAATATCCAAACGAGGTAGTTCAGGGATCATGAAAACAGAAGGAAAACCTTGAAAACGCGAG
ACCAAGTGCCAACTCCTTTGGGAGCAATAAATACAACATTACCCTTTCACAATATCCACCCACTGACCA
TTGGTGAGTGCCCCAAATATGTAAATCGGAAAGATTAGTCTTAGCAACAGGACTAAGAAACGTCCCTCA
GATTGAGTCAAGGGGATTGTTTGGGGCAATAGCTGGTTTATAGAGGGTGGATGGCAAGGAATGGTTGAT
GGTTGGTATGGGTATCATCACAGCAATGACCAGGGATCTGGGTATGCAGCAGACAAAGAATCCACTCAA
AGGCAATTGATGGAATCACCAACAAGGTAAATCTGTGATCGAAAAGATGAACACCCAATTCCGAGCTGT
TGAAAAAGAATTCAGTAACCTTGAGAGAGAACTGGAGAACTTGAATAAAAAGATGGAGGACGGATTTCTA
GATGTGTGGACATACAATGCCGAGCTCCTAGTTCTAATGGAAAATGAGAGGACACTTGACTTTCATGATT
CTAATGTCAAGAATCTATATGATAAAGTCAGAATGCAACTGAGAGACAATGCAAAAGAACTAGGGAATGG
ATGTTTTGAATTTTATCACAAATGTGATGATGAATGCATGAACAGTGTGAAGAATGGGACATATGATTAT
TCCAAGTATGAAGAGGAGTCTAAACTAAACAGGACTGAAATCAAAGGGGTAAATTGAGCAATATGGGGG
TTTATCAAATCCTTGCCATCTATGCTACAGTAGCAGGTTCCCTGTCACTGGCAATCATGATAGCTGGGAT
TTCTATATGGATGTGCTCCAACGGGTCTCTGCAATGCAGAATCTGCATATGATCATCAGTCATTTTGTA
TTAAAAACACCCTTGTTTCTACT

```

**Fig. 10B**

**Subtipo H3 (SEQ ID NO: 13)**

>BHB2107299 | gb : EF473574 | Símbolo : HA | Nombre : hemaglutinina | Organismo : Virus de influenza A  
A /Tejas/32/2003 | Segmento : 4 | Subtipo : H3 | Huésped : Humano

CAAAACTTCCCGGAAATGACAACAGCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGGAA  
CGATAGTGAAAACAATCACGAATGACCAAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTACAGAGTTCCTC  
AACAGGTGGAATATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTTGATGGAGAAAAGTGCACACTAATAGATGCTCTA  
TTGGGAGACCCTCAGTGTGATGGCTTCCAAAATAAGAAATGGGACCTTTTTGTTGAACGCAGCAAAGCCT  
ACAGCAACTGTTACCCTTATGATGTGCCGGATTATGCCTCCCTTAGGTCACTAGTTGCCTCATCCGGCAC  
ACTGGAGTTTAACAATGAAAGCTTCGATTGGACTGGAGTCACTCAGAATGGAACAAGCTCTGCTTGCAAA  
AGGAGATCTAATAAAAAGTTTCTTTAGTAGATTGAATTGGTTGACCCACTTAAAATACAAATACCCAGCAT  
TGAACGTGACTATGCCAAACAATGAAAAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTCACCACCCGGGTAC  
GGACAGTGACCAAATCAGCCTATATGCTCAAGCATCAGGAAGAATCACAGTCTCTACCAAAGAAGCCAA  
CAAAGTGAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGGGTAAGGGATGTCTCCAGCCGAATAAGCATCTATT  
GGACAATAGTAAAACCGGGAGACATACTTTTGATTAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTCGGGGTTA  
CTTCAAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAATTCCGAA  
TGCATCACTCCAAATGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTTCAAAATGTAAACAGGATCACATATGGGG  
CCTGTCCCAGATATGTTAAGCAAAACACTCTGAAATTGGCAACAGGGATGCGAAATGTACCAGAGAAACA  
AACTAGAGGCATATTTGGCGCAATCGCGGGTTTCATAGAAAATGGTTGGGAGGGAATGGTGGACGCTTGG  
TACGGTTTCAGGCATCAAATTCTGAGGGCACAGGA

**Fig. 10C**

**Subtipo H4 (SEQ ID NO: 14)**

>BHB1050162 I gb : DQ021859 I Símbolo : HA I Nombre : hemaglutinina I Organismo : Virus de influenza A  
A /ánade real/MN/33/00 I Segmento : 4 I Subtipo : H4 I Huésped : Aviar

ATGCTATCAATCACGATTCTGTTTCTGCTCATAGCAGAGGGTTCCTCTCAGAATTACACAGGGAATCCCG  
TGATATGCCTGGGACATCATGCCGTATCCAATGGGACAATGGTGAAAACCTGACTGATGACCAAGTAGA  
AGTTGTCACTGCCCCAAGAATTAGTGGAATCGCAACATCTACCGGAGTTGTGTCTAGCCCTTTAAGATTA  
GTAGATGGACAAACTTGTGACATCGTCAATGGTGCCTTGGGGAGTCCAGGCTGTGATCACTTGAATGGTG  
CAGAAATGGGATGTCTTCATAGAACGACCCACTGCTGTGGACACTTGTTATCCATTTGATGTGCCGGATTA  
CCAGAGCCTACGGAGTATCCTAGCAAACAATGGGAAATTTGAGTTCATTGCTGAGGAATTCGAATGGAAC  
ACAGTCAAACAAAATGGGAAATCCGGAGCATGCAAAAGAGCAAATGTGAATGACTTTTCAACAGATTGA  
ACTGGCTGACCAAATCTGATGGGAATGCATACCCACTTCAAAACCTGACAAAGGTTAACAACGGGGACTA  
TGCAAGACTTTACATATGGGGAGTTTCATCATCCTTCAACTGACACAGAACAACCAACTTGTATAAGAAC  
AACCCTGGGAGAGTAAGTGTTCACCAAACAGTCAAACAAGTGTGGTACCAAACATTGGCAGTAGAC  
CATGGGTAAGAGGCCAAAGCGGCAGGATTAGCTTCTATTGGACAATTGTGGAGCCAGGAGACCTCATAGT  
CTTCAACACCATAGGGAATTTAATTGCTCCGAGAGGTCATTACAAGCTTAACAGTCAAAGAAGAGCACA  
ATTCTGAATACTGCAATTCCCATAGGATCTTGTGTTAGTAAATGTCACACAGATAGGGGTTCAATCTCTA  
CAACCAAACCTTTTCAGAACATCTCAAGAATATCAATTGGGGACTGTCCAAGTATGTCAAACAGGGATC  
CTTGAACTAGCTACAGGAATGAGGAATATCCCTGAGAAAGCAACCAGAGGCCTGTTTGGTGCAATTG

Fig. 10D

**Subtipo H5 (SEQ ID NO: 15)**

>BHB950029 | gb : AF501235 | Símbolo : HA | Nombre : hemaglutinina | Organismo : Virus de influenza A  
A /pato/Shanghai/1/2000 | Segmento : 4 | Subtipo : H5 | Huésped : Aviar

```

ATGGAGAAAATAGTGCTTCTTCTTGCAATAGTCAGTCTTGTTAAAAGTGATCAGATTTGCATTGGTTACC
ATGCAAACAACCTCGACAGAGCAGGTTGACACAATAATGGAAAAGAACGTTACTGTTACACATGCCCAAGA
CATACTGGAAAAGACACACAACGGGAAACTCTGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTAATTTTGAGAGAT
TGTAGTGTAGCTGGATGGCTCCTCGGAAACCCTATGTGTGACGAATTCATCAATGTGCCGGAATGGTCTT
ACATAGTGGAGAAGGCCAGTCCAGCCAATGACCTCTGTTACCCAGGGGATTTCAACGACTATGAAGAACT
GAAACACCTATTGAGCAGAATAAACCACTTTGAGAAAATTCAGATCATCCCCAAAAGTTCTTGGTCCAAT
CATGAAGCCTCATCAGGGGTGAGCGCAGCATGTCCATACCATGGGAAGCCCTCCTTTTTCAGAAATGTGG
TATGGCTTATCAAAAAGAACAGTGCATACCCAACAATAAGAGGAGCTACAATAATACCAACCAAGAAGA
TCTTTTGGTACTGTGGGGGATTACCATCCTAATGATGCGGCAGAGCAGACAAAGCTCTATCAAAACCCA
ACCACCTATATTTCCGTTGGAACATCAACACTAAACCAGAGATTGGTCCCAAAAATAGCTACTAGATCCA
AAGTAAACGGGCAAAGTGGAAGAATGGAGTTCTTCTGGACAATTTTAAAGCCGAATGATGCCATAAATTT
CGAGAGTAATGGAAATTTTCATTGCTCCAGAATATGCATACAAAATTGTCAAGAAAGGGGACTCAGCAATT
ATGAAAAGTGAATTGGAATATGGTAACTGCAACACCAAGTGTCAAACCTCCAATGGGGGCGATAAACTCTA
GTATGCCATTCCACAACATACACCTCTCACAATCGGGGAATGCCCAAATATGTGAAATCAAAACAGATT
AGTCCTTGCGACTGGACTCAGAAATACCCCTCAAAGAGATAGAAGAAGAAAAAAGAGAGGACTATTTGGA
GCTATAGCAGGTTTTATAGAGGGAGGATGGCAAGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGGTACCACCATAGCA
ATGAGCAGGGGAGTGGATACGCTGCAGACAAAGAATCCACTCAAAGGCAATAGATGGAGTCACCAATAA
GGTCAACTCGATCATTGACAAAATGAACACTCAGTTTGAGGCCGTTGGAAGGGAATTTAATAACTTAGAA
AGGAGGATAGAAAATTTAAACAAGAAGATGGAAGACGGATTCTTAGATGTCTGGACTTATAATGCTGAAC
TTCTGGTTCTCATGGAAAATGAGAGAACTCTAGACTTTCATGATTCAAATGTCAAGAACCCTTTACAACAA
GGTCCGACTACAGCTTAGGGATAATGCAAAGGAGCTGGGTAAATGGTTGTTTCGAGTTCTATCACAAATGT
GATAATGAATGTATGGAAAGTGTAACAAAACGGGACGTATGACTACCCGCAGTATTCAGAAGAAGCAAGAC
TAAACAGAGAGGAAATAAGTGGAGTAAATTTGGAATCAATGGGAACTTACCAAATACTGTCAATTTATTC
AACAGTGGCGAGTTCCCTAGCACTGGCAATCATGGTAGCTGGTCTATCTTTATGGATGTGCTCCAATGGG
TCGTTACAATGCAGAATTTGCATTTAA

```

**Fig. 10E**

**Subtipo H6 (SEQ ID NO: 16)**

>BHB1049778 I gb : DQ021667 I Símbolo : HA I Nombre : hemaglutinina I Organismo : Virus de influenza A  
A /ánade de cola larga/TX/828189/02 I Segmento : 4 I Subtipo : H6 I Huésped : Aviar

ATGATTGCAATCATTGTAATAGCGATACTGGCAGCAGCCGGAAAGTCAGACAAGATCTGCATTGGGTATC  
ATGCCAACAAATTCAACAACACAGGTGGATACGATACTTGAGAAGAATGTAACCGTCACACACTCAGTTGA  
ATTGCTGGAGAATCAGAAGGAAGAAAGATTCTGCAAGATCTTGAACAAGGCCCTCTCGACCTAAAGGGA  
TGCACCATAGAGGGTTGGATCTTGGGGAATCCCCAATGCGATCTGTTGCTTGGTGACCAAAGCTGGTCAT  
ATATAGTGAAAGACCTACTGCCCAAATGGGATATGCTACCCAGGAGCTTTGAATGAGGTAGAAGAAGT  
GAAAGCATTTATCGGATCAGGAGAAAGGGTAGAGAGATTTGAGATGTTTCCCAAAGCACATGGGCAGGG  
GTAGACACCAGCAGTGGGGTAACAAAAGCTTGTCTTATAATAGTGGTTCATCTTTCTACAGAAACCTCC  
TATGGATAATAAAGACCAAGTCAGCAGCGTATCCAGTAATTAAGGGAACCTACAGCAACACTGGAAACCA  
GCCAATCCTCTATTTCTGGGGTGTGCACCATCCTCCTGACACCAATGAGCAAAATACTCTGTATGGCTCT  
GGCGATCGGTATGTTAGGATGGGAACTGAGAGCATGAATTTTGCCAAGAGCCCAGAAATTGCGGCAAGAC  
CCGCTGTGAATGGCCAAAGAGGTCGAATTGATTATTACTGGTCTGTTTTAAACCAGGAGAAACCTTGAA  
TGTGGAATCTAATGGAAATCTAATCGCTCCTTGGTATGCATACAAATTTGTCAACACAAATAATAAGGGA  
GCCGCTCTCAAGTCAAATTTACCAATCGAGAATTGCGATGCCACATGCCAGACTATTGCAGGAGTCCTAA  
GGACCAATAAAACATTTTCAAGATGTGAGCCCTCTGTGGATAGGAGAATGCCCCAAGTATGTGAAAAGTGA  
AAGTCTAAGGCTTGCTACTGGACTAAGAAATGTTCCACAGATTGAAACCAGAGGGCTTTTCGGAGCTATC

Fig. 10F

**Subtipo H8 (SEQ ID NO: 17)**

>gi | 221317 | dbj | D90304.1 | FLAHAH8N4 Virus de influenza A  
(A /Pavo/Ontario/6118/68 (H8N4) | gen para el precursor de hemaglutinina, cds completo

```

ATGGAAAAATTCATCGCAATAGCAACCTTGGCGAGCACAAATGCATACGATAGGATATGCATTGGGTACC
AATCAAAACAACCCACAGACACAGTGAACACTCTCATAGAACAAGAATGTACCAGTCACCCAAACAATGGA
GCTCGTGGAACAGAGAAACATCCCGCTTATTGTAACACTGATTTAGGTGCCCCATTGGAACGCGAGAC
TGCAAGATTGAGGCAGTAATCTATGGGAACCCCAAGTGTGACATCCATCTGAAGGATCAAGGTTGGTCAT
ACATAGTGGAGAGGCCAGCGCACCAGAAGGGATGTGTTACCCTGGATCTGTGGAAAATCTAGAAGAACT
GAGGTTTGTCTTCTCCAGTGTGCTGCTTACAAGAGAATAAGACTATTTGACTATTCAGGTGGAATGTG
ACTAGATCTGGAACGAGTAAAGCATGCAATGCATCAACAGGTGGCCAATCCTTCTATAGGAGCATCAATT
GGTTGACCAAAAAGGAACCAGACACTTATGACTTCAATGAAGGAGCTTATGTTAATAATGAAGATGGAGA
CATCATTTTCTTATGGGGGATCCATCATCCGCCGGACACAAAAGAGCAGACAACACTATATAAAAATGCA
AACACTTTGAGTAGTGTTACTACTAACAATAAACAAGCTTTCAACCAAATATTGGTCCCAGACCAT
TAGTAAGAGGACAGCAAGGGAGGATGGATTACTATTGGGGCATTCTGAAAAGAGGGGAGACTCTGAAGAT
CAGGACCAACGGAAATTTAATCGCACCTGAATTTGGCTATCTGCTCAAAGGTGAAAGCTACGGCAGAATA
ATTCAAAATGAGGATATACCCATCGGGAACGTAAACACAAAATGTCAAACATATGCGGGAGCAATCAATA
GCAGCAAACCCCTTTCAGAAATGCAAGTAGGCATTACATGGGAGAATGTCCCAAATATGTGAAGAAGGCAAG
CTTGCGACTTGCAAGTTGGGCTTAGGAATACGCCTTCTGTTGAACCCAGAGGACTGTTTGGAGCCATTGCT
GGTTTCATTGAAGGAGGATGGTCTGGAATGATTGATGGGTGGTATGGATTTTCATCACAGCAATTCAGAGG
GAACAGGAATGGCAGCTGACCAGAAATCAACACAAGAAGCCATCGATAAGATCACCAATAAAGTCAACAA
TATAGTTGACAAGATGAACAGGGAGTTTGAAGTTGTGAATCATGAGTTCTCTGAAGTTGAAAAAAGAATA
AACATGATAAACGATAAAATAGATGACCAAATTGAAGATCTTTGGGCTTACAATGCAGAGCTCCTTGTGC
TCTTAGAGAACCAGAAAACGCTAGACGAACATGATTCCAATGTCAAAAACCTTTTTGATGAAGTGAAAAG
GAGACTGTGAGCCAAATGCAATAGATGCTGGGAACGGTTGCTTTGACATACTTCACAAATGCGACAATGAG
TGTATGGAAACTATAAAGAACGGAACCTACGATCATAAGGAATATGAAGAGGAGGCTAAACTAGAAAGGA
GCAAGATAAATGGAGTAAACTAGAAGAGAACACCCTTACAAAATTCCTTAGCATTTACAGTACAGTGGC
GGCCAGTCTTTGCTTGGCAATCCTGATTGCTGGAGGTTTAATCCTGGGCATGCAAAATGGATCTTGTAGA
TGCATGTTCTGTATTGA

```

**Fig. 10G**

**Subtipo H9 (SEQ ID NO: 18)**

>BHB954830 | gb : AMO87218 | Símbolo : HA | Nombre : hemaglutinina | Organismo : Virus de influenza A  
A /pato cuchareta/Irán/G54/03 | Segmento : 4 | Subtipo : H9 | Huésped : Aviar

```

ATGGAACAGTATCACTAATGACTATACTACTAGTAGCAACAGCAAGCAATGCAGACAAAATCTGCATCG
GCCACCAGTCAACAACTCCACAGAACTGTGGACACGCTAACAGAAACCAATGTTCTGTGACACATGC
CAAAGAATTGCTCCACACAGAGCACAATGGAATGCTGTGTGCAACAAATCTGGGACATCCCCTAATCTTA
GACACGTGCACTATTGAAGGACTGATCTATGGTAACCCCTTCTTGTGACTTGCTGTTGGGAGGAAGAGAAT
GGTCCTACATCGTCGAAAGGTCATCAGCTGTAAATGGAACGTGTTACCCTGGGAATGTAGAGAACCTAGA
GGAAGTCAGGACACTTTTGTAGTTCCGCTAGTTCCCTACCGAAGAATCCAAATCTCCCAGACACAATCTGG
AATGTGACTTACACTGGAACAAGCAAAGCATGTTTACAGATTCATTCTACAGGAGTATGAGATGGCTGACTC
AAAAAAGCGGGTCTTACCCTGTTCAAGACGCTCAATACACAAATAATATGGGAAAGAGCATTCTTTTCGT
GTGGGGCATAATCACCACCCACTGAAGCTGCACAGACAAATTTGTACACAAGAACCAGACACAACAACA
AGCGTGACAACAGAAGACTTAAATAGGATCTTCAAACCGATGGTAGGGCCAAGGCCCTTGTCATGGTC
TGCAGGGAAGAATTAATTATTATTGGTCCGTACTAAAACCAGGCCAGACACTGCGAGTAAGATCCAATGG
GAATCTAATTGCTCCATGGTATGGACACATTCTTTCGGGAGGGAGCCATGGAAGAATCCTGAAGACTGAT
TTAAAAAGTAGTAATTGCGTAGTGCAATGTCAGACTGAAAAAGGCGGCTTAAACAGTACATTGCCGTTCC
ACAATATCAGTAAATATGCATTTGGAACTGTCCCAAATATGTTAGAGTTAAAAGTCTCAAACCTGGCAGT
AGGGTTGAGGAACGTGCCTGCTAGATCAAGTAGAGGACTATTTCGGAGCCATAGCTGGATTTCATAGAAGGA
GGTTGGCCAGGACTAGTCGCTGGTTGGTATGGTTTCCAGCATTCAAATGATCAAGGGGTTGGTATTGCGG
CAGATAGGGATTCAACTCAAAAGGCAATTGATAGAATAACAACCAAGGTGAATAATATAGTCGACAAAAT
GAACAAACAATATGAAATAATTGATCATGAATTCAGTGAGGTTGAACTAGGCTCAACATGATCAATAAT
AAGATTGATGACCAAATACAAGACATATGGGCATATAATGCAGAGTTGCTAGTACTACTTGAAAACCAGA
AAACACTCGATGAGCATGACGCAAATGTGAAGA
    
```



Fig. 10H

**Subtipo H10 (SEQ ID NO: 19)**

>gi | 324365 | gb | M21647.1 | FLAMS84HA Virus de influenza A  
(A /pollo/Alemania/N/1949 (H10N7) | precursor de hemaglutinina, gen, cds completo

```

AGCAAAAGCAGGGGTCACAATGTACAAAGTAGTAGTAATAATTGCGCTCCTTGGAGCAGTGAAAGGTCTT
GACAGAATCTGCCTAGGACACCATGCGGTTGCCAATGGAACCATTGTGAAGACCCCTTACAAATGAACAAG
AGGAAGTGACCAATGCTACTGAGACGGTAGAGAGCACAAATTTGAATAAATTGTGTATGAAAGGAAGAAG
CTACAAGGACTTGGGCAATTGTCACCCGGTAGGAATGTTGATAGGAACACCTGTTTGTGATCCGCACTTG
ACCGGGACCTGGGACACTCTCATTGAGCGAGAGAATGCCATTGCCCACTGTTATCCAGGGGCAACCATAA
ATGAAGAAGCATTGAGGCAGAAAATAATGGAAAGTGGAGGAATCAGCAAGATGAGCACTGGCTTCACTTA
TGGGTCTTCCATCACCTCAGCTGGGACCACTAAGGCATGCATGAGAAATGGAGGAGATAGTTTCTATGCA
GAGCTCAAATGGCTAGTGTCAAAGACAAAGGGACAAAATTTCCCTCAGACAACAAACACCTATCGGAATA
CGGACACAGCAGAACATCTCATAATATGGGGAATTCATCACCCCTTCCAGCACACAGGAAAAGAATGACTT
ATACGGAACTCAGTCACTATCTATATCAGTTGAGAGTTCTACATATCAGAACAACCTTTGTTCCAGTTGTT
GGGGCAAGACCTCAGGTCAATGGACAAAGTGGGCGAATTGACTTTCCTGGACACTAGTACAGCCGGGTG
ACAACATAACCTTCTCAGACAATGGAGGTCTAATAGCACCAAGTCGAGTTAGCAAATTAACCTGGAAGGGA
TTTGGGAATCCAATCAGAAGCGTTGATAGACAACAGTTGTGAATCCAATGCTTTTGGAGAGGGGGTTCT
ATAAATACAAAGCTCCCTTTTCAAATCTGTCACCCAGAACAGTAGGTCAATGCCCCAAATACGTAAATC
AGAGGAGTTTACTGCTTGCAACAGGGATGAGGAATGTGCCAGAAGTGGTGCAGGGAAGGGGTCTGTTTGG
TGCAATAGCAGGGTTTCATAGAAAACGGATGGGAAGGAATGGTAGACGGCTGGTATGGTTTCAGACACCAA
AATGCCCAGGGCACAGGCCAAGCTGCTGATTACAAGAGTACTCAAGCAGCTATTGACCAAATCACAGGGA
AACTGAACAGGTTGATTGAGAAGACCAACACTGAGTTTGAGTCAATAGAATCTGAATTCAGTGAGACTGA
GCATCAAATTTGGTAACGTCATTAATTGGACCAAAGATTCAATAACCGACATTTGGACTTACAACGCAGAG
CTATTAGTGGCAATGGAGAATCAGCACACAATTGACATGGCTGATTCAGAGATGCTAAATCTGTATGAAA
GGGTAAGAAAGCAACTCAGACAGAATGCAGAAGAAGACGGAAAGGGATGTTTTGAGATATATCATACTTG
TGATGATTTCGTGCATGGAGAGTATAAGGAACAATACTTATGACCATTACAAATACAGAGAGGAGGCTCTT
CTGAATAGACTGAACATCAACCCAGTGAAACTTCTTCGGGGTACAAAGACATCATACTTTGGTTTAGCT
TCGGGGAATCATGCTTTGTTCTTCTAGCCGTTGTTATGGGTCTTGTTTTCTTCTGCCTGAAAAATGGAAA
CATGCGATGCACAATCTGTATTTAGTTAAAAACACCTTGTTTCTACT

```

Fig. 10I

**Subtipo H11 (SEQ ID NO: 20)**

>gi | 221307 | dbj | D90306.1 | FLAHAH11N Virus de influenza A  
(A /pato/Inglaterra/56/(H11N6)) gen para el precursor de hemaglutinina, cds completo

```

ATGGAGAAAACACTGCTATTTGCAGCTATTTTCCTTTGTGTGAAAGCAGATGAGATCTGTATCGGGTATT
TAAGCAACAACCTCGACAGACAAAGTTGACACAATAATTGAGAACAATGTCACGGTCACTAGCTCAGTGGA
ACTGGTTGAGACAGAACACACTGGATCATTCTGTTCAATCAATGGAAAACAACCAATAAGCCTTGGAGAT
TGTTTCATTTGCTGGATGGATATTAGGAAACCCTATGTGTGATGAACTAATTGGAAAGACTTCATGGTCTT
ACATTGTGGAAAACCCAATCCAACAAATGGAATCTGTTACCCAGGAACTTTAGAGAGTGAAGAAGAACT
AAGACTGAAATTCAGTGGAGTTTTAGAATTTAACAATTCGAAGTATTCACATCAAATGGATGGGGTGCT
GTAAATTCAGGAGTAGGAGTAACCGCTGCATGCAAATTCGGGGGTTCTAATTCTTTCTTTTGGAAACATGG
TATGGCTGATACACCAATCAGGAACATATCCTGTAATAAAGAGAACCCTTTAACAACACCAAAGGGAGAGA
TGTAAGTATTGTTTGGGGAATTCATCATCCTGCTACACTGACAGAACATCAAGATCTGTATAAAAAGGAC
AGCTCCTATGTAGCAGTGGGTTTCAAGAGACCTACAACAGAAGATTCAGTCCAGAAATCAACACTAGGCCCA
GAGTCAATGGACAGGCCGGACGGATGACATTCTACTGGAAGATAGTCAAACCAGGAGAATCAATAACATT
CGAATCTAATGGGGCGTTTCTAGCTCCTAGATATGCTTTTGAGATTGTCTCTGTTGGAAATGGGAACTG
TTCAGGAGCGAACTGAACATTGAATCATGCTCTACCAAATGTCAAACAGAAATAGGAGGAATTAATACGA
ACAAAAGCTTCCACAATGTTACAGAAACACTATCGGGGATTGCCCAAGTATGTGAATGTCAAATCCTT
AAAGCTTGCAACAGGACCTAGAAATGTCCAGCAATAGCATCGAGAGGCTTGTTTGGAGCAATAGCTGGA
TTCATAGAAGGGGGATGGCCTGGACTGATCAATGGATGGTATGGGTTCCAACACAGGGACGAAGAAGGAA
CAGGCATTGCAGCAGACAAGGAGTCAACTCAAAGGCAATAGACCAGATAACATCCAAGGTAAATAACAT
CGTTGACAGGATGAATACAACTTTGAGTCTGTGCAACACGAATTCAGTGAAATAGAGGAAAGAATAAAT
CAATTATCAAAACACGTAGATGATTCTGTGGTTGACATCTGGTCATATAATGCACAGCTTCTCGTTTAC
TTGAAAATGAGAAGACACTGGACCTCCATGACTCAAATGTCAGGAACCTCCATGAGAAAGTCAGAAGAAT
GCTAAAGGACAATGCCAAAGATGAGGGGAACGGATGCTTACCTTTTACCATAAGTGTGACAATAAATGC
ATTGAACGAGTTAGAAACGGAACATATGATCATAAAGAATTCGAGGAGGAATCAAAAATCAATCGCCAGG
AGATTGAAGGGGTGAACTAGATTCTAGTGGGAATGTGTATAAAATACTGTCAATTTACAGCTGCATTGC
AAGCAGTCTTGTATTGGCAGCACTCATCATGGGGTTCATGTTTTGGGCATGCAGTAATGGATCATGTAGA
TGTACCATTTCATTTAG

```

Fig. 10J

**Subtipo H12 (SEQ ID NO: 21)**

>gi | 221309 | dbj | D90307.1 | FLAHAH12N Virus de influenza A  
(A /pato/Alberta/60/76 (H12N5)) gen para el precursor de hemaglutinina, cds completo

```

ATGGAAAAATTCATCATTTTGAGTACTGTCTTGGCAGCAAGCTTTGCATATGACAAAATTTGCATTGGAT
ACCAAACAAACAACTCGACTGAAACGGTAAACACACTAAGTGAACAAAACGTTCCGGTGACGCAGGTGGA
AGAACTTGTACATCGTGGGATTGATCCGATCCTGTGTGGAACGGAAGTAGGATCACCCTAGTGCTTGAT
GACTGTTTCATTAGAGGGTCTAATCCTAGGCAATCCCAAATGTGATCTTTATTTGAATGGCAGGGAATGGT
CATACATAGTAGAGAGGCCCAAAGAGATGGAAGGAGTTTGCTATCCAGGGTCAATTGAAAACCAGGAAGA
GCTAAGATCTCTGTTTTCTTCCATCAAAAAATATGAAAGAGTGAAGATGTTTGATTTACCAAATGGAAT
GTCACATACACTGGGACCAGCAAGGCCCTGCAATAATACATCAAACCAAGGCTCATTCTATAGGAGCATGA
GATGGTTGACCTTAAAATCAGGACAATTTCCAGTCCAAACAGATGAGTACAAGAACACCAGAGATTGAGA
CATTGTATTACCTGGGCCATTACCAACCCACCAACATCTGATGAACAAGTAAAATTATACAAAAATCCT
GATACTCTCTCTTCAGTCACCACCGTAGAAATCAATAGGAGCTTCAAGCCTAATATAGGGCCAAGACCAC
TCGTGAGAGGACAACAAGGGAGAATGGATTACTACTGGGCTGTTCTTAAACCTGGACAAACAGTCAAAAT
ACAAACCAATGGTAATCTTATTGCACCTGAATATGGTCACTTAATCACAGGGAAATCATATGGCAGGATA
CTCAAGAATAATTTGCCCATGGGACAGTGTGTGACTGAATGTCAATTGAACGAGGGTGTAAATGAACACAA
GCAAACCTTTCCAGAACACTAGTAAGCACTATATTGGGAAATGCCCAAATACATACCATCAGGGAGTTT
AAAATTGGCAATAGGGCTCAGGAATGTCCACAAAGTTCAAGATCGGGGGCTCTTTGGAGCAATTGCAGGT
TTCATAGAAGGCGGATGGCCAGGGCTAGTGGCTGGTTGGTACGGATTTTCAGCATCAAAATGCGGAGGGGA
CAGGCATAGCTGCAGACAGAGACAGCACCCAAAGGGCAATAGACAATATGCAAACAACTCAACAATGT
CATCGACAAAATGAATAAACAAATTTGAAGTGGTGAATCATGAGTTTTTCAGAAGTGGAAAGCAGAATAAAC
ATGATTAATTCAAAAATTGATGATCAGATAACTGACATATGGGCATACAATGCTGAATTGCTTGTCCTAT
TGGAAAATCAGAAGACATTAGATGAGCATGACGCTAATGTAAGGAATCTACATGATCGGGTCAGAAGAGT
CCTGAGGGAAAATGCAATTGACACAGGAGACGGCTGCTTTGAGATTTTACATAAATGTGACAACAATTGT
ATGGACACGATTAGAAACGGGACATACAATCACAAAGAGTATGAGGAAGAAAGCAAAATCGAACGACAGA
AAGTCAATGGTGTGAACTTGAGGAGAATTCTACATATAAAATTCTGAGCATCTACAGCAGTGTTCCTC
AAGCTTAGTTCTACTGCTCATGATTATTGGGGGTTTCATTTTCGGGTGTCAAAATGGAAATGTTTCGTTGT
ACTTTCTGTATTAA

```

Fig. 10K

**Subtipo H13 (SEQ ID NO: 22)**

>gi | 221311 | dbj | D90308.1 | FLAHAH13N Virus de influenza A  
(A /Gaviota/Maryland/704/77 (H13N6)) gen para el precursor de hemaglutinina, cds completo

ATGGCTCTAAATGTCATTGCAACTTTGACACTTATAAGTGTATGTGTACATGCAGACAGAATATGCGTGG  
GGTATCTGAGCACCAATTCATCAGAAAGGGTCGACACGCTCCTTGAAAATGGGGTCCCAGTCACCAGCTC  
CATTGATCTGATTGAGACAAACCACACAGGAACATACTGTTCTCTAAATGGAGTCAGTCCAGTGCATTTG  
GGAGATTGCAGCTTTGAAGGATGGATTGTAGGAAACCCAGCCTGCACCAGCAACTTTGGGATCAGAGAGT  
GGTCATACCTGATTGAGGACCCCGCGGCCCTCATGGGCTTTGCTACCCTGGAGAATTAAACAACAATGG  
TGAAGTCAGACACTTGTTCAGTGGAATCAGGTCATTGAGTAGAACGGAATTGATCCACCTACCTCCTGG  
GGGGAAGTACTTGACGGTACAACATCTGCTTGAGAGATAACACGGGAACCAACAGCTTCTATCGAAATT  
TAGTTTGGTTTATAAAGAAGAATACTAGATATCCAGTTATCAGTAAGACCTACAACAATACAACGGGAAG  
GGATGTTTTAGTTTTATGGGGAATACATCACCCAGTGTCTGTGGATGAGACAAAGACTCTGTATGTCAAT  
AGTGATCCATACACACTGGTTTCCACCAAGTCTTGGAGCGAGAAATATAAACTAGAAACGGGAGTCCGAC  
CTGGCTATAATGGACAGAGGAGCTGGATGAAAATTTATTGGTCTTTGATACATCCAGGGGAGATGATTAC  
TTTCGAGAGTAATGGTGGATTTTTAGCCCCAAGATATGGGTACATAATTGAAGAATATGGAAAAGGAAGG  
ATTTTCCAGAGTCGCATCAGAATGTCTAGGTGCAACACCAAGTGCCAGACTTCGGTTGGAGGGATAAACA  
CAAACAGAACGTTCCAAAACATCGATAAGAATGCTCTTGGTGACTGTCCCAAATACATAAAGTCTGGCCA  
ACTCAAGCTAGCCACTGGACTCAGAAATGTGCCAGCTATATCGAATAGAGGATTGTTCCGGAGCAATTGCA  
GGGTTTCATAGAAGGAGGCTGGCCAGGTTTAATCAATGGTTGGTACGGTTTTTCAGCATCAAAATGAACAGG  
GAACAGGAATAGCTGCAGACAAAGAATCAACACAGAAAGCTATAGACCAGATAACAACCAAAATAAATAA  
CATTATTGATAAAATGAATGGGAAGTATGATTCAATTAGGGGTGAATTCAATCAAGTTGAGAAGCGTATA  
AACATGCTTGCAGACAGAATAGATGATGCCGTGACGGACATTTGGTCATACAATGCCAAACTTCTTGAT  
TGCTGGAAAATGATAAACTTTAGATATGCATGATGCTAATGTAAAGAATTTACATGAGCAAGTACGAAG  
AGAATTGAAGGACAATGCAATTGACGAAGGAAATGGCTGTTTTGAACTCCTTCATAAATGCAATGACTCC  
TGCATGGAACTATAAGAAATGGAACGTATGACCACACTGAGTATGCAGAGGAGTCAAAGTTAAAGAGGC  
AAGAAATCGATGGGATCAAACCTCAAATCAGAAGACAACGTTTACAAAGCATTATCAATATACAGTTGCAT  
TGCAAGTAGTGTTGTACTAGTAGGACTCATACTCTCTTTCATCATGTGGGCCTGTAGTAGTGGGAATTGC  
CGATTCAATGTTTGTATATAA

Fig. 10L

**Subtipo H14 (SEQ ID NO: 23)**

>gi | 324045 | gb | M35997.1 | FLAH1424 Virus de influenza A  
 A /Ánade real/Gurjev/263/82 hemaglutinina subtipo H14 gen

AGCAAAAGCAGGGGAAAATGATTGCACTCATATTGGTTGCACTGGCTCTGAGCCACACTGCTTATTCTCA  
 GATCACAAATGGGACAACAGGAAACCCATTATATGCTTGGGGCATCATGCAGTGGAACCGGCACATCT  
 GTTAAACACTAACAGACAATCACGTAGAAGTTGTGTGCTAGCTAAAGAATTAGTTGAGACGAACCACTG  
 ATGAACTGTGCCAAGCCCCCTGAAGCTTGTGACGGGCAAGACTGCCACCTCATCAATGGTGCATTGGG  
 GAGTCCAGGCTGTGACCGTTTGCAGGACACCACTTGGGATGTCTTCATTGAAAGGCCCACTGCAGTAGAC  
 ACATGTTATCCATTCGACGTCCCAGATTACCAGAGTCTCAGAAGCATCCTAGCAAGCAGTGGGAGTTTGG  
 AGTTCATCGCCGAACAATTCACCTGGAATGGTGTCAAAGTTGACGGATCAAGCAGTGCTTGTGAGGGG  
 CGGTGCAACAGCTTCTTCTCCCGACTAACTGGCTAACCAAGCAACAAATGGAACTATGGACCTATT  
 AACGTCACTAAAGAAAATACGGGCTCTTATGTGAGGCTCTATCTCTGGGGAGTGCATCACCCATCAAGCG  
 ATAATGAGCAAACGGATCTCTACAAGGTGGCAACAGGGAGAGTAACAGTATCTACCCGCTCGGACCAAAT  
 CAGTATTGTTCCCAATATAGGAAGTAGACCGAGGGTAAGGAATCAGAGCGGCAGGATAAGCATCTACTGG  
 ACCCTAGTAAACCCAGGGGACTCCATCATTTTCAACAGTATTGGGAATTTGATTGCACCAAGAGGCCACT  
 ACAAATAAGCAAATCTACTAAGAGCACAGTGCTTAAAAGTGACAAAAGGATTGGGTCATGCACAAGCCC  
 TTGCTTAACTGATAAAGGTTGATCCAAAGTGACAAACCTTTTCAGAATGTATCAAGGATTGCTATAGGA  
 AACTGCCCCGAAATATGTAAAGCAAGGGTCCCTGATGTTAGCAACTGGAATGCGCAACATCCCTGGCAAAC  
 AGGCAAAGGGCTTATTTGGGGCAATTGCTGGATTCAATTGAAAATGGTTGGCAAGGCCTGATTGATGGGTG  
 GTATGGATTCAGGCACCAAAATGCTGAAGGAACAGGAACTGCTGCAGACCTGAAGTCAACTCAGGCAGCC  
 ATTGATCAGATAAATGGCAAGCTGAACAGATTGATAGAGAAGACAAATGAAAAATATCACCAAATAGAAA  
 AGGAATTCGAACAGGTGGAAGGAAGAATACAAGACCTTGAGAAGTACGTTGAGGACACTAAGATTGATTT  
 GTGGTCATACAATGCTGAATTGCTAGTAGCACTAGAGAATCAGCACACAATAGATGTCACAGACTCCGAA  
 ATGAACAAGCTTTTTGAAAGAGTAAGAAGGCAATTAAGAGAGAATGCAGAAGATCAAGGCAACGGTTGTT  
 TCGAGATATTCCATCAGTGTGACAACAATTGTATAGAAAGCATTAGAAACGGAACCTTATGACCACAACAT  
 CTACAGGGATGAAGCCATCAACAATCGAATCAAATAAATCCTGTCACTTTGACGATGGGGTACAAGGAC  
 ATAATCCTGTGGATTTCTTTCTCCATGTCATGCTTTGTCTTCGTGGCACTGATTCTGGGATTTGTTCTAT  
 GGGCTTGTCAAACGGGAATATCCGATGCCAAATCTGTATATAAAGAAAAAACACCCTTGTTTCTACTC

Fig. 10M

## Subtipo H15 (SEQ ID NO: 24)

>gi | 1226068 | gb | L43916.1 | FLAHEMAC influenza A/pato/Australia/341/83 (H15N8)) ARNm de hemaglutinina, cds completo

```

AGCAAAAGCAGGGGATACAAAATGAACACTCAAATCATCGTCATTCTAGTCCTCGGACTGTGATGGTGA
GATCTGACAAGATTTGTCTCGGGCACCATGCGTAGCAAAATGGGACAAAAGTCAACACACTAACTGAGAA
AGGAGTGGAAAGTGGTCAATGCCACGGAGACAGTGGAGATTACAGGAATAAATAAAGTGTGCACAAAAGGG
AAGAAAGCGGTGGACTTGGGATCTTGTGGAATACTGGGAACTATCATTGGGCCTCCACAATGTGACTCTC
ATCTTAAATTCAAAGCTGATCTGATAATAGAAAGAAGAAATTCAAGTGACATCTGTTACCCAGGGAAATT
CACTAATGAGGAAGCACTGAGACAAATAATCAGAGAATCTGGTGGAAATTGACAAAGAGCCAATGGGATTT
AGATATTCAGGAATAAAAACAGACGGGGCAACCAGTGCCTGTAAGAGAACAGTGTCTCTTTCTACTCAG
AAATGAAATGGCTTTTATCCAGCAAGGCTAACAGGTGTTCCACAACCTGAATCAGACATACAGGAACAA
CAGAAAAGAACCAGCCCTAATTGTTTGGGGAGTACATCATTCAAGTTCCTTGATGAGCAAAAATAAGCTA
TATGGAGCTGGGAACAAGCTGATAACAGTAGGAAGCTCAAAATACCAACAATCGTTTTTCAACCAAGTCCAG
GGGACAGGCCCAAAGTGAATGGTCAGGCCGGGAGGATCGACTTTCATTGGATGCTATTGGACCCAGGGGA
TACAGTCACTTTTACCTTCAATGGTGCATTCATAGCCCCAGATAGAGCCACCTTCTCCGCTCTAATGCC
CCATCGGGAGTTGAGTACAATGGGAAGTCACTGGGAATACAGAGTGATGCACAAATTGATGAATCATGTG
AAGGGGAATGCTTCTACAGTGGAGGGACAATAAACAGCCCTTTGCCATTTCAAAACATCGATAGTTGGGC
TGTCGGAAGGTGCCCCAGATATGTAAAGCAATCAAGCCTGCCGCTGGCCTTAGGAATGAAAAATGTACCA
GAGAAAATACATACTAGGGGACTGTTCCGTGCAATTGCAGGATTCATCGAGAATGGATGGGAAGGACTCA
TTGATGGATGGTATGGATTTAGGCATCAAAATGCACAGGGGCAGGGAACAGCTGCTGACTACAAGAGTAC
TCAGGCTGCAATTGACCAGATAACAGGGAACTTAATAGATTAATTGAAAAAACCAACACACAGTTTGAA
CTCATAGACAATGAGTTCACTGAAGTGGAGCAGCAGATAGGCAATGTAATAAACTGGACAAGGGACTCCT
TGACTGAGATCTGGTCATACAATGCTGAACTTCTAGTAGCAATGGAAAATCAGCATACAATTGACCTTGC
AGATTCTGAAATGAACAACTCTATGAGAGAGTGAGAAGACAGCTAAGGGAGAATGCCGAGGAGGATGGA
ACTGGATGTTTTGAGATTTTCCACCGATGTGACGATCAATGTATGGAGAGCATACGAAATAATACTTACA
ATCACACTGAATATCGACAGGAAGCCTTACAGAATAGGATAATGATCAATCCGGTAAAGCTTAGTGGTGG
GTACAAAGATGTGATACTATGGTTTAGCTTCGGGGCATCATGTGTAATGCTTCTAGCCATTGCTATGGGT
CTTATTTTCATGTGTGTGAAAAACGGGAATCTGCGGTGCACTATCTGTATATAATTATTTGAAAAACACC
CTTGTTTCTACT

```

Fig. 10N

**Subtipo H16 (SEQ ID NO: 25)**

>gi | 56425020 | gb | AY68489.1 | Virus de influenza A (A/gaviota de cabeza negra/Suecia/5/99 (H16N3)) gen de hemagglutininina (HA), cds completo

```

AGCAAAAGCAGGGGATATTGTCAAAACAACAGAATGGTGATCAAAGTGCTCTACTTTCTCATCGTATTGT
TAAGTAGGTATTTCGAAAGCAGACAAAATATGCATAGGATATCTAAGCAACAACGCCACAGACACAGTAGA
CACACTGACAGAGAACGGAGTTCCAGTGACCAGCTCAGTTGATCTCGTTGAAACAAACCACACAGGAACA
TACTGCTCACTGAATGGAATCAGCCCAATTCATCTTGGTGACTGCAGCTTTGAGGGATGGATCGTAGGAA
ACCCTTCCTGTGCCACCAACATCAACATCAGAGAGTGGTCGTATCTAATTGAGGACCCCAATGCCCCAA
CAAACCTCTGCTTCCCAGGAGAGTTAGATAATAATGGAGAATTACGACATCTCTTCAGCGGAGTGAACCTT
TTTAGCAGAACAGAATTAATAAGTCCCAACAAATGGGGAGACATTCTGGATGGAGTCACCGCTTCTTGCC
GCGATAATGGGGCAAGCAGTTTTTACAGAAATTTGGTCTGGATAGTGAAGAATAAAAAATGGAAAATACCC
TGTCATAAAGGGGGATTACAATAACACAACAGGCAGAGATGTTCTAGTACTCTGGGGCATTACCATCCG
GATACAGAAACAACAGCCATAAACTTGTACGCAAGCAAAAACCCCTACACATTAGTATCAACAAAGGAAT
GGAGCAAAAGATATGAACTAGAAATTGGCACCAGAATAGGTGATGGACAGAGAAGTTGGATGAAACTATA
TTGGCACCTCATGCGCCCTGGAGAGAGGATAATGTTTGAAAGCAACGGGGGCCTTATAGCGCCCAGATAC
GGATACATCATTGAGAAGTACGGTACAGGACGAATTTTCCAAAGTGGAGTGAGAATGGCCAAATGCAACA
CAAAGTGTCAAACATCATTAGGTGGGATAAACACCAACAAAACCTTTCCAAAACATAGAGAGAAATGCTCT
TGGAGATTGCCCAAAGTACATAAAGTCTGGACAGCTGAAGCTTGCAACTGGGCTGAGAAATGTCCCATCC
GTTGGTGAAAGAGGTTTGTGTTGGTGCAATTGCAGGCTTCATAGAAGGAGGGTGGCCTGGGCTAATTAATG
GATGGTATGGTTTCCAGCATCAGAATGAACAGGGGACTGGCATTGCTGCAGACAAAGCCTCCACTCAGAA
AGCGATAGATGAAATAACAACAAAAATTAACAATATAATAGAGAAGATGAACGGAAACTATGATTCAATA
AGAGGGGAATTCAATCAAGTAGAAAAGAGGATCAACATGCTCGCTGATCGAGTTGATGATGCAGTAACTG
ACATATGGTTCGTACAATGCTAACTTCTTGTAAGTCTGTTGAAAATGGGAGAACATTGGACTTACACGACGC
AAATGTCAGGAACCTTACACGATCAGGTCAAGAGAATATTGAAAAGTAATGCTATTGATGAAGGAGATGGT
TGCTTCAATCTTCTTCACAAATGTAATGACTCATGCATGGAACTATTAGAAATGGGACCTACAATCATG
AAGATTACAGGGAAGAATCACAACCTGAAAAGGCAGGAAATTGAGGGAATAAAATTGAAGTCTGAAGACAA
TGTGTATAAAGTACTGTGATTTATAGCTGCATTGCAAGCAGTATTGTGCTGGTAGGTCTCATACTTGCG
TTCATAATGTGGGCATGCAGCAATGGAAATTGCCGGTTAATGTTTGATATAGTCGGAAAAAATACCCT
TGTTTCTACT

```

Fig. 100

**Influenza B (SEQ ID NO: 26)**

>gi | 325175 | gb | K00423.1 | FLBHAZO influenza B/Lee/40, hemagglutinin (seg 4), segmento completo

```

AGCAGAAGCGTTGCATTTTCTAATATCCACAAAATGAAGGCAATAATTGTACTACTCATGGTAGTAACAT
CCAATGCAGATCGAATCTGCACTGGGATAACATCGTCAAACCTCACCTCATGTGGTTAAAACTGCCACTCA
AGGGGAAGTCAATGTGACTGGTGTGATACCACTAACAAACACCTACCAAATCTCATTTTGCAAATCTC
AAAGGAACACAGACCAGAGGAAAACATATGCCCAAACCTGTTTAACTGCACAGATCTGGACGTGGCCCTAG
GCAGACCAAATGCATGGGGAACACACCCTCCGCAAAAAGTCTCAATACTCCATGAAGTCAAACCTGCTAC
ATCTGGATGCTTTCTTATAATGCACGACAGAACAAAATCAGACAACTACCTAATCTTCTCAGAGGATAT
GAAAACATCAGGTTATCAACCAGTAATGTTATCAATACAGAGACGGCACCAGGAGGCCCTACAAGGTGG
GGACCTCAGGATCTTGCCCTAACGTTGCTAATGGGAACGGCTTCTTCAACACAATGGCTTGGGTTATCCC
AAAAGACAACAACAAGACAGCAATAAATCCAGTAACAGTAGAAGTACCATACATTTGTTTCAGAAGGGGAA
GACCAATTACTGTTTGGGGGTCCACTCTGATGACAAAACCCAAATGGAAAGACTCTATGGAGACTCAA
ATCCTCAAAAGTTACCTCATCTGCCAATGGAGTAACCACACATTATGTTTCTCAGATTGGTGGCTTCCC
AAATCAAACAGAAGACGAAGGGCTAAAACAAAGCGGCAGAATTGTTGTTGATTACATGGTACAAAACCT
GGAAAAACAGGAACAATTGTTTATCAAAGAGGCATTTTATTGCCTCAAAAAGTGTGGTGCAGCAAGTGGCA
GGAGCAAGGTAATAAAAGGGTCCTTGCCCTTAATTGGTGAAGCAGATTGCCTCCACGAAAAGTACGGTGG
ATTAAATAAAAGCAAGCCTTACTACACAGGAGAGCATGCAAAGGCCATAGGAAATTGCCCAATATGGGTG
AAAACACCCTTGAAGCTGGCCAATGGAACCAATATAGACCGCCTGCAAACTATTAAAGGAAAGAGGTT
TCTTCGGAGCTATTGCTGGTTTCTTGGAAGGAGGATGGGAAGGAATGATTGCAGGTTGGCAGGATACAC
ATCTCATGGAGCACATGGAGTGGCAGTGGCAGCAGACCTTAAGAGTACACAAGAAGCTATAAACAAAGATA
ACAAAAAATCTCAACTATTTAAGTGAGCTAGAAGTAAAAAACCTTCAAAGACTAAGCGGAGCAATGAATG
AGCTTCACGACGAAATACTCGAGCTAGACGAAAAAGTGGATGATCTAAGAGCTGATACAATAAGCTCACA
AATAGAGCTTGCAGTCTTGCTTTCCAACGAAGGGATAATAAACAGTGAAGATGAGCATCTCTTGGCACTT
GAAAGAAAACCTGAAGAAAATGCTTGCCCTCTGCTGTAGAAATAGGGAATGGGTGCTTTGAAACCAAAC
ACAAATGCAACCAGACTTGCCCTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAGGAGATTTTCTCTTCC
CACTTTTGATTCAATTAACATTACTGCTGCATCTTTAAATGATGATGGCTTGGATAATCATACTATACTG
CTCTACTACTCAACTGCTGCTTCTAGCTTGGCTGTAAACATTAATGATAGCTATCTTCATTGTCTACATGG
TCTCCAGAGACAATGTTTCTTGTTCATCTGTCTGTGAGGGAGATTAAGCCCTGTGTTTCTTTACTGT
AGTGCTCATTTGCTTGTCAACATTACAAAGAAACGTTATTGAAAAATGCTCTTGTTACTACT

```

Fig. 10P



**Influenza C (SEQ ID NO: 27)**

>gi | 325317 | gb | M17868.1 | FLCHAJO influenza C/Johannesburgo/66, ARN de hemagglutinina esterasa (seg 4), cds completo

```

AGCAGAAGCAGGGGGTTAATAATGTTTTCTCATTACTCTTGGTGTTGGGCCTCACAGAGGCTGAAAAAA
TAAAGATATGCCTTCAAAAGCAAGTGAACAGTAGCTTCAGCCTACACAATGGCTTCGGAGGAAATTTGTA
TGCCACAGAAGAAAAAAGAATGTTTGAGCTTGTTAAGCCCAAAGCTGGAGCCTCTGTCTTGAATCAAAGT
ACATGGATTGGCTTTGGAGATTCAAGGACTGACAAAAGCAATTCAGCTTTTCCTAGGTCTGCTGATGTTT
CAGCAAAAACCTGCTGATAAGTTTTGTTTTTGTCTGGTGGATCCTTAATGTTGAGTATGTTTGGCCCACC
TGGGAAGGTAGACTACCTTTACCAAGGATGTGGAAAACATAAAGTTTTTTATGAAGGAGTTAACTGGAGT
CCACATGCTGCTATAAATTGTTACAGAAAAAATTGGACTGATATCAAACCTGAATTTCCAGAAAAACATTT
ATGAATTGGCTTCACAATCACATTGCATGAGCTTGGTGAATGCCTTGGACAAAACCTATTCCTTTACAAGT
GACTGCTGGGACTGCAGGAAATTGCAACAACAGCTTCTTAAAAAATCCAGCATTGTACACACAAGAAGTC
AAGCCTTCAGAAAACAAATGTGGGAAAGAAAATCTTGCTTTCTTCACACTTCCAACCCAAATTTGGAACCT
ATGAGTGCAAACCTGCATCTTGTTGGCTTCTTGCTATTTTCATCTATGATAGTAAAGAAGTGTACAATAAAAG
AGGATGTGACAACCTACTTTCAAGTGATCTATGATTCAATTTGGAAAAGTCGTTGGAGGACTAGATAACAGG
GTATCACCTTACACAGGGAATTCTGGAGACACCCCAACAATGCAATGTGACATGCTCCAGCTGAAACCTG
GAAGATATTCAGTAAGAAGCTCTCCAAGATTCCTTTTAATGCCTGAAAGAAGTTATTGCTTTGACATGAA
AGAAAAAGGACCAGTCACTGCTGTCCAATCCATTTGGGGAAAAGGCAGAGAATCTGACTATGCAGTGGAT
CAAGCTTGCTTGAGCACTCCAGGGTGCATGTTGATCCAAAAGCAAAAGCCATACATTGGAGAAGCTGATG
ATCACCATGGAGATCAAGAAATGAGGGAGTTGCTGTCAGGACTGGACTATGAAGCTAGATGCATATCACA
ATCAGGGTGGGTGAATGAAACCAGTCCTTTTACGGAGAAATACCTCCTTCCTCCCAAATTTGGAAGATGC
CCTTTGGCTGCAAAGGAAGAATCCATTCCAAAAATCCCAGATGGCCTTCTAATTTCCACCAGTGGAACCG
ATACCACTGTAACCAAACCTAAGAGCAGAATTTTTTGAATCGATGACCTCATTATTGGTGTGCTCTTTGT
TGCAATCGTTGAAACAGGAATTGGAGGCTATCTGCTTGAAGTAGAAAAGAATCAGGAGGAGGTGTGACA
AAAGAATCAGCTGAAAAAGGGTTTGAGAAAATTGGAATGACATACAAATTTTAAATCTTCTATAAATA
TCGCAATAGAAAAACTAAATGACAGAATTTCTCATGATGAGCAAGCCATCAGAGATCTAACTTTAGAAAT
TGAAAATGCAAGATCTGAAGCTTTATTGGGAGAATTGGGAATAATAAGAGCCTTATTGGTAGGAAATATA
AGCATAGGATTACAGGAATCTTTATGGGAACTAGCTTCAGAAATAACAAATAGAGCAGGAGATCTAGCAG
TTGAAGTCTCCCCAGGTTGCTGGATAATTGACAATAACATTTGTGATCAAAGCTGTCAAATTTTATTTT
CAAGTTCAACGAAACTGCACCTGTTCCAACCATTCCCCCTCTTGACACAAAAATTGATCTGCAATCAGAT
CCTTTTTACTGGGGAAGCAGCTTGGGCTTAGCAATAACTGCTACTATTTCAATGGCAGCTTTGGTGATCT
CTGGGATCGCCATCTGCAGAACTAAATGATTGAGACAATTTTGAAAAATGGATAATGTGTGGTCAATAT
TTTGTACAGTTTTATAAAAAACAAAAATCCCCTTGCTACTGCT

```

**Fig. 10Q**

SEQ ID NO: 29

5'-AGTTCCCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTC-3'

**Fig. 10 R**

SEQ ID NO: 30

5'-AATAGGAGCTCCATTTTCTCTCAAGATGATTAATTAATTAATTAGTC-3

**Fig. 10S**

SEQ ID NO: 31

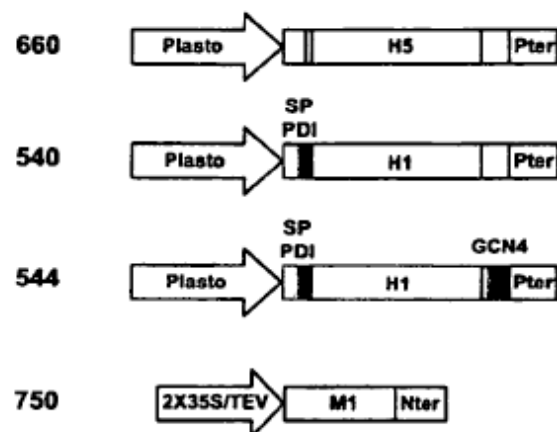
5'-AATAGGAGCTCGTAAATGCTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGG-3'

**Fig. 10T**

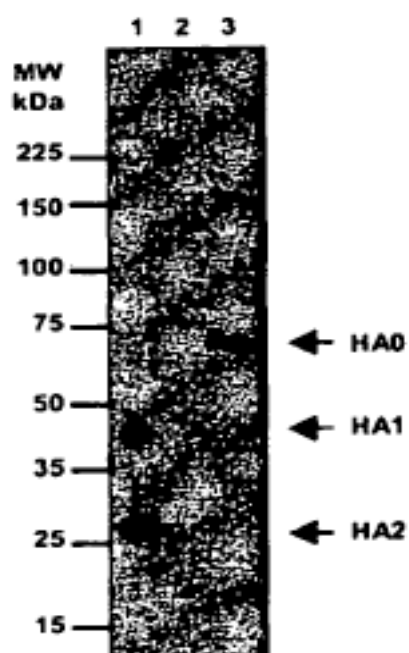
SEQ ID NO: 32

5'-  
TTACGAATTCTCCTTCCTAATTGGTGTACTATCATTTATCAAAGGGGA-3'

**Fig. 11**

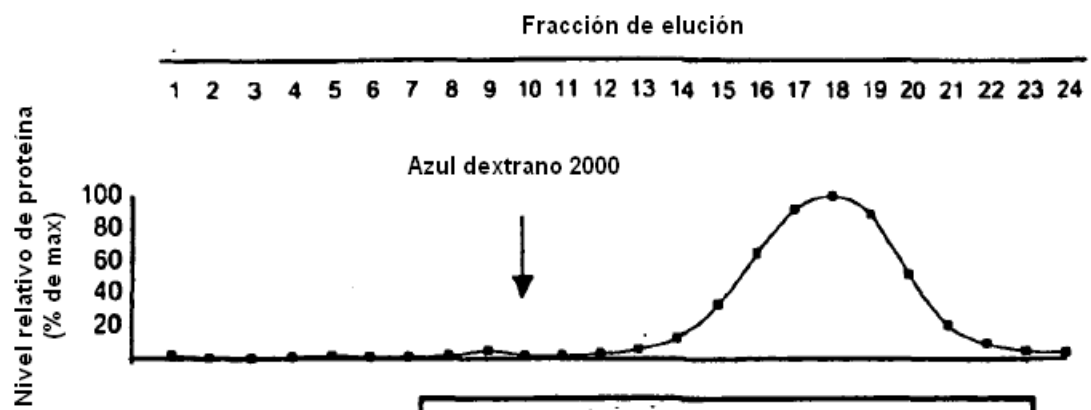


**Fig. 12**



- 1- H5 comercial (A/Vietnam/1203/2004) (750ng)
- 2- Extracto de proteína de hoja de mock (37,5 µg)
- 3- Extracto de proteína de hoja de planta infiltrada con R660 (37,5 µg)

**Fig. 13A**



**Fig. 13B**

H5

**Fig. 13C**

H1

**Fig. 13D**

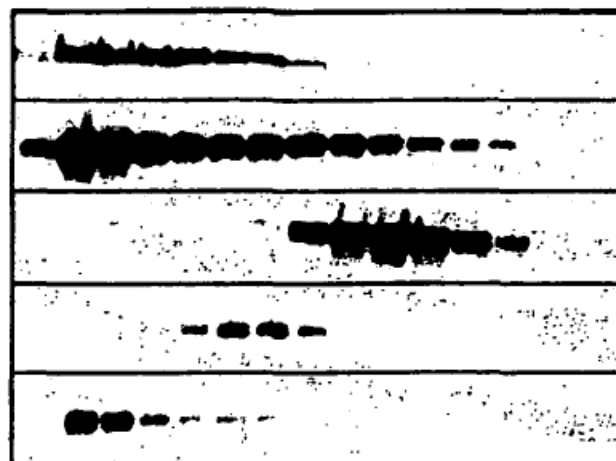
soluble H1

**Fig. 13E**

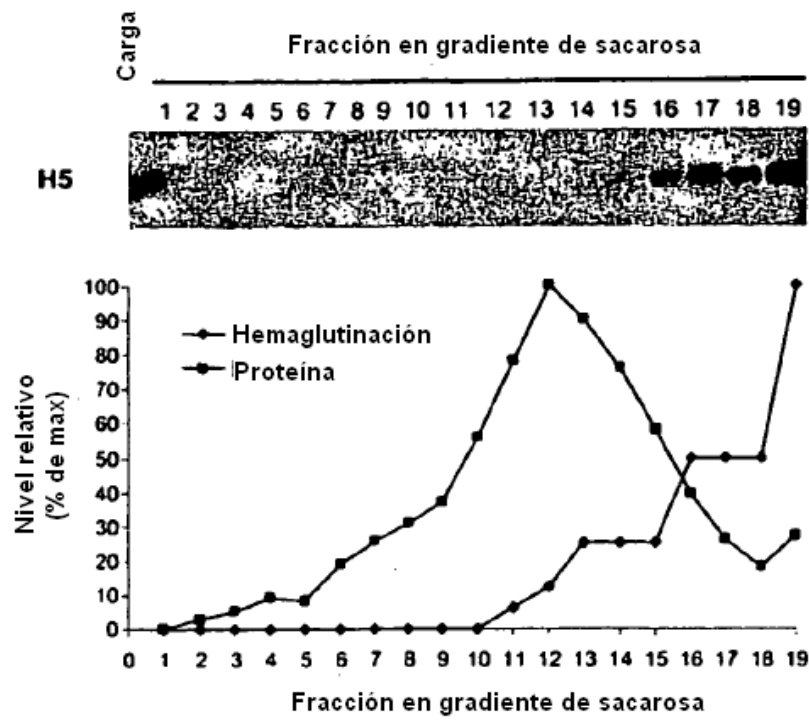
H1 roseta

**Fig. 13F**

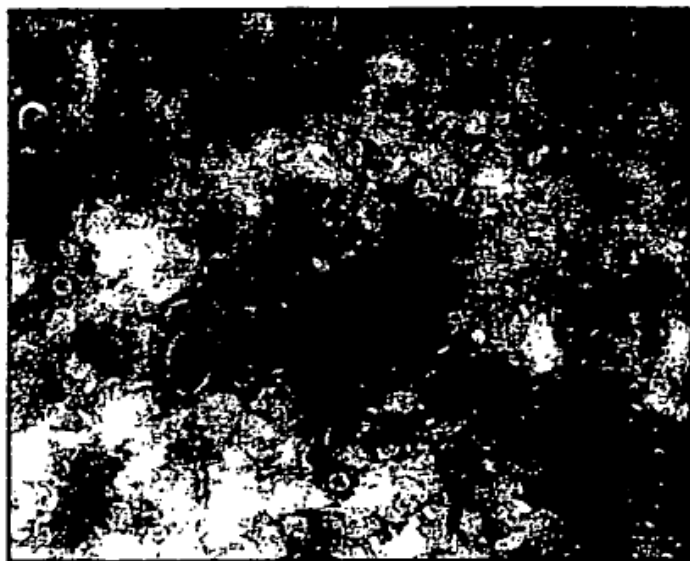
H1+M1



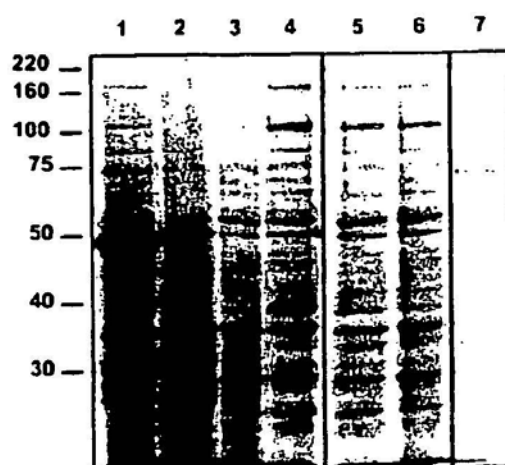
**Fig.14A**



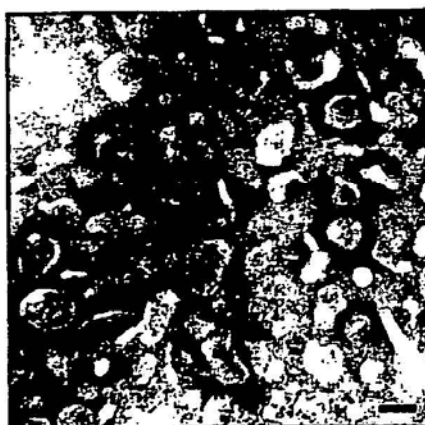
**Fig. 14B**



**Fig. 15A**



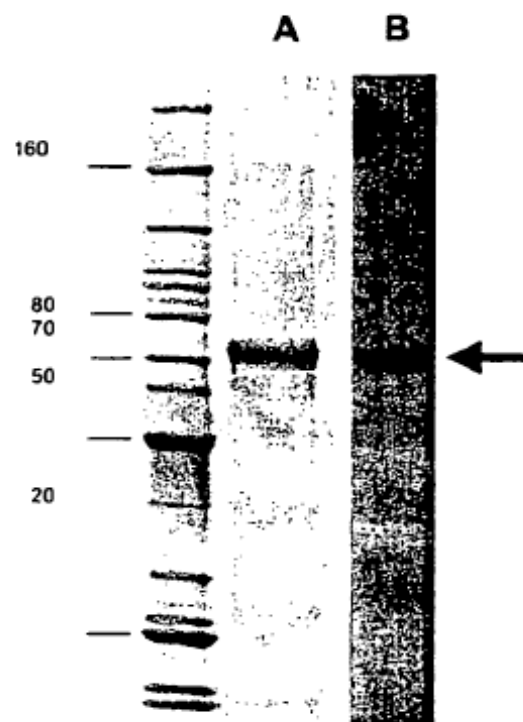
**Fig. 15B**



**Fig. 15C**



**Fig. 15D**





**Fig. 16**

SEQ ID NO: 33

ATGAAAGCAAACTACTGGTCCTGTTATGTACATTTACAGCTACATATGCAGA  
 CACAATATGTATAGGCTACCATGCCAACAACTCAACCGACACTGTTGACACAG  
 TACTTGAGAAGAATGTGACAGTGACACACTCTGTCAACCTACTTGAGGACAGT  
 CACAATGGAAAACCTATGTCTACTAAAAGGAATAGCCCCACTACAATTGGGTAA  
 TTGCAGCGTTGCCGGATGGATCTTAGGAAACCCAGAATGCGAATTACTGATTT  
 CCAAGGAATCATGGTCCTACATTGTAGAAACACCAAATCCTGAGAATGGAACA  
 TGTTACCCAGGGTATTTGCGCCGACTATGAGGAACTGAGGGAGCAATTGAGTTC  
 AGTATCTTCATTTGAGAGATTCGAAATATTCCCCAAAGAAAGCTCATGGCCCCA  
 ACCACACCGTAACCGGAGTATCAGCATCATGCTCCCATAAATGGGAAAAGCAGT  
 TTTTACAGAAATTTGCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTTGTACCCAAACCT  
 GAGCAAGTCCTATGTAAACAACAAAGAGAAAGAAGTCCTTGTACTATGGGGTG  
 TTCATCACCCGCCTAACATAGGGAACCAAAGGGCCCTCTATCATACAGAAAAT  
 GCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATTATAGCAGAAGATTCACCCCAGAAAT  
 AGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAGGAAGGAAGAATCAACTACTACTGGA  
 CTCTGCTGGAACCTGGGGATACAATAATATTTGAGGCAAATGGAAATCTAATA  
 GCGCCATGGTATGCTTTTGCCTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCAC  
 CTCAAATGCACCAATGGATGAATGTGATGCGAAGTGTCAAACACCTCAGGGAG  
 CTATAAACAGCAGTCTTCCTTTCCAGAATGTACACCCAGTCACAATAGGAGAG  
 TGTCCAAAGTATGTCAGGAGTGCAAAATTAAGGATGGTTACAGGACTAAGGAA  
 CATCCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGGAGCCATTGCCGGTTTCATTG  
 AAGGGGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGGTGGTATGGTTATCATCATCAGAAT  
 GAGCAAGGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAAGTACACAAAATGCCATTAA  
 CGGGATTACAAACAAGGTGAATTCTGTAATTGAGAAAATGAACACTCAATTCA  
 CAGCTGTGGGCAAAGAATTCAACAAATTGGAAAGAAGGATGGAAAACCTTAAT  
 AAAAAAGTTGATGATGGGTTTCTAGACATTTGGACATATAATGCAGAATTGTT  
 GGTTCTACTGGAAAATGAAAGGACTTTGGATTTCCATGACTCCAATGTGAAGA  
 ATCTGTATGAGAAAGTAAAAAGCCAATTAAAGAATAATGCCAAAGAAATAGGA  
 AACGGGTGTTTTGAATTCTATCACAAGTGTAACAATGAATGCATGGAGAGTGT  
 GAAAAATGGAACCTTATGACTATCCAAAATATTCCGAAGAATCAAAGTTAAACA  
 GGGAGAAAATTGATGGAGTGAAATTGGAATCAATGGGAGTCTATCAGATTCTG  
 GCGATCTACTCAACTGTCGCCAGTTCCTGGTCTTTTGGTCTCCCTGGGGGC  
 AATCAGCTTCTGGATGTGTTCCAATGGGTCTTTGCAGTGTAGAATATGCATCT  
 GAGACCAGAATTTC

Fig. 17

## SEQ ID NO: 34

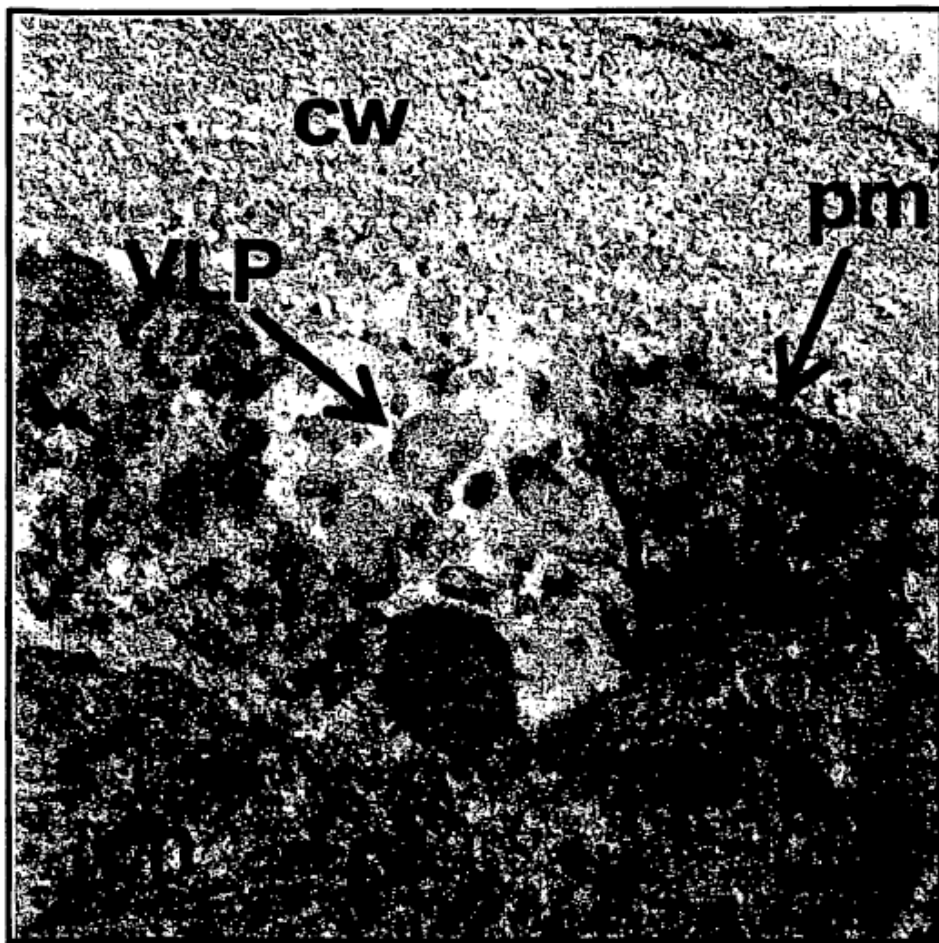
CCAAATCCTTAACATTCTTTCAACACCAACAATGGCGAAAAACGTTGCGATT  
 TTCGGTTTATTGTTTTCTCTTCTTCTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCGCTG  
 AGGAATCATCAACTGACGCTAAGGAATTTGTTCTTACATTGGATAACACTAA  
 TTTCCATGACACTGTTAAGAAGCACGATTCATCGTCGTTGAATTCTACGCA  
 CCTTGGTGTGGACACTGTAAGAAGCTAGCCCCAGAGTATGAGAAGGCTGCTT  
 CTATCTTGAGCACTCACGAGCCACCAGTTGTTTTGGCTAAAGTTGATGCCAA  
 TGAGGAGCACAAACAAGACCTCGCATCGGAAAATGATGTTAAGGGATTCCCA  
 ACCATTAAGATTTTATAGGAATGGTGGAAAAGAACATTCAAGAATACAAAGGTC  
 CCCGTGAAGCTGAAGGTATTGTTGAGTATTTGAAAAACAAAGTGGCCCTGC  
 ATCCACAGAAATTAAATCTGCTGATGATGCGACCGCTTTTGTGGTGACAAC  
 AAAGTTGTTATTGTGCGGAGTTTTCCCTAAATTTTCTGGTGAGGAGTACGATA  
 ACTTCATTGCATTAGCAGAGAAGTTGCGTTCTGACTATGACTTTGCTCACAC  
 TTTGAATGCCAAACACCTTCCAAAGGGAGACTCATCAGTGTCTGGGCCTGTG  
 GTTAGGTTATTTAAGCCATTTGACGAGCTCTTTGTTGACTCAAAGGATTTCA  
 ATGTAGAAGCTCTAGAGAAATTCATTGAAGAATCCAGTACCCCAATTGTGAC  
 TGTCTTCAACAATGAGCCTAGCAATCACCTTTTGTGTCAAATTCTTTAAC  
 TCTCCCAACGCAAAGGCTATGTTGTTTCATCAACTTTACTACCGAAGGTGCTG  
 AATCTTTCAAAACAAAATACCATGAAGTGGCTGAGCAATACAAACAACAGGG  
 AGTTAGCTTTCTTGTGGAGATGTTGAGTCTAGTCAAGGTGCCTTCCAGTAT  
 TTTGGACTGAAGGAAGAACAAGTACCTCTAATTATTATTCAGCATAATGATG  
 GCAAGAAGTTTTTCAAACCCAATTTGGAAC TTGATCAACTCCCAACTTGGTT  
 GAAGGCATACAAGGATGGCAAGGTTGAACCATTTGTCAAGTCTGAACCTATT  
 CCTGAAACTAACAACGAGCCTGTTAAAGTGGTGGTTGGGCAAACCTTTGAGG  
 ACGTTGTTTTTCAAGTCTGGGAAGAATGTTTTGATAGAGTTTTATGCTCCTTG  
 GTGTGGTCACTGCAAGCAGTTGGCTCCAATCTTGGATGAAGTTGCTGTCTCA  
 TTCCAAAGCGATGCTGATGTTGTTATTGCAAACTGGATGCAACTGCCAACG  
 ATATCCCAACCGACACCTTTGATGTCCAAGGCTATCCAACCTTGTACTTCAG  
 GTCAGCAAGTGGAAAAC TATCACAATACGACGGTGGTAGGACAAAGGAAGAC  
 ATCATAGAATTCATTGAAAAGAACAAGGATAAACTGGTGCTGCTCATCAAG  
 AAGTAGAACAACCAAAAGCTGCTGCTCAGCCAGAAGCAGAACAACCAAAAGA  
 TGAGCTTTGAAAAGTTCCGCTTGGAGGATATCGGCACACAGTCATCTGCGGG  
 CTTTACAAC TCTTTTGTATCTCAGAATCAGAAGTTAGGAAATCTTAGTGCCA  
 ATCTATCTATTTTTGCGTTTCATTTTATCTTTTTGGTTTACTCTAATGTATT  
 ACTGAATAATGTGAGTTTTGGCGGAGTTTAGTACTGGAAC TTTTGTCTGT  
 AAAAAAAAAAAAAA

**Fig. 18**

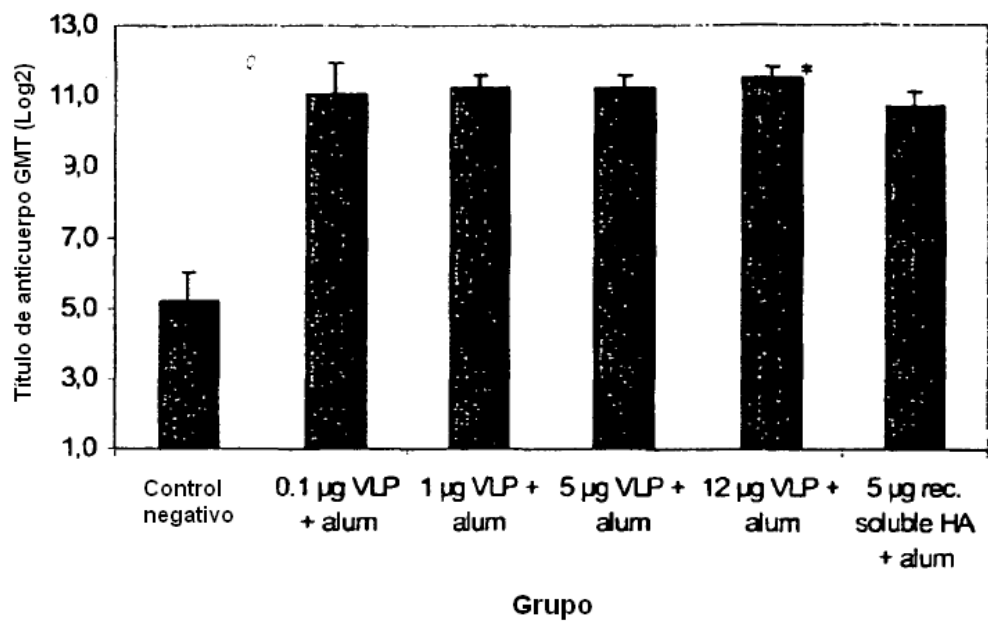
SEQ ID NO: 35

AGCGAAAGCAGGTAGATATTGAAAGATGAGTCTTCTAACCGAGGTCGAAACGTAC  
GTTCTCTCTATCATCCCGTCAGGCCCCCTCAAAGCCGAGATCGCACAGAGACTTG  
AAGATGTCTTTGCAGGGAAGAACACCGATCTTGAGGTTCTCATGGAATGGCTAAA  
GACAAGACCAATCCTGTCACCTCTGACTAAGGGGATTTTAGGATTTGTGTTCACG  
CTCACCGTGCCAGTGAGCGAGGACTGCAGCGTAGACGCTTTGTCCAAAATGCCC  
TTAATGGGAACGGGGATCCAAATAACATGGACAAAGCAGTTAAACTGTATAGGAA  
GCTCAAGAGGGAGATAACATTCCATGGGGCCAAAGAAATCTCACTCAGTTATTCT  
GCTGGTGCACTTGCCAGTTGTATGGGCCTCATATACAACAGGATGGGGGCTGTGA  
CCACTGAAGTGGCATTGTCCTGGTATGTGCAACCTGTGAACAGATTGCTGACTC  
CCAGCATCGGTCTCATAGGCAAATGGTGACAACAACCAACCCACTAATCAGACAT  
GAGAACAGAATGGTTTTAGCCAGCACTACAGCTAAGGCTATGGAGCAAATGGCTG  
GATCGAGTGAGCAAGCAGCAGAGGCCATGGAGGTTGCTAGTCAGGCTAGGCAAAT  
GGTGCAAGCGATGAGAACCATTGGGACTCATCCTAGCTCCAGTGCTGGTCTGAAA  
AATGATCTTCTTGAAAATTTGCAGGCCTATCAGAAACGAATGGGGGTGCAGATGC  
AACGGTTCAAGTGATCCTCTCGCTATTGCCGCAAATATCATTGGGATCTTGCACT  
TGATATTGTGGATTCTTGATCGTCTTTTTTTCAAATGCATTTACCGTCGCTTTAA  
ATACGGACTGAAAGGAGGGCCTTCTACGGAAGGAGTGCCAAAGTCTATGAGGGAA  
GAATATCGAAAGGAACAGCAGAGTGCTGTGGATGCTGACGATGGTCATTTTGTCA  
GCATAGAGCTGGAGTAAAAAACTACCTTGTTTCTACT

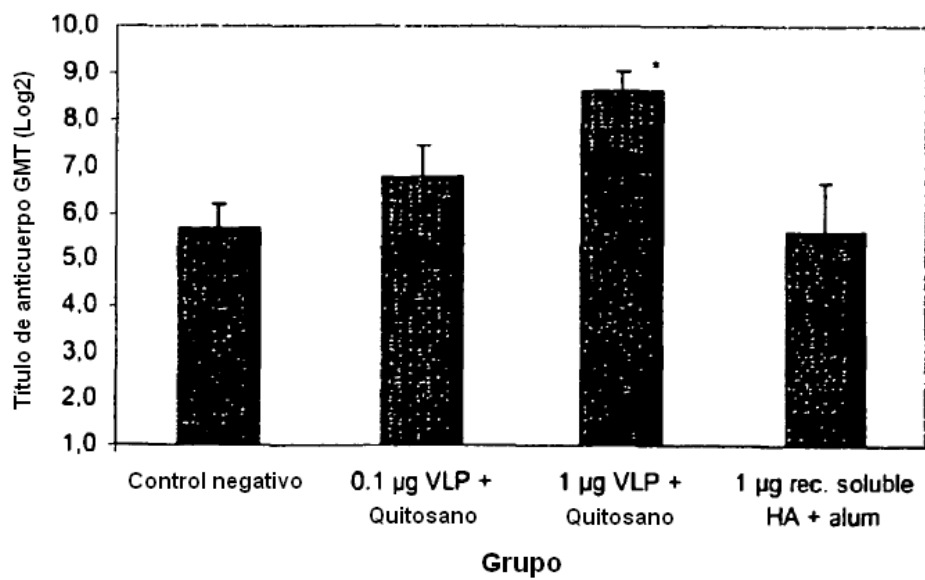
Fig. 19



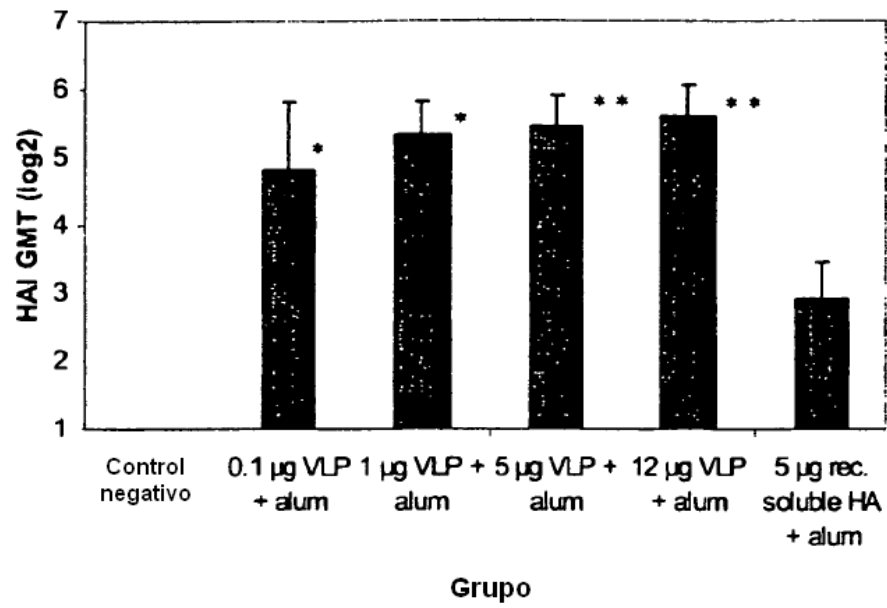
**Fig. 20A**



**Fig. 20B**



**Fig. 21A**



**Fig. 21B**

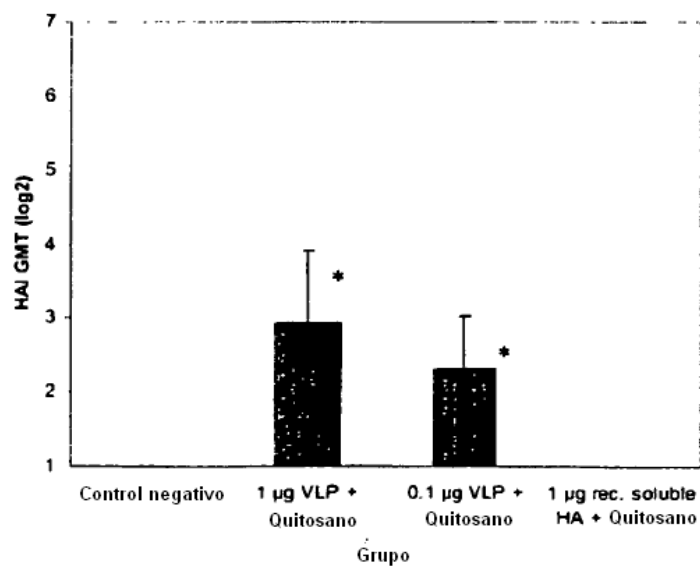


Fig. 22A

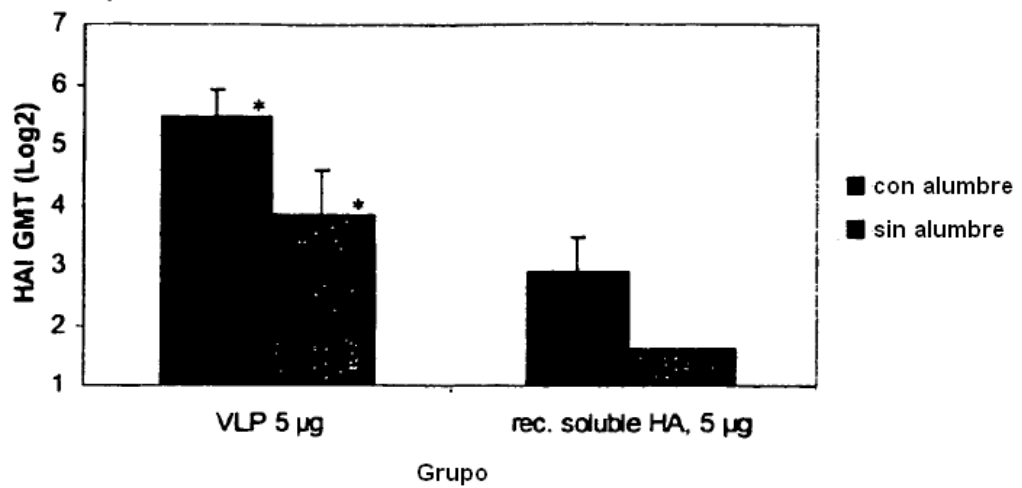


Fig. 22B

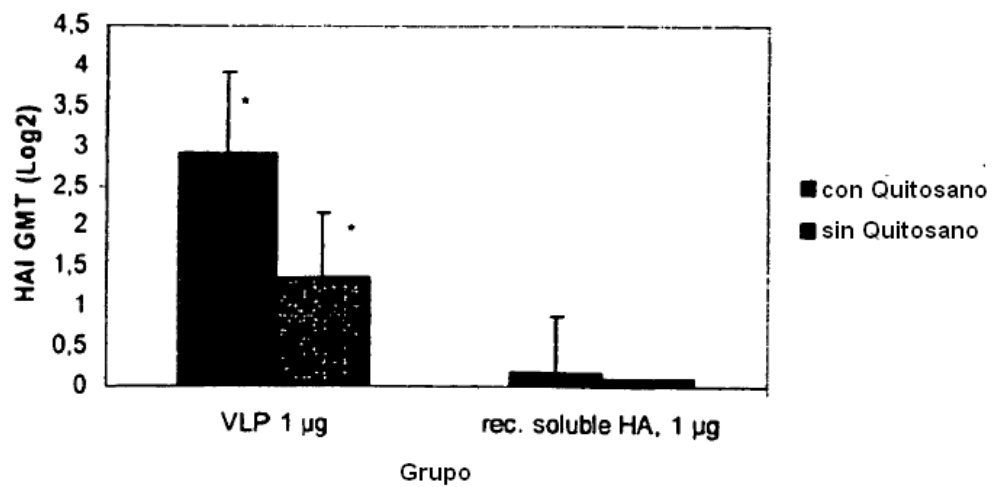


Fig. 23A

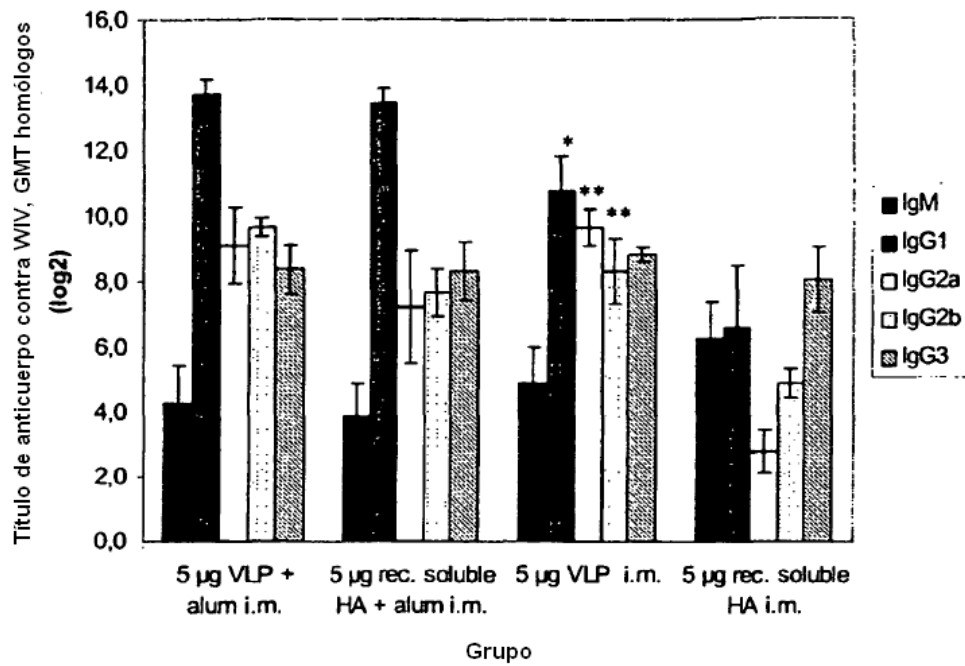
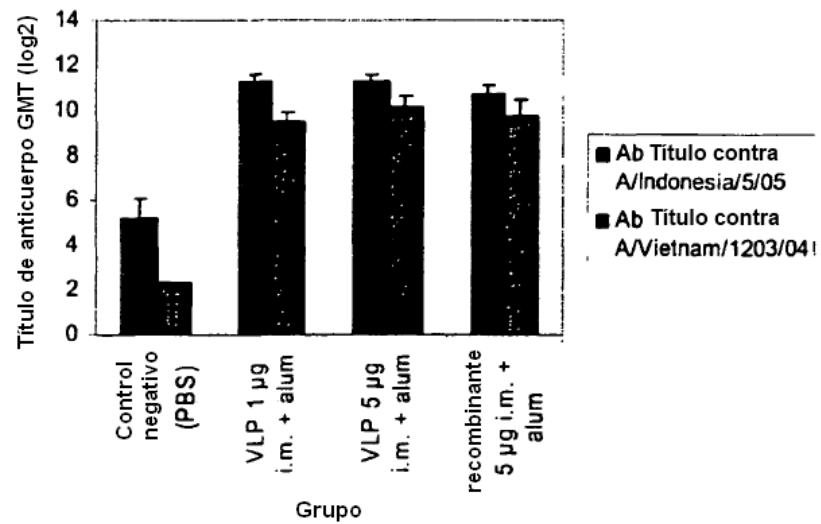
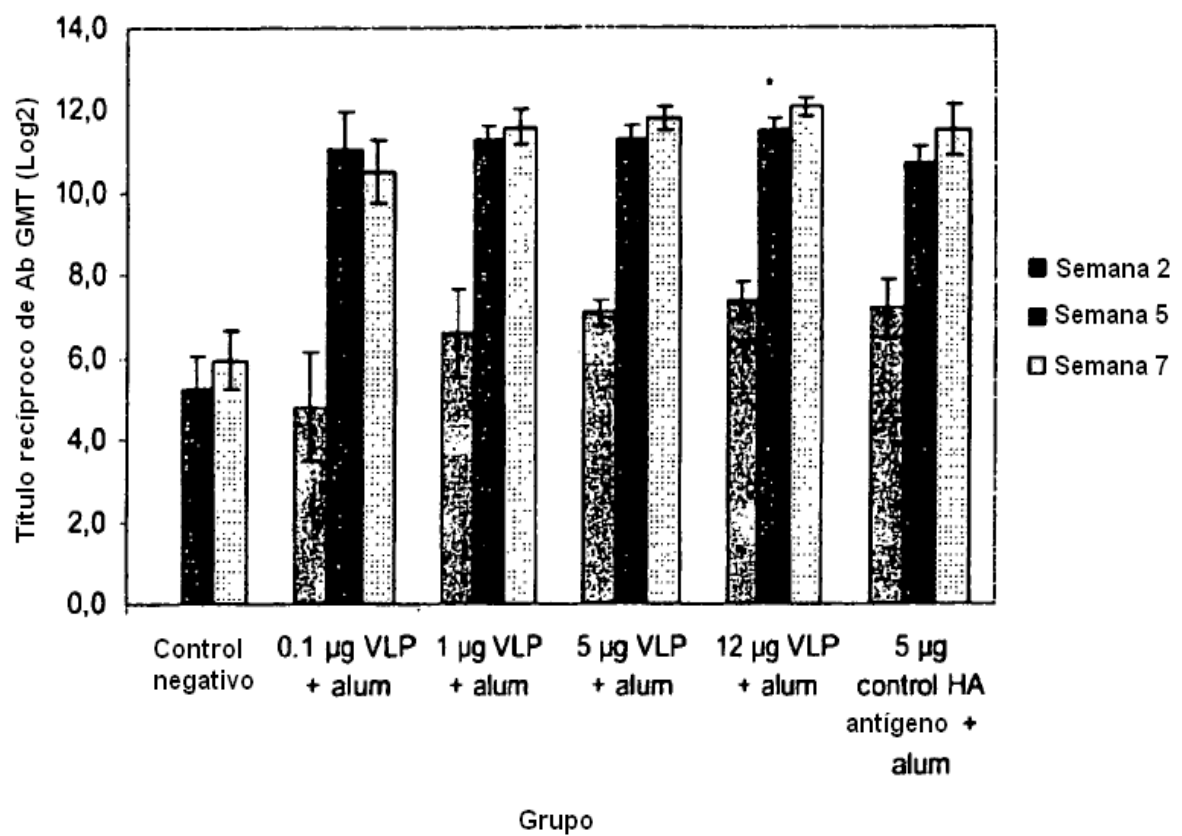


Fig. 23B

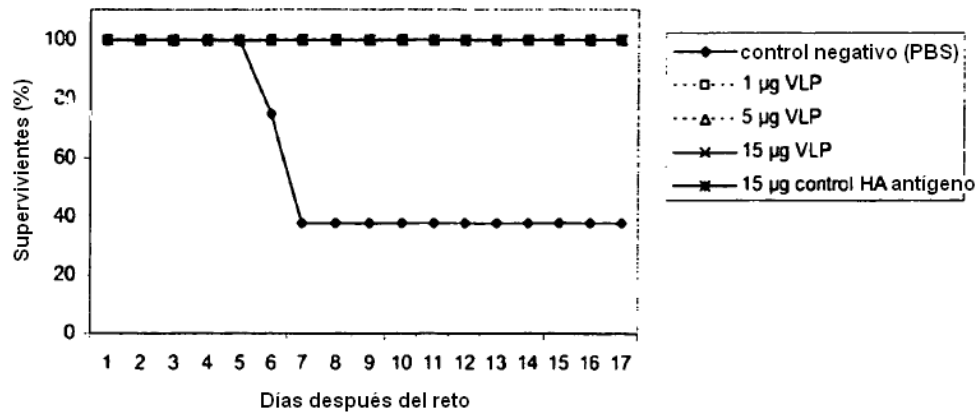




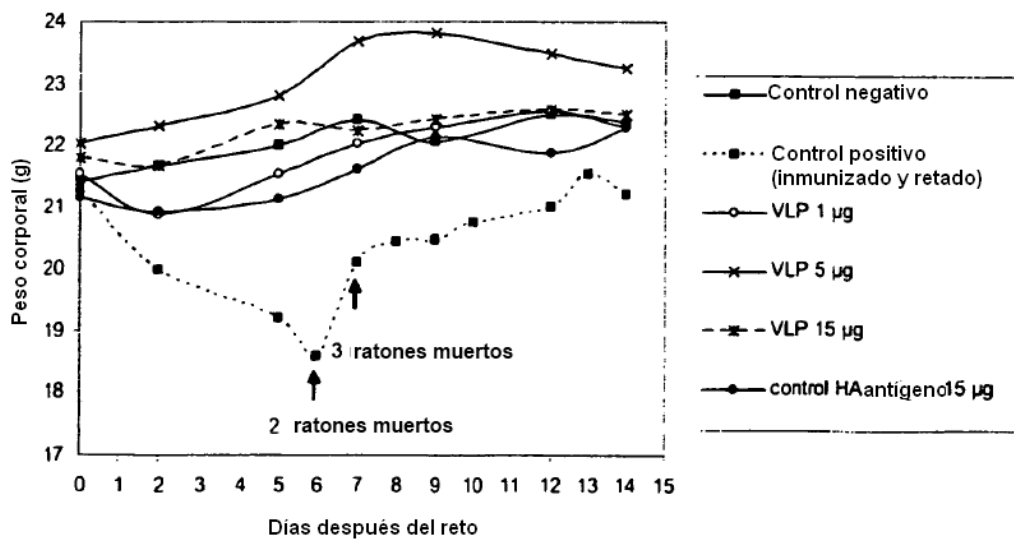
**Fig. 24**



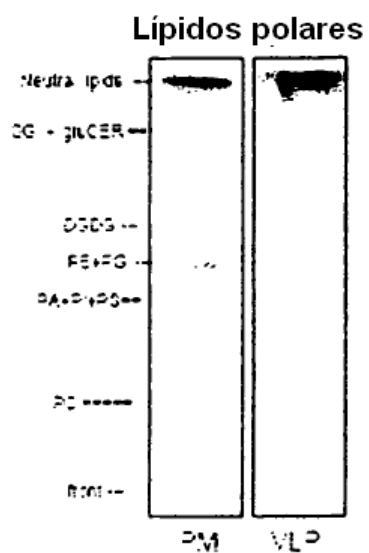
**Fig. 26A**



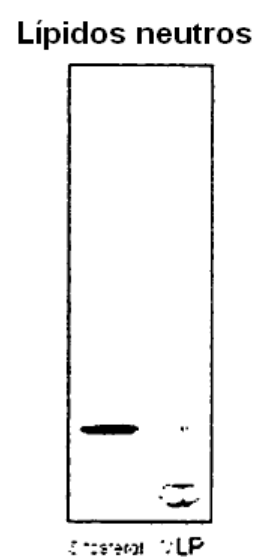
**Fig. 26B**



**Fig. 27A**



**Fig. 27B**



**Fig. 27C**

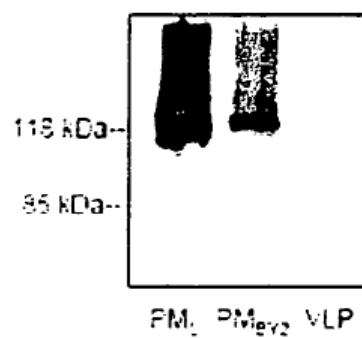


Fig. 28

SEQ ID NO: 36

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGA  
 CTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAAGTAAACTACTGGTCC  
 TGTTATGCACATTTACAGCTACATATGCAGACACAATATGTATAGGCTACCAT  
 GCTAACAACTCGACCGACACTGTTGACACAGTACTTGAAAAGAATGTGACAG  
 TGACACACTCTGTCAACCTGCTTGAGAACAGTCACAATGGAAAATATGTCT  
 ATTAAGGAATAGCCCCACTACAATTGGGTAAATTGCAGCGTTGCCGGGTG  
 GATCTTAGGAAACCCAGAATGCGAATTACTGATTTCCAAGGAGTCATGGTCC  
 TACATTGTAGAAAAACCAATCCTGAGAATGGAACATGTTACCCAGGGCATT  
 TCGCTGACTATGAGGAACTGAGGGAGCAATTGAGTTCAGTATCTTCATTTGA  
 GAGGTTGAAATATTCCCCAAAGAAAGCTCATGGCCCAACACACCGTAACC  
 GGAGTGTGAGCATCATGCTCCCATATGGGGAAAGCAGTTTTTACAGAAATT  
 TGCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTTGTACCCAAACCTGAGCAAGTCCT  
 ATGCAAACAACAAAGAAAAAGAAGTCCTTGACTATGGGGTGTTCATCACCC  
 GCCAAACATAGGTGACCAAAGGCCCTCTATCATACAGAAAATGCTTATGTC  
 TCTGTAGTGTCTTCACATTATAGCAGAAAATTCACCCCAGAAAATAGCCAAAAG  
 ACCCAAAGTAAGAGATCAAGAAGGAAGAATCAATTACTACTGGACTCTGCTT  
 GAACCCGGGGATACAATAATTTGAGGCAAATGGAAATCTAATAGCGCCAA  
 GATATGCTTTTCGCACTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCAACTCAA  
 TGCACCAATGGATAAATGTGATGCGAAGTGCCAAACACCTCAGGGAGCTATA  
 AACAGCAGTCTTCCTTTCCAGAACGTACACCCAGTCACAATAGGAGAGTGTC  
 CAAAGTATGTCAGGAGTGCAAAATTAAGGATGGTTACAGGACTAAGGAACAT  
 CCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGGAGCCATTGCCGGTTTCATTGAA  
 GGGGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGTTATCATCATCAGAAT  
 GAGCAAGGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAGCACACAAAATGCCATTA  
 ATGGGATTACAAACAAGGTCAATTCTGTAATTGAGAAAATGAACACTCAATTC  
 ACAGCAGTGGGCAAAGAGTTCAACAAATTGGAAAGAAGGATGGAAAATCTG  
 AATAAAAAAGTTGATGATGGGTTTATAGACATTTGGACATATAATGCAGAACT  
 GTTGGTTCTACTGGAAAATGAAAGGACTTTGGATTTCCATGACTCCAATGTG  
 AAGAATCTGTATGAGAAAGTAAAAAGCCAGTTAAAGAATAATGCTAAAGAAAT  
 AGGAAATGGGTGTTTTGAGTTCTATCACAAAGTGTAAACGATGAATGCATGGAG  
 AGTGTAAGAATGGAACCTTATGACTATCCAAAATATTCCGAAGAATCAAAGTT  
 AAACAGGGGAGAAAATTGATGGAGTGAAATTGGAATCAATGGGAGTCTATCAG  
 ATTCTGGCGATCTACTCAACAGTCGCCAGTTCTCTGGTTCTTTTGGTCTCCC  
 TGGGGGCAATCAGCTTCTGGATGTGTTCCAATGGGTCTTTACAGTGTAGAAT  
 ATGCATCTAAGAGCTC

Fig. 29

SEQ ID NO: 37

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACT  
 AATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAAGTAAACTACTGGTCCTGTTA  
 TGCACATTTACAGCTACATATGCAGACACAATATGTATAGGCTACCATGCCAACA  
 ACTCAACCGACACTGTTGACACAGTACTTGAGAAGAATGTGACAGTGACACACT  
 CTGTCAACCTGCTTGAGGACAGTCACAATGGAAAATTATGTCTATTTAAAGGAAT  
 AGCCCCACTACAATTGGGTAATTGCAGCGTTGCCGGATGGATCTTAGGAAACCC  
 AGAATGCGAATTACTGATTTCCAGGGAATCATGGTCCTACATTGTAGAAAAACCA  
 AATCCTGAGAATGGAACATGTTACCCAGGGCATTTCGCCGACTATGAGGAACTG  
 AGGGAGCAATTGAGTTCAGTATCTTCATTTGAGAGATTCGAAATATTTCCCAAAG  
 AAAGCTCATGGCCCAACCAACCAACCAACCGGAGTATCAGCATCATGCTCCCAT  
 ATGGGGAAAGCAGTTTTTACAAAAATTTGCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTT  
 GTACCCAAACCTGAGCAAGTCCTATGCAAAACAACAAAGAGAAAGATCCTTGTA  
 CTATGGGGTGTTTCATCACCCGCTTAACATAGGTGACCAAAGGGCTCTCTATCAT  
 AAAGAAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATTATAGCAGAAAATTCACCCC  
 AGAAATAGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAAGAAGGAAGAATCAACTACTAC  
 TGGACTCTACTTGAACCCGGGGATACAATAATATTTGAGGCAATGGAAATCTAA  
 TAGCGCCAAGATATGCTTTCGCACTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCA  
 ACTCAAATGCACCAATGGATGAATGTGATGCGAAGTGCCAAACACCTCAGGGAG  
 CTATAAACAGCAGTCTTCCTTTCCAGAATGTACACCCTGTCACAATAGGAGAGTG  
 TCCAAAGTATGTCAGGAGTGCAAAATTAAGGATGGTTACAGGACTAAGGAACAT  
 CCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGTTGGAGCCATTGCCGGTTTCATTGAAGG  
 GGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGTTATCATCATCAGAATGAGCA  
 AGGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAAGCACACAAAATGCCATTAATGGGATT  
 ACAAACAAGGTCAATTCTGTAATTGAGAAAATGAACACTCAATTCACAGCTGTGG  
 GCAAAGAGTTCAACAAATTGGAAGAAGGATGGAAAACCTAAATAAAAAAGTTGA  
 TGATGGGTTTATAGACATTTGGACATATAATGCAGAATTGTTGGTTCTACTGGAA  
 AATGAAAGGACTTTGGATTTCCATGACTCCAATGTGAAGAATCTGTATGAGAAAG  
 TAAAAAGCCAATTAAGAATAATGCCAAAGAAATAGGAAATGGGTGTTTTGAGTT  
 CTATCATAAGTGTAACGATGAATGCATGGAGAGTGTAATAATGGAACCTATGAC  
 TATCCAAAATATTCCGAAGAATCAAAGTTAAACAGGGAGAAAATTGATGGAGTGA  
 AATTGGAATCAATGGGAGTCTATCAGATTCTGGCGATCTACTCAACAGTCGCCAG  
 TTCTCTGGTTCTTTGGTCTCCCTGGGGGCAATCAGCTTCTGGATGTGTTCCAAT  
 GGGTCTTTCAGTGTAGAATATGCATCTGAGAGCTC

Fig. 30

SEQ ID NO: 38

CACTTTGTGAGTCTACACTTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGA  
 CTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAGACTATCATTGCTTTGAG  
 CTACATTCTATGTCTGGTTTTCACTCAAAAACCTCCCGGAAATGACAACAGCA  
 CGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGGAACGATAGTGA  
 AAACAATCACGAATGACCAAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTTCAG  
 AGTTCCTCAACAGGTGAAATATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTTGATGGAG  
 AAACTGCACACTAATAGATGCTCTATTGGGAGACCCTCAGTGTGATGGCTT  
 CCAAAATAAGAAATGGGACCTTTTTGTTGAACGCAGCAAAGCCTACAGCAACT  
 GTTACCCTTATGATGTGCCGGATTATGCCTCCCTTAGGTCACTAGTTGCCTCA  
 TCCGGCACACTGGAGTTTAACAATGAAAGTTTCAATTGGACTGGAGTCACTCA  
 AAACGGAACAAGCTCTGCTTGCATAAGGAGATCTAATAACAGTTTCTTTAGTA  
 GATTGAATTGGTTGACCCACTTAAATTCAAATACCCAGCATTGAACGTGACT  
 ATGCCAAACAATGAAAAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTCACCACCC  
 GGGTACGGACAATGACCAAATCTTCCTGTATGCTCAAGCATCAGGAAGAATC  
 ACAGTCTCTACCAAAGAAGCCAACAACTGTAATCCCGAATATCGGATCTAG  
 ACCCAGAGTAAGGAATATCCCCAGCAGAATAAGCATCTATTGGACAATAGTAA  
 AACCGGGAGACATACTTTTGATTAAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAG  
 GGGTTACTTCAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCA  
 CCCATTGGCAAATGCAATTCTGAATGCATCACTCCAAACGGAAGCATTCCCAA  
 TGACAAACCATTCCAAAATGTAAACAGGATCACATACGGGGCCTGTCCCAGA  
 TATGTTAAGCAAAACACTCTGAAATTGGCAACAGGGATGCGAAATGTACCAG  
 AGAAACAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATCGCGGGTTTCATAGAAAATGG  
 TTGGGAGGGAATGGTGGATGGTTGGTATGGTTTCAGGCATCAAAATTCTGAG  
 GGAATAGGACAAGCAGCAGATCTCAAAGCACTCAAGCAGCAATCGATCAAA  
 TCAATGGGAAGCTGAATAGGTTGATCGGGAAAACCAACGAGAAATCCATCA  
 GATTGAAAAAGAGTTCTCAGAAGTCGAAGGGAGAATCCAGGACCTTGAGAAA  
 TATGTTGAGGACACCAAAATAGATCTCTGGTCATACAACGCGGAGCTTCTTGT  
 TGCCCTGGAGAACCAACATACAATTGATCTAACTGACTCAGAAATGAACAAAC  
 TGTTTGAAAAAACAAAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAA  
 TGGTTGTTTCAAATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATAGGATCAATCA  
 GAAATGGAACCTTATGACCACGATGTATACAGAGATGAAGCATTAAACAACCG  
 GTTCCAGATCAAGGGCGTTGAGCTGAAGTCAGGATACAAAGATTGGATACTA  
 TGGATTTCTTTGCCATATCATGTTTTTGTCTTGTGTTGCTTGTGGGGTTC  
 ATCATGTGGGCCTGCCAAAAAGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTTGAG  
AGCTC

**Fig. 31**

SEQ ID NO: 39

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAG  
 ACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAGACTATCATTGCTTTG  
 AGCTACATTCTATGTCTGGTTTTCACTCAAAAACTTCCCGGAAATGACAACA  
 GCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGGAACGATA  
 GTGAAAACAATCACGAATGACCAAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTG  
 GTTCAGAGTTCCTCAACAGGTGGAATATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTT  
 GATGGAGAAAACTGCACACTAATAGATGCTCTATTGGGAGACCCTCAGTGT  
 GATGGCTTCCAAAATAAGAAATGGGACCTTTTTGTTGAACGCAGCAAAGCC  
 TACAGCAACTGTTACCCTTATGATGTGCCGGATTATGCCTCCCTTAGGTCA  
 CTAGTTGCCTCATCCGGCACACTGGAGTTTAACGATGAAAGTTTCAATTGG  
 ACTGGAGTCACTCAAAATGGAACAAGCTCTGCTTGCAAAGGAGATCTAAT  
 AACAGTTTCTTAGTAGATTGAATTGGTTGACCCACTTAAATTCAAATACC  
 CAGCATTGAACGTGACTATGCCAAACAATGAAAAATTTGACAAATTGTACAT  
 TTGGGGGGTTACCCACCCGGGTACGGACAATGACCAAATCTTCCTGCATG  
 CTCAAGCATCAGGAAGAATCACAGTCTCTACCAAAGAAGCCAACAACTG  
 TAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGAATAAGGAATATCCCCAGCAGAA  
 TAAGCATCTATTGGACAATAGTAAACCGGGAGACATACTTTTGATTAAACAG  
 CACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGGGGTTACTTCAAATACGAAGTGGGAA  
 AAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAATTCTGAATG  
 CATCACTCCAAATGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTTCAAAATGTAAAC  
 AGGATCACATATGGGGCCTGTCCCAGATATGTTAAGCAAAACACTCTGAAA  
 TTGGCAACAGGGATGCGAAATGTACCAGAGAAACAACTAGAGGCATATTT  
 GGCGCAATCGCGGGTTTCATAGAAAATGGTTGGGAGGGAATGGTGGATGG  
 TTGGTACGGTTTCAGGCATCAAAATTCTGAGGGAATAGGACAAGCAGCAGA  
 TCTCAAAGCACTCAAGCAGCAATCAATCAATCAATGGGAAGCTGAATAG  
 GTTGATCGGGAAAACCAACGAGAAATTCATCAGATTGAAAAAGAGTTCTC  
 AGAAGTAGAAGGGAGAATCCAGGACCTCGAGAAATATGTTGAGGACACTAA  
 AATAGATCTCTGGTCATACAACGCGGAGCTTCTTGTTGCCCTGGAGAACCA  
 ACATACAATTGATCTAACTGACTCAGAAATGAACAACTGTTTGAAAGAACA  
 AAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGGTTGTTTCAA  
 ATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATAGGATCAATCAGAAATGGAACCT  
 ATGACCATGATGTATACAGAGATGAAGCATTAAACAACCGGTTCCAGATCA  
 AAGGCGTTGAGCTGAAGTCAGGATACAAAGATTGGATACTATGGATTTCTT  
 TTGCCATATCATGTTTTTTGCTTTGTGTTGCTTTGTTGGGGTTTCATCATGTG  
 GGCCTGCCAAAAGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTTGAGAGCTC

Fig. 32

SEQ ID NO: 40

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGA  
 GACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAGGCAATAATTGTAC  
 TACTCATGGTAGTAACATCCAATGCAGATCGAATCTGCACTGGGATAACAT  
 CGTCAAACCTCACCACATGTTGTCAAACTGCTACTCAAGGGGAGGTCAAT  
 GTGACTGGTGTAAATACCACTGACAACAACACCCACCAAATCTCATTTTGCA  
 AATCTCAAAGGAACAGAAACCAGAGGGGAAACTATGCCCAAAATGCCTCAA  
 CTGCACAGATCTGGACGTGGCCTTGGGCAGACCAAAATGCACGGGGAAC  
 ATACCCTCGGCAAGAGTTTCAATACTCCATGAAGTCAGACCTGTTACATCT  
 GGGTGCTTTCTATAATGCACGACAGAACAAAAATTAGACAGCTGCCTAAA  
 CTTCTCAGAGGATACGAACATATCAGGTTATCAACTCATAACGTTATCAAT  
 GCAGAAAATGCACCAGGAGGACCCTACAAAATTGGAACCTCAGGGTCTTG  
 CCCTAACGTTACCAATGGAAACGGATTTTTCGCAACAATGGCTTGGGCCG  
 TCCCCAAAAACGACAACAACAAAACAGCAACAAATTCATTAACAATAGAAG  
 TACCATACATTTGTACAGAAGGAGAAGACCAAATTACGTTTGGGGGTTT  
 CACTCTGATAACGAAACCCAAATGGCAAAGCTCTATGGGGACTCAAAGCC  
 CCAGAAGTTCACCTCATCTGCCAACGGAGTGACCACACATTACGTTTCAC  
 AGATTGGTGGCTTCCCAAATCAAACAGAAGACGGAGGACTACCACAAAGC  
 GGTAGAATTGTTGTTGATTACATGGTGCAAAAATCTGGGAAAACAGGAAC  
 AATTACCTATCAAAGAGGTATTTTATTGCCTCAAAAAGTGTGGTGCGCAAG  
 TGGCAGGAGCAAGGTAATAAAAGGATCGTTGCCTTTAATTGGAGAAGCAG  
 ATTGCCTCCACGAAAAATACGGTGGATTAACAAAAGCAAGCCTTACTACA  
 CAGGGGGAACATGCAAAGGCCATAGGAAATTGCCCAATATGGGTGAAAACA  
 CCCTTGAAGCTGGCCAATGGAACCAAATATAGACCTCCTGCAAAACTATTA  
 AAGGAAAGGGGTTTCTTCGGAGCTATTGCTGGTTTCTTAGAAGGAGGATG  
 GGAAGGAATGATTGCAGGTTGGCACGGATACACATCCCATGGGGCACAT  
 GGAGTAGCGGTGGCAGCAGACCTTAAGAGCACTCAAGAGGCCATAAACA  
 AGATAACAAAAAATCTCAACTCTTTGAGTGAGCTGGAAGTAAAGAATCTTC  
 AAAGACTAAGCGGTGCCATGGATGAACTCCACAACGAAATACTAGAACTA  
 GACGAGAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGATACAATAAGCTCACAAATAGA  
 ACTCGCAGTCCTGCTTTCCAATGAAGGAATAATAAACAGTGAAGATGAGC  
 ATCTCTTGGCGCTTGAAAGAAAGCTGAAGAAAATGCTGGGCCCCCTCTGCT  
 GTAGAGATAGGGAATGGATGCTTTGAAACCAAACACAAGTGCAACCAGAC  
 CTGTCTCGACAGAATAGCTGCTGGTACCTTTGATGCAGGAGAATTTTCTCT  
 CCCCACCTTTTGATTCACTGAATATTACTGCTGCATCTTTAAATGACGATGG  
 ATTGGATAATCATACTATACTGCTTTACTACTCAACTGCTGCCTCCAGTTT  
 GGCTGTAACATTGATGATAGCTATCTTTGTTGTTTATATGGTCTCCAGAGA  
 CAATGTTTCTTGCTCCATCTGTCTATAAAGAGCTC



Fig. 33

SEQ ID NO: 41

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAA  
 GAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAGGCAATAATT  
 GTACTACTCATGGTAGTAACATCCAATGCAGATCGAATCTGCACTGGAA  
 TAACATCTTCAAACCTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCCACTCAAGGGGA  
 GGTCAATGTGACTGGTGTGATACCACTAACAAACACCAACAAAATCT  
 TATTTTGCAAATCTCAAAGGAACAAGGACCAGAGGGAAACTATGCCCA  
 GACTGTCTCAACTGCACAGATCTGGATGTGGCTTTGGGCAGACCAATG  
 TGTGTGGGGACCACACCTTCGGCGAAGGCTTCAATACTCCACGAAGTC  
 AAACCTGTTACATCCGGGTGCTTTCCTATAATGCACGACAGAACAAAA  
 TCAGGCAACTACCCAATCTTCTCAGAGGATATGAAAATATCAGGCTATC  
 AACCCTAAACGTCATCGATGCGGAAAAGGCACCAGGAGGACCCTACA  
 GACTTGGAACCTCAGGATCTTGCCCTAACGCTACCAGTAAGAGCGGAT  
 TTTTCGCAACAATGGCTTGGGCTGTCCCAAAGGACAACAACAAAATG  
 CAACGAACCCACTAACAGTAGAAGTACCATACATTTGTACAGAAGGGG  
 AAGACCAAATCACTGTTTGGGGGTTCCATTCAGATAACAAAACCCAAAT  
 GAAGAACCTCTATGGAGACTCAAATCCTCAAAGTTACCTCATCTGCT  
 AATGGAGTAACCACACACTATGTTTCTCAGATTGGCAGCTTCCAGATC  
 AAACAGAAGACGGAGGACTACCACAAAGCGGCAGGATTGTTGTTGATT  
 ACATGATGCAAAAACCTGGGAAAACAGGAACAATTGTCTACCAAAGAG  
 GTGTTTTGTTGCCTCAAAGGTGTGGTGC GCGAGTGGCAGGAGCAAA  
 GTAATAAAAGGGTCCTTGCCTTTAATTGGTGAAGCAGATTGCCTTCATG  
 AAAAATACGGTGGATTAAACAAAAGCAAGCCTTACTACACAGGAGAACA  
 TGCAAAAGCCATAGGAAATTGCCCAATATGGGTGAAAACACCTTTGAA  
 GCTCGCCAATGGAACCAAATATAGACCTCCTGCAAACTATTAAAGGAA  
 AGGGGTTTCTTCGGAGCTATTGCTGGTTTCCTAGAAGGAGGATGGGAA  
 GGAATGATTGCAGGCTGGCACGGATACACATCTCACGGAGCACATGG  
 AGTGGCAGTGGCGGCGGACCTTAAGAGTACGCAAGAAGCTATAAACAA  
 GATAACAAAAAATCTCAATTCTTTGAGTGAGCTAGAAGTAAAGAATCTT  
 CAAAGACTAAGTGGTGCCATGGATGAACTCCACAACGAAATACTCGAG  
 CTGGATGAGAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGACACTATAAGCTCGCAA  
 ATAGAACTTGCACTCTTGCTTTCCAACGAAGGAATAATAAACAGTGAAG  
 ATGAGCATCTATTGGCACTTGAGAGAAAACCTAAAGAAAATGCTGGGTC  
 CCTCTGCTGTAGAGATAGGAAATGGATGCTTCGAAACCAAACACAAGT  
 GCAACCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAG  
 GAGAATTTTCTCTCCCCACTTTTGATTCACTGAACATTACTGCTGCATCT  
 TAAATGATGATGGATTGGATAACCATACTATACTGCTCTATTACTCAAC  
 TGCTGCTTCTAGTTTGGCTGTAACATTGATGCTAGCTATTTTATTGTTT  
 ATATGGTCTCCAGAGACAACGTTTCATGCTCCATCTGTCTATAAGAGCT  
 C

Fig. 34

SEQ ID NO: 42

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAA  
 GAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGCCATCATTTA  
 TCTAATTCTCCTGTTACAGCAGTGAGAGGGGACCAAATATGCATTGG  
 ATACCATGCCAATAATTCCACAGAGAAGGTGACACAATTCTAGAGCG  
 GAACGTCACTGTGACTCATGCCAAGGACATTCTTGAGAAGACCCATAA  
 CGGAAAGTTATGCAAACATAACGGAATCCCTCCACTTGAAGTAGGGGA  
 CTGTAGCATTGCCGGATGGCTCCTTGGAATCCAGAATGTGATAGGCT  
 TCTAAGTGTGCCAGAATGGTCCTATATAATGGAGAAAGAAAACCCGAG  
 AGACGGTTTGTGTTATCCAGGCAGCTTCAATGATTATGAAGAATTGAAA  
 CATCTCCTCAGCAGCGTGAAACATTTGAGAAAGTAAAGATTCTGCCC  
 AAAGATAGATGGACACAGCATACAACAAGTGGAGGTTACGGGGCCTG  
 CGCGGTGTCTGGTAATCCATCATTCTTCAGGAACATGGTCTGGCTGAC  
 AAAGAAAGAATCAAATTATCCGGTTGCCAAAGGATCGTACAACAATAC  
 AAGCGGAGAACAAATGCTAATAATTTGGGGGGTGACCATCCCAATGA  
 TGAGACAGAACAAAGAACATTGTACCAGAATGTGGGAACCTATGTTTC  
 CGTAGGCACATCAACATTGAACAAAAGGTCAACCCCAGACATAGCAAC  
 AAGGCCTAAAGTGAATGGACTAGGAAGTAGAATGGAGTTCTCTTGAC  
 CCTATTGGATATGTGGGACACCATAAATTTTGAGAGTACTGGTAATCTA  
 ATTGCACCAGAGTATGGATTCAAAATATCGAAAAGAGGTAGTTCAGGG  
 ATCATGAAAACAGAAGGAACACTTGAGAACTGTGAGACCAAATGCCAA  
 ACTCCTTTGGGAGCAATAAATACAACATTGCCTTTTACAATGTCCACC  
 CACTGACAATAGGTGAGTGCCCCAAATATGTAAATCGGAGAAGTTGG  
 TCTTAGCAACAGGACTAAGGAATGTTCCCCAGATTGAATCAAGAGGAT  
 TGTTTGGGGCAATAGCTGGTTTTATAGAAGGAGGATGGCAAGGAATG  
 GTTGATGGTTGGTATGGATACCATCACAGCAATGACCAGGGATCAGG  
 GTATGCAGCAGACAAAGAATCCACTCAAAGGCATTTGATGGAATCAC  
 CAACAAGGTAAATTCTGTGATTGAAAAGATGAACACCCAATTTGAAGCT  
 GTTGGGAAAGAGTTCAGTAACTTAGAGAGAAGACTGGAGAAGTTGAAC  
 AAAAAGATGGAAGACGGGTTTCTAGATGTGTGGACATACAATGCTGAG  
 CTTCTAGTTCTGATGGAAAATGAGAGGACACTTGACTTTCATGATTCTA  
 ATGTCAAGAATCTGTATGATAAAGTCAGAATGCAGCTGAGAGACAACG  
 TCAAAGAACTAGGAAATGGATGTTTTGAATTTTATCACAAATGTGATGA  
 TGAATGCATGAATAGTGTGAAAAACGGGACGTATGATTATCCCAAGTA  
 TGAAGAAGAGTCTAAACTAAATAGAAATGAAATCAAAGGGGTAAATTG  
 AGCAGCATGGGGGTTTATCAAATCCTTGCCATTTATGCTACAGTAGCA  
 GGTTCTCTGTCACTGGCAATCATGATGGCTGGGATCTCTTTCTGGATG  
 TGCTCCAACGGGTCTCTGCAGTGCAGGATCTGCATATGAGAGCTC

Fig. 35

SEQ ID NO: 43

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAG  
 AGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGAGAAAATAGTGCT  
 TCTTCTTGCAATAGTCAGCCTTGTTAAAAGTGATCAGATTTGCATTGGTTA  
 CCATGCAAACAACCTCGACAGAGCAGGTTGACACAATAATGGAAAAGAAC  
 GTTACTGTTACACATGCCCAAGACATACTGGAAAAGACACACAACGGGA  
 AGCTCTGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTGATTTTAAGAGATTGTAGT  
 GTAGCTGGATGGCTCCTCGGAAACCCAATGTGTGACGAGTTCATCAATG  
 TGCCGGAATGGTCTTACATAGTGGAGAAGGCCAACCCAGCCAATGACCT  
 CTGTTACCCAGGGAATTTCAACGACTATGAAGAACTGAAACACCTATTGA  
 GCAGAATAAACCATTTTGAGAAAATTCAGATCATCCCCAAAAGTTCTTG  
 TCCGATCATGAAGCCTCATCAGGGGTCAGCTCAGCATGTCCATACCAGG  
 GAACGCCCTCCTTTTTCAGAAATGTGGTATGGCTTATCAAAAAGAACAAT  
 ACATACCCAACAATAAAGAGAAGCTACAATAATACCAACCAGGAAGATCT  
 TTTGATACTGTGGGGGATTTCATCATTCTAATGATGCGGCAGAGCAGACAA  
 AGCTCTATCAAAACCCAACCACCTATATTTCCGTTGGGACATCAACACTA  
 AACCAGAGATTGGTACCAAAAATAGCTACTAGATCCAAAGTAAACGGGCA  
 AAGTGGAAGGATGGATTTCTTCTGGACAATTTTAAAACCGAATGATGCAA  
 TCAACTTCGAGAGTAATGGAAATTTTCATTGCTCCAGAATATGCATACAAA  
 ATTGTCAAGAAAGGGGACTCAGCAATTGTTAAAAGTGAAGTGAATATGG  
 TAACTGCAATACAAAGTGTCAAACCTCAATAGGGGCGATAAACTCTAGTA  
 TGCCATTCCACAACATACACCCTCTCACCATCGGGGAATGCCCAAATAT  
 GTGAAATCAAACAAATTAGTCCTTGCGACTGGGCTCAGAAATAGTCCTCT  
 AAGAGAAAGAAGAAGAAAAAGAGGACTATTTGGAGCTATAGCAGGGTTT  
 ATAGAGGGAGGATGGCAGGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGGTACCAC  
 CATAGCAATGAGCAGGGGAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAATCCACTC  
 AAAAGGCAATAGATGGAGTCACCAATAAGGTCAACTCGATCATTGACAAA  
 ATGAACACTCAGTTTGAGGCCGTTGGAAGGGAATTTAATAACTTAGAAAG  
 GAGAATAGAGAATTTAAACAAGAAAATGGAAGACGGATTCTAGATGTCT  
 GGACTTATAATGCTGAACTTCTGGTTCTCATGGAAAATGAGAGAACTCTA  
 GACTTCCATGATTCAAATGTCAAGAACCCTTACGACAAGGTCCGACTACA  
 GCTTAGGGATAATGCAAAGGAGCTGGGTAACGGTTGTTTCGAGTTCTAT  
 CACAAATGTGATAATGAATGTATGGAAAGTGTAAAGAACGGAACGTATGA  
 CTACCCGCAGTATTCAGAAGAAGCAAGATTAAGAGAGAGGAAATAAGT  
 GGAGTAAATTTGGAATCAATAGGAACTTACCAAATACTGTCAATTTATTCA  
 ACAGTTGCGAGTTCTCTAGCACTGGCAATCATGGTGGCTGGTCTATCTTT  
 GTGGATGTGCTCCAATGGGTCGTTACAATGCAGAATTTGCATTTAAGAGC  
 TC

Fig. 36

SEQ ID NO: 44

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGA  
 GACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGGAGAAAATAGTGCTTC  
 TTTTGGCAATAGTCAGTCTTGTTAAAAGTGATCAGATTTGCATTGGTTACCA  
 TGCAAACAACCTCGACAGAGCAGGTTGACACAATAATGGAAAAGAACGTTA  
 CTGTTACACATGCCCAAGACATACTGGAAAAGACACACAATGGGAAGCTC  
 TGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTAATTTTGAGAGATTGTAGTGTAGCT  
 GGATGGCTCCTCGGAAACCCAATGTGTGACGAGTTCATCAATGTGCCGGA  
 ATGGTCTTACATAGTGGAGAAGGCCAATCCAGTCAATGACCTCTGTTACC  
 CAGGGGATTTCAATGACTATGAAGAATTGAAACACCTATTGAGCAGAATAA  
 ACCATTTTGAGAAAATTCAGATCATCCCCAAAAGTTCTTGGTCCAGTCATG  
 AAGCCTCATTGGGGGTGAGCTCAGCATGTCCATACCAGGGAAAGTCCTCC  
 TTTTTCAGAAATGTGGTATGGCTTATCAAAAAGAACAGTACATACCCAACA  
 ATAAAGAGGAGCTACAATAATACCAACCAAGAAGATCTTTTGGTACTGTGG  
 GGGATTACCATCCTAATGATGCGGCAGAGCAGACAAAAGCTCTATCAAAA  
 CCAACCCACCTATATTTCCGTTGGGACATCTACACTAAACCAGAGATTGGT  
 ACCAAGAATAGCTACTAGATCCAAAGTAAACGGGCAAAGTGGAAGGATGG  
 AGTTCTTCTGGACAATTTTAAAACCGAATGATGCAATCAACTTCGAGAGTA  
 ATGGAAATTTCAATTGCTCCAGAATATGCATACAAAATTGTCAAGAAAGGGG  
 ACTCAACAATTATGAAAAGTGAATTGGAATATGGTAACTGCAATACCAAGT  
 GTCAAACCTCAATGGGGGCGATAAACTCTAGCATGCCATTCCACAATATAC  
 ACCCTCTCACCATCGGGGAATGCCCAAATATGTGAAATCAAACAGATTA  
 GTCCTTGCGACTGGGCTCAGAAATAGCCCTCAAAGAGAGAGAAGAAGAAA  
 AAAGAGAGGATTATTTGGAGCTATAGCAGGTTTTATAGAGGGAGGATGGC  
 AGGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGGTACCACCATAGCAACGAGCAGGG  
 GAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAATCCACTCAAAAGGCAATAGATGGAG  
 TCACCAATAAGGTCAACTCGATTATTGACAAAATGAACACTCAGTTTGAGG  
 CCGTTGGAAGGGAATTTAACTTAGAAAGGAGAATAGAGAATTTAAACA  
 AGAAGATGGAAGACGGGTTCTAGATGTCTGGACTTATAATGCTGAACTT  
 CTAGTTCTCATGGAAAACGAGAGAACTCTAGACTTTTCATGACTCAAATGTC  
 AAGAACCTTTACGACAAGGTCCGACTACAGCTTAGGGATAATGCAAAGGA  
 GCTGGGTAACGGTTGTTTCGAGTTCTATCATAAATGTGATAATGAATGTAT  
 GGAAAGTGTAAAGAACGGAACGTATGACTACCCGCAGTATTCAGAAGAAG  
 CAAGACTAAAAAGAGAGGAAATAAGTGGAGTAAATTGGAATCAATAGGA  
 ATTTACCAAATATTGTCAATTTATTCTACAGTGGCCAGCTCCCTAGCACTG  
 GCAATCATGGTAGCTGGTCTATCCTTATGGATGTGCTCCAATGGGTCGTT  
 ACAATGCAGAATTTGCATTTAAGAGCTC

Fig. 37

SEQ ID NO: 45

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGA  
 GACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGATTGCAATCATTGTAA  
 TAGCAATACTGGCAGCAGCCGGAAAGTCAGACAAGATCTGCATTGGGTAT  
 CATGCCAACAATTCAACAACACAGGTAGATACGATACTTGAGAAGAATGT  
 GACTGTCACACACTCAATTGAATTGCTGGAAAATCAGAAGGAAGAAAGAT  
 TCTGCAAGATATTGAACAAGGCCCTCTCGACTTAAGGGAATGTACCATA  
 GAGGGTTGGATCTTGGGGAATCCCCAATGCGACCTATTGCTTGGTGATCA  
 AAGCTGGTCATACATTGTGGAAAGACCTACTGCTCAAAACGGGATCTGCT  
 ACCCAGGAACCTTAAATGAGGTAGAAGAACTGAGGGCACTTATTGGATCA  
 GGAGAAAGGGTAGAGAGATTTGAGATGTTTCCCCAAAGCACCTGGCAAG  
 GAGTTGACACCAACAGTGGAACAACAAGATCCTGCCCTTATTCTACTGGT  
 GCGTCTTTCTACAGAAACCTCCTATGGATAATAAAAACCAAGACAGCAGA  
 ATATCCAGTAATTAAGGGAATTTACAACAACACTGGAACCCAGCCAATCCT  
 CTATTTCTGGGGTGTGCATCATCCTCCTAACACCGACGAGCAAGATACTC  
 TGTATGGCTCTGGTGATCGATACGTTAGAATGGGAACTGAAAGCATGAAT  
 TTTGCCAAGAGTCCGGAAATTGCGGCAAGGCCTGCTGTGAATGGACAAA  
 GAGGCAGAATTGATTATTATTGGTCGGTTTTAAACCAGGGGAAACCTTG  
 AATGTGGAATCTAATGGAAATCTAATCGCCCCCTTGGTATGCATACAAATTT  
 GTCAACACAAATAGTAAAGGAGCCGTCTTCAGGTCAGATTTACCAATCGA  
 GAACTGCGATGCCACATGCCAGACTATTGCAGGGGTTCTAAGGACCAATA  
 AAACATTTTCAAGATGTGAGTCCCCTGTGGATAGGAGAATGTCCCAAATAC  
 GTGAAAAGTGAAAGTCTGAGGCTTGCAACTGGACTAAGAAATGTTCCACA  
 GATTGAACTAGAGGACTCTTCGGAGCTATTGCAGGGTTTATTGAAGGAG  
 GATGGACTGGGATGATAGATGGGTGGTATGGCTATCACCATGAAAATTCT  
 CAAGGGTCAGGATATGCAGCAGACAGAGAAAGCACTCAAAGGCTGTAA  
 ACAGAATTACAAATAAGGTCAATTCATCATCAACAAAATGAACACACAAT  
 TTGAAGCTGTCGATCACGAATTTTCAAATCTGGAGAGGAGAATTGACAAT  
 CTGAACAAAAGAATGCAAGATGGATTTCTGGATGTTTGGACATACAATGC  
 TGAAGTGTGGTTCTTCTTGAAAACGAAAGAACTAGACATGCATGACG  
 CAAATGTGAAGAACCTACATGAAAAGGTCAAATCACAACCTAAGGGACAAT  
 GCTACGATCTTAGGGAATGGTTGCTTTGAATTTTGGCATAAGTGTGACAAT  
 GAATGCATAGAGTCTGTCAAAAATGGTACATATGACTATCCCAAATACCAG  
 ACTGAAAGCAAATTAACAGGCTAAAAATAGAATCAGTAAAGCTAGAGAAC  
 CTTGGTGTGTATCAAATTCCTGCCATTTATAGTACGGTATCGAGCAGCCTA  
 GTGTTGGTAGGGCTGATCATGGCAATGGGTCTTTGGATGTGTTCAAATGG  
 TTCAATGCAGTGCAGGATATGTATATAAGAGCTC

**Fig. 38**

SEQ ID NO: 46

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGA  
 GACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAACTCAAATTCTAA  
 TATTAGCCACTTCGGCATTCTTCTATGTACGTGCAGATAAAATCTGCCTAG  
 GACATCATGCTGTGTCTAATGGAACCAAAGTAGACACCCTTACTGAAAA  
 GGAATAGAAGTTGTCAATGCAACAGAAACAGTTGAACAAACAAACATCCC  
 TAAGATCTGCTCAAAAGGAAACAGACTGTTGACCTTGGTCAATGTGGAT  
 TACTAGGGACCGTTATTGGTCCTCCCCAATGTGACCAATTTCTTGAGTTCT  
 CTGCTAATTTAATAGTTGAAAGAAGGGAAGGTAATGACATTTGTTATCCAG  
 GCAAATTTGACAATGAAGAAACATTGAGAAAAATACTCAGAAAATCCGGA  
 GGAATTA AAAAGGAGAATATGGGATTACATATACCGGAGTGAGAACCAA  
 TGGAGAGACTAGCGCATGTAGAAGGTCAAGATCTTCCTTTTATGCAGAGA  
 TGAATGGCTTCTATCCAGCACAGACAATGGGACATTTCCACAAATGACA  
 AAGTCCTACAAGAACAATAAGAAGGTACCAGCTCTGATAATCTGGGGAAAT  
 CCACCACTCAGGATCAACTACTGAACAGACTAGATTATATGGAAGTGGGA  
 AATAATTGATAACAGTTTGGAGTTCCAAATACCAACAATCTTTTGTCCCAA  
 ATCCTGGACCAAGACCGCAAATGAATGGTCAATCAGGAAGAATTGACTTT  
 CACTGGCTGATGCTAGATCCCAATGATACTGTCACCTTCAGTTTTAATGGG  
 GCCTTTATAGCACCTGACCGCGCCAGTTTTCTAAGAGGTAAATCTCTAGG  
 AATCCAAAGTGATGCACAACCTGACAATAATTGTGAAGGTGAATGCTATCA  
 TATTGGAGGTACTATAATTAGCAACTTGCCCTTTCAAACATTAATAGTAG  
 GGCAATCGGAAAATGCCCCAGATACGTGAAGCAGAAGAGCTTAATGCTA  
 GCAACAGGAATGAAAAATGTTCTGAAGCTCCTGCACATAAACAATAAC  
 TCATCACATGCGCAAAAAAGAGGTTTATTTGGTGCAATAGCAGGATTCAT  
 TGAATGGGTGGGAAGGATTAATAGACGGATGGTATGGATATAAGCATC  
 AGAATGCACAAGGAGAAGGGACTGCTGCAGACTACAAAAGTACACAATCT  
 GCTATCAACCAAATAACCGGAAAATTGAACAGACTAATAGAAAAACCAAC  
 CAGCAATTCGAATAATAGATAATGAGTTCAATGAAATAGAAAAACAAATT  
 GGCAATGTTATTAATGACTAGAGATTCTATCATCGAAGTATGGTCATAT  
 AATGCAGAGTTCCTCGTAGCAGTGGAGAATCAACACACTATTGATTAACT  
 GACTCAGAAATGAACAACTATATGAAAAGGTAAGAAGACAACCTGAGAGA  
 AAATGCTGAGGAAGATGGTAATGGCTGTTTTGAAATATTCCACCAATGTG  
 ACAATGATTGCATGGCCAGCATTAGAAACAACACATATGACCATAAAAAAT  
 ACAGAAAAGAGGCAATACAAAACAGAATCCAGATTGACGCAGTAAAGTTG  
 AGCAGTGGTTACAAAGATATAATACTTTGGTTTAGCTTCGGGGCATCATG  
 TTTCTTATTTCTTGCCATTGCAATGGGTCTTGTTTTCATATGTATAAAAAAT  
 GGAAACATGCGGTGCACTATTTGTATATAAGAGCTC



Fig. 39

SEQ ID NO: 47

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGA  
 GACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGAACAATATCACTAA  
 TAACTATACTACTAGTAGTAACAGCAAGCAATGCAGATAAAATCTGCATCG  
 GCCACCAGTCAACAACTCCACAGAACTGTGGACACGCTAACAGAAACC  
 AATGTTCTGTGACACATGCCAAAGAATTGCTCCACACAGAGCATAATGGA  
 ATGCTGTGTGCAACAAGCCTGGGACATCCCCTCATTCTAGACACATGCAC  
 TATTGAAGGACTAGTCTATGGCAACCCTTCTTGTGACCTGCTGTTGGGAG  
 GAAGAGAATGGTCCTACATCGTCGAAAGATCATCAGCTGTAAATGGAACG  
 TGTTACCCTGGGAATGTAGAAAACCTAGAGGAACTCAGGACACTTTTTAGT  
 TCCGCTAGTTCTACCAAAGAATCCAAATCTTCCAGACACAACCTGGAAT  
 GTGACTTACACTGGAACAAGCAGAGCATGTTCAAGTTTCTTCTACAGGAG  
 TATGAGATGGCTGACTCAAAAGAGCGGTTTTTACCCTGTTCAAGACGCCC  
 AATACACAAATAACAGGGGAAAGAGCATTCTTTTCGTGTGGGGCATAAT  
 CACCCACCCACCTATACCGAGCAAACAAATTTGTACATAAGAAACGACACA  
 ACAACAAGCGTGACAACAGAAGATTTGAATAGGACCTTCAAACCAAGTGATA  
 GGGCCAAGGCCCTTGTCAATGGTCTGCAGGGAAGAATTGATTATTATTG  
 GTCGGTACTAAAACAGGCCAAACATTGCGAGTACGATCCAATGGGAATC  
 TAATTGCTCCATGGTATGGACACGTTCTTTCAGGAGGGAGCCATGGAAGA  
 ATCCTGAAGACTGATTTAAAAGGTGGTAATTGTGTAGTGCAATGTCAGACT  
 GAAAAAGGTGGCTTAAACAGTACATTGCCATTCCACAATATCAGTAAATAT  
 GCATTTGGAACCTGCCCAAATATGTAAGAGTTAATAGTCTCAAACCTGGCA  
 GTCGGTCTGAGGAACGTGCCTGCTAGATCAAGTAGAGGACTATTTGGAGC  
 CATAGCTGGATTCATAGAAGGAGGTTGGCCAGGACTAGTCGCTGGCTGG  
 TATGGTTTCCAGCATTCAAATGATCAAGGGGTTGGTATGGCTGCAGATAG  
 GGATTCAACTCAAAGGCAATTGATAAAATAACATCCAAGGTGAATAATAT  
 AGTCGACAAGATGAACAAGCAATATGAAATAATTGATCATGAATTTAGTGA  
 GGTTGAACTAGACTCAATATGATCAATAATAAGATTGATGACCAAATACA  
 AGACGTATGGGCATATAATGCAGAATTGCTAGTACTACTTGAAAATCAAAA  
 AACACTCGATGAGCATGATGCGAACGTGAACAATCTATATAACAAGGTGA  
 AGAGGGCACTGGGCTCCAATGCTATGGAAGATGGGAAAGGCTGTTTCGA  
 GCTATACCATAAATGTGATGATCAGTGCATGGAAACAATTCGGAACGGGA  
 CCTATAATAGGAGAAAGTATAGAGAGGAATCAAGACTAGAAAGGCAGAAA  
 ATAGAGGGGGTTAAGCTGGAATCTGAGGGAACTTACAAAATCCTCACCAT  
 TTATTGACTGTCGCCTCATCTCTTGTGCTTGCAATGGGGTTTGCTGCCTT  
 CCTGTTCTGGGCCATGTCCAATGGATCTTGCAGATGCAACATTTGTATATA  
 AGAGCTC

**Fig. 40A**

SEQ ID NO: 48

MKVKLLVLLCTFTATYADTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLNSH  
 NGKLCLLKGIAPLQLGNCSVAGWILGNPECELLISKESWSYIVEKPNPENGTCY  
 PGHFADYEELREQLSSVSSFERFEIFPKESSWPNHVTGVSASCSHNGESSF  
 YRNLLWLTGKNGLYPNLSKSYANNKEKEVLVLWGVHPPNIGDQKALYHTEN  
 AYVSVSSHYSRKFTPEIAKRPKVRDQEGRINYWTLLPEGDTIIFEANGNLIAP  
 RYAFALSRGFGSGIINSNAPMDKCDKACQTPQGAINSSLPFQNVHPVTIGEC  
 KYVRSALRMVTGLRNIPSIQSRGLFGAIAGFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNE  
 QGSGYAADQKSTQNAINGITNKVNSVIEKMNTQFTAVGKEFNKLERRMENLNK  
 KVDDGFIDIWYTNAELLVLLNERTLDFHDSNVKNLYEKVKSQKNNAKEIGNG  
 CFEFYHKCNDECMESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMGVYQILAI  
 YSTVASSLVLLVSLGAISFWMCNGLQCRICI

**Fig. 40B**

SEQ ID NO: 49

MKVKLLVLLCTFTATYADTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLNEDSH  
 NGKLCLLKGIAPLQLGNCSVAGWILGNPECELLISRESWSYIVEKPNPENGTCY  
 PGHFADYEELREQLSSVSSFERFEIFPKESSWPNHHTTTGVSASCSHNGESSFY  
 KNLLWLTGKNGLYPNLSKSYANNKEKEVLVLWGVHPPNIGDQKALYHKENA  
 YVSVSSHYSRKFTPEIAKRPKVRDQEGRINYWTLLPEGDTIIFEANGNLIAPR  
 YAFALSRGFGSGIINSNAPMDECDKACQTPQGAINSSLPFQNVHPVTIGEC  
 KYVRSALRMVTGLRNIPSIQSRGLFGAIAGFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQ  
 GSGYAADQKSTQNAINGITNKVNSVIEKMNTQFTAVGKEFNKLERRMENLNKK  
 VDDGFIDIWYTNAELLVLLNERTLDFHDSNVKNLYEKVKSQKNNAKEIGNGC  
 FEFYHKCNDECMESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMGVYQILAIY  
 STVASSLVLLVSLGAISFWMCNGLQCRICI



**Fig. 41A**

SEQ ID NO: 50

MKTIIALSYILCLVFTQKLPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTITNDQIEVTN  
ATELVQSSSTGEICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKKWDLFVE  
RSKAYSNCYPYDVPDYASLRSLVASSGTLEFNNEFNFWTGVTQNGTSSA  
CIRRSNNSFFSRLNWLTHLKFKYPALNVTMPNNEKFDKLYIWGVHHPGTD  
NDQIFLYAQASGRITVSTKRSQQTVIPNIGSRPRVRNIPSRISYWTIVKPGDI  
LLINSTGNLIAPRGYFKIRSGKSSIMRSDAPIGKCNSECITPNGSIPNDKPFQ  
NVNRITYGACPRYVKQNTLKLATGMRNVPEKQTRGIFGAIAGFIENGWEG  
MVDGWYGFRRHQNSEGIGQAADLKSTQAAIDQINGKLNRLIGKTNEKFHQIE  
KEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSMNKLF  
EKTKKQLRENAEDMGNGCFKIYHKCDNACIGSIRNGTYDHDVYRDEALNN  
RFQIKGVELKSGYKDWILWISFAISCFLLCVALLGFIMWACQKGNIRCNICI

**Fig. 41B**

SEQ ID NO: 51

MKTIIALSYILCLVFTQKLPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTITNDQIEVTN  
ATELVQSSSTGGICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKKWDLFVE  
RSKAYSNCYPYDVPDYASLRSLVASSGTLEFNDESFNFWTGVTQNGTSSA  
CKRRSNNSFFSRLNWLTHLKFKYPALNVTMPNNEKFDKLYIWGVHHPGTD  
NDQIFLHAQASGRITVSTKRSQQTVIPNIGSRPRIRNIPSRISYWTIVKPGDI  
LLINSTGNLIAPRGYFKIRSGKSSIMRSDAPIGKCNSECITPNGSIPNDKPFQ  
NVNRITYGACPRYVKQNTLKLATGMRNVPEKQTRGIFGAIAGFIENGWEG  
MVDGWYGFRRHQNSEGIGQAADLKSTQAAINQINGKLNRLIGKTNEKFHQIE  
KEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSMNKLF  
ERTKKQLRENAEDMGNGCFKIYHKCDNACIGSIRNGTYDHDVYRDEALNN  
RFQIKGVELKSGYKDWILWISFAISCFLLCVALLGFIMWACQKGNIRCNICI

**Fig. 42A**

SEQ ID NO: 52

MKAIIVLLMVVTSNADRICTGITSSNSPHVVKATQGEVNVTVIPLTTTPTKS  
HFANLKGTETRGKLCPKCLNCTDLVALGRPKCTGNIPSARVSILHEVRPVT  
SGCFPIIMHDRTKIRQLPKLLRGYEHRLSTHNVINAENAPGGPYKIGTSGSCP  
NVTNGNGFFATMAWAVPKNDNNKTATNSLTIEVPYICTEGEDQITVWGFHS  
DNETQMAKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRI  
VVDYMVQKSGKTGTITYQRGILLPQKWCASGRSKVIKGSPLIGEADCLHE  
KYGGLNKSHPYYTGEHAKAIGNCPIWVKTPKLANGTKYRPPAKLLKERGFF  
GAIAGFLEGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNS  
LSELEVKNLQRLSGAMDELHNEILELDEKVDDLRA DTISSQIELAVLLSNEGIIN  
SEDEHLLALERKLLKMLGPSAVEIGNGCFETKHHCNQTCLDRIAAGTFDAGE  
FSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNHTILLYSTAASSLAVTLMIAIFVVMVSRD  
NVSCSICL

**Fig. 42B**

SEQ ID NO: 53

MKAIIVLLMVVTSNADRICTGITSSNSPHVVKATQGEVNVTVIPLTTTPTKS  
YFANLKGTRTRGKLCPDCLNCTDLVALGRPMC VGTTPSAKASILHEVKPVT  
SGCFPIIMHDRTKIRQLPNLLRGYENIRLSTQNVIDAEKAPGGPYRLGTSGSC  
PNATSKSGFFATMAWAVPKDNNKNATNPLTVEVPYICTEGEDQITVWGFHS  
DNKTQMKNLYGDSNPQKFTSSANGVTTHYVSQIGSFDPQTEDGGLPQSGRI  
VVDYMMQKPGKTGTIVYQRGVLLPQKWCASGRSKVIKGSPLIGEADCLH  
EKYGGLNKSHPYYTGEHAKAIGNCPIWVKTPKLANGTKYRPPAKLLKERGF  
FGAIAGFLEGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLN  
SLSELEVKNLQRLSGAMDELHNEILELDEKVDDLRA DTISSQIELAVLLSNEGII  
NSEDEHLLALERKLLKMLGPSAVEIGNGCFETKHHCNQTCLDRIAAGTFNAG  
EFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNHTILLYSTAASSLAVTLMIAIFIVVMVSRD  
NVSCSICL

**Fig. 43A**

SEQ ID NO: 54

MAIYLILLFTAVRGDQICIGYHANNSTEKVDILERNVTVTTHAKDILEKTHNGKLC  
KLNIGIPPELGDCSIAGWLLGNPECDRLLSVPEWSYIMEKENPRDGLCYPGSF  
NDYEELKHLLSSVKHFEKVILPKDRWTQHHTTTGGSRAVSGNPSFFRNMV  
WLTKKESNYPVAKGSYNNTSGEQMLIIVGVHHPNDETEQRTLYQNVGTYSV  
GTSTLNKRSTPDIAIRPKVNGLGSRMEFSWTLLDMWDTINFESTGNLIAPEYGF  
KISKRGSSGIMKTEGTLENCETKCQTPLGAINTTLPFHNVHPLTIGECPKYVKSE  
KLVLATGLRNVPQIESRGLFGAIAAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNDQGSFYA  
ADKESTQKAIDGITNKVNSVIEKMNTQFEAVGKEFSNLERRLENLNKKMEDGFL  
DVWTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRMQLRDNVKELGNGCFEFY  
HKCDDECMNSVKNGTYDYPKYEEESKLNREIKGVKLSSMGVYQILAIYATVAG  
SLSLAIMMAGISFWMCNNGSLQCRIC

**Fig. 43B**

SEQ ID NO: 55

MEKIVLLLAIVSLVKSDQICIGYHANNSTEQVDIMEKNVTVTTHAQDILEKTHNGK  
LCDLDGVKPLILRDCSVAGWLLGNPMCMDEFINPEWSYIVEKANPANDLCYPG  
NFNDYEELKHLLSRINHFEKIQIIPKSSWSDHEASSGVSSACPYQGTPSFFRNVV  
WLIKKNNTYPTIKRSYNNTNQEDLLILWGIHHSNDAAEQTKLYQNPTTYISVGTS  
TLNQRLVPKIATRSKVNQSGRMDFFWTILKPNDAINFESNGNFIAPEYAYKIVK  
KGDSAIVKSEVEYGNCNTKCQTPIGAINSSMPFHNIHPLTIGECPKYVKSNNKLV  
ATGLRNSPLRERRRRKRGLFGAIAAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQGSFYA  
ADKESTQKAIDGVTNKVNSIIDKMNTQFEAVGREFNLERRIENLNKKMEDGFL  
DVWTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNVAKELGNGCFEFYH  
KCDNECMESVRNGTYDYPQYSEEARLKREEISGVKLESIGTYQILSIYSTVASSL  
ALAIMVAGLSLWMCSNNGSLQCRIC

**Fig. 44A**

SEQ ID NO: 56

MEKIVLLFAIVSLVKSDQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVTHAQDILEKTHNGKL  
CDLDGVKPLILRDCSVAGWLLGNPMCDEFINPEWSYIVEKANPVNDLCYPGDF  
NDYEELKHLLSRINHFEEKIIPKSSWSSHEASLGVSSACPYQGKSSFFRNVWLI  
KKNSTYPTIKRSYNNTNQEDLLVLWGIHHPNDAAEQTKLYQNPTTYISVGTSTLN  
QRLVPRIATRSKVNQGSGRMEFFWTILKPNDAINFESNGNFIAPYAYKIVKKGD  
STIMKSELEYGNCNTKCQTPMGAINSSMPFHNIHPLTIGECPKYVKS NRLVLATG  
LRNSPQRRERRRKKRGLFGAIAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQGS GYAAD  
KESTQKAIDGVTNKVNSIIDKMNTQFEAVGREFNNLERRIENLNKKMEDGFLDV  
WTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDN AKELGNGCFEFYHKC  
DNECMESVRNGTYDYPQYSEEARLKREEISGVKLESIGIYQILSIYSTVASSLALAI  
MVAGLSLWMCSNGSLQCRICI

**Fig. 44B**

SEQ ID NO: 57

MIAIIVIAILAAAGKSDKICIGYHANNSTTQVDTILEKNVTVTHSIELLENQKEERFCK  
ILNKAPLDLRECTIEGWILGNPQC DLLLGDSWSYIVERPTAQNGICYPGTLNEV  
EELRALIGSGERVERFEMFPQSTWQGVD TNSGTTRSCPYSTGASFYRNLLWIIK  
TKTAEYPVIKGIYNNTGTQPILYFWGVHHPNTDEQDTLYGSGDRYVRMGTESM  
NFAKSPEIAARPAVNGQRGRIDYYWSVLKPGETLNVESNGNLIAPWYAYKFVNT  
NSKGAVFRSDLPIENC DATCQTIAGVLRTNKT FQNV SPLWIGECPKYVKSESRL  
ATGLRNVPQIETRGLFGAIAGFIEGGWTGMIDGWYGYHHENSQGS GYAADRES  
TQKAVNRITNKVNSIINKMNTQFEAVDHEFSNLERRIDNLNKRMQDGFLDVWTY  
NAELLV LLENERTLDMHDANVKNLHEKVKSQLRDNATILGNGCFEFWHKCDNEC  
IESVKNGTYDYPKYQTESKLNRLKIESVKLENLG VYQILAIYSTVSSSLVLVGLIMA  
MGLWMCSNGSMQCRICI

**Fig. 45A**

SEQ ID NO: 58

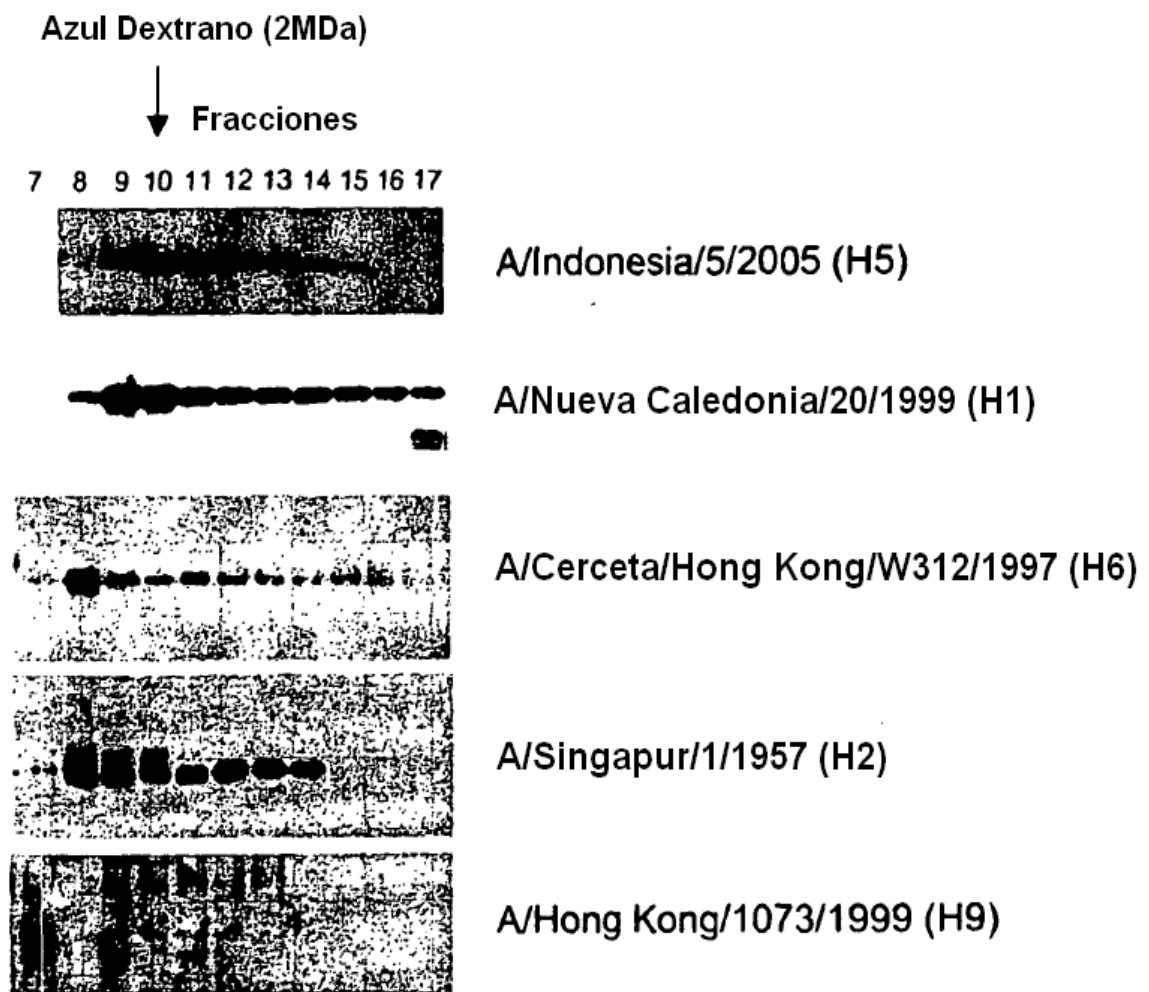
MNTQILILATSAFFYVRADKICLGHHAVSNGTKVDLTTEKGIEVVNATETVEQT  
NIPKICSKGKQTVDLGQCGLLGTVIGPPQCDQFLEFSANLIVERREGNDICYPG  
KFDNEETLRKILRKSGGIKKENMGFTYTGVRTNGETSACRRSRSSFYAEMKW  
LLSSTDNGTFPQMTKSYKNTKKVPALIIWGIHHSGSTTEQTRLYGSGNKLITV  
WSSKYQQSFVPNPGRPRQMNGQSGRIDFWLMLDPNDTVTFSFNGAFIAPD  
RASFLRGKSLGIQSDAQLDNNCEGECYHIGGTIISNLPFQINNSRAIGKCPRYV  
KQKSLMLATGMKNVPEAPAHKQLTHHMRKKRGLFGAIAGFIENGWEGLIDG  
WYGYKHQNAQGEGETAADYKSTQSAINQITGKLNRLIEKTNQGFELIDNEFNEI  
EKQIGNVINWTRDSIIEVWSYNAEFLVAVENQHTIDLTDSMNKLYEKVRRQL  
RENAEEDGNGCFEIFHQCDNDCMASIRNNTYDHKKYRKEAIQNRIQIDAVKLS  
SGYKDIIWFSFGASCFLFLAIAMGLVFICIKNGNMRCTICI

**Fig. 45B**

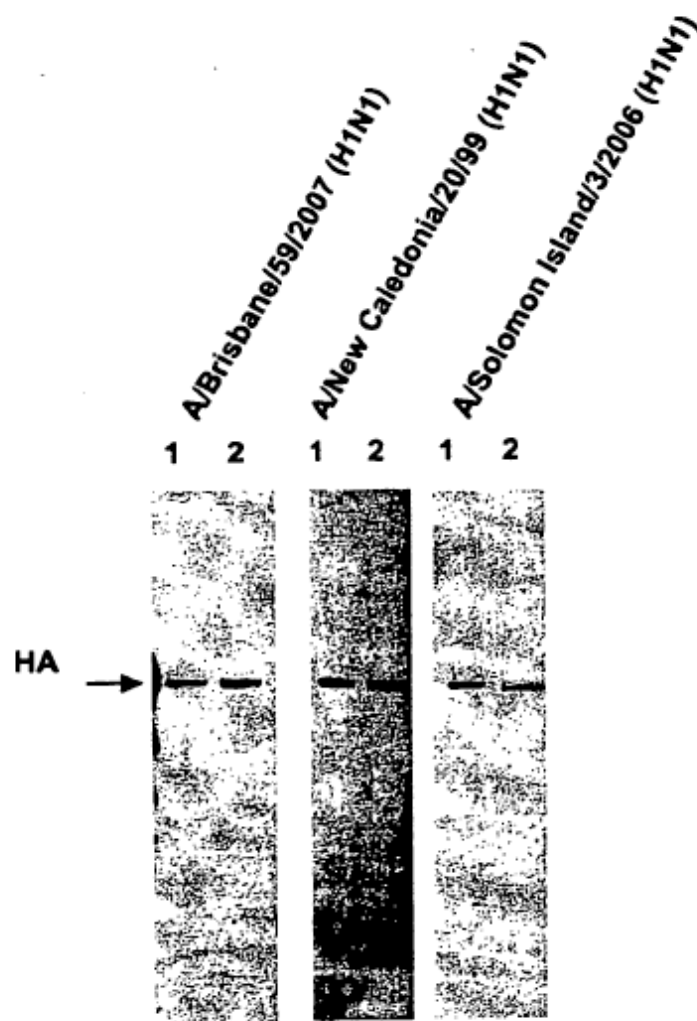
SEQ ID NO: 59

METISLITILLVVTASNADKICIGHQSTNSTETVDLTETNVPVTHAKELLHTEHN  
GMLCATSLGHPLILDCTIEGLVYGNPSCDLLLGGREWSYIVERSSAVNGTCY  
PGNVENLEELRTLFSASSYQRIQIFPDTTWNVTYTGTSRACSGSFYRSMRW  
LTQKSGFYPVQDAQYTNNRGKSILFWGIIHPPTYTEQTNLYIRNDTTTSVTT  
EDLNRTFKPVIGPRPLVNGLQGRIDYYWSVLKPGQTLRVRSNGNLIAPWYGH  
VLSSGSHGRILKTDLKGGNCVQCQTEKGGLNSTLPFHNISKYAFGTCPKYV  
RVNSLKLAVGLRNVPARSSRGLFGAIAGFIEGGWPGLVAGWYGFQHSNDQG  
VGMAARDSTQKAIDKITSKVNNIVDKMNKQYEIIDHEFSEVETRLNMINNKID  
DQIQDVWAYNAELLVLENQKTLDEHDANVNNLYNKVKRALGSNAMEDGKG  
CFELYHKDDQCMETIRNGTYNRRKYREESRLERQKIEGVKLESEGTYKILTI  
YSTVASSLVLAMGFAAFLWAMSNGSCRCNICI

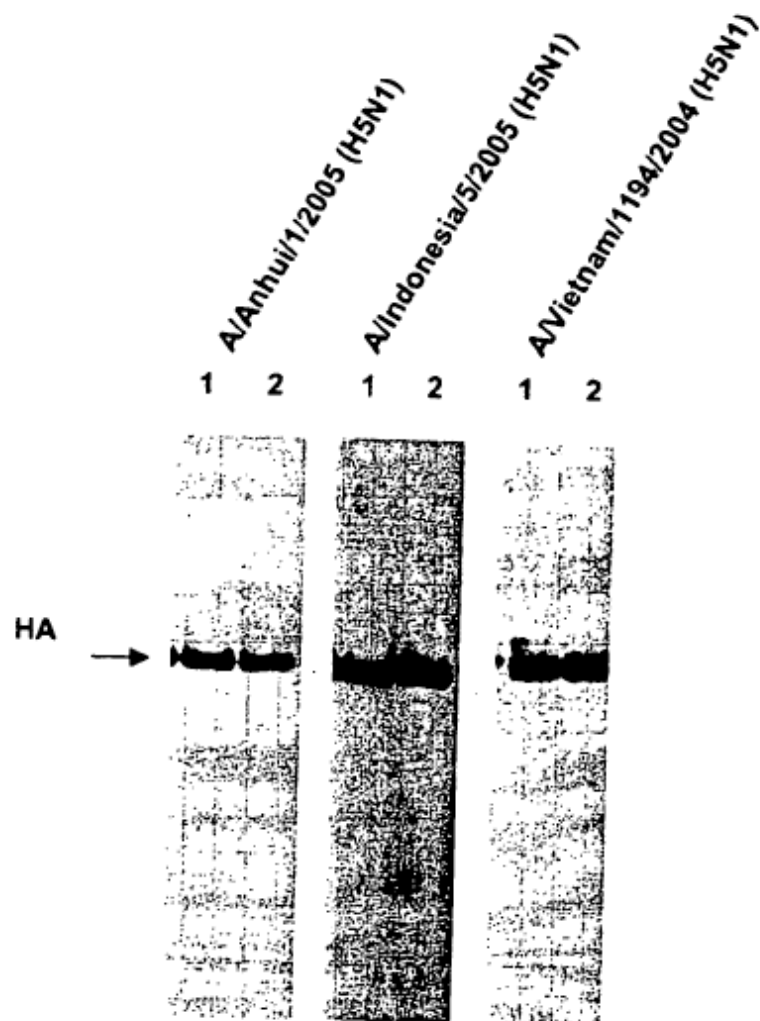
**Fig. 46**



**Fig. 47**

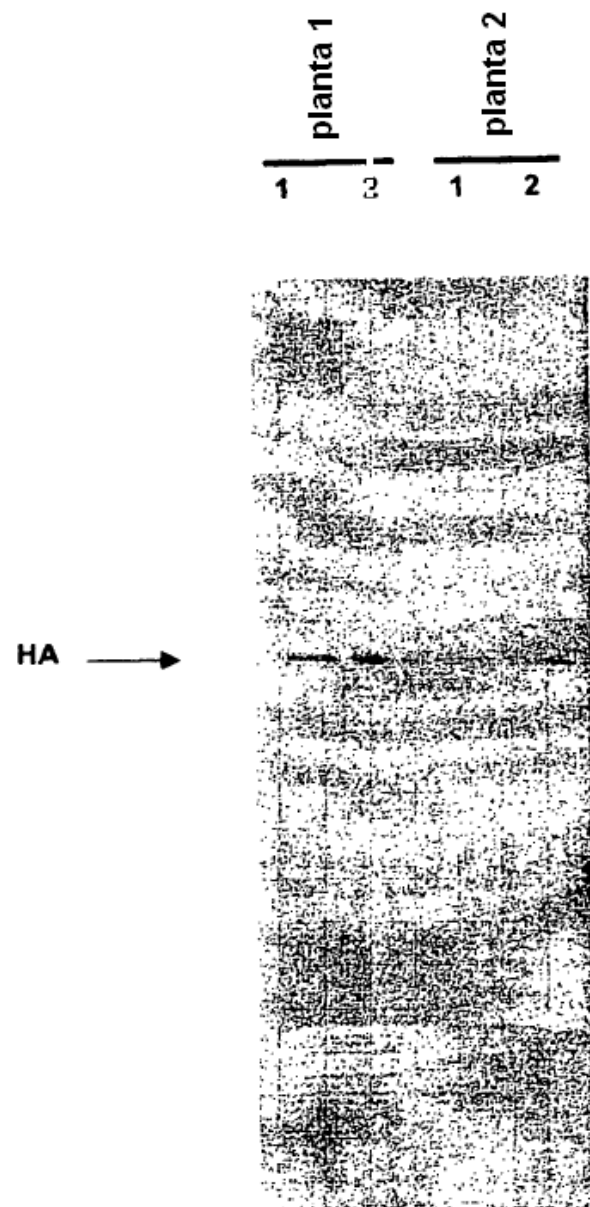


**Fig. 48**

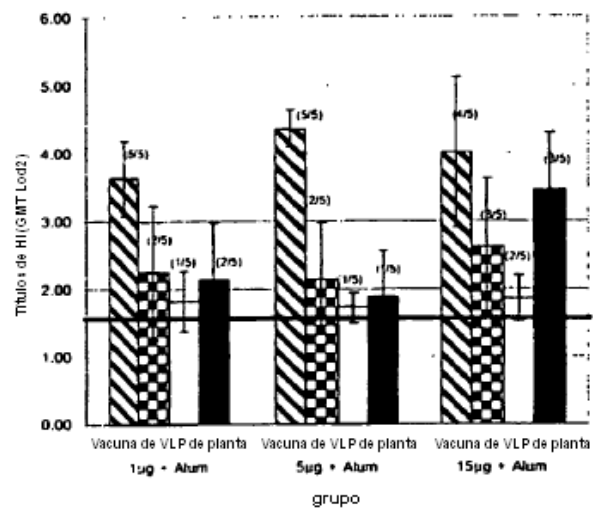




**Fig. 49**



**Fig. 50A**



**Fig. 50B**

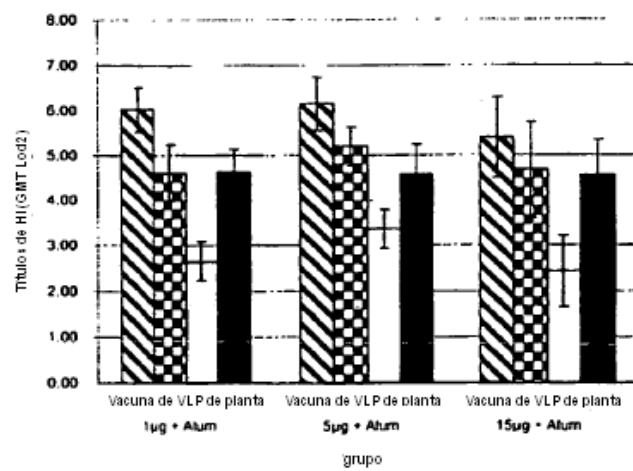


Fig. 51

SEQ ID NO: 60

H5 de A/Indonesia/5/2005 (Construcción # 660)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAAGTTTAAAGTT  
 AGCAAGTGTGTACATTTTACTTTGAACAAAAATTTACACCTACTACTGTTATAAAATCATTATTAAAC  
 ATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGTGCA  
 ACATTTGAGAAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAAGGAA  
 GAGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAAATAG  
 TTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTAAATAAA  
 TAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTGGCAAGTCATTAAAAAGAAAGAAT  
 AAATTATTTTAAATTAAGGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAA  
 GAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTT  
 CCTATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTATATTTTCATAGATCAAATAAGAGAAATAA  
 CGGTATATTAATCCCTCCAAAAAACAACGGTATATTTACTAAAAAATCTAAGCCACGTAGGAG  
 GATAACAGGATCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACAACAATCCTGATGAGATA  
 ACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATTCTTCCACACAT  
 CTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGT  
 CTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGA  
 GAGAAAATGGAGAAAATAGTGCTTCTTCTTGCAATAGTCAGTCTTGTTAAAAGTGATCAGATTTGC  
 ATGGTTACCATGCAACAATTCAACAGAGCAGGTTGACACAATCATGGAAAAGAACGTTACTGT  
 TACACATGCCCAAGACATACTGGAAAAGACACACAACGGGAAGCTCTGCGATCTAGATGGAGTG  
 AAGCCTCTAATTTTAAGAGATTGTAGTGTAGCTGGATGGCTCCTCGGGAACCCAATGTGTGACGA  
 ATTCATCAATGTACCGGAATGGTCTTACATAGTGGAGAAGGCCAATCCAACCAATGACCTCTGTT  
 ACCCAGGGAGTTTCAACGACTATGAAGAACTGAAACACCTATTGAGCAGAATAAACCATTTTGAG  
 AAAATTCAAATCATCCCCAAAAGTTCTTGGTCCGATCATGAAGCCTCATCAGGAGTTAGCTCAGC  
 ATGTCCATACCTGGGAAGTCCCTCCTTTTTAGAAATGTGGTATGGCTTATCAAAAAGAACAGTA  
 CATACCCAACAATAAAGAAAAGCTACAATAATACCAACCAAGAGGATCTTTTGGTACTGTGGGGA  
 ATTCACCATCCTAATGATGCGGCAGAGCAGACAAGGCTATATCAAAACCCAACCACTATATTTT  
 CATTGGGACATCAACACTAAACCAGAGATTGGTACCAAAAATAGCTACTAGATCCAAAGTAAACG  
 GGCAAAGTGGAAGGATGGAGTTCTTCTGGACAATTTTAAACCTAATGATGCAATCAACTTCGAG  
 AGTAATGGAAATTTTATTGCTCCAGAATATGCATACAAAATTGTCAAGAAAGGGGACTCAGCAATT  
 ATGAAAAGTGAATTGGAATATGGTAACTGCAACACCAAGTGTCAAACCTCAATGGGGGCGATAAA  
 CTCTAGTATGCCATTCCACAACATACACCCTCTCACCATCGGGGAATGCCCCAAATATGTGAAAT  
 CAAACAGATTAGTCCTTGCAACAGGGCTCAGAAATAGCCCTCAAAGAGAGAGCAGAAGAAAAAA  
 GAGAGGACTATTTGGAGCTATAGCAGGTTTTATAGAGGGAGGATGGCAGGGAATGGTAGATGGT  
 TGGTATGGGTACCACCATAGCAATGAGCAGGGGAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAATCCACTC  
 AAAAGGCAATAGATGGAGTCACCAATAAGGTCAACTCAATCATTGACAAAATGAACACTCAGTTT  
 GAGGCCGTTGGAAGGGAATTTAATAACTTAGAAAGGAGAATAGAGAATTTAAACAAGAAGATGGA  
 AGACGGGTTTCTAGATGTCTGGACTTATAATGCCGAACCTTCTGGTTCTCATGGAAAATGAGAGAA  
 CTCTAGACTTTTATGACTCAAATGTTAAGAACCCTCTACGACAAGGTCCGACTACAGCTTAGGGAT  
 AATGCAAAGGAGCTGGGTAACGGTTGTTTCGAGTTCTATCACAATGTGATAATGAATGTATGGA  
 AAGTATAAGAAACGGAACGTACAACATATCCGCAGTATTGAGAAGAAGCAAGATTAAGAGAGAGG  
 AAATAAGTGGGGTAAATTTGGAATCAATAGGAACTTACCAAAATAGTCAATTTATTCAACAGTGG  
 CGAGTTCCCTAGCACTGGCAATCATGATGGTCTATCTTTATGGATGTGCTCCAATGGATCG  
 TTACAATGCAGAAATTTGCATTAAGAGCTCTAAGTTAAATGCTTCTTCTGCTCTCTATTATAATAT  
 GGTTTGTATTGTAAATTTTGTCTTGTAGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTAT  
 TTGTATGAGATGAACTGGTGTAAATGTAAATTCATTTACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCC  
 TCCATAACTAACTAGACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTTGAACAACATAAATG  
 AACATCTTTGCCACAACCTTTATAAGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATT  
 AATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAATACTAATTTTAT  
 ATCATCCCTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 52

SEQ ID NO: 61

H1 de A/Nueva Caledonia/20/1999 (Construcción # 540)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATATAAAGTTTAAGTT  
 AGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTAAC  
 ATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGTTGCA  
 ACATTTGAGAAAATTTTGTTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAAGGAA  
 GAGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAAATAG  
 TTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTAAATAAA  
 TAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCATTAAAAAGAAAGAA  
 TAAATTATTTTTAAATTAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAA  
 AGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTT  
 TCCTATATATTGCCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTCATAGATCAATAAGAGAAATA  
 ACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAACGGTATATTTACTAAAAAATCTAAGCCACGTAGGA  
 GGATAACAGGATCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACAACAATCCTGATGAGA  
 TAACCCACTTTAAGCCCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATTCTTCCACAC  
 ATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGA  
 GTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTT  
 GAGAGAAAATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTTCTTGTGTTGGTTCCTT  
 CTCAGATCTTCGCTGACACAATATGTATAGGCTACCATGCCAACCACTCAACCGACACTGTTGAC  
 ACAGTACTTGAGAAGAATGTGACAGTGACACACTCTGTCAACCTACTTGAGGACAGTCACAATG  
 GAAACTATGTCTACTAAAAGGAATAGCCCCACTACAATTGGGTAATTGCAGCGTTGCCGGATG  
 GATCTTAGGAAACCCAGAATGCGAATTACTGATTTCCAAGGAATCATGGTCCTACATTGTAGAAA  
 CACCAATCCTGAGAATGGAACATGTTACCCAGGGTATTTCCGCCACTATGAGGAACTGAGGGA  
 GCAATTGAGTTCAGTATCTTCATTTGAGAGATTGAAATATTTCCCAAGAAAGCTCATGGCCCA  
 ACCACACCGTAACCGGAGTATCAGCATCATGCTCCATAATGGGAAAAGCAGTTTTTACAGAAAT  
 TTGCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTTGTACCCAAACCTGAGCAAGTCCTATGTAAACAACA  
 AAGAGAAAGAAGTCCTTGTACTATGGGGTGTTTCATCACCCGCCTAACATAGGGAACCAAAGGGC  
 ACTCTATCATACAGAAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATTATAGCAGAAGATTCACCCC  
 AGAAATAGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAGGAAGGAAAGAAATCACTACTACTGGACTCTG  
 CTGGAACCTGGGGATACAATAATATTTGAGGCAAAATGGAATCTAATAGCGCCATGGTATGCTTT  
 TGCAGTGAAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCACCTCAAATGCACCAATGGATGAATGTGAT  
 GCGAAGTGTCAAACACCTCAGGGAGCTATAAACAGCAGTCTTCCTTTCCAGAATGTACACCCAG  
 TCACAATAGGAGAGTGTCAAAGTATGTCAGGAGTGCAAAATTAAGGATGGTTACAGGACTAAG  
 GAACATCCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGTTGGAGCCATTGCCGGTTTCATTGAAGGGGGG  
 TGGACTGGAATGGTAGATGGGTGGTATGTTTATCATCATCAGAATGAGCAAGGATCTGGCTATG  
 CTGCAGATCAAAAAGTACACAAAATGCCATTAACGGGATTACAAACAAGGTCAATTCTGTAATT  
 GAGAAAATGAACACTCAATTCACAGCTGTGGGCAAAGAGTTCAACAAATTGGAAAGAAGGATGG  
 AAAACTTAAATAAAAAAGTTGATGATGGGTTTCTAGACATTTGGACATATAATGCAGAATTGTTGG  
 TTCTACTGGAAAATGAAAGGACTTTGGATTTCCATGACTCCAATGTGAAGAATCTGTATGAGAAA  
 GTAAAAAGCCAATTAAGAATAATGCCAAAGAAATAGGAAACGGGTGTTTTGAGTTCTATCACAA  
 GTGTAACAATGAATGCATGGAGAGTGTGAAAAATGGTACCTATGACTATCCAAAATATTCCGAAG  
 AATCAAAGTTAAACAGGGAGAAAATTGATGGAGTGAAATTGGAATCAATGGGAGTATACCAGATT  
 CTGGCGATCTACTCAACTGTGCGCCAGTTCCCTGGTTCTTTTGGTCTCCCTGGGGGCAATCAGCT  
 TCTGGATGTGTTCCAATGGGTCTTTGCAGTGTAGAATATGCATCTAAGAGCTCTAAGTTAAATG  
 CTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTGTCTTGTAGAAGAGCTTAATT  
 AATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGTAAATGTAATTCATTTACATAAG  
 TGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCCCTCCATAACTAAGTACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTG  
 TCTTATATTTGAACAACTAAAATTGAACATCTTTTGCACAACTTTATAAGTGGTTAATATAGCTCA  
 AATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCATTAACAATCAAC  
 TTAACGTTATTAACACTAATTTTATATCATCCCCTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 53

SEQ ID NO: 62

H1 de A/Brisbane/59/2007 (Construcción # 774)

CTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAGTTTAAGTTAGCAAGTGTGTACAT  
 TTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTAAACATTAGAGTAAAGAAAT  
 ATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTGTTGCAACATTTGAGAAAATTTT  
 GTTGTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAGAAAAAGGAAGAGGGAGAAATAAAAAACA  
 TAATGTGAGTATGAGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGA  
 GGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGA  
 GAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCATTAAGAAAGAAAGAAATAAATTTATTTTAAATTA  
 AAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGT  
 ATTAGTAATTAGAAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCAT  
 GAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTTATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCC  
 AAAAAACGATATTTTACTAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTA  
 GGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACG  
 CATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATTCTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACC  
 AATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTC  
 AAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAAGTAAACT  
 ACTGGTCTGTATGCACATTTACAGCTACATATGCAGACACAATATGTATAGGCTACCATGCTAA  
 CAACTCGACCGACACTGTTGACACAGTACTTGAAAAGAATGTGACAGTGACACACTCTGTCAACC  
 TGCTTGAGAACAGTCACAATGGAAAACCTATGTCTATTAAGGAATAGCCCCACTACAATTGGGT  
 AATTGCAGCGTTGCCGGGTGGATCTTAGGAAACCCAGAATGCGAATTACTGATTTCCAAGGAGTC  
 ATGGTCTACATTGTAGAAAAACCAATCCTGAGAATGGAACATGTTACCCAGGGCATTTCGCTG  
 ACTATGAGGAACTGAGGGAGCAATTGAGTTCAGTATCTTCATTTGAGAGGTTGAAATATTCCTCC  
 AAAGAAAGCTCATGGCCCAACCAACCGTAACCGGAGTGTGAGCATCATGCTCCATAATGGGG  
 AAAGCAGTTTTTACAGAAATTTGCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTTGTACCCAAACCTGAGC  
 AAGTCCTATGCAACAACAAGAAAAAGAGTCTTGTACTATGGGGTGTTCATCACCCGCCAAA  
 CATAGGTGACCAAAAGGCCCTCTATCATACAGAAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATTA  
 TAGCAGAAAATTCACCCAGAAATAGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAAGAAGGAAGAATCA  
 ATTACTACTGGACTCTGCTTGAACCCGGGGATACAATAATTTGAGGCAAATGGAAATCTAATAG  
 CGCCAAGATATGCTTTCGCACTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCAACTCAAATGCACCA  
 ATGGATAAATGTGATGCGAAGTGCCAAACACCTCAGGGAGCTATAAACAGCAGTCTTCCTTTCCA  
 GAACGTACACCCAGTCACAATAGGAGAGTGTCCAAAGTATGTCAGGAGTGCAAAATTAAGGATG  
 GTTACAGGACTAAGGAACATCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGTTGGAGCCATTGCCGGTTT  
 CATTGAAGGGGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGTTATCATCATCAGAATGAGCAA  
 GGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAAGCACACAAAATGCCATTAATGGGATTACAAACAAGGT  
 CAATTCTGTAATTGAGAAAATGAACACTCAATTCACAGCAGTGGGCAAAGAGTTCAACAAATTGG  
 AAAGAAGGATGGAAAACCTGAATAAAAAAGTTGATGATGGGTTTATAGACATTTGGACATATAATG  
 CAGAACTGTTGGTTCTACTGGAAAATGAAAGGACTTTGGATTTCATGACTCCAATGTGAAGAAT  
 CTGTATGAGAAAGTAAAAAGCCAGTTAAAGAATAATGCTAAAGAAATAGGAAATGGGTGTTTTGAG  
 TTCTATCACAAGTGAACGATGAATGCATGGAGAGTGTAAAGAATGGAACCTTATGACTATCCAAA  
 TATTCCGAAGAATCAAAGTTAAACAGGGAGAAAAGTATGAGGAGTGAATGGAATCAATGGGAGT  
 CTATCAGATTCTGGCGATCTACTCAACAGTCGCCAGTTCTCTGGTTCTTTGGTCTCCCTGGGGG  
 CAATCAGCTTCTGGATGTGTTCCAATGGGTCTTACAGTGTAGAATATGCATCTAAGAGCTCTAA  
 GTTAAATGCTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTGTTCTGTAGAAGA  
 GCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGAATGTAATTCATT  
 TACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAAGACATGAAGACCTGCCGCG  
 TACAATTGTCTTATATTTGAACAATAAAATGAACATCTTTGCCACAACCTTTATAAGTGGTTAAT  
 ATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCATTAA  
 CAATCAACTTAACGTTATTAATACTAATTTTATATCATCCCTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 54

SEQ ID NO: 63

H1 de A/Isas Salomón/3/2006 (H1N1) (Construcción # 775)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAAGTTTA  
 AGTTAGCAAGTGTGTACATTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCAT  
 TATTAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAAC  
 AATTTTGTGCAACATTTGAGAAAATTTGTTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAG  
 AGAGAGAAAAAGGAAGAGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTAC  
 AAAAGTTGTACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATA  
 AGGGTTAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTT  
 TTGGCAAGTCATTAAAAAGAAAGAATAAATTTATTTTAAAAATTAAGTTGAGTCATTTGATTA  
 AACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAAT  
 TTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAA  
 CTCATTTTATATTTTATAGATCAAATAAGAGAAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAAA  
 AAAAACGGTATATTTACTAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGG  
 AGGATAACATCCAATCCAACCAATCACAAACATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCCAC  
 GCATCTGTGGCAGATCTACATTATCTAAATCACACATTCTCCACACATCTGAGCCACACAA  
 AAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTG  
 ATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAA  
 TGAAAGTAAACTACTGGTCCTGTTATGCACATTTACAGCTACATATGCAGACACAATATGT  
 ATAGGCTACCATGCCAACAACTCAACCGACACTGTTGACACAGTACTTGAGAAGAATGTGA  
 CAGTGACACACTCTGTCAACCTGCTTGAGGACAGTCACAATGGAAAATTATGTCTATTAATA  
 GGAATAGCCCCACTACAATTGGGTAATTGCAGCGTTGCCGGATGGATCTTAGGAAACCCA  
 GAATGCGAATTACTGATTTCCAGGGAATCATGGTCCTACATTGTAGAAAAACCAATCCTGA  
 GAATGGAACATGTTACCCAGGGCATTTCGCCGACTATGAGGAACTGAGGGAGCAATTGAG  
 TTCAGTATCTTCATTTGAGAGATTTCGAAATATTTCCCAAAGAAAGCTCATGGCCCAACCACA  
 CCACAACCGGAGTATCAGCATCATGCTCCCATATGGGGAAAGCAGTTTTTACAAAAATTT  
 GCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTTGTACCCAAACCTGAGCAAGTCTATGCCAAACAA  
 CAAAGAGAAAGAAGTCCTTGACTATGGGGTGTTTCATCACCCGCCTAACATAGGTGACCAA  
 AGGGCTCTCTATCATAAAGAAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATTATAGCAGAAA  
 ATTCACCCCAGAAATAGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAAGAAGGAAGAATCAACTAC  
 TACTGGACTCTACTTGAACCCGGGGATACAATAATATTTGAGGCAAATGGAAATCTAATAGC  
 GCCAAGATATGCTTTCGCACTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCAACTCAAATGCA  
 CCAATGGATGAATGTGATGCGAAGTGCCAAACACCTCAGGGAGCTATAAACAGCAGTCTTC  
 CTTTCCAGAATGTACACCCTGTCACAATAGGAGAGTGTCCAAAGTATGTGAGGAGTGCAAA  
 ATTAAGGATGGTTACAGGACTAAGGAACATCCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGTTGGA  
 GCCATTGCCGGTTTCATTGAAGGGGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGTTAT  
 CATCATCAGAATGAGCAAGGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAAGCACACAAAATGCCA  
 TTAATGGGATTACAAACAAGGTCAATTCTGTAATTGAGAAAATGAACACTCAATTCACAGCT  
 GTGGGCAAAGAGTTCAACAAATTGGAAAGAAGGATGGAAAACCTTAAATAAAAAAGTTGATG  
 ATGGGTTTATAGACATTTGGACATATAATGCAGAATTGTTGGTTCTACTGGAAAATGAAAGG  
 ACTTTGGATTTCCATGACTCCAATGTGAAGAATCTGTATGAGAAAGTAAAAAGCCAATTAAA  
 GAATAATGCCAAAGAAATAGGAAATGGGTGTTTTGAGTTCTATCATAAGTGTAAACGATGAAT  
 GCATGGAGAGTGTAAAAAATGGAACCTTATGACTATCCAAAATATTCGAAGAATCAAAGTTA  
 AACAGGGAGAAAATTGATGGAGTGAAATTGGAATCAATGGGAGTCTATCAGATTCTGGCGA  
 TCTACTCAACAGTCGCCAGTTCTCTGGTTCTTTTGGTCTCCCTGGGGGCAATCAGCTTCTG  
 GATGTGTTCCAATGGGTCTTTGCAAGTGTAGAATATGCATCTGAGAGCTCTAAGTTAAATGC  
 TTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTGTCTTGTAGAAGAGCTTAA  
 TTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGTAAATGTAATTCATTTA  
 CATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAACTAGACATGAAGACCTGCCG  
 CGTACAATTGTCTTATATTTGAACAATAAATGAACATCTTTTGCACAACTTTATAAGTG  
 GTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGA  
 AATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAATACTAATTTTATATCATCCCTTTGATAAATG  
 ATAGTACA



Fig. 55

SEQ ID NO: 64

H2 de A/Singapur/1/57 (H2N2) (Construcción # 780)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAAGTTTAA  
 GTTAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTAT  
 TAAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTT  
 TGTTGCAACATTTGAGAAAAATTTGTTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAG  
 AAAAAGGAAGAGGGGAGAATAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAAGTTGTACAAAAGTTG  
 TACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAAT  
 TGCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTC  
 ATTA AAAAGAAAGAATAAATTATTTTTAAATTA AAAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATT  
 ATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAAT  
 TTAATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATT  
 TCATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAAAAAAAAACGGTATATTT  
 ACTAAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGGAGGATAACATCCAATC  
 CAACCAATCACAACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCCACGCATCTGTGGCACATCT  
 ACATTATCTAAATCACACATTCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTA  
 TCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACA  
 AAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGCCATCATTTATCTAATTC  
 TCCTGTTACAGCAGTGAGAGGGGACCAAATATGCATTGGATACCATGCCAATAATTCCACA  
 GAGAAGGTCGACACAATTCTAGAGCGGAACGTCACTGTGACTCATGCCAAGGACATTCTTGA  
 GAAGACCCATAACGGAAAGTTATGCAAACCTAAACGGAATCCCTCCACTTGAAGTAGGGGACT  
 GTAGCATTGCCGGATGGCTCCTTGGAATCCAGAATGTGATAGGCTTCTAAGTGTGCCAGAA  
 TGGTCTATATAATGGAGAAAGAAAACCCGAGAGACGGTTTGTGTTATCCAGGCAGCTTCAA  
 TGATTATGAAGAATTGAAACATCTCCTCAGCAGCGTGAAACATTTGAGAAAAGTAAAGATTCT  
 GCCCAAAGATAGATGGACACAGCATACAACAACCTGGAGGTTACGGGCTCGCGGGTGTCT  
 GGTAATCCATCATTTCTCAGGAACATGGTCTGGCTGACAAAGAAAGAATCAAATTATCCGGTT  
 GCCAAAGGATCGTACAACAATACAAGCGGAGAAACAATGCTAATAATTTGGGGGGTGCACCA  
 TCCCAATGATGAGACAGAACAAGAACATTGTACCAGAATGTGGGAACCTATGTTTCCGTAG  
 GCACATCAACATTGAACAAAAGGTCAACCCCAGACATAGCAACAAGGCCTAAAGTGAATGGA  
 CTAGGAAGTAGAATGGAGTTCTCTTGACCCTATTGGATATGTGGGACACCATAAATTTTGAG  
 AGTACTGGTAATCTAATTGCACCAGAGTATGGATTCAAAATATCGAAAAGAGGTAGTTCAGGG  
 ATCATGAAAACAGAAGGAACACTTGAGAAGTGTGAGACCAAATGCCAACTCCTTTGGGAGC  
 AATAAATACAACATTGCCTTTTACAATGTCCACCCACTGACAATAGGTGAGTGCCCCAAATA  
 TGTA AAATCGGAGAAGTTGGTCTTAGCAACAGGACTAAGGAATGTTCCCCAGATTGAATCAA  
 GAGGATTGTTTGGGGCAATAGCTGGTTTTATAGAAGGAGGATGGCAAGGAATGGTTGATGGT  
 TGGTATGGATACCATCACAGCAATGACCAGGGATCAGGGTATGCAGCAGACAAAGAATCCAC  
 TCAAAGGCATTTGATGGAATCACCAACAAGGTAAATTCTGTGATTGAAAAGATGAACACCCA  
 ATTTGAAGCTGTTGGGAAAGAGTTCACTAACTTAGAGAGAAGACTGGAGAAGTTGAACAAAAA  
 GATGGAAGACGGGTTTCTAGATGTGTGGACATACAATGCTGAGCTTCTAGTTCTGATGGAAA  
 ATGAGAGGACACTTGACTTTCATGATTCTAATGTCAAGAATCTGTATGATAAAGTCAGAATGC  
 AGCTGAGAGACAACGTCAAAGAACTAGGAAATGGATGTTTTGAATTTATCACAAATGTGATG  
 ATGAATGCATGAATAGTGTGAAAAACGGGACGTATGATTATCCAAGTATGAAGAAGAGTCTA  
 AACTAAATAGAAATGAAATCAAAGGGGTAAATTTAGCAGCATGGGGGTTTATCAAATCCTTG  
 CCATTTATGCTACAGTAGCAGGTTCTCTGTCACTGGCAATCATGATGGCTGGGATCTCTTTCT  
 GGATGTGCTCCAACGGGTCTCTGCAGTGCAGGATCTGCATATGAGAGCTCTAAGTTAAATG  
 CTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTGTCTTGTAGAAGAGCTTAA  
 TTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGTAAATGTAATTCATTTACA  
 TAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCCTCCATAACTAACTAGACATGAAGACCTGCCGCGTA  
 CAATTGTCTTATATTTGAACAACCTAAAATTTGAACATCTTTTGCCACAACCTTTATAAGTGGTTAAT  
 ATAGCTCAAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCAT  
 TAACAATCAACTTAACGTTATTAACCTACTAATTTTATATCATCCCTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 56

SEQ ID NO: 65

H5 de A/Anhui/1/2005 (H5N1) (Construcción # 781)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATATAAAGTTTAAG  
 TTAGCAAGTGTGTACATTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATT  
 AAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTT  
 GTTGCAACATTTGAGAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGA  
 AAAAGGAAGAGGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAAGTTGTACAAAAGTTGT  
 ACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAAATAAGGGTTAATT  
 GCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCA  
 TTA AAAAGAAAGAATAAATTATTTTTAAATTA AAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTAT  
 TTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTA  
 ATTTGACATTTGATCTTTTCTTATATATTGCCCATAGAGTCAAGTTAACTCATTTTTATATTTTCAT  
 AGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAA AAAAAACGGTATATTTACTA  
 AAAAACTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAAC  
 CAATCACAACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCACATCTACAT  
 TATCTAAATCACACATTCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCAC  
 CCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGA  
 GAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGAGAAAATAGTGCTTCTTCTTGC  
 AATAGTCAGCCTTGTTAAAAGTGATCAGATTTGCATTGGTTACCATGCAAACAACCTCGACAGA  
 GCAGGTTGACACAATAATGGAAAAGAACGTTACTGTTACACATGCCCAAGACATACTGGAAAA  
 GACACACAACGGGAAGCTCTGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTGATTTTAAGAGATTGTA  
 GTGTAGCTGGATGGCTCCTCGGAAACCCAATGTGTGACGAGTTCATCAATGTGCCGGAATGG  
 TCTTACATAGTGGAGAAGGCCAACCAGCCAATGACCTCTGTTACCCAGGGAATTTCAACGA  
 CTATGAAGAACTGAAACACCTATTGAGCAGAATAAACCATTTTGAGAAAATTCAGATCATCCCC  
 AAAAGTTCTTGGTCCGATCATGAAGCCTCATCAGGGGTCAGCTCAGCATGTCCATACCAGGG  
 AACGCCCTCCTTTTTTCAGAAATGTGGTATGGCTTATCAAAAAGAACAATACATACCCAACAATA  
 AAGAGAAGCTACAATAATACCAACCAGGAAGATCTTTTGATACTGTGGGGGATTTCATCATTCT  
 AATGATGCGGCAGAGCAGACAAAGCTCTATCAAAACCCAACCACTATATTTCCGTTGGGACA  
 TCAACACTAAACCAGAGATTGGTACCAAAAATAGCTACTAGATCCAAAGTAAACGGGCAAAGT  
 GGAAGGATGGATTTCTTCTGGACAATTTTAAACCGAATGATGCAATCAACTTCGAGAGTAAT  
 GGAAATTTCAATTGCTCCAGAATATGCATACAAAATTGTCAAGAAAGGGGACTCAGCAATTGTT  
 AAAAGTGAAGTGGAATATGGTAAGTCAATACAAAGTGTCAAACCTCCAATAGGGGGCGATAAAC  
 TCTAGTATGCCATTCCACAACATACACCCTCTCACCATCGGGGAATGCCCAATATGTGAAA  
 TCAACAAATAGTCCTTGCGACTGGGCTCAGAAATAGTCCTCTAAGAGAAAGAAGAAGAAAA  
 AGAGGACTATTTGGAGCTATAGCAGGGTTTATAGAGGGAGGATGGCAGGGGAATGGTAGATGG  
 TTGGTATGGGTACCACCATAGCAATGAGCAGGGGAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAATCCA  
 CTCAAAAGGCAATAGATGGAGTCACCAATAAGGTCAACTCGATCATTGACAAAATGAACACTC  
 AGTTTGAGGCCGTTGGAAGGGAATTTAATAACTTAGAAAGGAGAATAGAGAATTTAAACAAGA  
 AAATGGAAGACGGATTCTAGATGTCTGGACTTATAATGCTGAACCTCTGGTTCTCATGGAAA  
 ATGAGAGAACTCTAGACTTCCATGATTCAAATGTCAAGAACCTTTACGACAAGGTCCGACTAC  
 AGCTTAGGGATAATGCAAAGGAGCTGGGTAACGGTTGTTTCGAGTTCTATCACAAATGTGATA  
 ATGAATGTATGGAAAGTGTAAAGAACGGAACGTATGACTACCCGCAAGTATTGAGAAGAAGCAA  
 GATTA AAAAGAGAGAGGAAATAAGTGGAGTAAAATTGGAATCAATAGGAACTTACCAATACTGT  
 CAATTTATTCAACAGTTGCGAGTTCTTAGCACTGGCAATCATGGTGGCTGGTCTATCTTTGT  
 GGATGTGCTCCAATGGGTCGTTACAATGCAGAAATTTGCATTAAAGAGCTCTAAGTTAAAATGC  
 TTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTGTTCCTGTAGAAGAGCTTAATT  
 AATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGTAAATGTAATTCATTTACATA  
 AGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAACTAGACATGAAGACCTGCCGCGTACA  
 ATTGTCTTATATTTGAACAACATAAATTGAACATCTTTTCCACAACCTTTATAAGTGGTTAATAT  
 AGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCATTAA  
 CAATCAACTTAACGTTATTAATACTACTAATTTTATATCATCCCTTTGATAAATGATAGTACA



Fig. 57

SEQ ID NO: 66

H5 de A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) (Construcción # 782)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAAGTTTAAG  
 TTAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATT  
 AACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTT  
 GTTGCAACATTTGAGAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGA  
 AAAAGGAAGAGGGAGAAATAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAAGTTGTACAAAAGTTGT  
 ACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATT  
 GCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTGGCAAGTCA  
 TTAAGAGAAAAGAATAAATTATTTTTAAATTAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTAT  
 TTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTA  
 ATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTTCA  
 TATCAAAATAAGAGAAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAAGGATATATTTACTA  
 AAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAAC  
 CAATCACAACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCACATCTACAT  
 TATCTAAATCACACATTCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCAC  
 CCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGA  
 GAAGAGACTAATTAATTAATTAATCAATCTTTGAGAGAAAATGGAGAAAATAGTCTCTTTTGC  
 AATAGTCAGTCTTGTTAAAAGTGATCAGATTTGCATTGGTTACCATGCAAACAACCTCGACAGA  
 GCAGGTTGACACAATAATGGAAAAGAAGCTTACTGTTACACATGCCCAAGACATACTGGAAAA  
 GACACACAATGGGAAGCTCTGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTAATTTTGAGAGATTGTAG  
 TGTAGCTGGATGGCTCCTCGGAAACCAATGTGTGACGAGTTCATCAATGTGCCGGAATGGT  
 CTTACATAGTGGAGAAGGCCAATCCAGTCAATGACCTCTGTTACCCAGGGGATTTCATGACT  
 ATGAAGAATTGAAACACCTATTGAGCAGAATAAACCATTTTGAGAAAATTCAGATCATCCCCAA  
 AAGTTCTTGGTCCAGTCATGAAGCCTCATTGGGGGTCAGCTCAGCATGTCCATACCAAGGGA  
 AGTCCTCCTTTTTCAGAAATGTGGTATGGCTTATCAAAAAGAAGTACATACCCAACAATAAA  
 GAGGAGCTACAATAATACCAACCAAGAAGATCTTTTGGTACTGTGGGGGATTCAACATCCTAA  
 TGATGCGGCAGAGCAGACAAAGCTCTATCAAAACCCAACCACCTATATTTCCGTTGGGACATC  
 TACACTAAACCAGAGATTGGTACCAAGAATAGCTACTAGATCCAAAGTAAACGGGCAAGTGG  
 AAGGATGGAGTTCTTCTGGACAATTTTAAACCGAATGATGCAATCAACTTCGAGAGTAATGG  
 AAATTTCAATGCTCCAGAATATGCATACAAATTTGTCAAGAAAGGGGACTCAACAATTATGAAA  
 AGTGAATTGGAATATGGTAAGTGAAGTCAATCAAGTGTCAAACTCCAATGGGGCCAGCAAGCT  
 AGCATGCCATTCCACAATATACACCCTCTCACCATCGGGGAATGCCCAAAATATGTGAAATCA  
 AACAGATTAGTCCTTGGGACTGGGCTCAGAAATAGCCCTCAAAGAGAGAGAGAAGAAGAAAAA  
 GAGAGGATTATTTGGAGCTATAGCAGGTTTTATAGAGGGAGGATGGCAGGGAATGGTAGATG  
 GTTGGTATGGGTACCACCATAGCAACGAGCAGGGGAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAATC  
 CACTCAAAAGGCAATAGATGGAGTCACCAATAAGGTCAACTCGATTATTGACAAAATGAACAC  
 TCAGTTTGAGGCCGTTGGAAGGGAATTTAACTTAGAAAGGAGAATAGAGAATTTAAACAA  
 GAAGATGGAAGACGGGTTCTAGATGTCTGGACTTATAATGCTGAACCTCTAGTTCTCATGGA  
 AAACGAGAGAACTCTAGACTTTTATGACTCAAATGTCAAGAACCTTTACGACAAGGTCCGACT  
 ACAGCTTAGGGATAATGCAAAGGAGCTGGGTAAACGGTTGTTTCGAGTTCTATCATAAATGTGA  
 TAATGAATGTATGGAAAGTGTAAAGAACGGAACGTATGACTACCCGCAGTATTGAGAAGAAGC  
 AAGACTAAAAAGAGAGGAAATAAGTGGAGTAAATTTGGAATCAATAGGAATTTACCAATATTG  
 TCAATTTATTCTACAGTGGCCAGCTCCCTAGCACTGGCAATCATGGTAGCTGGTCTATCCTTA  
 TGGATGTGCTCCAATGGGTCGTTACAATGCAGAATTTGCATTTAAGAGCTCTAAGTTAAATG  
 CTTCTTCGTCCTTATTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTGTTCTTGTAAGAGACTTAA  
 TTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGTAAATGTAATTCATTTACA  
 TAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAAGACATGAAGACCTGCCGCGTA  
 CAATGTCTTATATTTGAACAACATAAATTTGAACATCTTTTGCCACAACCTTTATAAGTGGTTAAT  
 ATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCATT  
 AACAATCAACTTAACGTTATTAAGTACTAATTTTATATCATCCCTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 58

SEQ ID NO: 67

H6 de A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1) (Construcción # 783)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATATAAAGTTTA  
 AGTTAGCAAGTGTGTACATTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCAT  
 TATTAAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACA  
 ATTTTGTGCAACATTTGAGAAAAATTTGTTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGA  
 GAGAGAAAAAGGAAGAGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACA  
 AAAGTTGTACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAA  
 GGGTTAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTT  
 TGGCAAGTCATTA AAAAGAAAGAATAAATTATTTTTAAAAATTAAAAGTTGAGTCATTTGATTAA  
 ACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATT  
 TGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAAC  
 TCATTTTTATATTTCATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAA  
 AAACGGTATATTTACTAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGGAG  
 GATAACATCCAATCCAACCAATCACACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCCACGC  
 ATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATTCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAA  
 ACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGAT  
 TCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAATG  
 ATTGCAATCATTGTAATAGCAATACTGGCAGCAGCCGGAAAGTCAGACAAGATCTGCATTG  
 GGTATCATGCCAACAATTCAACAACACAGGTAGATACGATACTTGAGAAGAATGTGACTGT  
 CACACACTCAATTGAATTGCTGGAAAATCAGAAGGAAGAAAGATTCTGCAAGATATTGAACA  
 AGGCCCTCTCGACTTAAGGGAATGTACCATAGAGGGTTGGATCTTGGGGAATCCCAAT  
 GCGACCTATTGCTTGGTGATCAAAGCTGGTCATACATTGTGGAAAGACCTACTGCTCAAAA  
 CGGGATCTGCTACCCAGGAACCTTAAATGAGGTAGAAGAACTGAGGGCACTTATTGGATCA  
 GGAGAAAGGGTAGAGAGATTTGAGATGTTTCCCAAAGCACCTGGCAAGGAGTTGACACC  
 AACAGTGGAACAACAAGATCCTGCCCTTATTCTACTGGTGCCTCTTTCTACAGAAACCTCCT  
 ATGGATAATAAAAAACCAAGACAGCAGAATATCCAGTAATTAAGGGAATTTACAACAACACTG  
 GAACCCAGCCAATCCTCTATTTCTGGGGTGTGCATCATCCTCCTAACACCGACGAGCAAGA  
 TACTCTGTATGGCTCTGGTGATCGATACGTTAGAATGGGAACCTGAAAGCATGAATTTGCCA  
 AGAGTCCGGAAATTGCGGCAAGGCCTGCTGTGAATGGACAAAGAGGCGAGAATTGATTATTA  
 TTGGTCCGTTTTTAAACCAGGGGAAACCTTGAATGTGGAATCTAATGGAAATCTAATCGCC  
 CCTTGGTATGCATACAAATTTGTCAACACAAATAGTAAAGGAGCCGTCTTCAGGTGAGATTT  
 ACCAATCGAGAAGTGCATGCCACATGCCAGACTATTGCAGGGTTCTAAGGACCAATAAA  
 ACATTTAGAAATGTGAGTCCCTGTGGATAGGAGAATGTCCCAAATACGTGAAAAGTGAAA  
 GTCTGAGGCTTGCAACTGGACTAAGAAATGTTCCACAGATTGAAACTAGAGGACTCTTCGG  
 AGCTATTGCAGGGTTTATTGAAGGAGGATGGACTGGGATGATAGATGGGTGGTATGGCTAT  
 CACCATGAAAATTCTCAAGGGTCAGGATATGCAGCAGACAGAGAAAGCACTCAAAAGGCTG  
 TAAACAGAATTACAAATAAGGTCAATTCATCATCAACAAAATGAACACACAATTTGAAGCTG  
 TCGATCACGAATTTTCAAATCTGGAGAGGAGAATTGACAATCTGAACAAAAGAATGCAAGAT  
 GGATTTCTGGATGTTTGGACATACAATGCTGAACTGTTGGTTCTTCTTGAAAACGAAAGAAC  
 ACTAGACATGCATGACGCAATGTGAAGAACCTACATGAAAAGGTCAAATCACAACTAAGG  
 GACAATGCTACGATCTTAGGGAATGGTTGCTTTGAATTTTGGCATAAGTGTGACAATGAATG  
 CATAGAGTCTGTCAAAAATGGTACATATGACTATCCCAAATACCAGACTGAAAGCAAATTAA  
 ACAGGCTAAAAATAGAATCAGTAAAGCTAGAGAACCTTGGTGTGTATCAAATCTTGCCATT  
 TATAGTACGGTATCGAGCAGCCTAGTGTGGTAGGGCTGATCATGGCAATGGGTCTTTGGA  
 TGTGTTCAAATGTTCAATGCAGTGCAGGATATGTATATAAGAGCTCTAAGTTAAATGCTT  
 CTTGCTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTGTCTTGTAGAAGAGCTTAATT  
 AATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGTAAATGTAATTCATTTACA  
 TAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAACTAGACATGAAGACCTGCCGCG  
 TACAATTGCTTATATTTGAACAACATAAATGAACATCTTTTCCACAACCTTATAAGTGGTT  
 AATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATGATTAATAATGGAATATCAGTTATCGAAAT  
 TCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAATACTAATTTTATATCATCCCTTTGATAAATGATA  
 GTACA

Fig. 59

SEQ ID NO: 68

H9 de A/Hong Kong/1073/99 (H9N2) (Construcción # 785)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATATAAAGTTTAA  
 GTTAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATT  
 TAAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATTTTTGACAACAAT  
 TTTGTTGCAACATTTGAGAAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAG  
 AGAAAAAGGAAGAGGGGAGAATAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAAGTTGTACAAAAG  
 TTGTACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGT  
 TAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCA  
 AGTCATTAAAAAGAAAGAATAAATTTATTTTAAAATTAAAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATG  
 TGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGT  
 CAAATTTAATTGACATTTGATCTTTTCCTATATATTGCCCATAGAGTCAAGTTAACTCATTTT  
 TATATTTTCATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAACAACGG  
 TATATTTACTAAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATAACA  
 TCCAATCCAACCAATCACAACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCCACGCATCTGTG  
 GCACATCTACATTATCTAAATCACACATTCCTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCC  
 ACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAA  
 ACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAAATGGAACAATA  
 TCACTAATAACTATACTACTAGTAGTAACAGCAAGCAATGCAGATAAAATCTGCATCGGCCA  
 CCAGTCAACAACTCCACAGAACTGTGGACACGCTAACAGAAACCAATGTTCTGTGACAC  
 ATGCCAAAGAATTGCTCCACACAGAGCATAATGGAATGCTGTGTGCAACAAGCCTGGGACA  
 TCCCCTCATTCTAGACACATGCACTATTGAAGGACTAGTCTATGGCAACCCTTCTGTGACC  
 TGCTGTTGGGAGGAAGAGAATGGTCCTACATCGTCGAAAGATCATCAGCTGTAATGGAAC  
 GTGTTACCCTGGGAATGTAGAAAACCTAGAGGAACTCAGGACACTTTTTAGTTCCGCTAGTT  
 CCTACCAAAGAATCCAAATCTTCCCAGACACAACCTGGAATGTGACTTACACTGGAACAAGC  
 AGAGCATGTTCAAGTTTCAATTCTACAGGAGTATGAGATGGCTGACTCAAAAGAGCGGTTTTTA  
 CCCTGTTCAAGACGCCCAATACACAAATAACAGGGGAAAGAGCATTCTTTTCGTGTGGGGC  
 ATACATCACCCACCCACCTATACCGAGCAACAAATTTGTACATAAGAAACGACACAACAAC  
 AAGCGTGACAACAGAAGATTTGAATAGGACCTTCAAACCAGTGATAGGGCCAAGGCCCTT  
 GTCAATGGTCTGCAGGGAAGAATTGATTATTATTGTCGGTACTAAAACCAGGCCAAACATT  
 GCGAGTACGATCCAATGGGAATCTAATTGCTCCATGGTATGGACACGTTCTTTCAGGAGGG  
 AGCCATGGAAGAATCCTGAAGACTGATTTAAAAGGTGGTAATTGTGTAGTGCAATGTCAGAC  
 TGAAAAAGGTGGCTTAAACAGTACATTGCCATTCCACAATATCAGTAAATATGCATTTGGAAC  
 CTGCCCCAAATGTAAGAGTTAATAGTCTCAAACCTGGCAGTCGGTCTGAGGAACGTGCCT  
 GCTAGATCAAGTAGAGGACTATTTGGAGCCATAGCTGGATTATAGAAAGGAGGTTGGCCAG  
 GACTAGTCGCTGGCTGGTATGGTTTCCAGCATTCAAATGATCAAGGGGTTGGTATGGCTGC  
 AGATAGGGATTCAACTCAAAAGGCAATTGATAAAATAACATCCAAGGTGAATAATATAGTCGA  
 CAAGATGAACAAGCAATATGAAATAATTGATCATGAATTTAGTGAGGTTGAAACTAGACTCAA  
 TATGATCAATAATAAGATTGATGACCAAATACAAGACGTATGGGCATATAATGCAGAATTGCT  
 AGTACTACTTGAAAAATCAAAAAACACTCGATGAGCATGATGCGAACGTGAACAATCTATATA  
 CAAGGTGAAGAGGGCACTGGGCTCCAATGCTATGGAAGATGGGAAAGGCTGTTTCGAGCTA  
 TACCATAAATGTGATGATCAGTGATGGAAACAATTCGGAACGGGACCTATAATAGGAGAAA  
 GTATAGAGAGGAATCAAGACTAGAAAGGCAGAAAATAGAGGGGGTTAAGCTGGAATCTGAG  
 GGAACCTACAAAATCCTCACCATTTATTCGACTGTGCGCTCATCTCTTGTGCTTGCAATGGG  
 GTTTGCTGCCTTCTGTTCTGGGCCATGTCCAATGGATCTTGCAGATGCAACATTTGTATAT  
 AAGAGCTCTAAGTTAAATGCTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTT  
 TGTTCTTGTAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAAC  
 GGTGTAATTGTAATTCATTACATAAGTGAGTGAGTCAGAATGTTTCCCTCCATACTAATCT  
 AGACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTTGAACAACATAAATTGAACATCTTTT  
 GCCACAACCTTTATAAGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAAT  
 GGAAATATCAGTTATCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAATACTAATTTTATAT  
 CATCCCCCTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 60

SEQ ID NO: 69

H3 de A/Brisbane/10/2007 (H3N2)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAGTTTAAGT  
 TAGCAAGTGTGTACATTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTAA  
 ACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGTT  
 GCAACATTTGAGAAAAATTTGTTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAA  
 GGAAGAGGGAGAAATAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAA  
 AATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTA  
 AATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCATTAAAAAG  
 AAAGAATAAATTATTTTTAAAATTAAGGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAAT  
 TGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATT  
 TGATCTTTTCCTATATATTGCCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTATATTTTCATAGATCAAATA  
 AGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAACAACGGTATATTTACTAAAAAATCTAAG  
 CCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACAACAA  
 TCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACA  
 CATTCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAA  
 ATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAA  
 TTAATTAATCATCTTGAGAGAAAAATGAAGACTATCATTGCTTTGAGCTACATTCTATGTCTGGTT  
 TTCACTCAAAAACCTCCCGGAAATGACAACAGCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCA  
 GTACCAACGGAACGATAGTGAAAACAATCACGAATGACCAAAATTGAAGTTACTAATGCTACTG  
 AGCTGGTTTCAGAGTTCCTCAACAGGTGAAATATGCGACAGTCTCATCAGATCCTTGATGGAG  
 AAACTGCACACTAATAGATGCTCTATTGGGAGACCCTCAGTGTGATGGCTTCCAAAAAAGAA  
 ATGGGACCTTTTTGTTGAACGCAGCAAAGCCTACAGCAACTGTTACCCTTATGATGTGCCGGAT  
 TATGCCTCCCTTAGGTCAGTAGTTGCCTCATCCGGCACACTGGAGTTTAACAATGAAAGTTTCA  
 ATTGGACTGGAGTCACTCAAAACGGAACAAGCTCTGCTTGCATAAGGAGATCTAATAACAGTTT  
 CTTTAGTAGATTGAATTGGTTGACCCACTTAAATTCAAATACCCAGCATTGAACGTGACTATGC  
 CAAACAATGAAAAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTCACCACCCGGGTACGGACAATGA  
 CCAATCTTCTCCTGTATGCTCAAGCATCAGGAAGAATCACAGTCTCTACCAAAAGAAGCCAACAA  
 ACTGTAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGAGTAAGGAATATCCCCAGCAGAATAAGCATCT  
 ATGGGACAATAGTAAACCGGGAGACATACTTTTGATTAAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCC  
 TAGGGGTTACTTCAAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGG  
 CAAATGCAATTCTGAATGCATCACTCCAAACGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTCAAAAAT  
 GTAAACAGGATCACATACGGGGCCTGTCCAGATATGTTAAGCAAAACACTCTGAAATTGGCA  
 ACAGGGATGCGAAATGTACCAGAGAAAAACAACCTAGAGGCATATTTGGCGCAATCGCGGGTTTC  
 ATAGAAAAATGGTTGGGAGGGAATGGTGGATGGTTGGTATGGTTTCAGGCATCAAAATCTGAG  
 GGAATAGGACAAGCAGCAGATCTCAAAAGCACTCAAGCAGCAATCGATCAAATCAATGGGAAG  
 CTGAATAGGTTGATCGGGAAAACCAACGAGAAATTCCATCAGATTGAAAAAGAGTTCTCAGAAG  
 TCGAAGGGAGAAATCCAGGACCTTGAGAAATATGTTGAGGACACCAAAATAGATCTCTGGTCAT  
 ACAACGCGGAGCTTCTTGTGCCCCTGGAGAACCAACATACAATTGATCTAACTGACTCAGAAAT  
 GAACAAACTGTTTGAAAAAACAAGGAAGCAACTGAGGGAAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGG  
 TTGTTTCAAAATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATAGGATCAATCAGAAATGGAACCTATG  
 ACCACGATGTATACAGAGATGAAGCATTAAACAACCGGTTCCAGATCAAGGGCGTTGAGCTGA  
 AGTCAGGATACAAAGATTGGATACTATGGATTTCTTTGCCATATCATGTTTTTGTCTTTGTGTT  
 GCTTTGTTGGGGTTCATCATGTGGGCCTGCCAAAAAGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTT  
 GAGAGCTCTAAGTTAAATGCTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTG  
 TTCTTGTAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGT  
 GTAATGTAATTCATTTACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAGTAGACA  
 TGAAGACCTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTTGAACAACCTAAAATTGAACATCTTTTGCCACAA  
 CTTTATAAGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCA  
 GTTATCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTACTACTAATTTTATATCATCCCTTTGA  
 TAAATGATAGTACA



**Fig. 61**

**SEQ ID NO: 70**

**H3 de A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)**

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTATATGTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAGTTTAA  
GTTAGCAAGTGTGTACATTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATT  
TAAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAAT  
TTTGTGGAACATTTGAGAAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAG  
AGAAAAAGGAAGAGGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAG  
TTGTACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGT  
TAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTGGCA  
AGTCATTAAGAAAGAAAGAAATAAATTTATTTTAAATTAAGTTGAGTCAATTTGATTAACATGT  
GATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTC  
AAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTT  
TATTTCATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAAAAAAAAACGGTAT  
ATTTACTAAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATAACATCC  
AATCCAACCAATCACACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCA  
CATCTACATTATCTAAATCACACATTCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACA  
TCTTTATACCCCAATCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCTTCAAACA  
CATACAAGAGAGAAGAGACTAATTAATTAATCAATCTTGAGAGAAAAAGGAAGACTATCATT  
GCTTTGAGCTACATTGCTATGTCTGGTTTTCACTCAAAAACCTCCCGGAATGACAACAGCAC  
GGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGGAACGATAGTGAAAACAATCACG  
AATGACCAAATTTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTTCAGAGTTCTCAACAGGTGGAAT  
ATGCGACAGTCTCTCATCAGATCCTTGATGGAGAAAACCTGCACACTAATAGATGCTCTATTGG  
GAGACCCTCAGTGTGATGGCTTCCAAAATAAGAAATGGGACCTTTTGTGTAACGCAGCAAA  
GCCTACAGCAACTGTTACCCCTATGATGTGCCGGATTATGCCTCCCTTAGGTCAGTGTGC  
CTCATCCCGGCACACTGGAGTTTAAAGCATGAAAGTTTCAATTTGACTGGAGTCACCTCAAAATG  
GAACAAGCTCTGCTTGCAAAAAGGAGATCTAATAACAGTTTCTTTAGTAGATTGAATTTGGTTGA  
CCCACCTTAAATTCAAATACCCAGCATTGAACGTGACTATGCCAAACAATGAAAAATTTGACA  
AATTGTACATTTGGGGGGTTTACCACCCGGGTACGGACAATGACCAAATCTTCTGCGATGCT  
CAAGCATCAGGAAGAATCACAGTCTCTACCAAAGAAGCCAACAACTGTAATCCCGAATAT  
CGGATCTAGACCCAGAATAAGGAATATCCCCAGCAGAATAAGCATCTATTGGACAATAGTAA  
AACCGGGAGACATACTTTTGATTAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGGGGTTACTTC  
AAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAATTC  
TGAATGCATCACTCCAAATGGAAGCATTTCCCAATGACAAACCAATTTCAAATGTAACAGGAT  
CACATATGGGGCCTGTCCCAGATATGTTAAGCAAAACACTCTGAAATTTGGCAACAGGGATGC  
GAAATGTACCAGAGAAACAAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATCGCGGGTTTCATAGAAAAT  
GGTTGGGAGGGAATGGTGGATGGTTGGTACGGTTTCAGGCATCAAAATTTCTGAGGGAATAG  
GACAAGCAGCAGATCTCAAAAGCACTCAAGCAGCAATCAATCAATCAATGGGAAGCTGAAT  
AGGTTGATCGGGAAAACCAACGAGAAATTCATCAGATTGAAAAAGAGTTCTCAGAAGTAGA  
AGGGAGAATCCAGGACCTCGAGAAATATGTTGAGGACACTAAAATAGATCTCTGGTCATACA  
ACGCGGAGCTTCTTGTGTCCTGGAGAACCAACATACAATTGATCTAACTGACTCAGAAATG  
AACAAACTGTTTGAAGGAACAAAGAAGCAACTGAGGGAAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGG  
TTGTTTCAAAATATACCAAAATGTGACAATGCCTGCATAGGATCAATCAGAAATGGAACCTTA  
TGACCATGATGTATACAGAGATGAAGCATTAACCAACCGGTTCCAGATCAAGGCGCTTGAGC  
TGAAGTCAGGATACAAAGATTGGATACTATGGATTTCTTTGCCATATCATGTTTTTTGCTTT  
GTGTTGCTTTGTTGGGGTTTCATCATGTGGGCCTGCCAAAAGGCAACATTAGGTGCAACATT  
TGCATTTGAGAGCTCTAAGTTAAAATGCTTCTTCTGCTCCTATTTATAATATGGTTTGTTATTG  
TTAATTTTGTCTTGTAGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAG  
ATGAACTGGTGTAAATGTAATTCATTTACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATA  
ACTAACTAGACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTTGAACAACATAAAATTTGAAC  
ATCTTTTGCCACAACCTTTATAAGTGTTTATATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATT  
ATAATGGAAATCATCAGTTTATCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAACCTACTAATTT  
TATATCATCCCTTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 62

SEQ ID NO: 71

H7 de A/Equino/Praga/56 (H7N7)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAAGTTTAAG  
 TTAGCAAGTGTGTACATTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATT  
 AAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTT  
 GTTGCAACATTTGAGAAAAATTTGTTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGA  
 AAAAGGAAGAGGGGAGAATAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGT  
 ACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATT  
 GCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCA  
 TTA AAAAGAAAGAATAAATTATTTTTAAAATTTAAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTAT  
 TTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTA  
 ATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTCA  
 TAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAAAAAAAAACGGTATATTTACT  
 AAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAA  
 CCAATCACAAACATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCCACGCATCTGTGGCACATCTACA  
 TTATCTAAATCACACATTCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCA  
 CCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAG  
 AGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAACACTCAAATCTAATATTAG  
 CCACTTCGGCATTCTTCTATGTACGTGCAGATAAAATCTGCCTAGGACATCATGCTGTGTCTA  
 ATGGAACCAAAGTAGACACCCTTACTGAAAAAGGAATAGAAGTTGTCAATGCAACAGAAACAG  
 TTGAACAAACAAACATCCCTAAGATCTGCTCAAAAGGAAAACAGACTGTTGACCTTGGTCAAT  
 GTGGATTACTAGGGACCGTTATTGGTCCTCCCAATGTGACCAATTTCTTGAGTTCTCTGCTA  
 ATTTAATAGTTGAAAGAAGGGAAGGTAATGACATTTGTTATCCAGGCAAATTTGACAATGAAGA  
 AACATTGAGAAAAATACTCAGAAATCCGGAGGAATTTAAAGGAGAATATGGGATTCACATA  
 TACCGGAGTGAGAACCAATGGAGAGACTAGCGCATGTAGAAGGTCAAGATCTTCTTTTATG  
 CAGAGATGAAATGGCTTCTATCCAGCACAGACAATGGGACATTTCCACAAATGACAAAGTCCT  
 ACAAGAACACTAAGAAGGTACCAGCTCTGATAATCTGGGGAATCCACCACTCAGGATCAACT  
 ACTGAACAGACTAGATTATATGGAAGTGGGAATAAATTGATAACAGTTTGGAGTTCCAAATAC  
 CAACAATCTTTGTCCCAATCCTGGACCAAGACCGCAAATGAATGGTCAATCAGGAAGAATT  
 GACTTTCACTGGCTGATGCTAGATCCCAATGATACTGTCACTTTCACTTTTAAATGGGGCCTTT  
 ATAGCACCTGACCGCGCCAGTTTTCTAAGAGGTAAATCTCTAGGAATCCAAAGTGATGCACAA  
 CTTGACAATAATTGTGAAGGTGAATGCTATCATATTGGAGGTACTATAATTAGCAACTTGCCCT  
 TTCAAAACATTAATAGTAGGGCAATCGGAAAATGCCCCAGATACGTGAAGCAGAAGAGCTTAA  
 TGCTAGCAACAGGAATGAAAAATGTTCTGAAGCTCCTGCACATAAACAACCTAATCATCACA  
 TGCGCAAAAAAAGAGGTTTATTTGGTGAATAGCAGGATTCATTGAAAATGGGTGGGAAGGAT  
 TAATAGACGGATGGTATGGATATAAGCATCAGAATGCACAAGGAGAAGGGACTGCTGCAGAC  
 TACAAAAGTACACAATCTGCTATCAACCAAATAACCGGAAAATTGAACAGACTAATAGAAAAAA  
 CCAACCAGCAATTCGAACTAATAGATAATGAGTTCAATGAAATAGAAAAACAAATTGGCAATGT  
 TATTAATCTGGACTAGAGATTCTATCATCGAAGTATGGTCATATAATGCAGAGTTCTCTGTCAGC  
 AGTGGAGAATCAACACACTATTGATTTAACTGACTCAGAAATGAACAACTATATGAAAAGGTA  
 AGAAGACAACTGAGAGAAAATGCTGAGGAAGATGGTAATGGCTGTTTTGAAATATTCCACCAA  
 TGTGACAATGATTGCATGGCCAGCATTAGAAACAACACATATGACCATAAAAAATACAGAAAA  
 GAGGCAATACAAAACAGAATCCAGATTGACGCAGTAAAGTTGAGCAGTGGTTACAAAGATATA  
 ATACTTTGGTTTAGCTTCGGGGCATCATGTTTCTTATTTCTTGCCATTGCAATGGGTCTTGT  
 TCATATGTATAAAAAATGGAACATGCGGTGCACATTTGTATATAAGAGCTCTAAGTTAAAAAT  
 GCTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGTTTGTATTGTTAATTTTGTCTTGTAGAAGAGCTTA  
 ATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAAGTGGTGAATGTAATTCATTAC  
 ATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAAGTACATGAAGACCTGCCGCGT  
 ACAATTGTCTTATATTTGAACAACTAAAAATTGAACATCTTTTGCCACAACCTTTATAAGTGGTTAA  
 TATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCAT  
 TAACAATCAACTTAACGTTATTAATACTACTAATTTTATATCATCCCCTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 63

SEQ ID NO: 72

HA de B/Malasia/2506/2004

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAGTTTAAG  
 TTAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTA  
 AACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGT  
 TGCAACATTTGAGAAAAATTTGTTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAA  
 AGGAAGAGGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACC  
 AAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTG  
 TAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCATTAAA  
 AAGAAAGAATAAATTATTTTTAAAATTAAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAAT  
 GAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTG  
 ACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCATAGAGTCAAGTTAACTCATTTTTATATTTCATAGATC  
 AAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAACAACGGTATATTTACTAAAAAAT  
 CTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCAC  
 AACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAA  
 TCACACATTCTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTAT  
 AAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACT  
 AATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAAATGAAGGCAATAATTGTACTACTCATGGTAGTAACA  
 TCCAATGCAGATCGAATCTGCACTGGGATAACATCGTCAAACCTCACCACATGTTGTCAAACCTG  
 CTAATCAAGGGGAGGTCAATGTGACTGGTGTAAATACCACTGACAACAACACCCACCAATCTC  
 ATTTTGCAAATCTCAAAGGAACAGAAACCAGAGGGAAACTATGCCCAAATGCCTCAACTGCA  
 CAGATCTGGACGTGGCCTTGGGCAGACCAAAATGCACGGGGAACATACCTCGGCAAGAGTT  
 TCAATACTCCATGAAGTCAGACCTGTTACATCTGGGTGCTTTCTTATAATGCACGACAGAACAA  
 AAATTAGACAGCTGCCTAACTTCTCAGAGGATACGAACATATCAGGTTATCAACTCATAACGT  
 TATCAATGCAGAAAATGCACCAGGAGGACCCTACAAAATTGGAACCTCAGGGTCTTGCCCTAA  
 CGTTACCAATGGAAACGGATTTTTTCGAACAATGGCTTGGGCCGTCCCAAAAAACGACAACAA  
 CAAAACAGCAACAAATTCATTAACAATAGAAGTACCATACATTTGTACAGAAGGAGAAGACCAA  
 ATTACCGTTTGGGGGTTCCACTCTGATAACGAAACCCAAATGGCAAAGCTCTATGGGGACTCA  
 AAGCCCCAGAAGTTCACCTCATCTGCCAACGGAGTGACCACACATTACGTTTCACAGATTGGT  
 GGCTTCCCAAATCAAACAGAAGACGGAGGACTACCACAAAGCGGTAGAAATTGTTGTTGATTAC  
 ATGGTGCAAAAATCTGGGAAAACAGGAACAATTACCTATCAAAGAGGTATTTTATTGCCTCAA  
 AAGTGTGGTGCGCAAGTGGCAGGAGCAAGGTAATAAAAGGATCGTTGCCTTTAATTGGAGAAG  
 CAGATTGCCTCCACGAAAAATACGGTGGATTAACAAAAGCAAGCCTTACTACACAGGGGGAAC  
 ATGCAAAGGCCATAGGAAATTGCCAATATGGGTGAAAACACCCTTGAAGCTGGCCAATGGAA  
 CCAATATAGACCTCCTGCAAACTATTAAGGAAAGGGGTTTCTTCGGAGCTATTGCTGGTTT  
 CTTAGAAGGAGGATGGGAAGGAATGATTGCAGGTTGGCACGGATACACATCCCATGGGGCAC  
 ATGGAGTAGCGGTGGCAGCAGACCTTAAGAGCACTCAAGAGGCCATAAACAAGATAACAAAAA  
 ATCTCAACTCTTTGAGTGAGCTGGAAGTAAAGAATCTTCAAAGACTAAGCGGTGCCATGGATG  
 AACTCCACAACGAAATACTAGAACTAGACGAGAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGATACAATAA  
 GCTCACAAATAGAAGTCCGAGTCCTGCTTCCAATGAAGGAATAATAACAGTGAAGATGAGC  
 ATCTCTTGGCGCTTGAAAGAAAGCTGAAGAAAATGCTGGGCCCTCTGCTGTAGAGATAGGGA  
 ATGGATGCTTTGAAACCAACACAAGTGCAACCGACCTGTCTCGACAGAATAGCTGCTGGTA  
 CCTTGATGCAGGAGAATTTTCTCTCCCACTTTTGATTCACTGAATATTACTGCTGCATCTTTA  
 AATGACGATGGATTGGATAATCATACTATACTGCTTTACTACTCAACTGCTGCCTCCAGTTTGG  
 CTGTAACATTGATGATAGCTATCTTTGTTGTTTATATGGTCTCCAGAGACAATGTTTCTTGCTCC  
 ATCTGTCTATAAGAGCTCTAAGTTAAATGCTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATT  
 GTTAATTTTGTCTTGTAGAAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGA  
 TGAAGTGGTGAATGTAATTCATTTACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCCTCCATAACT  
 AACTAGACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTTGAACAACATAAATTGAACATCTT  
 TTGCCACAACCTTTATAAGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAAT  
 GGAAATATCAGTTATCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAATACTACTAATTTTATATCA  
 TCCCTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 64

SEQ ID NO: 73

HA de B/Florida/4/2006

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAGTTTAAAGT  
 TAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTAA  
 ACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGTT  
 GCAACATTTGAGAAAATTTTGTTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAA  
 GGAAGAGGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAA  
 AATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTA  
 AATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCATTAAAAAG  
 AAAGAATAAATTATTTTTAAAATTTAAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAAT  
 TGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATT  
 TGATCTTTTCTATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTTCATAGATCAAATA  
 AGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAACAACGGTATATTTACTAAAAAATCTAAG  
 CCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACAAACAA  
 TCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACA  
 CATTCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAA  
 ATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAA  
 TTAATTAATCATCTTGAGAGAAAAATGAAGGCAATAATTGTACTACTCATGGTAGTAACATCCAAT  
 GCAGATCGAATCTGCACTGGAATAACATCTTCAAACCTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCCACTC  
 AAGGGGAGGTCAATGTGACTGGTGTGATACCCTAACAAACACCAACAAATCTTATTTTGC  
 AAATCTCAAAGGAACAAGGACCAGAGGGAACTATGCCCAGACTGTCTCAACTGCACAGATCT  
 GGATGTGGCTTTGGGCAGACCAATGTGTGTGGGGACCACACCTTCGGCGAAGGCTTCAATAC  
 TCCACGAAGTCAAACCTGTTACATCCGGGTGCTTTCTATAATGCACGACAGAACAAAAATCAG  
 GCAACTACCCAATCTTCTCAGAGGATATGAAAATATCAGGCTATCAACCCAAAACGTCATCGAT  
 GCGGAAAAGGCACCAGGAGGACCCTACAGACTTGGAACCTCAGGATCTTGCCCTAACGCTAC  
 CAGTAAGAGCGGATTTTTCGCAACAATGGCTTGGGCTGTCCCAAAGGACAACAACAAAAATGC  
 AAGAAACCCACTAACAGTAGAAGTACCATAACATTTGTACAGAAGGGGAAGACCAATCACTGTT  
 TGGGGGTTCCATTTCAGATAACAAAACCCAAATGAAGAACCCTCTATGGAGACTCAAATCCTCAA  
 AGTTCACCTCATCTGCTAATGGAGTAACCACACACTATGTTTCTCAGATTGGCAGCTTCCCAGA  
 TCAAACAGAAGACGGAGGACTACCACAAAGCGGCAGGATTGTTGTTGATTACATGATGCAAAA  
 ACCTGGGAAAACAGGAACAATTGTCTACCAAGAGGTGTTTTGTTGCCTCAAAGGTGTGGTG  
 CGCGAGTGGCAGGAGCAAAGTAATAAAAGGGTCCTTGCCTTAATTGGTGAAGCAGATTGCCT  
 TCATGAAAAATACGGTGGATTAAACAAAAGCAAGCCTTACTACACAGGAGAACATGCAAAAGCC  
 ATAGGAAATGCCCAATATGGGTGAAAACACCTTTGAAGCTCGCCAATGGAACCAATATAGAC  
 CTCCTGCAAAACTATTAAAGGAAAGGGGTTTCTCGGAGCTATTGCTGGTTTCTAGAAGGAG  
 GATGGGAAGGAATGATTGCAGGCTGGCACGGATACACATCTCACGGAGCACATGGAGTGGCA  
 GTGGCGGCGGACCTTAAGAGTACGCAAGAAGCTATAAACAAGATAACAAAAAATCTCAATTCTT  
 TGAGTGAGCTAGAAGTAAAGAATCTTCAAAGACTAAGTGGTGCCATGGATGAACTCCACAACG  
 AAATACTCGAGCTGGATGAGAAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGACACTATAAGCTCGCAATAG  
 AACTTGCAGTCTTGCTTTCCAACGAAGGAATAATAACAGTGAAGATGAGCATCTATTGGCACT  
 TGAGAGAAAACATAAGAAAATGCTGGGTCCCTCTGCTGTAGAGATAGGAAATGGATGCTTCGA  
 AACCAACACAAGTGCAACCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAGG  
 AGAATTTTCTCTCCCCACTTTTGATTCACTGAACATTACTGCTGCATCTTTAAATGATGATGGAT  
 TGGATAACCATACTATACTGCTCTATTACTCAACTGCTGCTTCTAGTTTGGCTGTAACATTGATG  
 CTAGCTATTTTTATTGTTTATATGGTCTCCAGAGACAACGTTTCATGCTCCATCTGTCTATAAGA  
 GCTCTAAGTTAAATGCTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTGTCT  
 TGTAGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGTA  
 TGTAATTCATTACATAAGTGGAGTCAGAAATCAGAATGTTTCCCTCCATAACTAAGTACATGAA  
 GACCTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTTGAACAACATAAATTGAACATCTTTGCCACAACCTT  
 ATAAGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAAATGGAATATCAGTTA  
 TCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAATACTAATTTTATATCATCCCCTTTGATAAA  
 TGATAGTACA



Fig. 65

Consenso de las SEQ ID NOs: 49, 48, 33 y 9

SEQ ID NO: 74

MK(X<sub>1</sub>)KLLVLLCTFTATYADTICIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTHSVNLL  
 E(X<sub>2</sub>)SHNGKLCLLKGIAPLQLGNCSVAGWILGNPECELLIS(X<sub>3</sub>)ESWSYIVE(X<sub>4</sub>)P  
 NPENGTCYPG(X<sub>5</sub>)FADYEELREQLSSVSSFERFEIFPKESSWPNHT(X<sub>6</sub>)TGVSA  
 SCSHNG(X<sub>7</sub>)SSFY(X<sub>8</sub>)NLLWLTGKNGLYPNLSKSY(X<sub>9</sub>)NNKEKEVLVLWGVHHPPN  
 IG(X<sub>10</sub>)Q (X<sub>11</sub>)ALYH(X<sub>12</sub>)ENAYVSVVSSHYSR(X<sub>13</sub>)FTPEIAKRPKVRDQEGRINYWTLL  
 EPGDTIIFEANGNLIAP(X<sub>14</sub>)YAFALSRGFGSGII(X<sub>15</sub>)SNAPMD(X<sub>16</sub>)CDAKCQTPQG  
 AINSSLPFQNVHPVTIGECPKYVRSACLRLMVTGLRNIPSIQSRGLFGAIA  
 GFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSQGYAADQKSTQNAINGITNKVNSVIE  
 KMNTQFTAVGKEFNKLERRMENLNKKVDDGF(X<sub>17</sub>)DIWTYNAELLVLLNERT  
 LDFHDSNVKNLYEKVKSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCN(X<sub>18</sub>)ECMESVKNGTY  
 DYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMGVYQILAIYSTVASSLVLLVSLGAIS  
 FWMCSNGSLQCRICI

**Fig. 66**

SEQ ID NO: 75

MKAKLLVLLCTFTATYADTICIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTHSVNLLED SHNGKLCCLKGIA  
 PLQLGNCSVAGWILGNPECELLISKESWSYIVETPNPENGTCYPGYFADYEELREQLSSVSSFERFEIF  
 PKESSWPNHVTGVSASC SHNGKSSFYRNLLWLTGKNGLYPNLSKSYVNNKEEVLVLWGVHHPNI  
 GNQRALYHTENAYVSVSSHYSRRFTPEIAKRPKVRDQEGRINYWTLEPGDTIIFEANGNLIAPWYAFALS  
 RGFSGGIITSNAPMDECDAKCQTPQGAINSSLPFQNVHPVTIGECPKYVRS AKLRMTGLRNIPSIQSRG  
 LFGAIAGFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADQKSTQNAINGITNKVNSVIEKMNTQFTAVGK  
 EFNKLERRMENLNKKVDDGFLDIWTYNAELLVLENER TLD FHD SNVKNLYEKVKSQ LKNNAKEIGNGCFEF  
 YHKCNNECMESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMGVYQILAIYSTVASSLVLLVSLGAISFWMC  
 SNGSLQCRICI

**Fig. 67**

SEQ ID NO: 76

MSLLTEVETYVLSIIPSGPLKAEIAQRLEDVFAGKNTDLEVLMEWLKTRPILSPLTKGILGFVFTLTVPS  
ERGLQRRRFVQNALNGNGDPNNMDKAVKLYRKLKREITFHGAKEISLSYSAGALASCMGLIYNRMGAV  
TTEVAFGLVCATCEQIADSQHRSHRQMVTNTNPLIRHENRMVLASTTAKAMEQMAGSSEQAAEAMEVAS  
QARQMVMAMRTIGTHPSSSAGLKNLLENLQAYQKRMGVQMQRFK