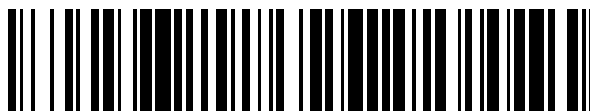


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 465 165**

51 Int. Cl.:

C12N 15/85 (2006.01)

A61K 39/21 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.11.2006** **E 06820870 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.03.2014** **EP 1945777**

54 Título: **Sistema de expresión que incorpora una secuencia promotora de la cápsida como potenciador de un promotor de citomegalovirus**

30 Prioridad:

08.11.2005 ZA 200509036

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

05.06.2014

73 Titular/es:

**SOUTH AFRICAN MEDICAL RESEARCH
COUNCIL (50.0%)**

**Francie van Zijl Drive Parow
7925 Cape Town, ZA y
UNIVERSITY OF CAPE TOWN (50.0%)**

72 Inventor/es:

**RYBICKI, EDWARD PETER y
TANZER, FIONA LESLEY**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 465 165 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

Sistema de expresión que incorpora una secuencia promotora de la cápsida como potenciador de un promotor de citomegalovirus

Antecedentes de la invención

- 5 La invención describe un nuevo elemento de expresión potenciador/promotor compuesto de mamífero.

El elemento potenciador/promotor inmediato/temprano de citomegalovirus (Pcmv) es actualmente el elemento promotor de mamífero más fuerte que se conoce, y como tal pone un límite más alto a la expresión de transgenes en los sistemas *in vitro* e *in vivo*.

- 10 Por lo tanto, sería deseable poder incluir otro elemento más en un vector que permita alcanzar una mayor expresión del transgén.

Compendio de la invención

De acuerdo con una primera realización de la invención, se da a conocer un procedimiento *in vitro* para la estimulación de la expresión de un transgén en una célula hospedadora, en donde el procedimiento incluye las etapas de:

- 15 insertar una secuencia de un elemento promotor de la cápsida (Pcap) o de un complemento inverso de la misma (PcapR) que es al menos idéntica al 80% a alguna de las secuencias seleccionadas entre las SEQ ID n.º 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22 y 24 en un casete de expresión de mamífero por delante (en 5') de un promotor inmediato/temprano de citomegalovirus (Pcmv) o de un elemento promotor del SV40;

- 20 insertar el transgén en el casete de expresión por detrás (en 3') del elemento promotor de citomegalovirus o del elemento promotor del SV40;

insertar el casete de expresión en la célula hospedadora; y

hacer que se exprese el transgén.

Se puede introducir un intrón de citomegalovirus por detrás (en 3') del Pcmv y se puede introducir un sitio de poliadenilación de la hormona de crecimiento bovina (poliA de la bgh) detrás (en 3') del transgén.

- 25 El transgén se expresa típicamente en más cantidad que cuando se expresa en el casete de expresión sin las secuencias Pcap o PcapR.

- 30 El elemento promotor de la cápsida o el complemento inverso del mismo puede ser de un circovirus tal como el circovirus porcino de tipo 1 (PCV-1), el circovirus porcino de tipo 2 (PCV-2), el virus de la enfermedad del pico y las plumas (BFDV), el circovirus del canario, el circovirus de los colúmbidos, el circovirus del pato, el circovirus del pinzón, el circovirus del ganso y el circovirus de la gaviota, o un elemento equivalente de un parvovirus o de un anelovirus.

El elemento promotor de la cápsida o un complemento inverso del mismo se puede localizar adyacente al promotor inmediato/temprano de citomegalovirus, o alternativamente se puede localizar hasta 1100 pares de bases por delante (en 5') del promotor inmediato/temprano de citomegalovirus.

- 35 La célula hospedadora puede ser una línea celular de mamífero para la expresión del transgén *in vitro*.

De acuerdo con una segunda realización de la invención, se da a conocer un casete de expresión de mamífero que incluye:

un elemento promotor inmediato/temprano de citomegalovirus (Pcmv) o un elemento promotor del SV40; y

- 40 una secuencia del elemento promotor de la cápsida (Pcap) o un complemento inverso (PcapR) de la misma localizada por delante (en 5') del elemento promotor de citomegalovirus o de un elemento promotor del SV40, en donde la secuencia de Pcap o de PcapR es al menos idéntica al 80% a alguna de las secuencias seleccionadas de SEQ ID n.º 1-18, 21, 22 y 24.

Se puede introducir un transgén en el casete de expresión por detrás (en 3') del promotor de CMV.

- 45 El casete de expresión puede ser capaz de expresar el transgén en más cantidad que un casete de expresión similar que no incluye las secuencias de Pcap ni de PcapR.

El elemento promotor de la cápsida o el complemento inverso del mismo puede ser de un circovirus tal como el circovirus porcino de tipo 1 (PCV-1), el circovirus porcino de tipo 2 (PCV-2), el virus del pico y las plumas (BFDV), el circovirus del canario, el circovirus de los colúmbidos, el circovirus del pato, el circovirus del pinzón, el circovirus del ganso y el circovirus de la gaviota, o un elemento equivalente de un parvovirus tal como el parvovirus canino o un anelovirus tal como el virus torque teno y el minivirus torque teno.

La secuencia de Pcap o PcapR puede ser al menos idéntica al 80%, más preferiblemente idéntica al menos al 90% e incluso más preferiblemente al menos al 95%, e incluso más preferiblemente idéntica al 100%, a alguna de las SEQ ID n.º 1 a 18, 21, 22 o 24.

De acuerdo con otro aspecto de la invención, se da a conocer un vector que incluye el casete de expresión que se describe más arriba.

El vector o casete de expresión se puede introducir en una célula hospedadora, que puede ser una línea celular de mamífero para la expresión *in vitro* del transgén o una célula de un organismo hospedador de mamífero para la expresión *in vivo* del transgén.

De acuerdo con otro aspecto de la invención, se da a conocer una célula hospedadora transformada con el vector o el casete de expresión que se describe más arriba.

De acuerdo con otra realización de la invención, se da a conocer una vacuna de ADN que incluye un vector o casete de expresión que se describe más arriba.

De acuerdo con otra realización de la invención, se da a conocer una composición farmacéutica que incluye el vector o casete de expresión que se describe más arriba.

De acuerdo con otra realización de la invención, se da a conocer el uso de un vector de ADN según se describe más arriba en un procedimiento para la fabricación de un medicamento para ser usado en un procedimiento para el tratamiento de una enfermedad.

La composición farmacéutica o vacuna de ADN se puede utilizar para el tratamiento terapéutico o preventivo de una enfermedad o infección, tal como el VIH y/o el sida. Así pues, se da a conocer una composición farmacéutica según se describe en la presente memoria para ser usada en el tratamiento del VIH o del sida.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1: clonación de las construcciones iniciales del vector que contienen PCV-1 y de las construcciones que contienen Pcap y PcapR:

(a) Descripción del genoma circular nativo del circovirus porcino de tipo 1 (PCV-1); genoma linealizado del PCV-1 con el gen de la cápsida, con la adición de los sitios de restricción de Spe I en los extremos; pTHRep(R)grttnC, en donde el genoma linealizado de PCV-1 está clonado inmediatamente delante, en 5', del Pcmv (CMV I/E Pr);

(b) Descripción lineal de las regiones relevantes de los plásmidos pTHRepRgrttnC, pTHPcapgrttnC y pTHPcapRgrttnC, que ilustra las posiciones y orientaciones relativas, con respecto a Pcmv y grttnC, que tiene la secuencia clonada de 184 pb que contiene el Pcap.

Figura 2: demostración de que los vectores que contienen PCV-1 no se replican en las células de mamífero: cuantificación por PCR en tiempo real del plásmido digerido con DpnI e intacto extraído de las células 293 de 1 a 3 días posteriores a la transfección (dpt):

(a) Células 293 transfectadas con pTHgrttnC, pTHRepgrttnC o pTHRepRgrttnC, con o sin la adición del plásmido pcDNARep (expresa las proteínas Rep y Rep' de PCV-1 gracias al Pcmv y es posible que transreplice los ADN circulares que contienen el origen de replicación de PCV-1, según pTHRepgrttnC y pTHRepRgrttnC). El ADN se extrajo de las células transfectadas 48 h después de la transfección. Los resultados demuestran que los plásmidos que contienen el PCV-1 ni se replican ni se pueden transreplicar a partir de pcDNARep.

(b) Células 293 transfectadas con pCI y pCIPCV (los plásmidos originales se recibieron de LSBC, y se presupone que son capaces de replicarse). Los resultados demuestran que al igual que el plásmido parental no replicativo, pCI, el plásmido que contiene el PCV-1, el pCIPCV, no se replica en las células 293.

Figura 3: Demostración de que *Prep* estimula la expresión desde Pcmv, y que no interviene la replicación del plásmido:

La delección del intrón del gen *rep* estimula la expresión a lo largo de pTHgrttnC, a pesar de que se ha perdido la capacidad para hacer que la proteína Rep completa reprima a *Prep*. La delección del sitio de fijación de Rep/Rep' en

Prep y la mayor parte del gen *rep* en pTH Δ RepgrttnC todavía permite cierta estimulación de la expresión a lo largo de pTHgrttnC, ya que el Prep residual aún codifica todos los sitios de fijación de los factores de transcripción del hospedador en Prep.

- Figura 4: demostración de que la incorporación de la secuencia de Pcap o bien de la secuencia de PcapR sola en el pTHgrttnC genera un nivel de expresión similar del antígeno p24 al obtenido con la incorporación de todo el genoma de PCV-1 en el pTHgrttnC (a saber, pTHRepRgrttnC).

La adición del fragmento de 184 pb (PcapR) en la orientación opuesta solo en pTHgrttnC (para dar el pTHPcapRgrttnC) estimula la expresión en una cantidad parecida.

- Figura 5: duración de la respuesta de LTC sensibilizados contra el epítipo RT CD8 de grttnC durante 90 días mediante vectores que contienen la secuencia de PCV-1.

- Las ratonas BALB/c hembra (5 animales por grupo) se inocularon por vía intramuscular con dosis de 2 x 100 μ g, separadas por 28 días, de pTHgrttnC, pTHRepgrttnC, pTHRepRgrttnC, o del vector vacío pTHRepR (no se muestra). Las ratonas se sacrificaron a los 12, 40, 68 y 90 días de la segunda inoculación de ADN, y se recogieron los esplenocitos para el ensayo ELISPOT del IFN- γ . Se sustrajo el promedio de los puntos de ruido de fondo para dar valores netos /10⁸ esplenocitos.

Figura 6: respuesta de LTC contra el epítipo RT CD8 de grttnC. Respuesta a la dosis de sensibilización con el ADN, con y sin una inyección de refuerzo con el MVA.

- Las ratonas BALB/c hembra (5 animales por grupo) se inocularon por vía intramuscular con dosis de 2 x 100 μ g o 2 x 10 μ g, separadas por 28 días, de pTHgrttnC, pTHRepgrttnC, pTHRepRgrttnC, o del vector vacío pTHRepR (no se muestra). Las ratonas se sacrificaron 12 días después de la segunda inoculación de ADN, y se recogieron los esplenocitos para el ensayo ELISPOT del IFN- γ . Se les dio una inyección de refuerzo a otros grupos de ratonas, inoculadas según se describe más arriba con 10⁴ ufp de SAABIMVA-C (r.grttnC clonado en MVA) 56 días después de la segunda inyección de refuerzo con ADN. Las ratonas se sacrificaron a los 12 días de la inyección de refuerzo con el MVA, y se recogieron los esplenocitos para el ensayo ELISPOT del IFN- γ . Se sustrajo el promedio del ruido de fondo para dar valores netos/10⁶ esplenocitos.

- Figura 7: respuesta de LTC contra el epítipo RT CD8 de grttnC. Se comparan las dosis de sensibilización con ADN entre pTHgrttnC, pTHRepRgrttnC, pTHPcapgrttnC y pTHPcapRgrttnC. Las ratonas BALB/c hembra (5 animales por grupo) se inocularon por vía intramuscular con dosis de 2 x 100 μ g, separadas por 28 días, de pTHgrttnC, pTHRepRgrttnC, pTHPcapgrttnC o pTHPcapRgrttnC. Las ratonas se sacrificaron a los 12 días de la segunda inoculación de ADN, y se recogieron los esplenocitos para el ensayo ELISPOT del IFN- γ . Se sustrajo el promedio del ruido de fondo para dar valores netos/10⁶ esplenocitos.

Figura 8: secuencia nucleotídica del fragmento Pcap que muestra los sitios de fijación a los factores de transcripción de la célula hospedadora.

- Se muestran 190 pb (SEQ ID n.º 27), aunque, después de la clonación en el sitio *Spe* I del vector, esencialmente, el fragmento se puede considerar que es de 184 pb (SEQ ID n.º 1). La secuencia de Pcap se muestra en la misma orientación que la dirección de la transcripción del gen de la cápsida. Obsérvese que, como resultado, la secuencia mostrada más adelante es el complemento inverso de la convención publicada que describe la secuencia del ADN de circovirus en el sentido del virión (+).

La región central de Pcap (102 pb) según se identificó en Mankertz et al, 2004, se muestra subrayada.

- Los sitios de clonación *Spe* I se muestran en cursiva (ACTAGT).

Nucleótido 44 = A se muestra en negrita = nucleótido variante (transición de C a T en la hebra con sentido) respecto a las secuencias de PCV-1 publicadas.

Según se describe en Mankertz et al, 2004,

- Están resaltados los nucleótidos 47 a 59 de la secuencia = motivo para la fijación al factor de transcripción AP3 de la célula hospedadora.

Están resaltados los nucleótidos 60 a 65 de la secuencia = motivo para la fijación al factor de transcripción Sp1 de la célula hospedadora.

Están resaltados los nucleótidos 139 a 144 de la secuencia = motivo para la fijación al factor de transcripción AP2 de la célula hospedadora.

Según se identifican con la herramienta en línea de búsqueda en las bases de datos TFSEARCH ver. 1.3;

Están en negrita los nucleótidos 28 a 34 de la secuencia = motivo para la fijación al factor de transcripción cdxA de la célula hospedadora.

5 Están en negrita los nucleótidos 48 a 56 de la secuencia = motivo para la fijación al factor de transcripción STATx de la célula hospedadora.

Están en negrita los nucleótidos 73 a 80 de la secuencia = motivo para la fijación al factor de transcripción CREB de la célula hospedadora.

Están en negrita los nucleótidos 140 a 152 de la secuencia = motivo para la fijación al factor de transcripción c-Ets de la célula hospedadora.

10 Están en negrita los nucleótidos 145 a 154 de la secuencia = motivo para la fijación al factor de transcripción HSF2 de la célula hospedadora.

Figura 9: secuencia nucleotídica del fragmento PcapR que muestra los sitios de fijación a los factores de transcripción de la célula hospedadora.

15 Se muestran 190 pb (SEQ ID n.º 28), aunque, tras la clonación en el sitio *Spe* I del vector, esencialmente, el fragmento se puede considerar que era de 184 pb (SEQ ID n.º 2). La secuencia de PcapR se muestra en la orientación opuesta a la dirección de la transcripción del gen de la cápsida. Obsérvese que, como resultado, la secuencia mostrada más adelante describe la secuencia del ADN con sentido (+) del virión del circovirus.

Los sitios de clonación *Spe* I se muestran en cursiva (ACTAGT).

20 Nucleótido 147 = T se muestra en negrita = nucleótido variante (transición de C a T en la hebra sentido) respecto a las secuencias de PCV-1 publicadas.

Tal y como se identifican con la herramienta de búsqueda en línea en las bases de datos TFSEARCH ver. 1.3;

Están en negrita los nucleótidos 37 a 46 de la secuencia = motivo para la fijación al factor de transcripción HSF1/HSF2 de la célula hospedadora.

25 Están en negrita los nucleótidos 59 a 72 de la secuencia = motivo para la fijación al factor de transcripción c/EBPb de la célula hospedadora.

Están en negrita los nucleótidos 91 a 100 de la secuencia = motivo para la fijación al factor de transcripción GATA-1 de la célula hospedadora.

Están en negrita los nucleótidos 125 a 130 de la secuencia = motivo para la fijación al factor de transcripción AP2 de la célula hospedadora.

30 Están en negrita los nucleótidos 145 a 154 de la secuencia = motivo para la fijación al factor de transcripción HSF2 de la célula hospedadora.

Están resaltados los nucleótidos 120 a 129 y 149 a 158 = elemento tardío conservado (CLE, por su nombre en inglés) según se identifica en Velten et al., 2005.

Figura 10: secuencia de ADN de grttnC (SEQ ID n.º 19).

35 Sitio de *Hind* III (están en negrita y resaltados los nucleótidos 1 a 6) y el sitio de *Xba* I (están en negrita y resaltados los nucleótidos 3682 a 3687) = sitios para la clonación de la secuencia de grttnC en el pTH.

Figura 11: secuencia linealizada del ADN de PCV-1, tal y como está clonada en pTHgrttnC para dar pTHRepgrttnC (SEQ ID n.º 21 y 29).

40 Sitios de *Spe* I terminales (negrita) utilizados para clonar el genoma linealizado de PCV-1 en el sitio de restricción de *Spe* I inmediatamente adyacente en 5' al promotor de CMV en el pTHgrttnC.

Figura 12: secuencia linealizada del ADN de PCV-1, tal y como se clonó (complemento inverso) en el pTHgrttnC para dar el pTHRepRgrttnC (SEQ ID n.º 22 y 30).

Sitios de *Spe* I terminales (negrita) utilizados para clonar el genoma linealizado de PCV-1 en el sitio de restricción de *Spe* I inmediatamente adyacente en 5' al promotor de CMV en el pTHgrttnC.

Figura 13: secuencia linealizada de pTH (SEQ ID n.º 20).

Se muestra el sitio de *Spe* I (los nucleótidos 751 a 756 están en negrita, subrayados y resaltados) inmediatamente en 5' a la región central del elemento promotor/potenciador inmediato/temprano de CMV del pTH. Es el sitio de inserción utilizado para el genoma linealizado de PCV-1 (en cualquier orientación) y para Pcap, y para PcapR.

- 5 Se muestran el sitio de *Hind* III (los nucleótidos 2300 a 2315 están en negrita y resaltados) y el sitio de *Xba* I (los nucleótidos 2394 a 2399 están en negrita y resaltados) = sitios de clonación para la inserción de grttnC.

Figura 14: secuencia de PCV-1 que muestra *Prep* y el gen *rep* sin el intrón (sólo codifica la proteína Rep') (SEQ ID n.º 23).

Según se describe en Mankertz et al., 2004.

- 10 Están resaltados los nucleótidos 59 a 80 de la secuencia = motivo para la fijación al factor de transcripción AP3 de la célula hospedadora.

Están resaltados los nucleótidos 120 a 125 de la secuencia = motivo para la fijación al factor de transcripción Sp1 de la célula hospedadora.

- 15 Están resaltados los nucleótidos 187 a 192 de la secuencia = motivo para la fijación al factor de transcripción AP4 de la célula hospedadora.

Están resaltados los nucleótidos 153 a 164 de la secuencia = motivo USF/MLTF de la célula hospedadora.

Están resaltados los nucleótidos 166 a 172 de la secuencia = caja TATA.

Están resaltados los nucleótidos 174 a 180 de la secuencia = motivo ISRE.

Los motivos de fijación H1, H2, H3 y H4 de Rep/Rep' se muestran subrayados.

- 20 Se muestran en negrita el ATG y el TGA (truncado) del marco abierto de lectura de rep'.

Figura 15: secuencia de PCV-1 que muestra *Prep* con delección de los sitios de fijación a la proteína Rep/Rep' y el gen *rep* con un truncamiento importante en 5' (lo que queda no es codificante) (SEQ ID n.º 24).

Secuencia de PCV-1 que muestra la delección de 602 pb, que conduce a la delección inclusiva de los sitios de fijación H2, H3 y H4 de Rep/Rep' en *Prep* y delección de todos los nucleótidos del extremo en 3' del gen *rep*, excepto 133 nt.

- 25 // = lugar donde se han delecionado 602 pb.

Según se describe en Mankertz et al., 2004.

Están resaltados los nucleótidos 69 a 80 de la secuencia = motivo para la fijación del factor de transcripción AP3 de la célula hospedadora.

- 30 Están resaltados los nucleótidos 120 a 125 de la secuencia = motivo para la fijación del factor de transcripción Sp1 de la célula hospedadora.

Están resaltados los nucleótidos 187 a 192 de la secuencia = motivo para la fijación del factor de transcripción AP4 de la célula hospedadora.

Están resaltados los nucleótidos 153 a 164 de la secuencia = motivo USF/MLTF de la célula hospedadora.

Están resaltados los nucleótidos 166 a 172 de la secuencia = caja TATA.

- 35 Están resaltados los nucleótidos 174 a 180 de la secuencia = motivo ISRE.

El motivo de fijación H1 residual de Rep/Rep' se muestra subrayado.

Figura 16: (a) alineamiento de las secuencias seleccionadas de ADN de circovirus equivalentes a la región de PcapR de PCV-1.

- 40 (b) Complemento inverso de las secuencias seleccionadas de ADN de circovirus equivalentes a la secuencia de Pcap de PCV-1.

Circovirus del canario: ACCESO DQ339095 (SEQ ID n.º 3 y 4);

Circovirus del ganso: ACCESO NC_003054 (SEQ ID n.º 5 y 6);

Circovirus del pato: ACCESO AJ964962 (SEQ ID n.º 7 y 8);

Aislado zj1 del circovirus de los colúmbidos: ACCESO DQ090945 (SEQ ID n.º 9 y 10);

Circovirus de la gaviota: ACCESO NC_008521 (SEQ ID n.º 11 y 12);

5 Circovirus del pinzón: ACCESO NC_008522 (SEQ ID n.º 13 y 14);

Aislado AFG3-ZA del virus de la enfermedad del pico y las plumas: ACCESO AY450443 (SEQ ID n.º 15 y 16);

Cepa 375 del circovirus del cerdo de tipo 2: ACCESO AY256460 (SEQ ID n.º 17 y 18).

Figura 17: posibles sitios de fijación de factores de transcripción en las regiones de Pcap de los circovirus de la figura 16.

10 Descripción detallada de la invención

La invención da a conocer un procedimiento *in vitro* para mejorar la expresión de un transgén en una célula hospedadora, que incluye las etapas de insertar un elemento de control transcripcional vírico en un casete de expresión de mamífero por delante (en 5') de un promotor principal para un vector; insertar el transgén en el casete de expresión por detrás (en 3') del promotor principal; insertar un vector que contiene el casete de expresión en la
15 célula hospedadora; y hacer que se exprese el transgén. Como resultado, el transgén se expresa típicamente en mayor cantidad que cuando se expresa desde un vector que contiene el casete de expresión sin el elemento de control transcripcional.

El elemento de control transcripcional es un elemento promotor de la cápsida (Pcap) de un circovirus, tal como el circovirus porcino de tipo 1 (PCV-1), el circovirus porcino de tipo 2 (PCV-2), el virus de la enfermedad del pico y las
20 plumas (BFDV), el circovirus del canario, el circovirus de los colúmbidos, el circovirus del pato, el circovirus del pinzón, el circovirus del ganso y el circovirus de la gaviota, o un elemento equivalente de un parvovirus o anelovirus, o una secuencia que comprende el complemento inverso del elemento promotor de la cápsida (PcapR). El promotor es generalmente una región potenciadora/promotora inmediata/temprana de citomegalovirus (Pcmv) y opcionalmente su secuencia del intrón A de CMV cadena abajo (3'), un elemento promotor del SV40 u otro elemento
25 promotor adecuado.

Los ejemplos de células hospedadoras adecuadas son una línea de células de mamífero para la expresión del transgén *in vitro*.

El vector que se describe en la presente memoria tiene varios usos, entre ellos la producción de una composición farmacéutica o vacuna para tratar de forma preventiva o terapéutica a un humano o a un animal con una infección o
30 enfermedad, tal como el VIH/sida.

En los ejemplos que vienen más adelante, un fragmento de ADN de 184 pb (figura 8; SEQ ID n.º 1) que contiene un elemento principal de 102 pb del promotor de la cápsida (Pcap) del circovirus del cerdo de tipo 1 (PCV-1), o el mismo fragmento de 184 pb clonado en la orientación inversa (PcapR) (figura 9; SEQ ID n.º 2), se insertó inmediatamente adyacente y en 5' a la región central de la región potenciadora/promotora inmediata/temprana de
35 citomegalovirus (Pcmv) y su secuencia del intrón A de CMV cadena abajo (3') en un vector de expresión de mamífero (el fragmento era de 190 pb cuando estaba flanqueado por los sitios de restricción sin cortar (SEQ ID n.º 27)). Posteriormente se clonó un transgén en el vector. El plásmido purificado que contenía los elementos descritos más arriba se transfectó en una línea de células de mamífero para la expresión *in vitro* del transgén, o bien se inoculó en un organismo hospedador mamífero como un vacunógeno o como un agente genoterápico. El híbrido
40 Pcap-Pcmv o PcapR-Pcmv estimuló de 2 a 3 veces la expresión *in vitro* de un transgén insertado en 3' del elemento híbrido Pcap-Pcmv o en 3' del elemento híbrido PcapR-Pcmv.

El elemento promotor Pcap de PCV-1 que se cita más arriba se había mapeado previamente mediante un sistema de expresión de la luciferasa (Mankertz et al.), pero hasta ahora no se ha contemplado que sea de utilidad en las aplicaciones prácticas de la expresión del transgén, ya que por sí mismo no es un promotor fuerte. Además, el
45 fragmento de 184 pb completo incluye otros sitios de fijación de factores de transcripción del hospedador que no se habían observado previamente en Mankertz et al. Tampoco no se había contemplado previamente que la secuencia orientada en sentido inverso (PcapR) también conlleva una actividad estimulante de la expresión del transgén, ni que en la secuencia de PcapR se encuentran codificados otros sitios de fijación de factores de transcripción del hospedador. El elemento Pcmv se ha combinado previamente con diferentes elementos donante/aceptor del intrón
50 cadena abajo (en 3'), que aumentan el nivel de expresión del transgén al mejorar la eficacia del procesamiento del ARNm transcrito del transgén (Barouch et al., 2005). El vector pTH es un vector que consigue expresar genes en gran cantidad y que contiene una secuencia intrónica residente detrás del promotor de CMV (figura 1A). Sin

embargo, la adición de un elemento Pcap o de un elemento PcapR en el plásmido pTHgrttnC delante del promotor de CMV de pTH (figura 1B) hace que aumente aún más el nivel de expresión de grttnC muy por encima de lo que contribuye la secuencia intrónica residente en el pTHgrttnC.

- Se contempla que los elementos Pcap o PcapR conservarían la estimulación de la actividad cuando se clonan hasta a 1100 pb por delante (en 5') del elemento Pcmv (esto es, la distancia desde el elemento Pcap al Pcmv cuando Pcap está presente en la secuencia del RepR original del pTHRepRgrttnC). También se contempla que la invención funcionará con los correspondientes elementos Pcap o PcapR de otros circovirus (figuras 16 y 17), tales como el circovirus del cerdo de tipo 2 (PCV-2) (SEQ ID n.º 17 y 18), el virus de la enfermedad del pico y las plumas (BFDV) (SEQ ID n.º 15 y 16), el circovirus del canario (SEQ ID n.º 3 y 4), el circovirus de los colúmbidos (SEQ ID n.º 9 y 10), el circovirus del pato (SEQ ID n.º 7 y 8), el circovirus del pinzón (SEQ ID n.º 13 y 14), el circovirus del ganso (SEQ ID n.º 5 y 6) y el circovirus de la gaviota (SEQ ID n.º 11 y 12), o parvovirus tales como el parvovirus del perro, o anelovirus, tales como el virus torque teno o el minivirus torque teno, ya que estos géneros de virus pertenecen a la misma familia que los circovirus.

- La presente invención se describe adicionalmente con los ejemplos que vienen a continuación. Tales ejemplos, sin embargo, no se deben considerar limitantes, de ninguna manera, ni del espíritu ni del alcance de la invención.

Ejemplos

Clonación y expresión de PCV:

- Para facilitar las comparaciones con la construcción de la vacuna de ADN actual de los solicitantes, el pTHgrttnC (Burgers et al.; figuras 10 y 13; SEQ ID n.º 19 y 20), un genoma de PCV-1 linealizado (figura 11; SEQ ID n.º 21 y 29) procedente del plásmido pCIPCV 9 (obtenido de Large Scale Biology Corporation; EE.UU. y descrito en la publicación de solicitud de patente de los EE.UU. n.º 2003/0143741, se subclonó en el pTHgrttnC para que el genoma quedara colocado inmediatamente en 5' del promotor/potenciador inmediato/temprano de CMV (Pcmv) del pTHgrttnC. El genoma del PCV se clonó en ambas orientaciones (figura 1), lo que da el pTHRepgrttnC, en donde el gen asociado a la replicación del PCV (*rep*) se encuentra en la misma orientación que el inserto del poligén grttnC (figura 11; SEQ ID n.º 21 y 29) y el pTHRepRgrttnC, en donde *rep* se encuentra en la orientación opuesta a grttnC (figura 12; SEQ ID n.º 22 y 30).

- En las células HEK293 se demostró que, en comparación con pTHgrttnC, tanto pTHRepgrttnC como pTHRepRgrttnC incrementaban el nivel de expresión del antígeno, en donde el pTHRepRgrttnC muestra la expresión más alta. La expresión de grttnC se ensayó por ELISA de p24 y se correlacionó con la cantidad de plásmido presente en las muestras de células (analizado por PCR en tiempo real).

Se observó que la orientación del genoma de PCV insertado en pTHgrttnC afectaba tanto al nivel como al perfil de la expresión de grttnC obtenidos con el tiempo, y esto se analizó más en detalle.

El incremento de la expresión del vector de PCV se debe a los efectos del promotor y no a la replicación del vector:

- Las células HEK293 (de la American Type Culture Collection [número de catálogo de la ATCC CRC-1573]) se transfectaron con el ADN plasmídico, y se recogieron 1, 2 y 3 días después de la transfección. Tras el lavado de las células se extrajo todo el ADN y se cuantificó por PCR en tiempo real la cantidad de plásmido presente en 20 ng del extracto, mediante la incorporación de Sybr-Green y de cebadores oligonucleotídicos específicos del vector. Las secuencias de los cebadores utilizados se fijaron a los plásmidos pTH (pTHgrttnC), pCI (Promega) y pcDNA3.1/Zeo (Invitrogen) – pTH17F; 5'-CCTAACTACGGCTACAC-3' (SEQ ID n.º 25); pTH18R; 5'-CGTAGTTATCTACACGAC-3' (SEQ ID n.º 26). Las secuencias cebadoras se obtuvieron de Jo van Harmelen, IIDMM, Sudáfrica. Adicionalmente, las alícuotas de ADN total se digirieron durante una noche con la enzima de restricción Dpn I (de Roche) que, debido a su especificidad a la metilación, digiere sólo el ADN plasmídico transfectado que se produce en la bacteria (ADN de entrada), pero ningún otro ADN que pueda haberse replicado en las células de mamífero (p. ej., HEK293). El plásmido digerido (en el ADN total) también se cuantificó por PCR como antes. Se utilizaron cantidades equivalentes del ADN total digerido y sin digerir (replicable se refiere en la presente memoria a la capacidad del plásmido para replicarse en las células de mamífero, en vez de en las células bacterianas).

- Se encontró que la expresión de los vectores con PCV mejoraba con respecto a los pTH (figura 13; SEQ ID n.º 20) y se demostró que se debía a que los promotores de PVC actúan en combinación con el Pcmv del pTH, y que no se debía a la replicación del vector (figura 2, figura 3). Así pues, en el pTHRepgrttnC, el promotor del gen *rep* (*Prep*) actúa en combinación con el Pcmv, y en el pTHRepRgrttnC, el promotor del gen de la cápsida de PCV (Pcap) actúa con el Pcmv.

Los experimentos que lo demuestran incluían:

- La demostración (mediante digestión de *Dpn I*/PCR en tiempo real) de que no se produjo ninguna

replicación plasmídica en las células transfectadas. Así pues, la proporción de plásmido extraído de las células transfectadas descendió con el tiempo a la misma velocidad que el plásmido original que no contenía el PCV y no se formó ningún plásmido nuevo en las células transfectadas durante ese tiempo. Esto se determinó para las dos construcciones que llevaban un PCV de Large Scale Biology Corporation y de los solicitantes (figura 2).

- La delección del intrón de *rep* de PCV-1 (figura 14; SEQ ID n.º 23) de pTHRepgrttnC dio lugar a un incremento de la expresión de grttnC (figura 3). Esta delección impide la formación de una de las proteínas Rep requeridas para la replicación. La misma proteína actúa para reprimir *Prep* y su ausencia permite aliviar la represión de *Prep*, con el resultante aumento de la acumulación del GrttnC que se expresa. Así pues, el incremento de la expresión en el pTHRepGrttnC es consecuencia de la actividad de *Prep* y no de que se incremente por replicación el número de copias del plásmido. La delección de los sitios de fijación de la proteína Rep/Rep' en *Prep* y la delección de la mayor parte del gen *rep* desde el extremo en 5', pero que aún deja sitios de fijación de factores de transcripción del hospedador en *Prep* (figura 15; SEQ ID n.º 24), produce un incremento modesto de la expresión en comparación con pTH, lo que además indica que la fuente del aumento de la expresión del transgén en los plásmidos que contienen la secuencia de PCV-1 es por la acción de los elementos promotores, y no por la replicación del plásmido inducida por el elemento de PCV-1 (figura 3).
- La adición únicamente de la secuencia de Pcap de 184 pb (SEQ ID n.º 1) en el pTHgrttnC mejoró la expresión de grttnC al mismo nivel que la adición de todo el genoma de PCV en la orientación de RepR. Inesperadamente, la adición de la secuencia de Pcap en la orientación inversa (PcapR) (SEQ ID n.º 2) también incrementó el nivel de expresión de grttnC por encima de la del plásmido original, pTHgrttnC (figura 4).

Comparación de la inmunogenia murina entre pTH y los vectores que llevan el PVC:

Las respuestas de LTC en las ratonas BALB/c hembra desencadenadas por el prototipo de clones que llevan el PCV, pTHRepgrttnC y pTHRepRgrttnC, se compararon con las desencadenadas por pTHgrttnC.

Los ensayos ELISPOT del IFN- γ mostraron que las tres construcciones generaron respuestas de LTC contra 10 de los 15 epítomos de GrttnC CD4 y CD8 analizados. Ya que el epítomo RT CD8 de GrttnC es inmunodominante en las ratonas Balb/c, este epítomo se eligió como marcador para la comparación de la inmunogenia entre las construcciones que llevan PCV y el pTHgrttnC.

La longevidad de la respuesta de LTC desencadenada por 2 inoculaciones de ADN administradas por vía intramuscular (i.m.) de 100 μ g cada una, separadas por 28 días, se midió durante 90 días tras la segunda inoculación de ADN. Se analizaron cinco ratonas por grupo de tratamiento. Respuestas de LTC en el mismo intervalo de error fueron desencadenadas por pTHgrttnC y pTHRepRgrttnC, mientras que pTHRepgrttnC desencadenó una mejor respuesta (figura 5). Se observó que el nivel de respuesta de los LTC para pTHgrttnC y pTHRepRgrttnC descendió la misma magnitud durante el periodo de pruebas de 90 días. En cambio, la respuesta de LTC contra pTHRepgrttnC fue el doble que la de las otras construcciones a los 12 días de la sensibilización, y cayó por debajo del nivel de respuesta observado para las construcciones de pTH y pTHRepR a los 40 días, pero luego ascendió tanto que a los 90 días de la inoculación, la respuesta de LTC contra el pTHRepgrttnC fue de nuevo dos veces la observada contra pTHgrttnC y pTHRepRgrttnC. Este efecto era perceptible para la mayoría de los epítomos probados.

Los vectores que contienen el PCV se encontró que eran mejores que el pTH a una dosis 10 veces menor de sensibilización con ADN (2 x dosis de sensibilización, separadas por 28 días, de 10 μ g por vía i.m., 5 ratonas BALB/c hembra por tratamiento). En este nivel, tanto pTHRepgrttnC como pTHRepRgrttnC desencadenaron respuestas de LTC significativamente mejores de lo que hizo el pTHgrttnC con el nivel de dosis de 10 μ g o de 100 μ g, en donde el pTHRepgrttnC desencadenó la mejor respuesta (figura 6).

El efecto de administrar una inyección de refuerzo a las ratonas BALB/c se analizó con una dosis baja (10^4 ufp) de SAAVIMVA-C administrada i.m. 56 días después de la segunda de las dos inoculaciones i.m. de ADN de 10 μ g o bien de 100 μ g por dosis, separadas por 28 días. La respuesta con refuerzo contra el epítomo RT CD8 en las ratonas sensibilizadas con 2 x 10 μ g de pTHRepgrttnC o bien de pTHRepRgrttnC fue de más de dos veces que la desencadenada en las ratonas sensibilizadas con 2 x 10 μ g de pTHgrttnC (figura 6). Además, la respuesta con refuerzo tras la sensibilización al nivel de 10 μ g con pTHRepgrttnC fue casi tan grande como la respuesta con refuerzo tras la sensibilización con 2 x 100 μ g de pTHgrttnC. La respuesta con refuerzo de las ratonas sensibilizadas con pTHRepRgrttnC fue similar tanto en el nivel de 10 μ g como de 100 μ g, y fue aproximadamente de 0,75 veces la desencadenada después de la sensibilización con 2 x 100 μ g de pTHgrttnC o bien de pTHRepRgrttnC (figura 6).

Es decir, la sensibilización con una cantidad de 10 μ g de un vector que lleva el PCV produjo una respuesta casi tan

buena, después del refuerzo con 10^4 ufp de SAAVIMVA-C, que la sensibilización con pTHgrttnC a diez veces la dosis de sensibilización.

- Sin embargo, en los experimentos posteriores se observó que las secuencias de Prep/gen *rep* en los plásmidos pTHRep tendían a ser inestables, y por lo tanto todo el trabajo posterior se concentró en la construcción estable pTHRepR y sus derivados Pcap y PcapR. La secuencia de 184 pb que contiene el Pcap cortada con Spe I (figura 8) se subclonó en el pTHgrttnC para que el fragmento se posicione inmediatamente en 5' del promotor/potenciador inmediato/temprano de CMV (Pcmv) en el pTHgrttnC, para dar el pTHPcapgrttnC. La secuencia de 184 pb que contiene el Pcap cortada con Spe I (figura 9) se subclonó en el pTHgrttnC para que el fragmento se posicione inmediatamente en 5' del promotor/potenciador inmediato/temprano de CMV (Pcmv) en el pTHgrttnC, para dar el pTHPcapRgrttnC.

- Se encontró que los vectores que llevaban Pcap y PcapR eran mejores que el pTH para sensibilizar una respuesta de LTC contra el epítipo RT inmunodominante de GrttnC en las ratonas BALB/c (2 x dosis de sensibilización, separadas por 28 días, de 100 µg por vía i.m., 5 ratonas BALB/c hembra por tratamiento). Tanto el pTHPcapgrttnC como el pTHPcapRgrttnC desencadenaron respuestas de LTC en el mismo intervalo de error que el pTHRepRgrttnC, pero con menos variabilidad de respuesta entre los experimentos (figura 7).

Los vectores de expresión de mamífero descritos en la presente memoria muestran una estimulación del nivel de expresión de la proteína del transgén. Esto tiene utilidad al mejorar la eficacia de la dosis en las vacunas de ADN hechas de plásmidos, para los estudios de expresión *in vitro* en las células de mamífero y, posiblemente, para ser usados en terapias génicas.

- En el desarrollo de vacunas de ADN, el mayor nivel de expresión del transgén que se puede alcanzar mediante el uso de las combinaciones de promotores Pcap-Pcmv y PcapR-Pcmv permite que posiblemente se reduzca unas 10 veces la dosis de vacuna necesaria para conseguir la misma respuesta inmunitaria celular que se puede conseguir con el uso de una construcción de vacuna casi idéntica que utiliza únicamente el Pcmv (como se ha demostrado hasta ahora en un modelo de inmunogenia murina).

25 Bibliografía

Barouch DH, Yang ZY, Kong WP, et al. (2005). A human T-cell leukemia virus type 1 regulatory element enhances the immunogenicity of human immunodeficiency virus type 1 DNA vaccines in mice and nonhuman primates. *J Virol.*; 79: 8828-8834.

Burgers W.A., J.H. van Harmelen, E. Shephard, et al. (2005). Design and preclinical evaluation of a multigene HIV-1 subtype C DNA vaccine for clinical trial. *J. Gen Virol*, 87:399-410.

Garmory HS, Brown KA, Titball RW (2003). DNA vaccines: improving expression of antigens. *Genet Vaccines Ther.* 1:2.

Hattermann K, Roedner C, Schmitt C, et al. (2004). Infection studies on human cell lines with porcine circovirus type 1 and porcine circovirus type 2. *Xenotransplantation* 11:284-294.

Mankertz A, Caliskan R, Hattermann K, et al. (2004). Molecular biology of porcine circovirus; analysis of gene expression and viral replication. *Vet Microbiol* 98:81-88.

Quintana J, Balasch M, Segales J, et al. (2002). Experimental inoculation of porcine Circoviruses type 1 (PCV1) and type 2 (PCV2) in rabbits and mice. *Vet Res* 33:229-237.

Velten J, Morey K, Cazzonelli C. (2005). Plant viral intergenic DNA sequence repeats with transcription enhancing activity. *Virology Journal* 2:16 doi:10.1186/1743-422X-2-16.

<http://www.cbrc.jp/research/db/TFSEARCH.html>

LISTA DE SECUENCIAS

<110> South African Medical Research council university of Cape Town

5 <120> Sistema de expresión que incorpora una secuencia promotora de la cápsida como potenciador de un promotor de citomegalovirus

<130> PA140583/PCT

10 <140> PCT/IB2006/003150
<141> 08-11-2006

<150> ZA 2005/09036
<151> 08-11-2005

15 <160> 41

<170> PatentIn versión 3.5

20 <210> 1
<211> 184
<212> ADN
<213> Circovirus porcino 1

25 <400> 1

ctagtaggtg	tcgctaggct	cagcaaaatt	acgggcccac	tgactcttcc	cacaaccggg	60
cgggccact	atgacgtgta	cagctgtctt	ccaatcacgc	tgctgcatct	tcccgtcac	120
tttcaaaagt	tcagccagcc	cgcggaatt	tctcacatac	gttacaggga	actgtccat	180
atga						184

<210> 2
30 <211> 184
<212> ADN
<213> Circovirus porcino 1

<400> 2		
ctagtcatat	ggagcagttc	cctgtaacgt
atgtgagaaa	tttccgcggg	ctggctgaac
ttttgaaagt	gagcggaag	atgcagcagc
gtgattggaa	gacagctgta	cacgtcatag
tgggcccgcc	cggttggtgg	aagagtcagt
gggcccgtaa	ttttgctgag	cctagcgaca
ccta		

<210> 3
35 <211> 175
<212> ADN
40 <213> Circovirus del canario

<400> 3		
cgcgcgagag	ttcagtgaga	tctacgtcaa
gtatgggcgt	ggtctgaggg	atttggccct
gatgattgga	cagaaacccc	gtgacttcaa
gacggaagtc	gtcgtcatca	cagggccttc
cggggtgggc	aagtcccgac	ttgcctctga
aatggaagga	tcgaagttct	acaag

45 <210> 4
<211> 175
<212> ADN
<213> Circovirus del canario
<400> 4

	ctttagaac ttcgatcctt ccatttcaga ggcaagtcgg gacttgccca ccccggaagg	60
	ccctgtgatg acgacgactt ccgtcttgaa gtcacggggt ttctgtccaa tcatcagggc	120
	caaatccctc agaccacgcc catacttgac gtagatctca ctgaactctc gcgcg	175
	<210> 5	
5	<211> 180	
	<212> ADN	
	<213> Circovirus del ganso	
	<400> 5	
10	tgcccggaa gtacccgacg acttatgtaa tgtttgggcg gggcttagag cggttgcgtc	60
	agctgatcgt ggagaccgct cgtgattgga agacggagggt catcgttctg attgggcggc	120
	ctggaagcgg gaagagccgt tacgcgtttg aatttcccg gcgtgaaaag tattataaat	180
	<210> 6	
	<211> 180	
15	<212> ADN	
	<213> Circovirus del ganso	
	<400> 6	
	atttataata cttttcacgc gcgggaaatt caaacgcgta acggctcttc ccgcttcag	60
	gccgcccaat cagaacgatg acctccgtct tccaatcacg agcggctctcc acgatcagct	120
20	gacgcaaccg ctctaagccc cgcccaaaca ttacataagt cgtcgggtac ttccgggcca	180
	<210> 7	
	<211> 190	
	<212> ADN	
25	<213> Circovirus del pato	
	<400> 7	
	tgagggtggc cggaagtcc ccacgactta tggtatcttt gggcgtggcc tggaacgcct	60
	ccgtcacctg atcgttgaga cgcaacgtga ttggaagacc gaagtcacg ttctgattgg	120
	tccgcccggc accgggaaga gccgttatgc atttgaattt cccgccgaaa acaagtatta	180
	caaaccacgc	190
30	<210> 8	
	<211> 190	
	<212> ADN	
	<213> Circovirus del pato	
35	<400> 8	
	gcgtggtttg taatacttgt tttcggcggg aaattcaaatt gcataacggc tcttcccgt	60
	gccgggcgga ccaatcagaa cgatgacttc ggtcttccaa tcacgttgcg tctcaacgat	120
	cagggtacgg aggcgttcca ggccacgccc aaagataaca taagtcgtgg ggaacttccg	180
	ggccacctca	190
40	<210> 9	
	<211> 180	
	<212> ADN	

<213> Circovirus de los colúmbidos

<400> 9

tcgcgcgaga cttcagtgag atatacgtca agtatgggcg tggcttgcg gacctgaagc 60
tgctgattgg tcagcagcct cgtgacttca aaacggaagt catcgatc acgggcccgc 120
5 ccggttgcg gaagagccgt tgggcagctg agtaccgccg aagtaaattt tacaagatga 180

<210> 10

<211> 180

<212> ADN

10 <213> Circovirus de los colúmbidos

<400> 10

tcattcttga aaatttactt ccgggggtact cagctgcccac acggctcttc ccgcaaccgg 60
gcgggcccgt gatgacgatg acttccgttt tgaagtcacg aggctgctga ccaatcagca 120
gcttcaggtc gcgcaagcca cgccatact tgacgtatat ctactgaag tctcgcgcga 180

15 <210> 11

<211> 180

<212> ADN

<213> Circovirus de la gaviota

<400> 11

gtgaaatcgc gcgagagttc agtgaagtct acgtcaagta tgggcggggc ctccgtgatc 60
tccggttgct gattggttgc ccgccccgcg atttcaaaac agaagtcac gttctgattg 120
20 gcccacctgg ctgtggcaag tcaaaattgg ccaatgagat ggaagggtct aagtcttaca 180

<210> 12

<211> 180

<212> ADN

25 <213> Circovirus de la gaviota

<400> 12

tgtagaactt agacccttcc atctcattgg ccaattttga cttgccacag ccagggtggc 60
caatcagaac gatgacttct gttttgaat gcgggggcg gcaaccaatc agcaaccgga 120
gatcacggag gccccgccc tacttgacgt agacttcact gaactctcgc gcgatttcac 180

30 <210> 13

<211> 180

<212> ADN

<213> Circovirus del pinzón

35 <400> 13

tcgcgcgaga gttcagtcta gcctacgtca gatatgggcg gggcctgcgt gatcttgcg 60
tgctgattgg ccagaagccc cgtgacttca aaacggaagt catagtgcg accggcccta 120
gtgggtgtgg caaatccgc tgggccaatg aacaagaagg aactaagttt tataaatga 180

<210> 14

40 <211> 180

<212> ADN

<213> Circovirus del pinzón

<400> 14

45

tcattttata aaacttagtt ctttcttggt cattggccca gcgggatttg ccacaccac 60
 tagggccggt cagcactatg acttccgttt tgaagtcacg gggcttctgg ccaatcagca 120
 gcgcaagatc acgcaggccc cgcccatatc tgacgtaggc tagactgaac tctcgcgcga 180
 <210> 15
 5 <211> 180
 <212> ADN
 <213> Virus AFG3-ZA de la enfermedad del pico y las plumas
 <400> 15
 10 cgcgcgagag ttcccagata tctacgtcag gcatgggcgg ggcttacata atctctcgt 60
 aatgggttggg tcccggccac gtgacttcaa gactgagtc gacgtcatct acggaccacc 120
 ggggtgtggc aagagtagat gggccaatga gcagccgggg accaaatatt ataaaatgcg 180
 <210> 16
 <211> 180
 15 <212> ADN
 <213> Virus AFG3-ZA de la enfermedad del pico y las plumas
 <400> 16
 cgattttat aatatttggg ccccggtgc tcattggccc atctactctt gccacacccc 60
 ggtggtccgt agatgacgtc gacctcagtc ttgaagtcac gtggccggga accaaccatt 120
 agcgagagat tatgtaagcc ccgcccagtc ctgacgtaga tatctgggaa ctctcgcgcg 180
 20 <210> 17
 <211> 190
 <212> ADN
 <213> Circovirus porcino 2
 25 <400> 17
 ccgttgcaga gcagcacctt gtaacgtttg tcagaaattt ccgcgggctg gctgaacttt 60
 tgaaagtgag cgggaaaatg cagaagcgtg attggaagac taatgtacac gtcattgtgg 120
 ggccacctgg gtgtggtaaa agcaaattgg ctgctaattt tgcagacccg gaaaccacat 180
 actggaaacc 190
 <210> 18
 30 <211> 190
 <212> ADN
 <213> Circovirus porcino 2
 <400> 18
 ggtttccagt atgtggtttc cgggtctgca aaattagcag cccatttgct ttaccacac 60
 ccaggtggcc ccacaaatgac gtgtacatta gtcttccaat cacgcttctg cattttcccg 120
 ctcactttca aaagttcagc cagcccgcgg aaatttctga caaacgttac aggggtgctgc 180
 35 tctgcaacgg 190
 <210> 19
 <211> 3687
 <212> ADN
 40 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia de gag subtipo C de HIV-1, transcriptasa inversa, regiones tat y nef

<400> 19

aagcttgcca ccatggctgc tcgcgcatct atcctcagag gcgaaaagtt ggataagtgg	60
gaaaaaatca gactcaggcc aggaggtaaa aaacactaca tgctgaagca tatcgtgtgg	120
gcatctaggg agttggagag atttgcactg aaccccgac tgctggaaac ctcagagggc	180
tgtaagcaaa tcatgaaaca gctccaacca gccttgcaaga ccggaacaga agagctgaag	240
tccctttaca ataccgtggc aaccctctat tgcgtccacg agaagatcga ggtgagagac	300
acaaaggagg ccctggacaa aatcgaggag gagcagaata agtgccagca gaagaccag	360
caggcaagg ctgctgacgg aaagggtctt cagaactatc ctatcgttca gaaccttcag	420
gggcagatgg tgcaccaagc aatcagccct agaaccctga acgcatgggt gaaggatgc	480
gaggagaaag ctttttctcc cgagggtatc cccatgttta ccgccctgag cgaaggcgcc	540
actcctcaag acctgaacac tatgctgaac acagtgggag gacaccaggc cgctatgcag	600
atgttgaagg ataccatcaa cgaggaggca gccgaatggg accgcctcca ccccgtagc	660
gccggacctt tcgcccccg acaaatgaga gaacctcgcg gaagtgatat tgccggtact	720
accagcacc ttcaagagca gattgcttgg atgaccagca accacccat cccagtgggc	780
gatatttaca aaagggtgat tattctgggg ctgaacaaaa ttgtgagaat gtactcccc	840
gtctccatcc tcgacatccg ccaaggaccc aaggagcctt ttagggatta cgtggacaga	900
ttcttcaaaa cccttagagc tgagcaagcc actcaggagg ttaagaactg gatgacagat	960
actctgctcg tgcaaacgc taaccccgat tgcaaaacca tcttgagagc tctcgggtcca	1020
ggtgccaccc ttgaggaaat gatgacagca tgtcaaggcg tgggaggacc tgggcacaag	1080
gccagagttc tcgctgaggc catgagccag acaaactcag gcaatatcat gatgcagagg	1140
agtaacttta aggggtcccag gagaatcgtc aagtgttca attgtggcaa ggagggtcac	1200
attgcccagga actgccgcgc ccccgaggag aaaggctgct ggaagtgtgg caaagagggc	1260
caccagatga aggattgcac cgagcgccaa gcaaacttcc tgggaaagat ttggcccagt	1320
cataagggcc gccctggcga attctgcggc aagaaggcca tcggcaccgt gctggtgggc	1380
cccacccccg tgaacatcat cggccggaac atgctgacct agctgggctg caccctgaac	1440
ttccccatca gccccatcga gaccgtgcc gtgaagctga agcccgcat ggacggcccc	1500
aagggtgaagc agtggccctt gaccgaggtg aagatcaagg ccctgaccgc catctgcgag	1560
gagatggaga aggagggcaa gatcaccaag atcgccccg agaacccta caacaccccc	1620
atcttcgcca tcaagaagga ggacagcacc aagtggcgga agctggtgga cttccgggag	1680
ctgaacaagc ggaccagga cttctgggag gtgcagctgg gcatcccca ccccgccggc	1740
ctgaagaaga agaagagcgt gaccgtgctg gacgtggcg acgcctactt cagcgtgccc	1800
ctggacgagg gcttccggaa gtacaccgcc ttaccatcc ccagcatcaa caacgagacc	1860
cccggcatcc ggtaccagta caacgtgctg ccccgaggct ggaagggcag ccccgccatc	1920

ttccaggcca gcatgaccaa gatcctggag cccttccggg ccaagaaccc cgagatcgtg	1980
atctaccagt acatggccgc cctgtacgtg ggcagcgacc tggagatcgg ccagcaccgg	2040
gccaagatcg aggagctgcg ggagcacctg ctgaagtggg gcttcaccac ccccgacaag	2100
aagcaccaga aggagcccc cttcctgttg atgggctacg agctgcaccc cgacaagtgg	2160
accgtgcagc ccatccagct gcccgagaag gacagctgga ccgtgaacga catccagaag	2220
ctggtgggca agctgaactg gaccagccag atctaccccg gcatcaaggt gcggcagctg	2280
tgcaagctgc tgcggggcac caaggccctg accgacatcg tggccctgac cgaggaggcc	2340
gagctggagc tggccgagaa ccgggagatc ctgaaggagc ccgtgcacgg cgtgtactac	2400
gaccccagca aggacctgat cgccgagatc cagaagcagg gcgacgacca gtggacctac	2460
cagatctacc aggagccctt caagaacctg aaaaccggca agtacgcca gcggcggacc	2520
acccacacca acgacgtgaa gcagctgacc gagggcgtgc agaagatcag cctggagagc	2580
atcgtgacct ggggcaagac cccaagtctc cggtgacca tccagaagga gacctgggag	2640
atctggtgga ccgactactg gcaggccacc tggatccccg agtgggagtt cgtgaacagc	2700
ggccgcaagc ttgccaccat ggtgggcacg agctacggcc gcaagaagcg ccgccagcgc	2760
cgagcacccc cgcccagcag cgaggaccac cagaaccca tcagcaagca gcccctgccc	2820
cagaccgcg gcgacccac cggcagcgag gagagcaaga agaaggtgga gagcaagacc	2880
aagaccgacc ccttcgactg caagtactgc agctaccact gtctggtgtg cttccagacc	2940
aagggcctgg gcatctccta cgggcgcaag aaacggatgg agcccatcga cccaacctg	3000
gagccctgga accaccccg cagccagccc aacaccccct gcaacaagtg ctactgaaa	3060
tactgtcct accactgcct cgtggtgggc tggcccgcg tgcgcgagcg catccgccgc	3120
accgagcccg ccgccgagg cgtgggcccc gccagccagg acctggacaa gcacggcgcc	3180
ctgaccagca gcaacaccgc ccacaacaac cccgactgcg cctggctgca ggcccaggag	3240
gaggaggagg acgtgggctt ccccgctgcg ccccagggtg ccctgcgccc catgacctac	3300
aaggccgcct tcgacctgag cttcttcctg aaggagaagg gcggcctgga gggcctgatc	3360
cacagcaagc gccgccagga catcctggac ctgtgggtgt accacacca gggctacttc	3420
cccgactggc agaactacac ccccgcccc ggcgtgcgct accccctgac cttcggtgg	3480
tgcttcaagc tgggtccccg ggacccccgc gaggtggagg aggccaacaa gggcgagaac	3540
aactgcctgc tgcaccccat gagccagcac ggcattggagg acgccgaccg cgagggtgctg	3600
cgctgggtgt tcgacagcag cctggccccg cgccacctgg cccgcgagaa gcaccccgag	3660
tactacaagg actgagaatt ctctaga	3687

<210> 20

<211> 4912

5 <212> ADN

<213> Circovirus porcino

<400> 20

gacggatcgg gagatctccc gatccctat ggtcgactct cagtacaatc tgctctgatg	60
--	----

10

ccgcatagtt aagccagtat ctgctccctg cttgtgtgtt ggaggtcgct gagtagtgcg	120
cgagcaaaat ttaagctaca acaaggcaag gcttgaccga caattgcatg aagaatctgc	180
ttaggggttag gcgttttgcg ctgcttcgcg atgtacgggc cagatatagc cgttttgaga	240
tttctgtcgc cgactaaatt catgtcgcgc gatagtgggtg tttatcgccg atagagatgg	300
cgatattgga aaaatcgata ttgaaaata tggcatattg aaaatgtcgc cgatgtgagt	360
ttctgtgtaa ctgatatcgc cttttttcca aaagtgtatt ttgggcatac gcgatatctg	420
gcgatagcgc ttatatcggt tacgggggat ggcgatagac gactttgggtg acttgggcga	480
ttctgtgtgt cgcaaatatc gcagtttcga tataggtgac agacgatatg aggcataatc	540
gccgatagag gcgacatcaa gctggcacat ggccaatgca tatcgatcta tacattgaat	600
caatattggc cattagccat attattcatt gggttatatag cataaatcaa tattggctat	660
tggccattgc atacgttgta tccatatcat aatatgtaca tttatattgg ctcatgtcca	720
acattaccgc catgttgaca ttgattattg actagttatt aatagtaatc aattacgggg	780
tcattagtcc atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggt aaatggcccg	840
cctggctgac cgcccaacga ccccgccca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata	900
gtaacgcaa tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc	960
cacttggcag tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac	1020
ggtaaatggc ccgcctggca ttatgccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg	1080
cagtacatct acgtattagt catcgctatt accatgggtga tgcggttttg gcagtacatc	1140
aatgggcgtg gatagcgggt tgactcacgg ggatttccaa gtctccacc cattgacgtc	1200
aatgggagtt tgttttggca ccaaatcaa cgggactttc caaatgtcg taacaactcc	1260
gccccattga cgcaaatggg cggtaggcgt gtacgggtgg aggtctatat aagcagagct	1320
cgtttagtga accgtcagat cgcttgaga cgccatccac gctgttttga cctccataga	1380
agacaccggg accgatccag cctccgccc cgggaacggt gcattggaac gcggattccc	1440
cgtgccaaga gtgacgtaag taccgcctat agagtctata ggccacccc cttggcttct	1500
tatgcatgct atactgtttt tggcttgggg tctatacacc cccgcttcct catgttatag	1560
gtgatggtat agcttagcct ataggtgtgg gttattgacc attattgacc actcccctat	1620
tggtgacgat actttccatt actaatccat aacatggctc ttgcccacaa ctctctttat	1680
tggctatatg ccaatacact gtccctcaga gactgacacg gactctgtat tttacagga	1740
tgggggtctca tttattatct acaaatccac atatacaaca ccaccgtccc cagtgccgc	1800
agttttttatt aaacataacg tgggatctcc acgcgaatct cgggtacgtg ttccggacat	1860
gggctcttct ccggtagcgg cggagcttct acatccgagc cctgctccca tgcctccagc	1920
gactcatggt cgctcggcag ctcttgcct ctaacagtgg aggccagact taggcacagc	1980
acgatgcccc ccaccaccag tgtgccgcac aaggccgtgg cggtagggta tgtgtctgaa	2040
aatgagctcg gggagcgggc ttgcaccgct gacgcatttg gaagacttaa ggcagcggca	2100

gaagaagatg caggcagctg agttgttggtg ttctgataag agtcagaggt aactcccgtt	2160
gcggtgctgt taacggtgga gggcagtgta gtctgagcag tactcgttgc tgccgcgcgc	2220
gccaccagac ataatagctg acagactaac agactgttcc tttccatggg tcttttctgc	2280
agtcaccgtc cttgacacga agcttggtac cgagctcgga tccactagta acggccgcca	2340
gtgtgctgga attctgcaga tatccatcac actggcggcc gctcgagcat gcatctagag	2400
ggccctattc tatagtgtca cctaaatgct agagctcgct gatcagcctc gactgtgcct	2460
tctagttgcc agccatctgt tgtttgcccc tccccgtgc cttccttgac cctggaaggt	2520
gccactccca ctgtcctttc ctaataaaat gaggaattg catcgattg tctgagtagg	2580
tgtcattcta ttctgggggg tggggtgggg caggacagca agggggagga ttgggaagac	2640
aatagcaggc atgctgggga tgcggtgggc tctatggctt ctgaggcgga aagaaccagc	2700
tggggctcga ggggggatcg atcccgtcga cctcgagagc ttggcgtaat catggtcata	2760
gctgtttcct gtgtgaaatt gttatccgct cacaattcca cacaacatac gagccggaag	2820
cataaagtgt aaagcctggg gtgcctaatt agtgagctaa ctcacattaa ttgcgttgcg	2880
ctcactgccc gctttccagt cgggaaacct gtcgtgccag ctgcattaat gaatcggccca	2940
acgcgcgggg agaggcggtt tgcgtattgg gcgctcttcc gcttcctcgc tactgactc	3000
gctgcgctcg gtcgttcggc tgcggcgagc ggtatcagct cactcaaagg cggtaatagc	3060
gttatccaca gaatcagggg ataacgcagg aaagaacatg tgagcaaaag gccagcaaaa	3120
ggccaggaac cgtaaaaagg ccgcgttgct ggcgtttttc cataggctcc gccccctga	3180
cgagcatcac aaaaatcgac gctcaagtca gaggtggcga aaccgcagag gactataaag	3240
ataccaggcg tttccccctg gaagctccct cgtgcgctct cctgttccga ccctgccgct	3300
taccggatac ctgtccgcct ttctcccttc ggggaagcgtg gcgctttctc aatgctcacg	3360
ctgtaggtat ctgagttcgg ttaggtcgt tcgctccaag ctgggctgtg tgcacgaacc	3420
ccccgttcag cccgaccgct gcgccttatt cggttaactat cgtcttgagt ccaaccgggt	3480
aagacacgac ttatcgccac tggcagcagc cactggtaac aggattagca gagcgaggta	3540
tgtaggcggg gctacagagt tcttgaagtg gtggcctaac tacggctaca ctagaaggac	3600
agtatttggt atctgcgctc tgctgaagcc agttaccttc ggaaaaagag ttggtagctc	3660
ttgatccggc aaacaaacca ccgctggtag cgggtggttt tttgtttgca agcagcagat	3720
tacgcgcaga aaaaaaggat ctcaagaaga tcctttgatc ttttctacgg ggtctgacgc	3780
tcagtggaac gaaaactcac gttaagggat tttggtcatg agattatcaa aaaggatctt	3840
cacctagatc cttttaaatt aaaaatgaag ttttaaatac atctaaagta tatatgagta	3900
aacttgggtc gacagttacc aatgcttaat cagtgaggca cctatctcag cgatctgtct	3960
atttcgttca tccatagttg cctgactccc cgtcgtgtag ataactacga tacggggagg	4020
cttaccatct ggccccagtg ctgcaatgat accgcgagac ccacgctcac cggctccaga	4080
tttatcagca ataaaccagc cagccggaag ggccgagcgc agaagtgggtc ctgcaacttt	4140

atccgcctcc atccagtcta ttaattggtg ccggaagct agagtaagta gttcgccagt	4200
taatagtttg cgcaacgttg ttgccattgc tacaggcatc gtggtgtcac gctcgtcgtt	4260
tggtatggct tcattcagct ccggttccca acgatcaagg cgagttacat gatcccccat	4320
gttgtgcaaa aaagcgggta gtccttcgg tcctccgacg gttgtcagaa gtaagttggc	4380
cgcagtgtta tcactcatgg ttatggcagc actgcataat tctcttactg tcatgccatc	4440
cgtaagatgc ttttctgtga ctggtgagta ctcaaccaag tcattctgag aatagtgtat	4500
gcggcgaccg agttgctctt gcccggcgtc aatacgggat aataccgcgc cacatagcag	4560
aacttttaaa gtgctcatca ttggaaaacg ttcttcgggg cgaaaactct caaggatctt	4620
accgctgttg agatccagtt cgatgtaacc cactcgtgca cccaactgat cttcagcatc	4680
ttttactttc accagcgttt ctgggtgagc aaaaacagga aggcaaatg ccgcaaaaaa	4740
gggaataagg gcgacacgga aatgttgaat actcatactc ttcctttttc aatattattg	4800
aagcatttat cagggttatt gtctcatgag cggatacata ttggaatgta tttagaaaaa	4860
taaacaaata ggggttccgc gcacatttcc ccgaaaagtg ccacctgacg tc	4912

<210> 21

<211> 1777

5 <212> ADN

<213> Circovirus porcino

<400> 21

ctagtctcga cattggtgtg ggtattttaa tggagccaca gctggtttct tttattattt	60
ggctggaacc aatcaattgt ttggtccagc tcaggtttgg ggggtgaagta cctggagtgg	120
taggtaaagg gctgccttat ggtgtggcgg gaggagtagt taatataggg gtcataggcc	180
aagttggttg agggggttac aaagttggca tccaagataa cagcagtga cccaacacct	240
ctttgattag aggtgatggg gtctctgggg taaaattcat atttagcctt tctaatacgg	300
tagtattgga aaggtagggg tagggggttg gtgccgctg agggggggag gaactggccg	360
atgttgaatc tgagctggtt aacattccaa gatggctgcg agtgtcctcc ttctatggtg	420
agtacaaatt ctctagaaag gcggcaattg aagatacccg tctttcggcg ccatctgtaa	480
cggtttctga aggcggggtg tgccaaatat ggtcttctgc ggaggatgtt tccaagatgg	540
ctgcgggggc gggctcttct tctgcggtaa cgctccttg gccacgtcat cctataaaag	600
tgaaagaagt gcgctgctgt agtattacca gcgcacttcg gcagcggcag cacctcggca	660
gcgtcgggtga aaatgccaa caagaaaagc ggcccgaac ccataagag gtgggtgttc	720
acccttaata atccttccga ggaggagaaa aacaaaatac gggagcttcc aatctccctt	780
tttgattatt ttgtttgcgg agaggaaggt ttggaagagg gtagaactcc tcacctccag	840
gggtttgcga attttgctaa gaagcagact ttaacaagg tgaagtggta ttttggtgcc	900
cgctgccaca tcgagaaagc gaaaggaacc gaccagcaga ataaagaata ctgcagctgc	960
agtaaagaag gccacatact tatcgagtgt ggagctccgc ggaaccaggg gaagcgcagc	1020

10

gacctgtcta ctgctgtgag tacccttttg gagacggggt ctttggtgac tgtagccgag	1080
cagttccctg taacgtatgt gagaaatttc cgcgggctgg ctgaactttt gaaagtgagc	1140
gggaagatgc agcagcgtga ttggaagaca gctgtacacg tcatagtggg cccgcccggt	1200
tgtgggaaga gccagtgggc ccgtaatttt gctgagccta gcgacaccta ctggaagcct	1260
agtagaaata agtggtggga tggatatcat ggagaagaag ttgttgtttt ggatgatttt	1320
tatggctggt taccttggga tgatctactg agactgtgtg accggtatcc attgactgta	1380
gagactaaag ggggtactgt tccttttttg gcccgcagta ttttgattac cagcaatcag	1440
gccccccagg aatgggtactc ctcaactgct gtcccagctg tagaagctct ctatcggagg	1500
attactactt tgcaattttg gaagactgct ggagaacaat ccacggaggt acccgaaggc	1560
cgatttgaag cagtggaccc accctgtgcc cttttcccat ataaaataaa ttactgagtc	1620
ttttttgta tcacatcgta atggttttta tttttattca ttttagagggt cttttaggat	1680
aaattctctg aattgtacat aaatagtcag ccttaccaca taattttggg ctgtggctgc	1740
attttggagc gcatagccga ggcctgtgtg acaatca	1777

<210> 22

<211> 1777

5 <212> ADN

<213> Circovirus porcino

<400> 22

ctagtgtattg tcacacaggc ctcggctatg cgctccaaaa tgcagccaca gccc aaaatt	60
atgtggtaag gctgactatt tatgtacaat tcagagaatt taccctaaaa gaccctctaa	120
atgaataaaa ataaaaacca ttacgatgtg ataacaaaaa agactcagta atttatttta	180
tatgggaaaa gggcacaggg tgggtccact gcttcaaatc ggccttcggg tacctccgtg	240
gattgttttc cagcagtctt ccaaaattgc aaagtagtaa tcctccgata gagagcttct	300
acagctggga cagcagttga ggagtaccat tcctgggggg cctgattgct ggtaatcaaa	360
atactgcggg ccaaaaaagg aacagtaccc cctttagtct ctacagtcaa tggataccgg	420
tcacacagtc tcagtagatc atcccaagggt aaccagccat aaaaatcatc caaaacaaca	480
acttcttttc catgatatcc atcccaccac ttatttctac taggcttcca gtaggtgtcg	540
ctaggctcag caaaattacg ggcccactgg ctcttccac aaccgggcgg gccactatg	600
acgtgtacag ctgtcttcca atcacgtgc tgcatttcc cgctcacttt caaaagttca	660
gccagccgc ggaaatttct cacatacgtt acaggaact gctcggctac agtcacaaaa	720
gaccccgctc caaaagggt actcacagca gtagacaggt cgctgcgctt cccctggttc	780
cgcggaagctc cactcagat aagtatgtgg ccttctttac tgcagctgca gtattcttta	840
ttctgtggt cggttccttt cgctttctcg atgtggcagc gggcacaaa ataccacttc	900
accttgtaaa aagtctgctt cttagcaaaa ttcgcaaac cctggagggtg aggagttcta	960
ccctcttcca aaccttctc tccgaaaaca aaataatcaa aaaggagat tggaagctcc	1020
cgtattttgt ttttctctc ctcggaagga ttattaaggg tgaacacca cctcttatgg	1080

10

ggttgCGggc cgcttttctt gcttggcatt ttcaccgacg ctgccgaggt gctgccgctg 1140
 ccgaagtgcg ctggaatac tacagcagcg cacttctttc acttttatag gatgacgtgg 1200
 ccaaggaggc gttaccgcag aagaaggacc cgcccccgca gccatcttgg aaacatcctc 1260
 cgcagaagac catatttggc acaccccgcc ttcagaaacc gttacagatg gcgccgaaag 1320
 acgggtatct tcaattgccg cttttctaga gaatttgtag tcaccataga aggaggacac 1380
 tcgcagccat cttggaatgt taaccagctc agattcaaca tcggccagtt cctccccccc 1440
 tcaggcggca ccaacccctt acccctacct ttccaatact accgtattag aaaggctaaa 1500
 tatgaatttt accccagaga ccccatcacc tctaatacaa gaggtgttgg gtccactgct 1560
 gttatcttgg atgccaaact tgtaaccccc tccaccaact tggcctatga cccctatatt 1620
 aactactcct ccgcccacac cataaggcag ccctttacct accactccag gtacttcacc 1680
 cccaaacctg agctggacca aacaattgat tggttccagc caaataataa aagaaaccag 1740
 ctgtggctcc atttaaatac ccacaccaat gtcgaga 1777

<210> 23

<211> 752

5 <212> ADN

<213> Circovirus porcino

<400> 23

atttctctaga aaggcggcaa ttgaagatac cCGtctttcg gcgccatctg taacggtttc 60
 tgaaggcggg gtgtgccaaa tatggtcttc tccggaggat gtttccaaga tggctgcggg 120
 ggCGggctct tcttctgcgg taacgcctcc ttggccacgt catcctataa aagtgaagaa 180
 agtgcgctgc tgtagtatta ccagcgact tcggcagcgg cagcacctcg gcagcgtag 240
 tgaaaatgcc aagcaagaaa agcggcccgC aaccccataa gaggtgggtg ttcaccctta 300
 ataatccttc cgaggaggag aaaaacaaaa tacgggagct tccaatctcc ctttttgatt 360
 attttgtttg cgagaggaa ggtttgaag agggtagaac tcctcacctc caggggtttg 420
 cgaattttgc taagaagcag acttttaaca aggtgaagtg gtattttggt gcccgctgcc 480
 acatcgagaa agcgaagga accgaccagc agaataaaga atactgcagt aaagaaggcc 540
 acatacttat cgagtgtgga gctccgcgga accaggggaa gcgcagcgac ctgtctactg 600
 cttattttga ttaccagcaa tcaggcccc caggaatggt actcctcaac tgctgtccca 660
 gctgtagaag ctctctatcg gaggattact actttgcaat tttggaagac tgctggagaa 720
 10 caatccacgg aggtacccga aggccgattt ga 752

<210> 24

<211> 350

<212> ADN

15 <213> Circovirus porcino

<400> 24

atttctctaga aaggcggcaa ttgaagatac cCGtctttcg gcgccatctg taacggtttc 60
 tgaaggcggg gtgtgccaaa tatggtcttc tccggaggat gtttccaaga tggctgcggg 120

	ggcgggtcct tcttctgctg taacgcctcc ttggccacgt catcctataa aagtgaaga	180
	agtgcgctgc tgtagtatta ccagcgact tcggcagatc agggcccca ggaatggtac	240
	tcctcaactg ctgtcccagc tgtagaagct ctctatcgga ggattactac ttgcaattt	300
	tggaagactg ctggagaaca atccacggag gtacccgaag gccgatttga	350
	<210> 25	
	<211> 17	
5	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Secuencia del cebador	
10	<400> 25	
	cctaactacg gctacac	17
	<210> 26	
15	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
20	<223> Secuencia del cebador	
	<400> 26	
	cgtagttatc tacacgac	18
25	<210> 27	
	<211> 190	
	<212> ADN	
	<213> Circovirus porcino	
30	<400> 27	
	actagtaggt gtcgctaggc tcagcaaat tacgggcccc ctgactcttc ccacaaccgg	60
	gcgggcccac tatgacgtgt acagctgtct tccaatcacg ctgctgcatc ttcccgtca	120
	ctttcaaaag ttcagccagc ccgcggaaat ttctcacata cgttacaggg aactgctcca	180
	tatgactagt	190
	<210> 28	
	<211> 190	
35	<212> ADN	
	<213> Circovirus porcino	
	<400> 28	
	actagtcata tggagcagtt ccctgtaacg tatgtgagaa atttccgcgg gctggctgaa	60
	cttttgaaag tgagcgggaa gatgcagcag cgtgattgga agacagctgt acacgtcata	120
	gtgggcccgc ccggttggtg gaagagtcag tgggcccgtg attttgctga gcctagcgac	180
	acctactagt	190
40	<210> 29	
	<211> 1783	
	<212> ADN	
	<213> Circovirus porcino	
45	<400> 29	

actagtctcg acattggtgt gggatatttaa atggagccac agctggtttc ttttattatt	60
tggctggaac caatcaattg tttggtccag ctcaggtttg ggggtgaagt acctggagt	120
gtaggtaaag ggctgcctta tgggtgtggcg ggaggagtag ttaatatagg ggtcataggc	180
caagttggtg gaggggggta caaagttggc atccaagata acagcagtgg acccaacacc	240
tctttgatta gaggtgatgg ggtctctggg gtaaaattca tatttagcct ttctaatacg	300
gtagtatttg aaaggtaggg gtaggggggtt ggtgccgcct gaggggggga ggaactggcc	360
gatgttgaat ctgagctggt taacattcca agatggctgc gagtgtcctc cttctatggt	420
gagtacaaat tctctagaaa ggcggcaatt gaagataccc gtctttcggc gccatctgta	480
acggtttctg aaggcggggt gtgccaaata tgggtcttctg cggaggatgt ttccaagatg	540
gctgcggggg cgggtccttc ttctgcggta acgcctcctt ggccacgtca tcctataaaa	600
gtgaaagaag tgcgctgctg tagtattacc agcgcacttc ggcagcggca gcacctcggc	660
agcgtcgggtg aaaatgccaa gcaagaaaag cggcccgcga ccccataaga ggtgggtgtt	720
cacccttaat aatccttccg aggaggagaa aaacaaaata cgggagcttc caatctcct	780
ttttgattat tttgtttgcg gagaggaagg tttggaagag ggtagaactc ctcacctcca	840
ggggtttgcg aattttgcta agaagcagac ttttaacaag gtgaagtggg attttggtgc	900
ccgctgccac atcgagaaa gaaaggaac cgaccagcag aataaagaat actgcagctg	960
cagtaaagaa ggccacatac ttatcgagtg tggagctccg cggaaccagg ggaagcgcag	1020
cgaçctgtct actgctgtga gtaccctttt ggagacgggg tctttggtga ctgtagccga	1080
gcagttccct gtaacgtatg tgagaaattt ccgcgggctg gctgaacttt tgaaagttag	1140
cgggaagatg cagcagcgtg attggaagac agctgtacac gtcatagtgg gcccgcccg	1200
ttgtgggaag agccagtggg cccgtaattt tgctgagcct agcgacacct actggaagcc	1260
tagtagaaat aagtgggtgg atggatatca tggagaagaa gttgttggtt tggatgattt	1320
ttatggctgg ttaccttggg atgatctact gagactgtgt gaccggtatc cattgactgt	1380
agagactaaa ggggggtactg ttcctttttt ggcccgcagt attttgatta ccagcaatca	1440
ggccccccag gaatggtact cctcaactgc tgtcccagct gtagaagctc tctatcggag	1500
gattactact ttgcaatttt ggaagactgc tggagaacaa tccacggagg taccgaagg	1560
ccgatttgaa gcagtggacc caccctgtgc ctttttccca tataaaataa attactgagt	1620
cttttttggt atcacatcgt aatgggtttt atttttattc atttagaggg tcttttagga	1680
taaattctct gaattgtaca taaatagtca gccttaccac ataattttgg gctgtggctg	1740
cattttggag cgcatagccg aggcctgtgt gacaatcact agt	1783

<210> 30

<211> 1783

5 <212> ADN

<213> Circovirus porcino

<400> 30

actagtgatt gtcacacagg cctcggctat gcgctccaaa atgcagccac agcccaaat	60
tatgtggtaa ggctgactat ttatgtacaa ttcagagaat ttatcctaaa agaccctcta	120
aatgaataaa aataaaaacc attacgatgt gataacaaaa aagactcagt aattttatttt	180
atatgggaaa agggcacagg gtgggtccac tgcttcaaat cggccttcgg gtacctcgt	240
ggattgttct ccagcagtct tccaaaattg caaagtagta atcctccgat agagagcttc	300
tacagctggg acagcagttg aggagtacca ttcctggggg gcctgattgc tggtaatcaa	360
aatactgcgg gccaaaaaag gaacagtacc cccttttagtc tctacagtca atggataccg	420
gtcacacagt ctcagtagat catcccaagg taaccagcca taaaaatcat ccaaaacaac	480
aacttcttct ccatgatatc catcccacca cttatttcta ctaggcttcc agtaggtgtc	540
gctaggctca gcaaaattac gggccactg gctcttccca caaccgggcg ggccactat	600
gacgtgtaca gctgtcttcc aatcacgtg ctgcctcttc ccgtcactt tcaaaagttc	660
agccagcccc cggaatttc tcacatacgt tacagggaac tgctcggcta cagtcaccaa	720
agaccccgtc tccaaaaggg tactcacagc agtagacagg tcgctgcgct tcccctgggt	780
ccgcggagct ccacactcga taagtatgtg gccttcttta ctgcagctgc agtattcttt	840
attctgctgg tcggttcctt tcgcttcttc gatgtggcag cgggcaccaa aataccactt	900
caccttggtt aaagtctgct tcttagcaaa attcgcaaac ccctggagggt gaggagtctt	960
accctcttcc aaaccttcct ctccgcaaac aaaataatca aaaagggaga ttggaagctc	1020
ccgtattttg tttttctcct cctcgggaagg attattaagg gtgaacaccc acctcttatg	1080
gggttgcggg ccgcttttct tgcttgccat ttccaccgac gctgccgagg tgctgccgct	1140
gccgaagtgc gctggtaata ctacagcagc gcacttcttt cacttttata ggatgacgtg	1200
gccaaggagg cgttaccgca gaagaaggac ccgccccgc agccatcttg gaaacatcct	1260
ccgcagaaga ccatatttg caccccccgc cttcagaaac cgttacagat ggcgccgaaa	1320
gacgggtatc ttcaattgcc gcctttctag agaatttgta ctcaccatag aaggaggaca	1380
ctcgcagcca tcttggaatg ttaaccagct cagattcaac atcggccagt tcctcccccc	1440
ctcaggcggc accaaccccc taccctacc tttccaatac taccgtatta gaaaggctaa	1500
atatgaattt taccacagag accccatcac ctctaataca agagggtgtg ggtccactgc	1560
tgttatcttg gatgccaaact ttgtaacccc ctccaccaac ttggcctatg acccctatat	1620
taactactcc tcccgccaca ccataaggca gccctttacc taccactcca ggtacttcac	1680
cccaaacct gagctggacc aaacaattga ttggttcag ccaaataata aaagaaacca	1740
gctgtggctc catttaataa cccacaccaa tgctgagact agt	1783

<210> 31

<211> 180

5 <212> ADN

<213> Circovirus porcino 1

<400> 31

gcagttccct gtaacgtatg tgagaaattt ccgcgggctg gctgaacttt tgaaagtgag	60
cggaagatg cagcagcgtg attggaagac agctgtacac gtcatagtgg gcccggcgg	120
ttgtgggaag agccagtggg cccgtaattt tgctgagcct agcgacacct actggaagcc	180

	<210> 32		
	<211> 184		
	<212> ADN		
5	<213> Circovirus porcino 2		
	<400> 32		
	cagagcagca ccctgtaacg tttgtcagaa atttccgcgg gctggctgaa cttttgaaag	60	
	tgagcgggaa aatgcagaag cgtgattgga agactaatgt acacgtcatt gtggggccac	120	
	ctgggtgtgg taaaagcaaa tgggctgcta attttgcaga cccggaacc acatactgga	180	
	aacc	184	
10	<210> 33		
	<211> 166		
	<212> ADN		
	<213> Virus de la enfermedad del pico y las plumas		
15	<400> 33		
	cgagagttcc cagatatcta cgtcaggcat gggcggggct tacataatct ctcgctaattg	60	
	gttggttccc ggccacgtga cttcaagact gaggtcgacg tcattctacgg accaccgggg	120	
	tgtggcaaga gtagatgggc caatgagcag ccggggacca aatatt	166	
	<210> 34		
	<211> 180		
20	<212> ADN		
	<213> Circovirus del canario		
	<400> 34		
	tgggtggagat cgcgcgagag ttccagtgaga tctacgtcaa gtatgggctg ggtctgaggg	60	
	atttggccct gatgattgga cagaaacccc gtgacttcaa gacggaagtc gtcgtcatca	120	
	cagggccttc cggggtgggc aagtcctcgac ttgcctctga aatggaagga tcgaagttct	180	
25	<210> 35		
	<211> 174		
	<212> ADN		
	<213> Circovirus de los colúmbidos		
30	<400> 35		
	tcgcgcgaga cttcagttag atatactgca agtatgggctg tggcttgccg gacctgaagc	60	
	tgctgattgg tcagcagcct cgtgacttca aaacggaagt catcgtcatc acgggcccgc	120	
	ccggttgccg gaagagccgt tgggcagctg agtaccgccg aagtaaattt taca	174	
	<210> 36		
35	<211> 182		
	<212> ADN		
	<213> Circovirus del pato		
	<400> 36		
40	tgaggtggcc cggaagttcc ccacgactta tgttatcttt gggcgtggcc tggaacgcct	60	
	ccgtcacctg atcgttgaga cgcaacgtga ttggaagacc gaagtcatcg ttctgattgg	120	
	tccgcccggc accgggaaga gccgttatgc atttgaattt cccgccgaaa acaagtatta	180	
	ca	182	

	<210> 37		
	<211> 201		
	<212> ADN		
5	<213> Circovirus del pinzón		
	<400> 37		
	ccgtgaaagc cggaagaggt atggccgaag tcgcbgaga gttcagtcta gcctacgtca	60	
	gatatgggcb gggcctgcgt gatcttgcgc tgctgattgg ccagaagccc cgtgacttca	120	
	aaacggaagt catagtgctg accggcccta gtgggtgtgg caaatcccgc tgggccaatg	180	
	aacaagaagg aactaagttt t	201	
10	<210> 38		
	<211> 200		
	<212> ADN		
	<213> Circovirus del ganso		
15	<400> 38		
	tggctctgccg ataactgacg tggcccggaa gtacccgacg acttatgtaa tgtttgggcb	60	
	gggcttagag cgggttgcgc agctgatcgt ggagaccgct cgtgattgga agacggaggt	120	
	catcgttctg attgggcbgc ctggaagcgg gaagagccgt tacgcgtttg aatttcccgc	180	
	gcgtgaaaag tattataaat	200	
	<210> 39		
	<211> 180		
20	<212> ADN		
	<213> Circovirus de la gaviota		
	<400> 39		
	gtgaaatcgc gcgagagttc agtgaagtct acgtcaagta tgggcbgggc ctccgtgatc	60	
	tccggttgct gattgggtgc ccgccccgcg atttcaaac agaagtcac gttctgattg	120	
	gcccacctgg ctgtggcaag tcaaaattgg ccaatgagat ggaagggtct aagttctaca	180	
25	<210> 40		
	<211> 190		
	<212> ADN		
	<213> Circovirus porcino 1		
30	<400> 40		
	ctgtagccga gcagttccct gtaacgtatg tgagaaattt ccgcbggctg gctgaacttt	60	
	tgaaagtgag cgggaagatg cagcagcgtg attggaagac agctgtacac gtcatagtgg	120	
	gcccgccccg ttgtgggaag agccagtggg cccgtaattt tgctgagcct agcgacacct	180	
	actggaagcc	190	
	<210> 41		
35	<211> 190		
	<212> ADN		
	<213> Circovirus porcino 1		
	<400> 41:		

ES 2 465 165 T3

ggcttccagt aggtgtcgct aggctcagca aaattacggg cccactggct cttcccacaa	60
ccgggcgggc ccactatgac gtgtacagct gtcttccaat cacgctgctg catcttcccg	120
ctcactttca aaagttcagc cagcccgcgg aaatttctca catacgttac agggaactgc	180
tcggctacag	190

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento *in vitro* para estimular la expresión de un transgén en una célula hospedadora, en donde el procedimiento incluye las etapas de:
 - 5 (a) inserción de una secuencia de un elemento promotor de la cápsida (Pcap) o un complemento inverso de la misma (PcapR) que es al menos idéntica al 80% a cualquiera de las secuencias seleccionadas de las SEQ ID n.º 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22 y 24 en un casete de expresión de mamífero delante (5') de un promotor inmediato/temprano de citomegalovirus (Pcmv) o un elemento promotor del SV40;
 - 10 (b) inserción del transgén en el vector por detrás (3') del elemento promotor de citomegalovirus o del elemento promotor del SV40;
 - (c) inserción del casete de expresión en la célula hospedadora; y
 - (d) hacer que se exprese el transgén.
2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en donde se inserta un intrón de citomegalovirus por detrás (3') del Pcmv y se inserta un sitio de poliadenilación de la hormona de crecimiento bovina (poliA de la bgh) por detrás (3') del transgén.
- 15 3. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, que hace que el transgén se exprese a un nivel más alto que cuando se expresa en un vector que contiene el casete de expresión sin el elemento promotor de la cápsida (Pcap) ni el complemento inverso del mismo.
4. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el elemento promotor de la cápsida o el complemento inverso del mismo es de un circovirus.
- 20 5. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la secuencia de Pcap es cualquiera de las secuencias seleccionadas entre SEQ ID n.º 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 21, 24 y 29, o la secuencia de PcapR es cualquiera de las secuencias seleccionadas entre SEQ ID n.º 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 22 y 30.
- 25 6. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el elemento promotor de la cápsida o el complemento inverso del mismo se inserta inmediatamente por delante (5') del elemento promotor inmediato/temprano de citomegalovirus o del elemento promotor del SV40.
7. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el elemento promotor de la cápsida o el complemento inverso del mismo se inserta hasta 1100 pares de bases por delante (5') del elemento promotor inmediato/temprano de citomegalovirus o del elemento promotor del SV40.
- 30 8. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la célula hospedadora es una línea de células de mamífero.
9. Casete de expresión de mamífero, que incluye:
 - (a) un elemento promotor inmediato/temprano de citomegalovirus (Pcmv) o un elemento promotor del SV40; y
 - 35 (b) una secuencia del elemento promotor de la cápsida (Pcap) o un complemento inverso (PcapR) de la misma localizada por delante (5') del elemento promotor de CMV o del elemento promotor del SV40, en donde la secuencia de Pcap o la secuencia de PcapR es al menos idéntica al 80% a cualquiera de las secuencias seleccionadas entre SEQ ID n.º 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22 y 24.
- 40 10. Casete de expresión de acuerdo con la reivindicación 9, que incluye un transgén por detrás (3') del elemento promotor inmediato/temprano de citomegalovirus o del elemento promotor del SV40.
11. Vector que incluye un casete de expresión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10.
12. Célula hospedadora transformada con un vector de acuerdo con la reivindicación 11.
13. Vacuna de ADN que incluye un vector o casete de expresión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11.
- 45 14. Composición farmacéutica que incluye un vector o casete de expresión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11.

15. Composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 14, para ser usada en el tratamiento del VIH o del sida.

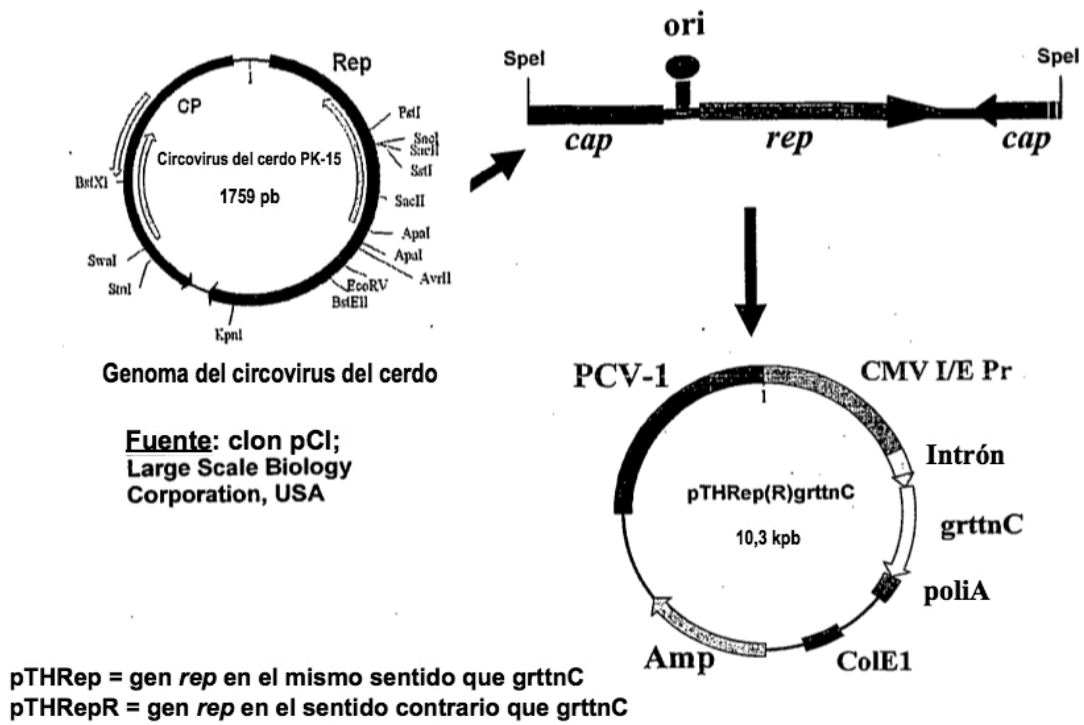


Fig. 1 (a)

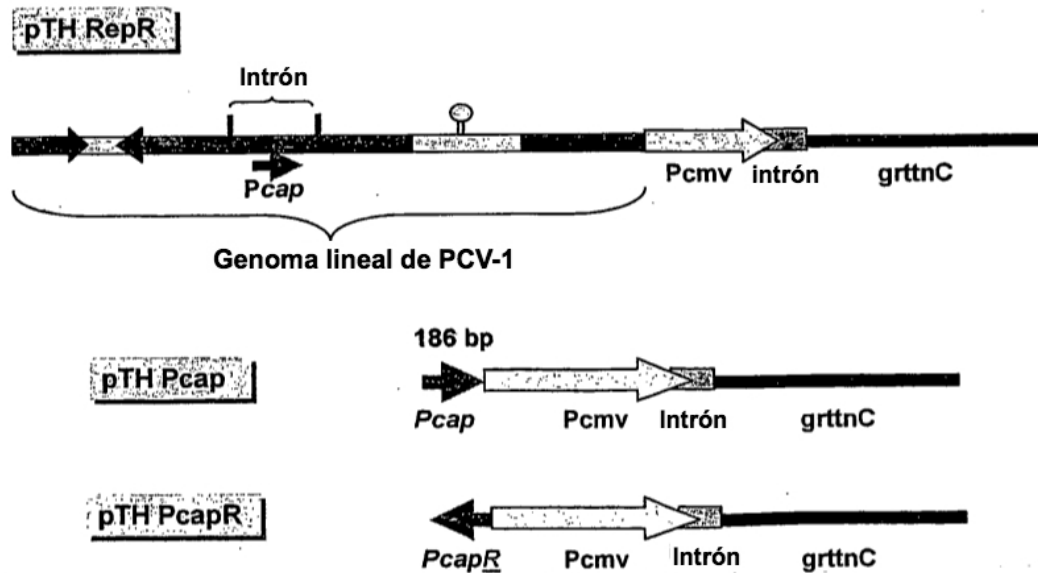
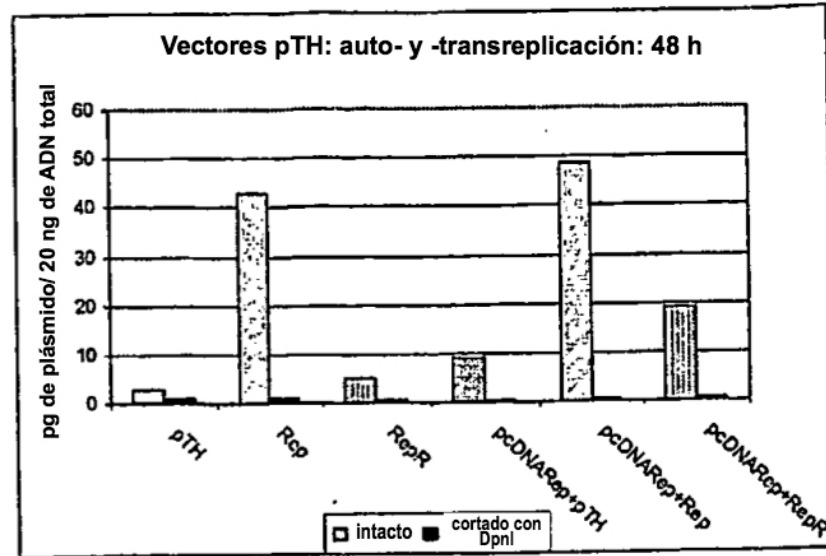
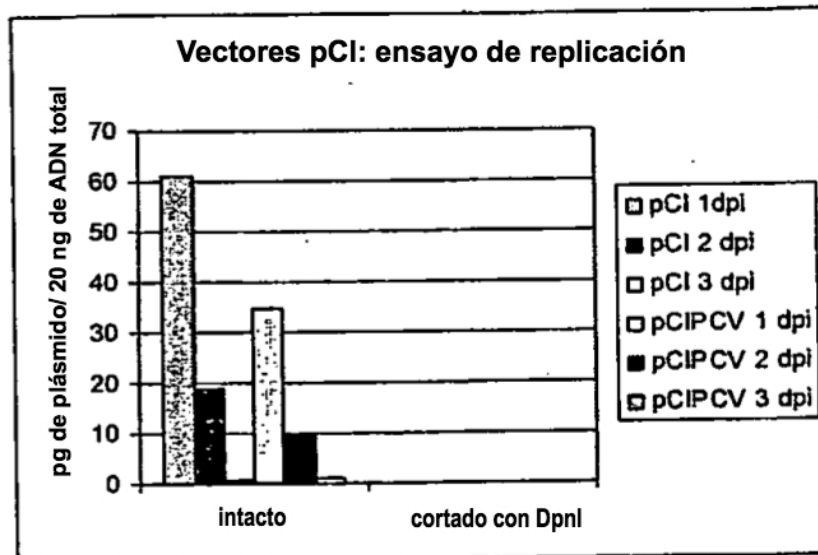


Fig. 1 (b)



(a)



(b)

Fig. 2

- **Prep:** diferenciar la replicación del efecto del promotor
- La replicación necesita las proteínas Rep y Rep' codificadas por el gen *rep*
- Ambas se fijan a *Prep*: sólo Rep puede inhibir a *Prep*

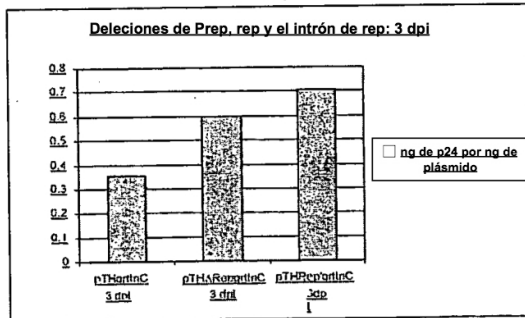
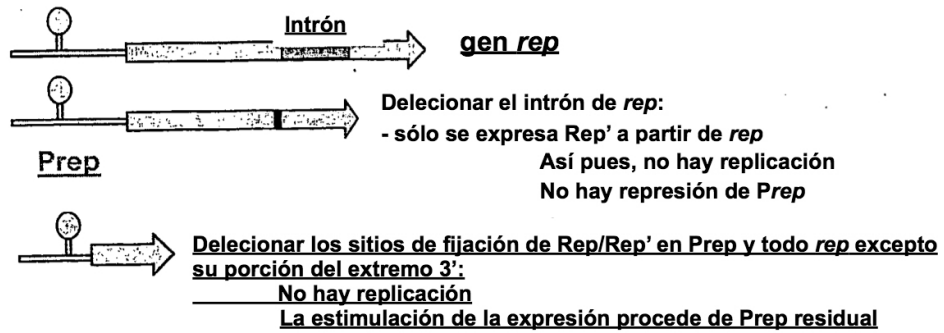


Fig. 3

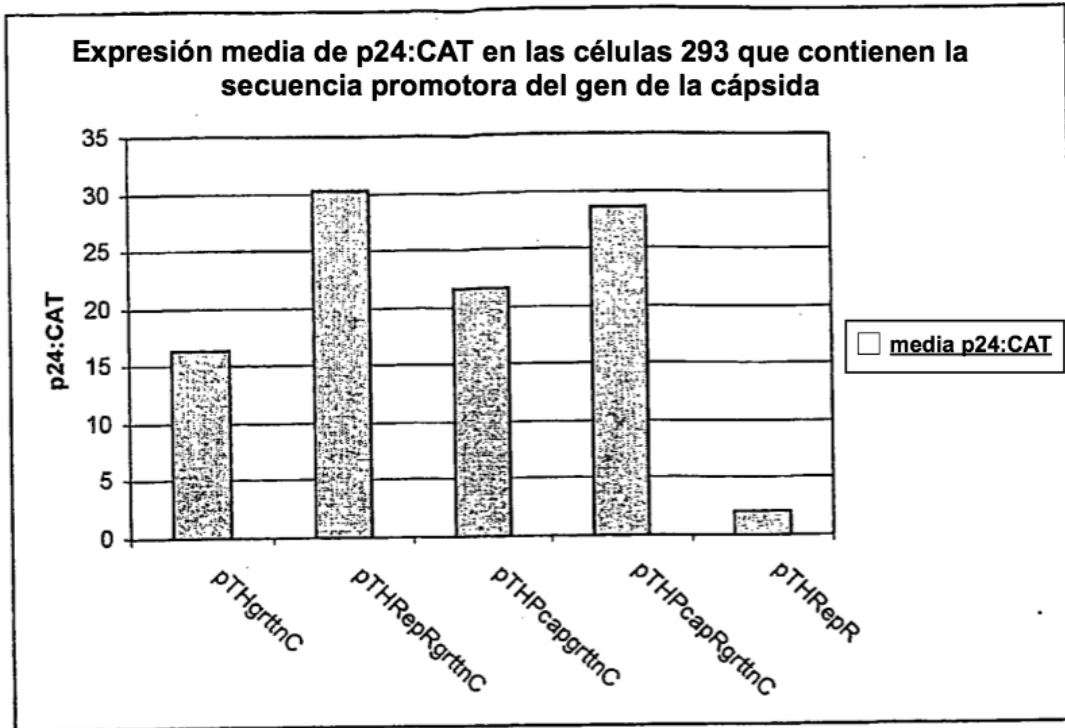


Fig. 4

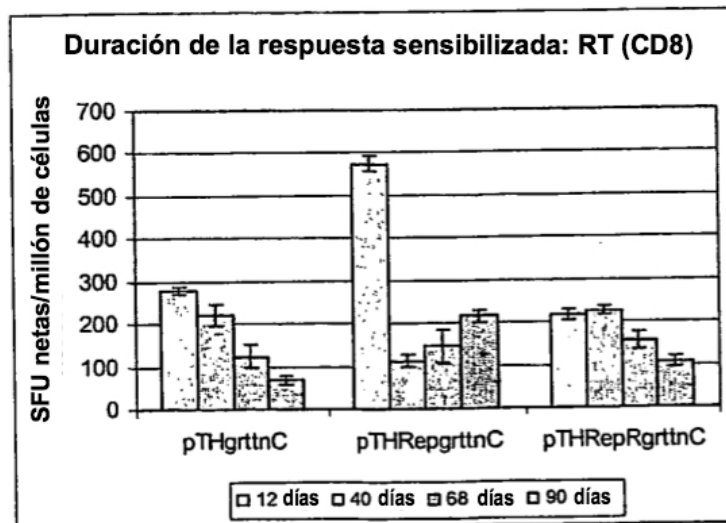


Fig. 5

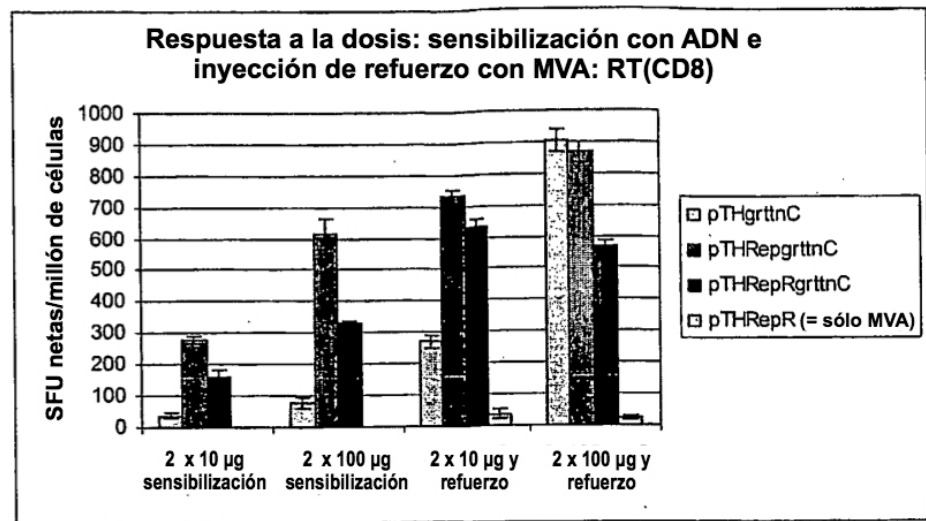


Fig. 6

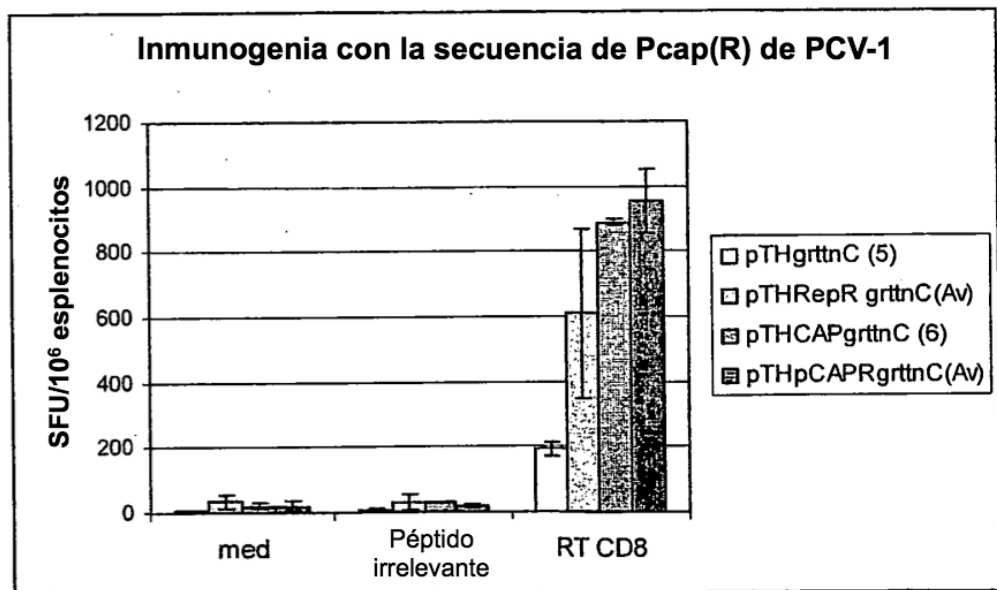


Fig. 7

SEQ Pcap: 190 pb

ORIGEN

```

1      ACTAGTAGGT GTCGCTAGGC TCAGCAAAT TACGGGCCCCA CTGACTCTTC CCACAACCGG
61     GCGGGCCCAC TATGACGTGT ACAGCTGTCT TCCAATCACG CTGCTGCATC TCCCCGCTCA
121    CTTTCAAAAG TTCAGCCAGC CCGCGGAAAT TTCTCACATA CGTTACAGGG AACTGCTCCA
181    TATGACTAGT

```

Fig. 8

SEQ PcapR: 190 pb;

ORIGEN

```

1      ACTAGTCATA TGGAGCAGTT CCCTGTAACG TATGTGAGAA ATTTCCGCGG GCTGGCTGAA
61     CTTTTGAAAG TGAGCGGGAA GATGCAGCAG CGTGATTGGA AGACAGCTGT ACACGTCATA
121    GTGGGCCCCG CCGGTTGTGG GAAGAGTCAG TGGGCCCCGTA ATTTTGCTGA GCCTAGCGAC
181    ACCTACTAGT

```

Fig. 9

SEQ grttnC: 3687 pb

ORIGEN

```

1      TACCTTGCCA CCATGGCTGC TCGCGCATCT ATCCTCAGAG GCGAAAAGTT GGATAAGTGG
61     GAAAAAATCA GACTCAGGCC AGGAGGTAAA AAACACTACA TGCTGAAGCA TATCGTGTGG
121    GCATCTAGGG AGTTGGAGAG ATTTGCACTG AACCCCGGAC TGCTGGAAAC CTCAGAGGGC
181    TGTAAGCAAA TCATGAAACA GCTCCAACCA GCCTTGCGA CCGGAACAGA AGAGCTGAAG
241    TCCCTTTACA ATACCGTGGC AACCCCTCTAT TGCGTCCACG AGAAGATCGA GGTGAGAGAC
301    ACAAAGGAGG CCCTGGACAA AATCGAGGAG GAGCAGAATA AGTGCCAGCA GAAGACCCAG
361    CAGGCAAAGG CTGCTGACGG AAAGGTCTCT CAGAACTATC CTATCGTTCA GAACCTTCAG
421    GGGCAGATGG TGCACCAAGC AATCAGCCCT AGAACCCCTGA ACGCATGGGT GAAGGTGATC
481    GAGGAGAAAG CCTTTTCTCC CGAGGTTATC CCCATGTTTA CCGCCCTGAG CGAAGGCGCC
541    ACTCCTCAAG ACCTGAACAC TATGCTGAAC ACAGTGGGAG GACACCAGGC CGCTATGCAG
601    ATGTTGAAGG ATACCATCAA CGAGGAGGCA GCCGAATGGG ACCGCCTCCA CCCCCTGCAC
661    GCCGGACCTA TCGCCCCCGG ACAAATGAGA GAACCTCGCG GAAGTGATAT TGCCGGTACT
721    ACCAGCACCC TTCAAGAGCA GATTGCTTGG ATGACCAGCA ACCACCCAT CCCAGTGGGC
781    GATATTTACA AAAGGTGGAT TATTCTGGGG CTGAACAAA TTGTGAGAAT GTACTCCCCC
841    GTCTCCATCC TCGACATCCG CCAAGGACCC AAGGAGCCTT TTAGGGATTA CGTGGACAGA
901    TTCTTCAAAA CCCTTAGAGC TGAGCAAGCC ACTCAGGAGG TTAAGAACTG GATGACAGAT
961    ACTCTGCTCG TGCAAAACGC TAACCCCGAT TGCAAAACCA TCTTGAGAGC TCTCGGTCCA
1021   GGTGCCACCC TTGAGGAAAT GATGACAGCA TGTCAAGGCG TGGGAGGACC TGGGCACAAG
1081   GCCAGAGTTC TCGCTGAGGC CATGAGCCAG ACAAACTCAG GCAATATCAT GATGCAGAGG
1141   AGTAACTTTA AGGGTCCCAG GAGAATCGTC AAGTGCTTCA ATTGTGGCAA GGAGGGTCAC
1201   ATTGCCAGGA ACTGCCGCGC CCCCAGGAAG AAAGGCTGCT GGAAGTGTGG CAAAGAGGGC
1261   CACCAGATGA AGGATTGCAC CGAGCGCCAA GCAAACCTCC TGGGAAAGAT TTGGCCAGT
1321   CATAGGGGCC GCCCTGGCGA ATTCTGCGGC AAGAAGGCCA TCGGCACCGT GCTGGTGGGC
1381   CCCACCCCGG TGAACATCAT CGGCCGGAAC ATGCTGACCC AGCTGGGCTG CACCTGAAC
1441   TTCCCACATCA GCCCATCGA GACCGTGCCC GTGAAGCTGA AGCCCGGCAT GGACGGCCCC
1501   AAGGTGAAGC AGTGGCCCCT GACCGAGGTG AAGATCAAGG CCCTGACCGC CATCTGCGAG
1561   GAGATGGAGA AGGAGGGCAA GATACCAAG ATCGGCCCCG AGAACCCCTA CAACACCCCC
1621   ATCTTCGCCA TCAAGAAGGA GGACAGCACC AAGTGGCGGA AGCTGGTGGA CTTCCGGGAG
1681   CTGAACAAGC GGACCCAGGA CTTCTGGGAG GTGCAGCTGG GCATCCCCCA CCCC GCCGGC
1741   CTGAAGAAGA AGAAGAGCGT GACCGTGCTG GACGTGGGCG ACGCCTACTT CAGCGTGCCC

```

```

1801 CTGGACGAGG GCTTCCGGAA GTACACCGCC TTCACCATCC CCAGCATCAA CAACGAGACC
1861 CCCGGCATCC GGTACCAGTA CAACGTGCTG CCCAGGGCT GGAAGGGCAG CCCCGCCATC
1921 TTCCAGGCCA GCATGACCAA GATCCTGGAG CCCTTCCGGG CCAAGAACCC CGAGATCGTG
1981 ATCTACCAGT ACATGGCCGC CCTGTACGTG GGCAGCGACC TGGAGATCGG CCAGCACCGG
2041 GCCAAGATCG AGGAGCTGCG GGAGCACCTG CTGAAGTGGG GCTTCACCAC CCCCGACAAG
2101 AAGCACCAGA AGGAGCCCCC CTCCTGTGG ATGGGCTACG AGCTGCACCC CGACAAGTGG
2161 ACCGTGCAGC CCATCCAGCT GCCCGAGAAG GACAGCTGGA CCGTGAACGA CATCCAGAAG
2221 CTGGTGGGCA AGCTGAACTG GACCAGCCAG ATCTACCCCG GCATCAAGGT GCGGCAGCTG
2281 TGCAAGCTGC TCGGGGGCAC CAAGGCCCTG ACCGACATCG TGCCCTGAC CGAGGAGGCC
2341 GAGCTGGAGC TGGCCGAGAA CCGGGAGATC CTGAAGGAGC CCGTGCACGG CGTGTACTAC
2401 GACCCAGCA AGGACCTGAT CGCCGAGATC CAGAAGCAGG GCGACGACCA GTGGACCTAC
2461 CAGATCTACC AGGAGCCCTT CAAGAACCCTG AAAACCGGCA AGTACGCCAA GCGGCGGACC
2521 ACCCACACCA ACGACGTGAA GCAGCTGACC GAGGCCGTGC AGAAGATCAG CCTGGAGAGC
2581 ATCGTGACCT GGGGCAAGAC CCCCAGTTC CGGCTGCCCC TCCAGAAGGA GACCTGGGAG
2641 ATCTGGTGGG CCGACTACTG GCAGGCCAC TGGATCCCCG AGTGGGAGTT CGTGAACAGC
2701 GGCCGCAAGC TTGCCACCAT GGTGGGCATC AGCTACGGCC GCAAGAAGCG CCGCCAGCGC
2761 CGCAGCACCC CGCCAGCAG CGAGGACCAC CAGAACCCCA TCAGCAAGCA GCCCCTGCCC
2821 CAGACCCGCG GCGACCCAC CCGCAGCGAG GAGAGCAAGA AGAAGGTGGA GAGCAAGACC
2881 AAGACCGACC CCTTCGACTG CAAGTACTGC AGCTACCACT GTCTGGTGTG CTTCCAGACC
2941 AAGGGCTTGG GCATCTCCTA CGGGCGCAAG AAACGGATGG AGCCCATCGA CCCCACCTG
3001 GAGCCCTGGA ACCACCCCGG CAGCCAGCCC AACACCCCTT GCAACAAGTG CTACTGCAAA
3061 TACTGCTCCT ACCACTGCCT CGTGGTGGGC TGGCCCGCCG TCGCGAGCG GCATCCGCGCG
3121 ACCGAGCCCG CCGCCGAGGG CGTGGGCCCC GCCAGCCAGG ACCTGGACAA CACCGCGCGC
3181 CTGACCAGCA GCAACACCGC CCACAACAAC CCCGACTGCG CCTGGCTGCA GGCCCAGGAG
3241 GAGGAGGAGG ACGTGGGCTT CCCCCTGCGC CCCCAGGTGC CCCTGCGCCC CATGACCTAC
3301 AAGGCCGCCT TCGACCTGAG CTTCTTCCTG AAGGAGAAGG GCGGCCTGGA GGGCCTGATC
3361 CACAGCAAGC GCCGCCAGGA CATCCTGGAC CTGTGGGTGT ACCACACCCA GGGCTACTTC
3421 CCCGACTGGC AGAACTACAC CCCCAGCCCC GCGGTGCGCT ACCCCCTGAC CTTGCGCTGG
3481 TGCTTCAAGC TGGTGGCCGT GGACCCCGCG GAGGTGGAGG AGGCCAACAA GGGCGAGAAC
3541 AACTGCCTGC TGCACCCCAT GAGCCAGCAC GGCATGGAGG ACGCCGACCG CGAGGTGCTG
3601 CGCTGGGTGT TCGACAGCAG CCTGGCCCGC CGCCACCTGG CCCGCGAGAA GCACCCCGAG
3661 TACTACAAGG ACTGAGAATT CTCTAGA

```

Fig. 10

SEQ: PCV-1: 1783 pb

ORIGEN

```

1 ACTAGTCTCG ACATTGGTGT GGGTATTTAA ATGGAGCCAC AGCTGGTTTC TTTTATTATT
61 TGGCTGGAAC CAATCAATTG TTTGGTCCAG CTCAGGTTTG GGGGTGAAGT ACCTGGAGTG
121 GTAGGTAAAG GGCTGCCTTA TGGTGTGGCG GGAGGAGTAG TTAATATAGG GGTATAGGC
181 CAAGTTGGTG GAGGGGGTTA CAAAGTTGGC ATCCAAGATA ACAGCAGTGG ACCCAACACC
241 TCTTTGATTA GAGGTGATGG GGTCTCTGGG GTAAAATTCA TATTTAGCCT TTCTAATACG
301 GTAGTATTGG AAAGGTAGGG GTAGGGGGTT GGTGCCGCCT GAGGGGGGGA GGAAGTGGCC
361 GATGTTGAAT CTGAGCTGGT TAACATTCCA AGATGGCTGC GAGTGTCTC CTTCTATGGT
421 GAGTACAAAT TCTCTAGAAA GGCGGCAATT GAAGATACCC GTCTTTCGGC GCCATCTGTA
481 ACGGTTTCTG AAGGCGGGGT GTGCCAAATA TGGTCTTCTG CGGAGGATGT TTCCAAGATG
541 GCTGCGGGGG CGGGTCCTTC TTCTGCGGTA ACGCCTCCTT GGCCACGTCA TCCTATAAAA
601 GTGAAAGAAG TGCGCTGCTG TAGTATTACC AGCGCACTTC GGCAGCGGCA GCACCTCGGC
661 AGCGTCGGTG AAAATGCCAA GCAAGAAAAG CGGCCCGCAA CCCATAAGA GGTGGGTGTT
721 CACCCTTAAT AATCCTTCCG AGGAGGAGAA AAACAAAATA CGGGAGCTTC CAATCTCCCT
781 TTTTGATTAT TTTGTTTGCG GAGAGGAAGG TTTGGAAGAG GGTAGAACTC CTCACCTCCA
841 GGGGTTTGCG AATTTTGCTA AGAAGCAGAC TTTTAACAAG GTGAAGTGGT ATTTTGGTGC
901 CCGCTGCCAC ATCGAGAAAG CGAAAGGAAC CGACCAGCAG AATAAAGAAT ACTGCAGCTG
961 CAGTAAAGAA GGCCACATAC TTATCGAGTG TGGAGCTCCG CGGAACCAAG GGAAGCGCAG
1021 CGACCTGTCT ACTGCTGTGA GTACCCTTTT GGAGACGGGG TCTTTGGTGA CTGTAGCCGA

```

```

1081 GCAGTTCCTT GTAACGTATG TGAGAAATTT CCGCGGGCTG GCTGAACTTT TGAAAGTGAG
1141 CGGGAAGATG CAGCAGCGTG ATTGGAAGAC AGCTGTACAC GTCATAGTGG GCCCGCCCGG
1201 TTGTGGGAAG AGCCAGTGGG CCCGTAATTT TGCTGAGCCT AGCGACACCT ACTGGAAGCC
1261 TAGTAGAAAT AAGTGGTGGG ATGGATATCA TGGAGAAGAA GTTGTGTGTT TGGATGATTT
1321 TTATGGCTGG TTACCTTGGG ATGATCTACT GAGACTGTGT GACCGGTATC CATTGACTGT
1381 AGAGACTAAA GGGGGTACTG TTCCTTTTTT GGCCCGCAGT ATTTTGATTA CCAGCAATCA
1441 GGCCCCCAG GAATGGTACT CCTCAACTGC TGTCCAGCT GTAGAAGCTC TCTATCGGAG
1501 GATTACTACT TTGCAATTTT GGAAGACTGC TGGAGAACAA TCCACGGAGG TACCCGAAGG
1561 CCGATTGAA GCAGTGGACC CACCCTGTGC CCTTTTCCCA TATAAAATAA ATTACTGAGT
1621 CTTTTTGTG ATCACATCGT AATGGTTTTT ATTTTATTTC ATTTAGAGGG TCTTTTAGGA
1681 TAAATTCTCT GAATTGTACA TAAATAGTCA GCCTTACCAC ATAATTTTGG GCTGTGGCTG
1741 CATTTTGGAG CGCATAGCCG AGGCCTGTGT GACAATCACT AGT

```

Fig. 11

SEQ: Complemento inverso de PCV-1: 1783 pb

ORIGEN

```

1      ACTAGTGATT GTCACACAGG CCTCGGCTAT GCGCTCCAAA ATGCAGCCAC AGCCCAAAAT
61     TATGTGGTAA GGCTGACTAT TTATGTACAA TTCAGAGAAT TTATCCTAAA AGACCCCTCTA
121    AATGAATAAA AATAAAAACC ATTACGATGT GATAACAAAA AAGACTCAGT AATTATATTT
181    ATATGGGAAA AGGGCACAGG GTGGGTCCAC TGCTTCAAAT CGGCCTTCGG GTACCTCCGT
241    GGATTGTTCT CCAGCAGTCT TCCAAAAT'G CAAAGTAGTA ATCCTCCGAT AGAGAGCTTC
301    TACAGCTGGG ACAGCAGTTG AGGAGTACCA TTCCTGGGGG GCCTGATTGC TGGAATCAA
361    AATACTGCGG GCCAAAAAAG GAACAGTACC CCCTTAGTTC TCTACAGTCA ATGGATACCG
421    GTCACACAGT CTCAGTAGAT CATCCCAAGG TAACCAGCCA TAAAAATCAT CCAAACAAC
481    AACTTCTTCT CCATGATATC CATCCACCA CTTATTTCTA CTAGGCTTCC AGTAGGTGTC
541    GCTAGGCTCA GCAAAATTAC GGGCCCACTG GCTCTTCCCA CAACCGGGCG GGCCCACTAT
601    GACGTGTACA GCTGTCTTCC AATCACGCTG CTGCATCTTC CCGCTCACTT TCAAAAGTTC
661    AGCCAGCCCG CGGAAATTTT TCACATACGT TACAGGGAAC TGCTCGGCTA CAGTCACCAA
721    AGACCCCGTC TCCAAAAGGG TACTCACAGC AGTAGACAGG TCGCTGCGCT TCCCCTGGTT
781    CCGCGGAGCT CCACACTCGA TAAGTATGTG GCCTTCTTTA CTGCAGCTGC AGTATTTCTT
841    ATTCTGCTGG TCGGTTCCCT TCGCTTTCTC GATGTGGCAG CGGGCACCAA AATACCACTT
901    CACCTTGTTA AAAGTCTGCT TCTTAGCAAA ATTCGCAAAC CCCTGGAGGT GAGGAGTTCT
961    ACCCTCTTCC AAACCTTCCT CTCCGCAAAC AAAATAATCA AAAAGGGAGA TTGGAAGCTC
1021   CCGTATTTTG TTTTCTCCTT CCTCGGAAGG ATTATTAAGG GTGAACACCC ACCTCTTATG
1081   GGGTTGCGGG CCGCTTTTCT TGCTTGGCAT TTTCACCGAC GCTGCCGAGG TGCTGCCGCT
1141   GCCGAAGTGC GCTGGTAATA CTACAGCAGC GCACTTCTTT CACTTTTATA GGATGACGTG
1201   GCCAAGGAGG CGTTACCGCA GAAGAAGGAC CCGCCCCCGC AGCCATCTTG GAAACATCCT
1261   CCGCAGAAGA CCATATTGCG CACACCCCGC CTTCAGAAAC CGTTACAGAT GGCGCCGAAA
1321   GACGGGTATC TTCAATTGCC GCCTTTCTAG AGAATTTGTA CTCACCATAG AAGGAGGACA
1381   CTCGCAGCCA TCTTGGAATG TTAACCAGCT CAGATTCAAC ATCGGCCAGT TCCTCCCCC
1441   CTCAGGCGGC ACCAACCCCC TACCCTACC TTTCCAATAC TACCGTATTA GAAAGGCTAA
1501   ATATGAATTT TACCCAGAG ACCCCATCAC CTCTAATCAA AGAGGTGTTG GGTCCACTGC
1561   TGTTATCTTG GATGCCAAT TTGTAACCCC CTCCACCAAC TTGGCCTATG ACCCCTATAT
1621   TAACTACTCC TCCCGCCACA CCATAAGGCA GCCCTTTACC TACCACTCCA GGTACTTCAC
1681   CCCCAAACCT GAGCTGGACC AAACAATTGA TTGGTTCCAG CCAAATAATA AAAGAAACCA
1741   GCTGTGGCTC CATTTAAATA CCCACACCAA TGTCGAGACT AGT

```

Fig. 12

SEQ pTH - sin inserto: 4912 pb

ORIGEN

```

1      GACGGATCGG GAGATCTCCC GATCCCCTAT GGTCTGACTCT CAGTACAATC TGCTCTGATG
61     CCGCATAGTT AAGCCAGTAT CTGCTCCCTG CTTGTGTGTT GGAGGTCGCT GAGTAGTGCG
121    CGAGCAAAAT TTAAGCTACA ACAAGGCAAG GCTTGACCGA CAATTGCATG AAGAATCTGC
181    TTAGGGTTAG GCGTTTTGCG CTGCTTCGCG ATGTACGGGC CAGATATACG CGTTTTGAGA
241    TTTCTGTGCG CGACTAAATT CATGTCGCGC GATAGTGGTG TTTATCGCCG ATAGAGATGG
301    CGATATTGGA AAAATCGATA TTTGAAAATA TGGCATATTG AAAATGTCGC CGATGTGAGT
361    TTCTGTGTAA CTGATATCGC CATTTTTCCA AAAGTGATT TTTGGGCATAC GCGATATCTG
421    GCGATAGCGC TTATATCGTT TACGGGGGAT GGCGATAGAC GACTTTGGTG ACTTGGGCGA
481    TTCTGTGTGT CGCAAATATC GCAGTTTCGA TATAGGTGAC AGACGATATG AGGCTATATC
541    GCCGATAGAG GCGACATCAA GCTGGCACAT GGCCAATGCA TATCGATCTA TACATGAAT
601    CAATATTGGC CATTAGCCAT ATTATTCAAT GGTATATAG CATAAATCAA TATTGGCTAT
661    TGGCATTGCG ATACGTTGTA TCCATATCAT AATATGTACA TTTATATTGG CTCATGTCCA
721    ACATTACCGC CATGTTGACA TTGATTATTG ACTAGTTATT AATAGTAATC AATTACGGGG
781    TCATTAGTTC ATAGCCATA TATGGAGTTC CGCGTTACAT AACTTACGGT AAATGGCCCCG
841    CCTGGCTGAC CGCCCAACGA CCCCCGCCA TTGACGTCAA TAATGACGTA TGTTCCCAT
901    GTAACGCCAA TAGGGACTTT CCATTGACGT CAATGGGTGG AGTATTTACG GTAAACTGCC
961    CACTTGGCAG TACATCAAGT GTATCATATG CCAAGTACGC CCCCTATTGA CGTCAATGAC
1021   GGTAAATGGC CCGCCTGGCA TTATGCCAG TACATGACCT TATGGGACTT TCCTACTTGG
1081   CAGTACATCT ACGTATTAGT CATCGCTATT ACCATGGTGA TCGGGTTTTG GCAGTACATC
1141   AATGGGCGTG GATAGCGGTT TGACTCACGG GGATTTCCAA GTCTCCACCC CATTGACGTC
1201   AATGGGAGTT TGTTTTGGCA CCAAATCAA CGGGACTTTC CAAAATGTCG TAACAACTCC
1261   GCCCCATTGA CGCAAATGGG CGGTAGGCGT GTACGGTGGG AGGTCTATAT AAGCAGAGCT
1321   CGTTTAGTGA ACCGTCAGAT CGCCTGGAGA CGCCATCCAC GCTGTTTTGA CCTCCATAGA
1381   AGACACCGGG ACCGATCCAG CCTCCGCGGC CGGGAACGGT GCATTGGAAC GCGGATTCCC
1441   CGTGCCAAGA GTGACGTAAG TACCGCCTAT AGAGTCTATA GGCCACCCC CTGGCTTCT
1501   TATGCATGCT ATACTGTTTT TGGCTTGGGG TCTATACACC CCCGCTTCCT CATGTTATAG
1561   GTGATGGTAT AGCTTAGCCT ATAGGTGTGG GTTATTGACC ATTATTGACC ACTCCCTAT
1621   TGGTGACGAT ACTTTCCATT ACTAATCCAT AACATGGCTC TTTGCCACAA CTCTCTTTAT
1681   TGGCTATATG CCAATACACT GTCCTTCAGA GACTGACACG GACTCTGTAT TTTTACAGGA
1741   TGGGGTCTCA TTTATTATTT ACAAATTCAC ATATACAACA CCACCGTCCC CAGTGCCCGC
1801   AGTTTTTATT AAACATAACG TGGGATCTCC ACGCGAATCT CGGGTACGTG TTCCGGACAT
1861   GGGCTCTTCT CCGGTAGCGG CGGAGCTTCT ACATCCGAGC CCTGCTCCCA TGCCCTCAGC
1921   GACTCATGGT CGCTCGGCAG CTCCTTGCTC CTAACAGTGG AGGCCAGACT TAGGCACAGC
1981   ACGATGCCCA CCACCACCAG TGTGCCGCAC AAGGCCGTGG CGGTAGGGTA TGTGTCTGAA
2041   AATGAGCTCG GGGAGCGGGC TTGCACCGCT GACGCATTTG GAAGACTTAA GGCAGCGGCA
2101   GAAGAAGATG CAGGCAGCTG AGTTGTTGTG TTCTGATAAG AGTCAGAGGT AACTCCCGTT
2161   GCGGTGCTGT TAACGGTGGG GGGCAGTGTA GTCTGAGCAG TACTCGTTGC TGCCGCGCGC
2221   GCCACCAGAC ATAATAGCTG ACAGACTAAC AGACTGTTCC TTTCCATGGG TCTTTTCTGC
2281   AGTCACCGTC CTTGACAGC ACTGCTTGGTAC CGAGCTCGGA TCCACTAGTA ACGGCCGCCA
2341   GTGTGCTGGA ATTCTGCAGA TATCCATCAC ACTGGCGGCC GCTCGAGCAT GACTCTAGAG
2401   GGCCCTATTC TATAGTGTC CTTAAATGCT AGAGCTCGCT GATCAGCCTC GACTGTGCCT
2461   TCTAGTTGCC AGCCATCTGT TGTTTGCCCC TCCCCGTGC CTTCTTGAC CCTGGAAGGT
2521   GCCACTCCCA CTGTCCTTTC CTAATAAAAT GAGGAAATG CATCGCATTG TCTGAGTAGG
2581   GTGCATTCTA TTCTGGGGGG TGGGTGGGG CAGGACAGCA AGGGGAGGA TTGGGAAGAC
2641   AATAGCAGGC ATGCTGGGGA TGCGGTGGGC TCTATGGCTT CTGAGGCGGA AAGAACCAGC
2701   TGGGGCTCGA GGGGGGATCG ATCCCGTCGA CCTCGAGAGC TTGGCGTAAT CATGGTCATA
2761   GCTGTTTCCCT GTGTGAAATT GTTATCCGCT CACAATTCCA CACAACATAC GAGCCGGAAG
2821   CATAAAGTGT AAAGCCTGGG GTGCCTAATG AGTGAGCTAA CTCACATTAA TTGCGTTGCG
2881   CTCCTGCCC GCTTTCCAGT CGGGAACCTT GTCGTGCCAG CTGCATTAAT GAATCGGCCA
2941   ACGCGCGGGG AGAGGCGGTT TGCGTATTGG GCGCTCTTCC GCTTCTCGC TCACTGACTC
3001   GCTGCGCTCG GTCGTTCCGC TGCGGCGAGC GGTATCAGCT CACTCAAAGG CGGTAATACG
3061   GTTATCCACA GAATCAGGGG ATAACGCAGG AAAGAACATG TGAGCAAAAG GCCAGCAAAA
3121   GGCCAGGAAC CGTAAAAAGG CCGCGTTGCT GGCCTTTTTT CATAGGCTCC GCCCCCTGA
3181   CGAGCATCAC AAAAATCGAC GCTCAAGTCA GAGGTGGCGA AACCCGACAG GACTATAAAG

```

```

3241 ATACCAGGCG TTTCCCCCTG GAAGCTCCCT CGTGCGCTCT CCTGTTCCGA CCCTGCCGCT
3301 TACCGGATAC CTGTCCGCCT TTCTCCCTTC GGGGAAGCGTG GCGCTTTCTC AATGCTCAGG
3361 CTGTAGGTAT CTCAGTTCGG TGTAGGTCGT TCGCTCCAAG CTGGGCTGTG TGCACGAACC
3421 CCCC GTTCAG CCGGACCGCT GCGCCTTATC CGGTAACTAT CGTCTTGAGT CCAACCCGGT
3481 AAGACACGAC TTATCGCCAC TGGCAGCAGC CACTGGTAAC AGGATTAGCA GAGCGAGGTA
3541 TGTAGGCGGT GCTACAGAGT TCTTGAAGTG GTGGCCTAAC TACGGCTACA CTAGAAGGAC
3601 AGTATTTGGT ATCTGCGCTC TGCTGAAGCC AGTTACCTTC GGAAAAAGAG TTGGTAGCTC
3661 TTGATCCGGC AAACAAACCA CCGCTGGTAG CGGTGGTTTT TTTGTTTGCA AGCAGCAGAT
3721 TACGCGCAGA AAAAAAGGAT CTCAAGAAGA TCCTTTGATC TTTTCTACGG GGTCTGACGC
3781 TCAGTGGAAC GAAAACTCAC GTTAAGGGAT TTTGGTCATG AGATTATCAA AAAGGATCTT
3841 CACCTAGATC CTTTTAAATT AAAAATGAAG TTTTAAATCA ATCTAAAGTA TATATGAGTA
3901 AACTTGGTCT GACAGTTACC AATGCTTAAT CAGTGAGGCA CCTATCTCAG CGATCTGTCT
3961 ATTTTCGTTCA TCCATAGTTG CCTGACTCCC CGTCGTGTAG ATAACCTACG TACGGGAGGG
4021 CTTACCATCT GGCCCCAGTG CTGCAATGAT ACCGCGAGAC CCACGCTCAC CGGCTCCAGA
4081 TTTATCAGCA ATAAACCAGC CAGCCGGAAG GGCCGAGCGC AGAAGTGGTC CTGCAACTTT
4141 ATCCGCCTCC ATCCAGTCTA TTAATTGTTG CCGGGAAGCT AGAGTAAGTA GTTCGCCAGT
4201 TAATAGTTTG CGCAACGTTG TTGCCATTGC TACAGGCATC GTGGTGTAC GCTCGTCGTT
4261 TGGTATGGCT TCATTCAGCT CCGGTTCCCA ACGATCAAGG CGAGTTACAT GATCCCCCAT
4321 GTTGTGCAA AAAGCGGTTA GTCCTTCGG TCCTCCGATC GTTGTGAGAA GTAAGTTGGC
4381 CGCAGTGTTA TCACTCATGG TTATGGCAGC ACTGCATAAT TCTCTTACTG TCATGCCATC
4441 CGTAAGATGC TTTTCTGTGA CTGGTGAGTA CTCAACCAAG TCATTCTGAG AATAGTGTAT
4501 GCGGCGACCG AGTTGCTCTT GCCCGGCGTC AATACGGGAT AATACCGCGC CACATAGCAG
4561 AACTTTAAAA GTGCTCATCA TTGGAAAACG TTCTTCGGGG CGAAACTCT CAAGGATCTT
4621 ACCGCTGTTG AGATCCAGTT CGATGTAACC CACTCGTGCA CCAACTGAT CTTCAGCATC
4681 TTTTACTTTC ACCAGCGTTT CTGGGTGAGC AAAAACAGGA AGGCAAAATG CCGCAAAAAA
4741 GGGAAATAAG GCGACACGGA AATGTTGAAT ACTCATACTC TTCCTTTTTC AATATTATTG
4801 AAGCATTTAT CAGGGTTATT GTCTCATGAG CGGATACATA TTTGAATGTA TTTAGAAAAA
4861 TAAACAAATA GGGGTTCCGC GCACATTTCC CCGAAAAGTG CCACCTGACG TC

```

Fig. 13

SEQ: PCV1 Prep y rep sin el intrón: 752 pb

ORIGEN

```

1 ATTCTCTAGA AAGGCGGCAA TTGAAGATAC CCGTCTTTCG GCGCCATCTG TAACGGTTTC
61 TGAAGGCGGG GTGTGCGAAA TATGGTCTTC TCCGGAGGAT GTTTCCAAGA TGGCTGCGGG
121 GGGGGTCTCT TCTTCTGCGG TAACGCCTCC TTGGGCGGTA CTATAA AAG
181 AGTGCG TAGTATTA CCAGCGCACT TCGGCAGCGG CAGCACCTCG GCAGCGTCAG
241 TGAAAATGCC AAGCAAGAAA AGCGGCCCGC AACCCCATAA GAGGTGGGTG TTCACCCTTA
301 ATAATCCTTC CGAGGAGGAG AAAAACAAAA TACGGGAGCT TCCAATCTCC CTTTTTGATT
361 ATTTTGTTTG CGGAGAGGAA GGTTTGGAAG AGGGTAGAAC TCCTCACCTC CAGGGGTTTG
421 CGAATTTTGC TAAGAAGCAG ACTTTAACA AGGTGAAGTG GTATTTTGGT GCCCGCTGCC
481 ACATCGAGAA AGCGAAAGGA ACCGACCAGC AGAATAAAGA ATACTGCAGT AAAGAAGGCC
541 ACATACTTAT CGAGTGTGGA GCTCCGCGGA ACCAGGGGAA GCGCAGCGAC CTGTCTACTG
601 CTTATTTTGA TTACCAGCAA TCAGGCCCCC CAGGAATGGT ACTCCTCAAC TGCTGTCCCA
661 GCTGTAGAAG CTCTCTATCG GAGGATTACT ACTTTGCAAT TTTGGAAGAC TGCTGGAGAA
721 CAATCCACGG AGGTACCCGA AGGCCGATTT GA

```

Fig. 14

SEQ: PCV-1 con Prep/rep truncados: 150 pb

ORIGEN

```

1      ATTCTCTAGA AAGGCGGCAA TTGAAGATAC CCGTCTTTCG GCGCCATCTG TAACGGTTTC
61     TGAAGGCGGG GTGTGCCAAA TATGGTCTTC TCCGGAGGAT GTTCCAAGA TGGCTGCGG
121    GGGGGGTCCT TCTTCTGCGG TAACGCCTCC TTGGGAGCTGCTATATAA AAG
181    AGTGCG TAGTATTA CCAGCGCACT TCGGCAG//A TCAGGCCCCC CAGGAATGGT
139    ACTECTCAAC TGCTGTCCCA GCTGTAGAAG CTCTCTATCG GAGGATTACT ACTTTGCAAT
199    TTTGGAAGAC TGCTGGAGAA CAATCCACGG AGGTACCCGA AGGCCGATT GA
  
```

Fig. 15

Alineamiento de determinadas secuencias de ADN de circovirus equivalentes a la región PcapR de PCV-1

pcv-1	---	CTGTAGC	CGAGCAGTTC	CCTGTAACGT	ATGTGAGAAA	TTTCCGCGGG
pcv-2	---	CCGTTGC	AGAGCAGCAC	CCTGTAACGT	TTGTCAGAAA	TTTCCGCGGG
BFDV-AFG	-----	CGC	GCGAGAGTTC	CCAGATATCT	ACGTCAGGCA	TGGGCGGGGC
CV_canario	-----	CGC	GCGAGAGTTC	AGTGAGATCT	ACGTCAAGTA	TGGGCGTGCT
CV_colúmbidos	-----	TCGC	GCGAGACTTC	AGTGAGATAT	ACGTCAAGTA	TGGGCGTGCT
CV_pato	-TGAGGTGGC	CCGGAAGTTC	CCCACGACTT	ATGTTATCTT	TGGGCGTGCT	
CV_pinzón	-----	TCGC	GCGAGAGTTC	AGTCTAGCCT	ACGTCAAGTA	TGGGCGGGGC
CV_ganso	-----	TGGC	CCGGAAGTAC	CCGACGACTT	ATGTAATGTT	TGGGCGGGGC
CV_gaviota		GTGAAATCGC	GCGAGAGTTC	AGTGAAGTCT	ACGTCAAGTA	TGGGCGGGGC
pcv-1		CTGGCTGAAC	TTTTGAAAGT	GAGCGGGAAG	ATGCAGCAGC	GTGATTGGAA
pcv-2		CTGGCTGAAC	TTTTGAAAGT	GAGCGGGAAG	ATGCAGCAGC	GTGATTGGAA
BFDV-AFG		TTACATAATC	TCTCGCTAAT	GTTTGGTTCC	CGGCCA---C	GTGACTTCAA
CV_canario		CTGAGGGATT	TGGCCCTGAT	GATTGGACAG	AAACCC---C	GTGACTTCAA
CV_colúmbidos		TTGCGCGACC	TGAAGCTGCT	GATTGGTCAG	CAGCCT---C	GTGACTTCAA
CV_pato		CTGGAACGCC	TCCGTCACCT	GATCGTTGAG	ACGCAA---C	GTGATTGGAA
CV_pinzón		CTGCGTGATC	TTGCGCTGCT	GATTGGCCAG	AAGCCC---C	GTGACTTCAA
CV_ganso		TTAGAGCGGT	TGCGTCAGCT	GATCGTGGAG	ACCCT---C	GTGATTGGAA
CV_gaviota		CTCCGTGATC	TCCGTTGCT	GATTGGTTGC	CCGCC---C	GCGATTTCAA
pcv-1		GACAGCTGTA	CACGTCATAG	TGGGCCCCGC	CGGTTGTGGG	AAGAGCCAGT
pcv-2		GACTAATGTA	CACGTCATTG	TGGGGCCACC	TGGGTGTGGT	AAAAGCAAAT
BFDV-AFG		GACTGAGGTC	GACGTCATCT	ACGGACCACC	GGGTTGTGGC	AAGAGTAGAT
CV_canario		GACGGAAGTC	GTCGTCATCA	CAGGGCCTTC	CGGGTTGGGC	AAGTCCCGAC
CV_colúmbidos		AACGGAAGTC	ATCGTCATCA	CGGGCCCCGC	CGGTTGCGGG	AAGAGCCGTT
CV_pato		GACGGAAGTC	ATCGTTCTGA	TTGGTCCGCC	CGGCACCGGG	AAGAGCCGTT
CV_pinzón		AACGGAAGTC	ATAGTGCTGA	CCGGCCCTAG	TGGGTGTGGC	AAATCCCGCT
CV_ganso		GACGGAGGTC	ATCGTTCTGA	TTGGGCGGCC	TGGAAGCGGG	AAGAGCCGTT
CV_gaviota		AACAGAAGTC	ATCGTTCTGA	TTGGGCCACC	TGGCTGTGGC	AAGTCAAAAT
pcv-1		GGGCCCCGTA	TTTTGCTGAG	CCTAGCGACA	CCTACTGGAA	GCC-
pcv-2		GGGCTGCTAA	TTTTGCAGAC	CCGGAAACCA	CATACTGGAA	ACC-
BFDV-AFG		GGGCCAATGA	GCAGCCGG--	-GGACCAAT	ATTATAAAAT	GCG-
CV_canario		TTGCCTCTGA	AATGGAAG--	-GATCGAAGT	TCTACAAG--	----
CV_colúmbidos		GGGCAGCTGA	GTACCCCG--	-GAAGTAAAT	TTTACAAGAT	GA--
CV_pato		ATGCATTGTA	ATTTCCCGCC	GAAAACAAGT	ATTACAAACC	ACGC
CV_pinzón		GGGCCAATGA	ACAAGAAG--	-GAACTAAGT	TTTATAAAAT	GA--
CV_ganso		ACGCGTTTGA	ATTTCCCGCG	CGTGAAAAGT	ATTATAAAT-	----
CV_gaviota		TGGCCAATGA	GATGGAAG--	-GGTCTAAGT	TCTACA----	----

Fig. 16 (a)

Secuencias de ADN complementarias inversas de determinados circovirus. Las secuencias mostradas son equivalentes a la secuencia Pcap de PCV-1

PCV-1

GGCTTCCAGT AGGTGTCGCT AGGCTCAGCA AAATTACGGG CCCACTGGCT CTTCCCACAA
CCGGGCGGGC CCACTATGAC GTGTACAGCT GTCTTCCAAT CACGCTGCTG CATCTTCCCG
CTCACTTTCA AAAGTTCAGC CAGCCCGCGG AAATTTCTCA CATACGTTAC AGGGAAGTGC
TCGGCTACAG

PCV-2

GGTTTCCAGT ATGTGGTTTC CGGGTCTGCA AAATTAGCAG CCCATTGCT TTTACCACAC
CCAGGTGGCC CCACAATGAC GTGTACATTA GTCTTCCAAT CACGCTTCTG CATTTTCCCG
CTCACTTTCA AAAGTTCAGC CAGCCCGCGG AAATTTCTGA CAAACGTTAC AGGGTGCTGC
TCTGCAACGG

BFDV-AFG

CGCATTTTAT AATATTTGGT CCCC GGCTGC TCATTGGCCC ATCTACTCTT GCCACACCCC
GGTGGTCCGT AGATGACGTC GACCTCAGTC TTGAAGTCAC GTGGCCGGGA ACCAACCATT
AGCGAGAGAT TATGTAAGCC CCGCCCATGC CTGACGTAGA TATCTGGGAA CTCTCGCGCG

CV de canario

CTTGTAAGAC TTCGATCCTT CCATTTTCTG GGAAGTCGG GACTTGCCCA CCCC GGGAAGG
CCCTGTGATG ACGACGACTT CCGTCTTGAA GTCACGGGGT TTCTGTCCAA TCATCAGGGC
CAAATCCCTC AGACCACGCC CATACTTGAC GTAGATCTCA CTGAAGTCTC GCGCG

CV de colúmbidos

TCATCTTGTA AAATTTACTT CCGGGGTACT CAGCTGCCCC ACGGCTCTTC CCGCAACCGG
GCGGGCCCGT GATGACGATG ACTTCCGTTT TGAAGTCACG AGGCTGCTGA CCAATCAGCA
GCTTCAGGTC GCGCAAGCCA CGCCCATACT TGACGTATAT CTCACTGAAG TCTCGCGCGA

CV de pato

GCGTGGTTTG TAATACTTGT TTTCGGCGGG AAATTCAAAT GCATAACGGC TCTTCCCGGT
GCCGGGCGGA CCAATCAGAA CGATGACTTC GGTCTTCCAA TCACGTTCGG TCTCAACGAT
CAGGTGACGG AGGCGTTCCA GGCCACGCC AAAGATAACA TAAGTCGTGG GGAAGTTCCG
GGCCACCTCA

CV de pinzón

TCATTTTATA AAACCTTAGTT CCTTCTTGTT CATTGGCCCC GCGGGATTG CCACACCCAC
TAGGGCCCGT CAGCACTATG ACTTCCGTTT TGAAGTCACG GGGCTTCTGG CCAATCAGCA
GCGCAAGATC ACGCAGGCC CGCCCATATC TGACGTAGGC TAGACTGAAC TCTCGCGCGA

CV de ganso

ATTTATAATA CTTTTACGC GCGGGAAATT CAAACGCGTA ACGGCTCTTC CCGCTTCCAG
GCCGCCCAAT CAGAACGATG ACCTCCGTCT TCCAATCAG AGCGGTCTCC ACGATCAGCT
GACGCAACCG CTCTAAGCCC CGCCCAAACA TTACATAAGT CGTCGGGTAC TTCCGGGCCA

CV de gaviota

TGTAGAACTT AGACCCTTCC ATCTCATTGG CCAATTTTGA CTTGCCACAG CCAGGTGGGC
CAATCAGAAC GATGACTTCT GTTTTGAAAT CGCGGGGCGG GCAACCAATC AGCAACCGGA
GATCAGGAG GCCCCGCCA TACTTGACGT AGACTTCACT GAACTCTCGC GCGATTTAC

Fig. 16 (b)

1. Región Pcap de PCV-1

GCAGTTCCCT GTAACGTATG TGAGAAATTT CCGCGGGCTG		entrada	Puntuación
<-----		M00147 HSF2	91.0
----->		M00147 HSF2	88.5
----->		M00146 HSF1	87.3
<-----		M00074 c-Ets-	86.6
451 GCTGAAC TTT TGAAAGTGAG CGGGAAGATG CAGCAGCGTG ATTGGAAGAC	----->	entrada	Puntuación
<----->		M00075 GATA-1	92.2
<----->		M00109 C/EBPb	85.5
501 AGCTGTACAC GTCATAGTGG GCCCGCCCGG TTGTGGGAAG AGCCAGTGGG	<-----	entrada	Puntuación
<-----		M00223 STATx	88.5
<-----		M00039 CREB	87.6
551 CCCGTAATTT TGCTGAGCCT AGCGACACCT ACTGGAAGCC	----->	entrada	Puntuación
<-----		M00032 c-Ets-	89.2
<-----		M00101 CdxA	85.7

Fig. 17 (a)**2. Región Pcap de PCV-2**

CAGA GCAGCACCCCT GTAACGTTTG TCAGAAATTT CCGCGGGCTG		entrada	Puntuación
<-----		M00101 CdxA	93.6
<-----		M00147 HSF2	91.0
<-----		M00100 CdxA	89.7
----->		M00147 HSF2	88.5
----->		M00146 HSF1	87.3
<-----		M00074 c-Ets-	86.6
451 GCTGAAC TTT TGAAAGTGAG CGGGAAAATG CAGAAGCGTG ATTGGAAGAC	----->	entrada	Puntuación
<-----		M00075 GATA-1	92.2
<-----		M00050 E2F	90.8
<-----		M00101 CdxA	86.4
<-----		M00109 C/EBPb	85.5
501 TAATGTACAC GTCATTGTGG GGCCACCTGG GTGTGGTAAA AGCAAATGGG	----->	entrada	Puntuación
<-----		M00271 AML-1a	100.0
<-----		M00251 XBP-1	88.0
<-----		M00159 C/EBP	87.7
<-----		M00039 CREB	87.6
<-----		M00101 CdxA	86.4
<-----		M00148 SRY	86.4
<-----		M00162 Oct-1	85.7
551 CTGCTAATTT TGCAGACCCG GAAACCACAT ACTGGAAACC	----->	entrada	Puntuación
<-----		M00271 AML-1a	100.0
<-----		M00032 c-Ets-	86.3

Fig. 17 (b)**3. Virus de la enfermedad del pico y las plumas
(African grey)-BEDV-AFG**

CGAGAG TTCCAGATA		entrada	Puntuación
-----		M00076 GATA-2	90.1
<-----		M00087 Ik-2	89.5
-----		M00075 GATA-1	86.9
<-----		M00050 E2F	86.2

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Fig. 17 (c)

4. Circovirus del canario

		TGGTGGAGAT CGCGCGAGAG	entrada	Puntuación		
		----->	M00075	GATA-1	90.2	
		----->	M00076	GATA-2	89.7	
		<-----	M00050	E2F	86.2	
		----->	M00077	GATA-3	85.0	
351	TTCAAGTGAGA TCTACGTCAA GTATGGGCGT GGTCTGAGGG ATTTGGCCCT	entrada	Puntuación			

				M00039	CREB	91.6
				M00008	Sp1	89.0
				M00240	Nkx-2.	88.4
				M00075	GATA-1	88.2
				M00050	E2F	86.2
401	GATGATTGGA CAGAAACCCC GTGACTTCAA GACGGAAGTC GTCGTCATCA	entrada	Puntuación			
		M00025	Elk-1	88.7		
		M00075	GATA-1	88.2		
		M00075	GATA-1	87.8		
		M00113	CREB	87.7		
		M00041	CRE-BP	87.2		
		M00217	USF	86.6		
		M00041	CRE-BP	86.2		
		M00039	CREB	86.1		
		M00039	CREB	85.6		
451	CAGGGCCTTC CGGGGTGGGC AAGTCCCGAC TTGCCTCTGA AATGGAAGGA	entrada	Puntuación			
		M00147	HSF2	92.9		
		M00054	NF-kap	91.3		
		M00025	Elk-1	88.3		
		M00113	CREB	87.7		
		M00032	c-Ets-	86.3		
		M00108	NRF-2	86.0		
		M00208	NF-kap	85.7		
		M00052	NF-kap	85.4		
		M00146	HSF1	85.1		
		M00053	c-Rel	85.1		
501	TCGAAGTTCT	entrada	Puntuación			
	-->	M00147	HSF2	92.9		
	-->	M00146	HSF1	85.1		

Fig. 17 (d)

5- Circovirus de los colúmbidos

	TCGCGCGAGA CTTCACTGAG ATATACGTCA AGTATGGGCG	entrada	Puntuación	
	<-----	<u>M00039</u>	CREB 93.1	
	----->	<u>M00240</u>	Nkx-2. 88.4	
501	TGGCTTGCGC GACCTGAAGC TGCTGATTGG TCAGCAGCCT CGTGACTTCA	entrada	Puntuación	
	----->	<u>M00075</u>	GATA-1 93.5	
		- <u>M00074</u>	c-Ets- 90.5	
		-- <u>M00025</u>	Elk-1 90.0	
	----->	<u>M00209</u>	NF-Y 89.6	
		----->	<u>M00041</u>	CRE-BP 87.2
	<-----	<u>M00096</u>	Pbx-1 86.3	
		<-----	<u>M00041</u>	CRE-BP 86.2
		----->	<u>M00039</u>	CREB 86.1
		-- <u>M00003</u>	v-Myb 85.9	
		<-----	<u>M00039</u>	CREB 85.6
551	AAACGGAAGT CATCGTCATC ACGGGCCCGC CCGGTTGCGG GAAGAGCCGT	entrada	Puntuación	
		<---- <u>M00227</u>	v-Myb 96.8	
	<-----	<u>M00223</u>	STATx 92.3	
	<-----	<u>M00075</u>	GATA-1 91.0	
	----->	<u>M00074</u>	c-Ets- 90.5	
	----->	<u>M00025</u>	Elk-1 90.0	
	----->	<u>M00108</u>	NRF-2 87.7	
	----->	<u>M00032</u>	c-Ets- 86.3	
	----->	<u>M00003</u>	v-Myb 85.9	
601	TGGGCAGCTG AGTACCCCGG AAGTAAATTT TACA	entrada	Puntuación	

----->	M00227	v-Myb	96.8
----->	M00032	c-Ets-	95.1
----->	M00074	c-Ets-	90.9
----->	M00025	Elk-1	90.4

Fig. 17 (e)

6. Circovirus del pato

TGAGGTGGCC CGGAAGTTCC entrada Puntuación			
<--	M00083	MZF1	95.7
----->	M00025	Elk-1	92.6
----->	M00032	c-Ets-	92.2
<-----	M00054	NF-kap	91.6
----->	M00074	c-Ets-	90.1
<-----	M00053	c-Rel	89.3
<-----	M00052	NF-kap	88.7
----->	M00053	c-Rel	86.8
----->	M00108	NRF-2	86.0
401 CCACGACTTA TGTTATCTTT GGGCGTGGCC TGAACGCCT CCGTCACCTG entrada Puntuación			
-----	M00083	MZF1	95.7
-----	M00054	NF-kap	91.6
-----	M00075	GATA-1	90.6
<-----	M00080	Evi-1	90.4
<-----	M00220	SREBP-	89.8
<-----	M00082	Evi-1	89.8
-----	M00073	deltaE	89.6
<-----	M00079	Evi-1	89.4
-----	M00053	c-Rel	89.3
-----	M00052	NF-kap	88.7
-----	M00001	MyoD	88.4
----->	M00101	CdxA	86.4
-----	M00220	SREBP-	85.9
-----	M00122	USF	85.3
<-----	M00122	USF	85.3
451 ATCGTTGAGA CGCAACGTGA TTGGAAGACC GAAGTCATCG TTCTGATTGG entrada Puntuación			
----->	M00075	GATA-1	92.2
-----	M00075	GATA-1	90.6
-----	M00220	SREBP-	89.8
->	M00073	deltaE	89.6
-----	M00001	MyoD	88.4
-----	M00075	GATA-1	87.8
<-----	M00096	Pbx-1	86.3
->	M00220	SREBP-	85.9
-----	M00209	NF-Y	85.9
----->	M00122	USF	85.3
-----	M00122	USF	85.3
501 TCCGCCCGGC ACCGGAAGA GCCGTTATGC ATTTGAATTT CCCGCCGAAA entrada Puntuación			
<-----	M00227	v-Myb	93.6
----->	M00148	SRY	90.9
----->	M00050	E2F	90.8
>	M00075	GATA-1	87.8
<-----	M00133	Tst-1	87.5
-----	M00096	Pbx-1	86.3
----->	M00209	NF-Y	85.9
<-----	M00003	v-Myb	85.9
551 ACAAGTATTA CA entrada Puntuación			
----->	M00148	SRY	90.9

Fig. 17 (f)

7. Circovirus del pinzón

		entrada	Puntuación
CCGTGAAAGC CGGAAGAGGT ATGGCCGAAG TCGCGCGAGA		M00108 NRF-2	93.0
----->		M00032 c-Ets-	88.2
<-----		M00050 E2F	86.2
401 GTTCAGTCTA GCCTACGTCA GATATGGGCG GGGCCTGCGT GATCTTGCGC		entrada	Puntuación
<-----		M00039 CREB	91.6
----->		M00128 GATA-1	91.5
----->		M00077 GATA-3	89.1
----->		M00008 Sp1	89.0
----->		M00076 GATA-2	88.9
----->		M00075 GATA-1	87.3
451 TGCTGATTGG CCAGAAGCCC CGTGACTTCA AAACGGAAGT CATAGTGCTG		entrada	Puntuación
----->		M00075 GATA-1	91.8
----->		M00074 c-Ets-	90.5
----->		M00025 Elk-1	90.0
----->		M00209 NF-Y	89.4
----->		M00108 NRF-2	87.7
----->		M00041 CRE-BP	87.2
----->		M00217 USF	86.6
----->		M00032 c-Ets-	86.3
<-----		M00041 CRE-BP	86.2
----->		M00039 CREB	86.1
----->		M00003 v-Myb	85.9
<-----		M00039 CREB	85.6
501 ACCGGCCCTA GTGGGTGTGG CAAATCCCGC TGGGCCAATG AACAAGAAGG		entrada	Puntuación
<-----		M00054 NF-kap	88.8
<-----		M00208 NF-kap	86.2
<-----		M00053 c-Rel	85.1
551 AACTAAGTTT T		entrada	Puntuación

Fig. 17 (g)

8. Circovirus del ganso

		entrada	Puntuación
TGGTCTGCCG ATAAGTGACG TGGCCCGGAA		M00032 c-Ets-	95.1
----->		M00025 Elk-1	93.0
----->		M00076 GATA-2	89.3
----->		M00074 c-Ets-	87.7
<---		M00053 c-Rel	86.8
----->		M00127 GATA-1	86.7
----->		M00075 GATA-1	86.5
----->		M00039 CREB	86.1
401 GTACCCGACG ACTTATGTAA TGTTTGGGCG GGGCTTAGAG CGGTTGCGTC		entrada	Puntuación
-->		M00032 c-Ets-	95.1
----->		M00045 E4BP4	93.1
----->		M00025 Elk-1	93.0
----->		M00109 C/EBPb	90.6
<-----		M00228 VBP	89.8
----->		M00008 Sp1	89.0

	<-----	<u>M00040</u>	CRE-BP	89.0	
---		<u>M00074</u>	c-Ets-	87.7	
	----->	<u>M00141</u>	Lyf-1	87.0	
----		<u>M00053</u>	c-Rel	86.8	
	----->	<u>M00040</u>	CRE-BP	86.7	
<-----		<u>M00116</u>	C/EBPa	86.5	
	----->	<u>M00101</u>	CdxA	86.4	
	<-----	<u>M00072</u>	CP2	85.4	
		<-----	<u>M00039</u>	CREB	85.1
451	AGCTGATCGT GGAGACCGCT CGTGATTGGA AGACGGAGGT CATCGTTCTG	entrada	Puntuación		
	----->	<u>M00075</u>	GATA-1	92.2	
		<u>M00075</u>	GATA-1	91.4	
		----	<u>M00075</u>	GATA-1	89.4
		---	<u>M00077</u>	GATA-3	87.5
	----->	<u>M00076</u>	GATA-2	85.8	
-		<u>M00039</u>	CREB	85.1	
501	ATTGGGCGGC CTGGAAGCGG GAAGAGCCGT TACGCGTTTG AATTTCCCGC	entrada	Puntuación		
	<-----	<u>M00227</u>	v-Myb	96.3	
		<u>M00050</u>	E2F	90.8	
	----->	<u>M00075</u>	GATA-1	89.4	
----->		<u>M00077</u>	GATA-3	87.5	
551	GCGTGAAAAG TATTATAAAT	entrada	Puntuación		
	<-----	<u>M00101</u>	CdxA	100.0	
	<-----	<u>M00100</u>	CdxA	96.2	
	----->	<u>M00101</u>	CdxA	91.4	
	<-----	<u>M00101</u>	CdxA	91.4	
<-----		<u>M00050</u>	E2F	88.5	

Fig. 17 (h)

9. Circovirus de la gaviota

GTGAAATCGC GCGAGAGTTC AGTGAAGTCT entrada			Puntuación
		<-	<u>M00039</u> CREB 91.6
	<-----		<u>M00050</u> E2F 86.2
451	ACGTCAAGTA TGGGCGGGGC CTCCGTGATC TCCGGTTGCT GATTGGTTGC	entrada	Puntuación
		----->	<u>M00075</u> GATA-1 93.5
	-----		<u>M00039</u> CREB 91.6
		-----	<u>M00209</u> NF-Y 90.6
	----->		<u>M00008</u> Sp1 89.0
		<--	<u>M00008</u> Sp1 89.0
	----->		<u>M00240</u> Nkx-2. 88.4
		<-----	<u>M00096</u> Phx-1 86.3
	<-----		<u>M00074</u> c-Ets- 86.2
	<-----		<u>M00032</u> c-Ets- 85.3
501	CCGCCCCGCG ATTTCAAAC AGAAGTCATC GTTCTGATTG GCCCACCTGG	entrada	Puntuación
	>		<u>M00209</u> NF-Y 90.6
		----->	<u>M00148</u> SRY 90.0
	<-----		<u>M00109</u> C/EBPb 89.3
	-----		<u>M00008</u> Sp1 89.0
		-----	<u>M00073</u> deltaE 86.2
		----->	<u>M00075</u> GATA-1 86.1
551	CTGTGGCAAG TCAAAATTGG CCAATGAGAT GGAAGGGTCT AAGTTCTACA	entrada	Puntuación

```

----->
>
----->

```

---	<u>M00011</u>	Evi-1	89.1
	<u>M00147</u>	HSF2	87.2
	<u>M00073</u>	deltaE	86.2
	<u>M00116</u>	C/EBPa	85.3

Fig. 17 (i)

Región Pcap de PCV-1

GCAGTTCCCT GTAACGTATG	TGAGAAATTT CCGCGGGCTG	entrada	Puntuación
<-----		<u>M00147</u>	HSF2 91.0
----->		<u>M00147</u>	HSF2 88.5
----->		<u>M00146</u>	HSF1 87.3
<-----		<u>M00074</u>	c-Ets- 86.6
451 GCTGAACTTT TGAAAGTGAG	CGGGAAGATG CAGCAGCGTG	ATTGGAAGAC	entrada Puntuación
----->			
		<u>M00075</u>	GATA-1 92.2
		<u>M00109</u>	C/EBPb 85.5
501 AGCTGTACAC GTCATAGTGG	GCCCCCCCCG	TTGTGGGAAG	AGCCAGTGGG entrada Puntuación
<-----			
		<u>M00223</u>	STATx 88.5
		<u>M00039</u>	CREB 87.6
551 CCCGTAATTT TGCTGAGCCT	AGCGACACCT	ACTGGAAGCC	entrada Puntuación
		<u>M00032</u>	c-Ets- 89.2
		<u>M00101</u>	CdxA 85.7

Fig. 17 (j)

Región Pcap de PCV2

	CAGA GCAGACCCT GTAACGTTT TCAGAAATTT CCGCGGGCTG	entrada	Puntuación
	<-----	M00101 CdxA	93.6
	<-----	M00147 HSF2	91.0
	<-----	M00100 CdxA	89.7
	----->	M00147 HSF2	88.5
	----->	M00146 HSF1	87.3
	<-----	M00074 c-Ets-	86.6
451	GCTGAAC TTT TGAAAGTGAG CGGGAAAATG CAGAAGCGTG ATTGGAAGAC	entrada	Puntuación
	----->	M00075 GATA-1	92.2
	<-----	M00050 E2F	90.8
		-- M00101 CdxA	86.4
	----->	M00109 C/EBPb	85.5
501	TAATGTACAC GTcATTGTGG GGCCACCTGG GTGTGGTAAA AGCAAATGGG	entrada	Puntuación
	----->	M00271 AML-1a	100.0
	<-----	M00251 XBP-1	88.0
		M00159 C/EBP	87.7
	<-----	M00039 CREB	87.6
	---->	M00101 CdxA	86.4
		M00148 SRY	86.4
	<-----	M00162 Oct-1	85.7
551	CTGCTAATTT TGCAGACCCG GAAACCACAT ACTGGAAACC	entrada	Puntuación

<-----
----->

<u>M00271</u>	AML-1a	100.0
<u>M00032</u>	c-Ets-	86.3

Fig. 17 (k)