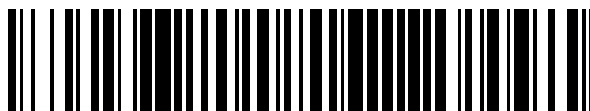


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 525 177**

51 Int. Cl.:

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

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.07.2009 E 12181077 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.09.2014 EP 2570484**

54 Título: **Partículas similares al virus de la influenza (VLP) que comprenden hemaglutinina**

30 Prioridad:

11.07.2008 WO PCT/CA2008/001281
12.01.2009 WO PCT/CA2009/000032

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.12.2014

73 Titular/es:

MEDICAGO INC. (100.0%)
1020 route de l'Eglise Suite 600
Québec, Québec G1V 3V9 , CA

72 Inventor/es:

D'AOUST, MARC-ANDRE;
COUTURE, MANON;
ORS, FRÉDÉRIC;
TREPANIER, SONIA;
LAVOIE, PIERRE-OLIVIER;
DARGIS, MICHÈLE;
VEZINA, LOUIS-PHILIPPE y
LANDRY, NATHALIE

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 525 177 T3

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

DESCRIPCIÓN

Partículas similares al virus de la influenza (VLP) que comprenden hemaglutinina

Esta solicitud es una continuación en parte de la solicitud PCT No. PCT/CA2009/000032, presentada el 12 de enero del 2009, que es una continuación en parte de, y reivindica prioridad de la solicitud PCT No. PCT/CA2008/001281, presentada el 11 de julio de 2008; que reivindica prioridad de la solicitud canadiense No. 2.615.372 presentada el 21 de enero de 2008; solicitud estadounidense No. 61/022775 presentada el 22 de enero de 2008; solicitud estadounidense No. 60/959414 presentada el 13 de julio de 2007; solicitud estadounidense No. 60/990603 presentada el 27 de noviembre de 2007; y solicitud estadounidense No. 61/013272 presentada el 12 de diciembre de 2007.

10 Campo de la invención

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

Antecedentes de la invención

15 La influenza es la causa principal de muerte en los seres humanos debido a un virus respiratorio. Los síntomas comunes incluyen fiebre, dolor de garganta, dificultad para respirar, y dolor muscular, entre otros. Durante la temporada de gripe, los virus de influenza infectan a un 10-20% de la población mundial, lo que se traduce en 250 - 500.000 muertes al año

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

30 Las pandemias de influenza son causadas generalmente por virus de influenza altamente virulentos y contagiosos, y pueden conducir a niveles elevados de morbilidad y de mortalidad a nivel mundial. La aparición de nuevos subtipos de influenza A resultó en 4 grandes pandemias en el siglo 20. La gripe española, causada por un virus H1N1, en 1918 - 1919 condujo a la muerte a más de 50 millones de personas en todo el mundo entre 1917 y 1920. En la actualidad, el riesgo de la aparición de un nuevo subtipo, o de la transmisión a los seres humanos de un subtipo endémico en animales, está siempre presente. Particularmente preocupante es una forma muy virulenta de influenza aviar (también llamada "gripe aviar"), cuyos brotes han sido reportados en varios países de todo el mundo. En muchos casos, esta gripe aviar puede resultar en tasas de mortalidad cercana al 100% en 48 horas. La propagación del virus de la gripe aviar (H5N1), identificada por primera vez en Hong Kong en 1997, a otros países de Asia y Europa se ha propuesto que esta vinculada a los patrones migratorios de las aves silvestres.

40 El método actual de combatir la influenza en los seres humanos es mediante la vacunación anual. La vacuna es generalmente una combinación de varias cepas que se prevé que serán las cepas dominantes para la próxima "temporada de gripe". La predicción es coordinada por la Organización Mundial de la Salud. Generalmente, el número de dosis de vacuna que se producen cada año no es suficiente para vacunar a la población mundial. Por ejemplo, Canadá y Estados Unidos obtienen suficientes dosis de vacunas para inmunizar a aproximadamente un tercio de su población, mientras que sólo el 17% de la población de la Unión Europea puede ser vacunada. Es evidente que la producción mundial actual de la vacuna contra la influenza sería insuficiente frente a una pandemia de gripe mundial. Incluso si la producción anual necesaria de alguna manera pudiera cumplirse en un año determinado, las cepas dominantes cambian de año en año, el almacenamiento a veces poco necesitado en el año no es práctico. Producción económica a gran escala de una vacuna efectiva contra la influenza es de gran interés para el gobierno y la industria privada por igual.

55 Las reservas del virus para uso en vacunas se producen en huevos fertilizados. Las partículas del virus se recolectan, y para una vacuna viral inactivada, se rompen mediante detergente para inactivación. Las vacunas atenuadas vivas se elaboran a partir de virus de la influenza que se adaptaron para crecimiento a baja temperatura lo que significa que a la temperatura corporal normal, la vacuna está atenuada. Esta vacuna está autorizada en EE.UU. para su uso en personas de 5 a 49 años de edad. Las vacunas de virus completos inactivados se tornan

- inocuas mediante inactivación con agentes químicos y han sido producidas en huevos embrionarios o cultivos celulares de mamíferos. Todos estos tipos de vacuna muestran algunas ventajas y desventajas específicas. Una ventaja de las vacunas derivadas de virus completos es el tipo de inmunidad inducida por tales vacunas. En general, las vacunas de virus fraccionados inducen una fuerte respuesta de anticuerpos mientras que las vacunas elaboradas a partir de virus completos inducen tanto un anticuerpo (humoral) como una respuesta celular. A pesar de que una respuesta de anticuerpos funcionales es un criterio para obtener la licencia que se correlaciona con la protección inducida por una vacuna, existe una creciente evidencia de que una respuesta de células T también es importante en la inmunidad contra la gripe - esto también puede proporcionar una mejor protección en los ancianos.
- Con el fin de inducir una respuesta celular inmune, se desarrollaron vacunas hechas de virus completos. Debido a la alta patogenicidad de la cepa de influenza (por ejemplo, H5N1), estas vacunas se producen en instalaciones BL3+. Para las cepas de influenza altamente patógenas como la H5N1, algunos fabricantes han modificado la secuencia de gen de la hemaglutinina con el fin de reducir la patogenicidad de la cepa de la influenza y volverla no virulenta y poderla producir más fácilmente en huevos embrionarios o cultivos celulares de mamíferos. Otros también utilizan cepas de influenza más seguras en las que se clonan las secuencias genéticas para las proteínas hemaglutinina y neuraminidasa en una cepa donante de influenza de baja patogenicidad y de alto rendimiento (A/PR/8/34; Quan F-S et al, 2007). Si bien estos métodos pueden producir vacunas útiles, no proporcionan una solución a la necesidad de producir altos volúmenes en forma rápida y bajo costo de vacunas en la escala necesaria para satisfacer la necesidad mundial en un año normal, y es casi seguro que será insuficiente frente a una pandemia.
- Utilizando esta tecnología de genética inversa, también se podría necesitar mutar la secuencia genética de la proteína HA para que sea no virulenta. Para las cepas de influenza de alta patogenicidad, la producción de vacunas de virus completos o bien requiere de procedimientos de confinamiento o las vacunas resultantes no coinciden exactamente con la secuencia genética del virus circulante. En el caso de vacunas vivas atenuadas, todavía hay un riesgo de que la vacuna administrada pueda recombinarse con un virus de influenza del huésped, lo que conduce a un nuevo virus de la influenza.
- Si bien este método mantiene el epítipo antigénico y las modificaciones postraduccionales, existen una serie de inconvenientes con este método, incluyendo el riesgo de contaminación debido al uso de virus completos y rendimientos variables dependiendo de la cepa del virus. Niveles de protección por debajo del óptimo pueden provenir de la heterogeneidad genética en el virus debido a su introducción en los huevos. Otras desventajas incluyen una amplia planificación para la obtención de los huevos, riesgos de contaminación debidos a los productos químicos utilizados en la purificación, y largos períodos de producción. También, las personas hipersensibles a las proteínas del huevo no pueden ser candidatos elegibles para recibir la vacuna.
- En el caso de una pandemia, la producción de vacunas fraccionadas está limitada por la necesidad de adaptar la cepa para crecimiento en huevos y los rendimientos de producción variables obtenidos. Aunque esta tecnología se ha utilizado durante años para la producción de vacunas estacionales, difícilmente puede responder en un plazo razonable a una pandemia y la capacidad de fabricación en todo el mundo es limitada.
- Para evitar el uso de huevos, se han producido también virus de influenza en cultivo de células de mamífero, por ejemplo, en células MDCK o PERC.6, o similares. Otro enfoque es la genética inversa, en la que se producen los virus mediante la transformación de células con genes virales. Estos métodos, sin embargo, también requieren del uso del virus completo, así como métodos de elaboración y ambientes de cultivo específicos.
- Se han desarrollado varios productos recombinantes como candidatos para la vacuna recombinante de la influenza. Estos enfoques se han centrado en la expresión, producción y purificación de las proteínas HA y NA de la influenza tipo A, incluyendo la expresión de estas proteínas utilizando células de insecto infectadas con baculovirus (Crawford et al., 1999; Johansson, 1999), vectores virales, y constructos de vacuna de ADN (Olsen et al., 1997).
- De reciente preocupación es el brote de "gripe porcina" (cepa A/ California/04/09). Un brote inicial en México trajo esta cepa viral a la atención del mundo en unos pocos días, y se ha detectado en países de todo el mundo, como un testimonio de la rapidez con que puede transmitirse la influenza, así como una prueba para la cuarentena, producción antiviral, control de la infección y en última instancia, la producción de vacunas.
- Los detalles específicos de una infección por el virus de la influenza son bien conocidos. En resumen, el ciclo infeccioso se inicia por la unión de la proteína HA de la superficie del virión a un receptor celular que contienen ácido siálico (glicoproteínas y glicolípidos). La proteína NA media el procesamiento del receptor de ácido siálico, y la penetración del virus en la célula depende de la endocitosis mediada por receptor que depende de HA. En los confines ácidos de los endosomas internalizados que contienen un virión de la influenza, la proteína HA experimenta cambios conformacionales que conducen a la fusión de membranas celulares y virales y del virus sin recubrimiento y la liberación mediada por M2 de las proteínas M1 de las ribonucleoproteínas asociadas con la nucleocápside (las RNP), que migran dentro del núcleo de la célula para la síntesis de ARN viral. Los anticuerpos con proteínas HA previenen la infección por el virus mediante la neutralización de la infectividad del virus, mientras que los anticuerpos co proteínas NA median su efecto en las primeras etapas de la replicación viral.

- 5 Crawford et al. (1999) describen la expresión de HA de la influenza en células de insecto infectadas con baculovirus. Las proteínas expresadas se describen como capaces de prevenir la enfermedad de la gripe letal causada por los subtipos H5 y H7 de la influenza. Johansson et al. (1999) enseñan que las proteínas HA y NA de la influenza expresadas en baculovirus inducen respuestas inmunes en animales superiores con respecto a aquellas inducidas por una vacuna convencional. Se comparó la inmunogenicidad y la eficacia de la hemaglutinina expresada en baculovirus del virus de influenza equina con un candidato a vacuna de ADN homólogo (Olsen et al., 1997). Colectivamente, estos datos demuestran que se puede inducir un alto grado de protección contra la exposición al virus de la influenza con proteínas HA o NA recombinantes, utilizando diversos enfoques experimentales y en diferentes modelos animales.
- 10 Dado que la investigación previa ha demostrado que las glicoproteínas de superficie de la influenza, HA y NA, son los principales objetivos para provocar inmunidad protectora contra el virus de la influenza y que M1 provee un objetivo conservado para inmunidad celular para la influenza, un nuevo candidato a vacuna pueden incluir estos antígenos virales como una partícula macromolecular de proteína, tal como las partículas similares a virus (VLP). Como productos de la vacuna, las VLP ofrecen la ventaja de ser más inmunogénicas que la subunidad o antígenos recombinantes y son capaces de estimular tanto una respuesta inmune humoral como celular (Grgacic y Anderson, 2006). Además, la partícula con estos antígenos de la influenza puede mostrar epítomos conformacionales que produzcan anticuerpos neutralizantes para múltiples cepas de virus de la influenza.
- 15 La producción de una cepa no infecciosa del virus de la influenza para fines de una vacuna es una forma de evitar una infección inadvertida. Alternativamente, se han investigado las partículas similares a virus (VLP) como sustitutos para el virus cultivado. Las VLP imitan la estructura de la cápside viral, pero carecen de un genoma, y por tanto no puede replicarse o proporcionar un medio para una infección secundaria.
- 20 Varios estudios han demostrado que las proteínas recombinantes de la influenza se autoensamblan en las VLP en cultivo celular usando plásmidos de expresión de mamífero o vectores de baculovirus (Gomez-Puertas et al., 1999; Neumann et al., 2000; Latham y Galarza, 2001).
- 25 Gomez-Puertas et al. (1999) describe que la formación eficiente de una VLP de influenza depende de los niveles de expresión de varias proteínas virales. Neumann et al. (2000) estableció un sistema basado en un plásmido de expresión de mamíferos para la generación de partículas similares al virus infeccioso de la influenza enteramente a partir de ADNc clonados. Latham y Galarza (2001) informaron de la formación de las VLP de influenza en células de insecto infectadas con baculovirus recombinante que coexpresa genes para HA, NA, M1 y M2. Estos estudios demostraron que las proteínas del virión de la influenza pueden autoensamblarse después de coexpresión en células eucariotas.
- 30 Gomez-Puertas et al. (2000) enseñan que, además de la hemaglutinina (HA), la proteína de matriz (M1) del virus de la influenza es esencial para la germinación de VLP a partir de células de insectos. Sin embargo, Chen et al. (2007) enseñan que podría no ser necesaria M1 para la formación de VLP, y observó que la liberación eficiente de M1 y las VLP requiere la presencia de HA y la actividad de sialidasa proporcionada por NA. La NA escinde los ácidos siálicos de las glicoproteínas en la superficie de las células que producen las VLP, y que liberan las VLP en el medio.
- 35 Quan et al 2007 enseña que una vacuna VLP producida en un sistema de expresión de baculovirus (célula de insecto) induce una inmunidad protectora contra algunas cepas del virus de la influenza (A/PR8/34 (H1N1)). Se observó que las VLP estudiadas por Quan brotan de la membrana plasmática, y se consideró que eran del tamaño y morfología correctos, similares a los obtenidos en un sistema de mamífero (células MDCK).
- 40 Las publicaciones PCT WO 2004/098530 y WO 2004/098533 enseñan la expresión del virus HN de la enfermedad de Newcastle o la gripe aviar A/Turquía/Wisconsin/68 (H5N9) en células transformadas NT-1 (tabaco) en cultivo. Las composiciones que comprenden los polipéptidos expresados en cultivo de células vegetales provocan diferentes respuestas inmunes en conejos y pollos.
- 45 Los virus en una envoltura pueden obtener su envoltura lipídica cuando 'emergen' fuera de la célula infectada y obtienen la membrana de la membrana plasmática, o de la de un orgánulo interno. Las partículas VLP y las VLP emergen de la membrana plasmática de la célula huésped. En los sistemas de células de mamíferos o de baculovirus, por ejemplo, la influenza emerge de la membrana plasmática (Quan et al. 2007). Sólo unos pocos virus en envoltura son conocidos por infectar a las plantas (por ejemplo, los miembros de los Topovirus y Rabdovirus). Los virus conocidos con envoltura de las plantas, se caracterizan por emerger de las membranas internas de la célula huésped, y no de la membrana plasmática. Aunque se ha producido un pequeño número de las VLP recombinantes en huéspedes vegetales, ninguno se deriva de la membrana plasmática, planteando la cuestión de si se pueden producir en las plantas las VLP derivadas de la membrana plasmática, incluyendo las VLP de influenza.
- 50 Las tecnologías actuales de producción de VLP de la influenza se basan en la coexpresión de múltiples proteínas virales, y esta dependencia representa un inconveniente de estas tecnologías ya que en caso de una pandemia y de las epidemias anuales, el tiempo de respuesta es crucial para la vacunación. Un sistema más sencillo de producción
- 55

de VLP, por ejemplo, uno que se basa en la expresión de sólo una o unas pocas proteínas virales sin necesidad de la expresión de las proteínas virales no estructurales es deseable para acelerar el desarrollo de vacunas.

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

Resumen de la invención

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

10 De acuerdo con la presente invención, se provee un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un antígeno de un virus con envoltura unido operativamente a una región reguladora activa en una planta, el antígeno es una hemaglutinina de la influenza (HA). Preferiblemente, el antígeno es una HA de la gripe A/California/04/09.

La HA puede comprender un péptido señal nativo, o no nativo; el péptido señal no nativo puede ser un péptido señal de la proteína disulfuro isomerasa.

15 La HA codificada por el ácido nucleico puede ser una de influenza tipo A, una de influenza B, o es un subtipo de la influenza tipo A, seleccionada de entre el grupo que comprende H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, y H16. En algunos aspectos de la invención, la HA codificada por el ácido nucleico puede ser de una influenza tipo A, y se selecciona entre el grupo que comprende H1, H2, H3, H5, H6, H7 y H9. Preferiblemente, la HA de influenza es de la cepa A/California/04/09.

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

a) la introducción de un ácido nucleico que codifica un antígeno de un virus con envoltura, por ejemplo, una hemaglutinina de influenza (HA) de la cepa A/California/04/09, unida operativamente a una región reguladora activa en la planta, dentro de la planta, o una porción de la misma, y

25 b) la incubación de la planta o una porción de la misma, en condiciones que permitan la expresión del ácido nucleico, produciendo de este modo las VLP.

El método puede comprender además las etapas de cosecha de la planta y de la purificación o separación de las VLP del tejido de la planta.

El método puede comprender además, en la etapa de introducir (etapa a), un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una o más de una proteína chaperona.

30 Las una o más de una proteínas chaperonas se pueden seleccionar del grupo que comprende Hsp40 y Hsp70.

La presente invención incluye el método anterior en el que, en la etapa de introducción (etapa a), el ácido nucleico puede ser o bien expresado transitoriamente en la planta, o expresado en forma estable en la planta. Además, las VLP se pueden purificar mediante cromatografía de exclusión por tamaño.

35 De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se provee un método de producción de partículas similares al virus de la influenza (VLP) en una planta que comprende proporcionar una planta, o una parte de una planta, que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una HA de influenza A/California/04/09 unida operativamente a una región reguladora activa en una planta, y la incubación de la planta o parte de la planta bajo condiciones que permitan la expresión del ácido nucleico, produciendo de este modo las VLP.

40 El método puede comprender además las etapas de cosecha de la planta y de purificación o separación de las VLP del tejido de la planta.

La presente invención incluye el método anterior, en el que después de la etapa de proveer, se introduce un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una o más de una proteína chaperona unida operativamente a una región reguladora activa en una planta, y se incuba la planta o parte de la planta en condiciones que permitan la expresión del ácido nucleico, produciendo de este modo las VLP.

45 Las una o más de una proteínas chaperonas se pueden seleccionar del grupo que comprende Hsp40 y Hsp70.

La presente invención incluye el método anterior en el que, en la etapa de introducción (etapa a), el ácido nucleico que codifica la HA de la gripe A/California/04/09 se expresa de forma estable en la planta. Además, las VLP se pueden purificar mediante cromatografía de exclusión por tamaño.

La presente invención también proporciona una partícula similar a un virus (VLP) que comprende una proteína HA del virus de la influenza, de la cepa A/California/04/09, y uno o más de un lípido derivado de una planta.

La proteína HA del VLP puede ser de influenza tipo A, influenza tipo B, o es un subtipo de HA de la influenza tipo A seleccionada del grupo que consiste de H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 y H16.

5 En algunos aspectos de la invención, la HA es de influenza tipo A, seleccionada de entre el grupo que comprende H1, H2, H3, H5, H6, H7 y H9.

También se incluye en la presente invención una composición que comprende una dosis eficaz de una VLP, la VLP que comprende una proteína HA del virus de la influenza, uno o más de un lípido de la planta, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

10 La presente invención también contempla fragmentos o porciones de proteínas HA que forman las VLP en una planta.

La presente invención también se refiere a una VLP que comprende N-glicanos o N-glicanos modificados específicos de la planta que contienen HA del virus de la influenza. La proteína HA del VLP puede ser de influenza tipo A, influenza tipo B, o es un subtipo de la HA de influenza tipo A seleccionada del grupo que consiste en H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 y H16. En algunos aspectos de la invención, la HA es de influenza tipo A, seleccionada de entre el grupo que comprende H1, H2, H3, H5, H6, H7 y H9.

La VLP puede comprender una proteína HA de uno, o más de un subtipo, incluyendo H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 o H16 o fragmento o porción de los mismos. Ejemplos de subtipos que comprenden dichas proteínas HA incluyen A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1), A/Indonesia/5/2006 (H5N1), A/pollo/ Nueva York/1995, A/gaviota arenquera/DE/677/88 (H2N8), A/Texas/32/2003 A/ánade real/MN/33/00, A/pato/ Shanghai/1/2000, A/ánade rabudo/TX/828189/02, A/Turquía/Ontario/6118/68 (H8N4), A/pato cuchara/Irán/G54/03, A/ pollo/Alemania/N/1949 (H10N7), A/pato/Inglaterra/56 (H11N6), A/pato/Alberta/60/76 (H12N5), A/Gaviota/Maryland/ 704/77 (H13N6), A/Ánade real/Gurjev/263/82, A/pato/Australia/341/83 (H15N8), A/gaviota cabeza negra/Suecia/5/99 (H16N3), B/Lee/40, C/Johannesburgo/66, A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Islas Salomón/3/2006 (H1N1), A/Brisbane/10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), B/Malasia/2506/2004, B/ Florida /4/2006, A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/cerceta/Hong Kong/ W312/97 (H6N1), A/Equino/Praga/56 (H7N7), A/ Hong Kong/1073/1099 (H9N2), A/California/04/09 (H1N1).

En un aspecto de la invención, la proteína HA puede ser un subtipo H1, H2, H3, H5, H6, H7 o H9. En otro aspecto, la proteína H1 puede ser de la cepa A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1), A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), A/Brisbane/ 59/2007 (H1N1), A/Islas Salomón/3/2006 (H1N1) o A/California/04/09 (H1N1). La proteína H3 también puede ser de la cepa A/Brisbane/10/2007 (H3N2) o A/Wisconsin/67/2005 (H3N2). En un aspecto adicional de la invención, la proteína H2 puede ser de la cepa A/Singapur/1/57 (H2N2). La proteína H5 puede ser de la cepa A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), o A/Indonesia/5/2005. En un aspecto de la invención, la proteína H6 puede ser de la cepa A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1). La proteína H7 puede ser de la cepa A/Equino/Praga/56 (H7N7). En un aspecto de la invención, la proteína H9 es de la cepa A/Hong Kong/1073/99 (H9N2). En un aspecto adicional de la invención, la proteína HA puede ser de un virus de influenza que puede ser un virus de tipo B, incluyendo B/Malasia/2506/2004 o B/Florida/4/2006. Los ejemplos de secuencias de aminoácidos de las proteínas HA de H1, H2, H3, H5, H6, H7, H9 o subtipos B incluyen las SEQ ID NOs: 48 - 59 y 128.

40 La proteína HA del virus de la influenza puede ser H5 de la cepa A/Indonesia/05/05 (H5N1) o H1 de la cepa A/ California/04/09 (H1N1).

La presente invención también provee moléculas de ácido nucleico que comprenden secuencias que codifican una proteína HA. Las moléculas de ácido nucleico pueden comprender además una o más regiones reguladoras unidas operativamente a la secuencia que codifica una proteína HA. Las moléculas de ácido nucleico pueden comprender una secuencia que codifica H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, H16, B o C. En otro aspecto de la invención, la proteína HA codificada por la molécula de ácido nucleico puede ser H1, H2, H3, H5, H6, H7, H9, o del subtipo B. La proteína H1 codificada por la molécula de ácido nucleico es de la cepa A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1), A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Islas Salomón/3/2006 (H1N1) o A/California/04/09 (H1N1). En un aspecto de la invención, la proteína H3 codificada por la molécula de ácido nucleico puede ser de la cepa A/Brisbane 10/2007 (H3N2), o A/Wisconsin/67/2005 (H3N2). En un aspecto adicional de la invención, la proteína H2 codificada por la molécula de ácido nucleico puede ser de la cepa A/ Singapur/1/57 (H2N2). La proteína H5 codificada por la molécula de ácido nucleico puede ser de la cepa A/Anhui/ 1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), o A/Indonesia/5/2005. En un aspecto de la invención, la proteína H6 codificada por la molécula de ácido nucleico puede ser de la cepa A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1). La proteína H7 codificada por la molécula de ácido nucleico también puede ser de la cepa A/Equino/Praga/56 (H7N7). Además, la proteína H9 codificada por la molécula de ácido nucleico puede ser de la cepa A/Hong Kong/1073/99 (H9N2). La proteína HA de subtipo B codificada por el ácido nucleico puede ser de la cepa B/Florida/4/2006, o B/ Malasia/2506/2004. Ejemplos

de secuencias de moléculas de ácido nucleico que codifican tales proteínas HA de H1, H2, H3, H5, H6, H7, H9 o subtipos B incluyen las SEQ ID NOs: 36 - 47 y 60 - 73 y 127.

La secuencia de ácido nucleico puede codificar la proteína HA del virus de la influenza de la cepa A/Indonesia/05/05 (H5N1) o de la cepa A/California/04/09 (H1N1).

- 5 Las regiones reguladoras que pueden estar operativamente unidas a una secuencia que codifica una proteína HA incluyen aquellas que son operativas en una célula vegetal, una célula de insecto o una célula de levadura. Tales regiones reguladoras pueden incluir una región reguladora de plastocianina, una región reguladora de la ribulosa 1,5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa (RuBisCO), proteína de unión clorofila a/b (CAB), ST-LS 1, una región reguladora de la polihedrina, o una región reguladora de gp64. Otras regiones reguladoras incluyen una 5' UTR, 3' UTR o secuencias de terminación. La región reguladora de plastocianina puede ser una región reguladora de plastocianina de alfalfa; las secuencias 5' UTR, 3' UTR o terminadoras también pueden ser secuencias de alfalfa.

- 10 También se proporciona un método para inducir inmunidad a una infección por virus de la influenza en un sujeto, comprendiendo el método la administración de una partícula similar a un virus que comprende una proteína HA del virus de la influenza, uno o más de un lípido vegetal, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La partícula similar a un virus se puede administrar a un sujeto por vía oral, por vía intradérmica, intranasal, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, o subcutánea.

- 15 La presente invención también se refiere a una partícula similar a un virus (VLP) que comprende una o más de una proteína derivada de un virus seleccionado del grupo que consiste de influenza, sarampión, Ébola, Marburgo, y VIH, y uno o más de un lípido derivado de una célula de producción de un huésped que no es de sialilación. La proteína del VIH puede ser p24, gp120 o gp41; la proteína del virus del Ébola puede ser VP30 o VP35; la proteína del virus de Marburgo puede ser Gp/SGP; la proteína del virus del sarampión puede ser una proteína H o una proteína F.

- 20 Adicionalmente, la presente invención se refiere a una partícula similar a un virus (VLP) que comprende una proteína HA del virus de la influenza y uno o más de un lípido huésped. Por ejemplo, si el huésped es insecto, entonces la partícula similar a un virus (VLP) puede comprender una proteína HA del virus de la influenza y uno o más de un lípido de insecto, o si el huésped es una levadura, entonces la partícula similar a un virus (VLP) puede comprender una proteína HA del virus de influenza y uno o más de un lípido de levadura.

- 25 La presente invención también se refiere a composiciones que comprenden las VLP de dos o más cepas o subtipos de influenza. Las dos o más subtipos o cepas se pueden seleccionar del grupo que comprende: A/New Caledonia/20/99 (H1N1), A/Indonesia/5/2006 (H5N1), A/pollo/Nueva York/1995, A/gaviota arenquera/DE/677/88 (H2N8), A/Texas/32/2003, A/ánade real/MN/33/00, A/pato/Shanghai/1/2000, A/ánade rabudo/TX/828189/02, A/Turquía/Ontario/6118/68 (H8N4), A/pato cuchara/Irán/G54/03, A/pollo/Alemania/N/1949 (H10N7), A/pato/Inglaterra/56 (H11N6), A/pato/Alberta/60/76 (H12N5), A/Gaviota/Maryland/704/77 (H13N6), A/Ánade real/Gurjev/263/82, A/pato/Australia/341/83 (H15N8), A/gaviota de cabeza negra/Suecia/5/99 (H16N3), B/Lee/40, C/Johannesburgo/66, A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Islands Salomón 3/2006 (H1N1), A/Brisbane 10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006, A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Equino/Praga/56 (H7N7), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2), o A/California/04/09 (H1N1). Las dos o más subtipos o cepas de VLP pueden estar presentes en cantidades aproximadamente equivalentes; alternativamente uno o más de los subtipos o cepas pueden ser la mayoría de las cepas o subtipos representados.

- 30 La presente invención se refiere a un método para la inducción de inmunidad a la infección por virus de la influenza en un animal u organismo objetivo que comprende la administración de una dosis eficaz de una vacuna que comprende una o más de una VLP, la VLP producida usando un huésped no de sialilación, por ejemplo un huésped vegetal, un huésped insecto, o un huésped de levadura. La vacuna se puede administrar por vía oral, por vía intradérmica, intranasal, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, o subcutánea. El organismo objetivo puede seleccionarse del grupo que comprende seres humanos, primates, caballos, cerdos, aves (aviar), aves acuáticas, aves migratorias, codorniz, pato, oca, aves de corral, pollo, camello, canino, perros, felinos, gatos, tigre, leopardo, civeta, visón, garduña, hurones, animales domésticos, animales de granja, ratones, ratas, foca, ballenas y similares.

- 35 La presente invención proporciona un método para producir las VLP que contienen hemaglutinina (HA) de diferentes cepas de influenza en un huésped adecuado capaz de producir una VLP, por ejemplo, una planta, insecto o levadura. Las VLP que se producen en las plantas contienen lípidos de origen vegetal, las VLP producidas en células de insecto comprenden lípidos de la membrana plasmática de las células del insecto (generalmente denominados como "lípidos de insectos"), y las VLP producidas en levadura comprenden lípidos de la membrana plasmática de las células de levadura (generalmente denominados como "lípidos de levadura").

- 40 La presente invención también se refiere a una planta, tejido vegetal o célula de una planta que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un antígeno de un virus con envoltura unido operativamente a una región reguladora activa en una planta. El antígeno puede ser una hemaglutinina de la

influenza (HA). Preferiblemente, el antígeno es una HA de la gripe A/California/04/09.

La planta puede comprender además un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica uno o más de una proteína chaperona unidas operativamente a una región reguladora activa en una planta. Las una o más proteínas chaperonas se pueden seleccionar del grupo que comprende Hsp40 y Hsp70.

- 5 La producción de las VLP en las plantas presenta varias ventajas sobre la producción de estas partículas en cultivo celular de insecto. Lípidos vegetales pueden estimular a células inmunes específicas y mejorar la respuesta inmune inducida. Las membranas vegetales están hechas de lípidos, fosfatidilcolina (PC) y fosfatidiletanolamina (PE), y también contienen glicoesfingolípidos que son únicos para las plantas y algunas bacterias y protozoos. Los esfingolípidos son inusuales ya que ellos no son ésteres de glicerol como PC o PE, sino más bien se componen de
- 10 un amino alcohol de cadena larga que forma un enlace amida con una cadena de ácido graso que contiene más de 18 átomos de carbono. PC y PE, así como glicoesfingolípidos se pueden unir a moléculas CD1 expresadas por células del sistema inmune de mamíferos tales como las células que presentan antígeno (APC) como las células dendríticas y los macrófagos y otras células incluyendo linfocitos B y T en el timo y el hígado (Tsuji M., 2006). Adicionalmente, además del efecto adyuvante potencial de la presencia de los lípidos de las plantas, la capacidad de
- 15 los N-glicanos de las plantas para facilitar la captura de antígenos de glicoproteína por las células que presentan antígeno (Saint-Jore-Dupas, 2007), puede ser ventajosa para la producción de las VLP en las plantas.

Sin desear estar limitado por la teoría, se prevé que las VLP producidas por las plantas inducirán una reacción inmune más fuerte que las VLP elaboradas en otros sistemas de fabricación y que la reacción inmunitaria inducida por estas VLP producidas por las plantas será más fuerte cuando se compara con la reacción inmune inducida por

20 las vacunas de virus vivos o atenuados completos.

Contrariamente a las vacunas elaboradas a partir de virus completos, las VLP tienen la ventaja de que no son infecciosas, por lo tanto la contención biológica restrictiva no es un problema tan importante ya que se trabaja con un virus infeccioso completo, y no se requiere para la producción. Las VLP elaboradas por las plantas de hecho proporcionan de nuevo una ventaja adicional ya que permiten que el sistema de expresión sea cultivado en un

25 invernadero o en el campo, siendo por lo tanto significativamente más económico y adecuado para el escalamiento.

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

30 Las VLP producidas de acuerdo con la presente invención no comprenden proteína M1 que se sabe que se une al ARN. El ARN es un contaminante de la preparación de VLP y es indeseable en la obtención de la aprobación reglamentaria para el producto VLP.

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

Breve descripción de los dibujos

35 Estas y otras características de la invención serán más evidentes a partir de la siguiente descripción en la que se hace referencia a los dibujos adjuntos en los que:

La Figura 1A muestra una secuencia de un casete de expresión basado en plastocianina de alfalfa utilizado para la expresión de H1 de la cepa A/New Caledonia/20/99 (H1N1) de acuerdo con una realización de la presente invención (SEQ ID NO: 8). El péptido señal de la proteína disulfuro isomerasa (PDI) está subrayado. Los sitios de restricción

40 BglIII (AGATCT) y SacI (GAGCTC) utilizados para la clonación se muestran en negrita. La Figura 1B muestra un diagrama esquemático de dominios funcionales de hemaglutinina de la influenza. Después de la escisión de los fragmentos HA0, HA1 y HA2 permanecen unidos por un puente disulfuro.

La Figura 2A muestra una representación del plásmido 540 ensamblado para la expresión del subtipo H1 de HA de la cepa A/New Caledonia/20/99 (H1N1). La Figura 2B muestra una representación del plásmido 660 ensamblado para la expresión del subtipo H5 de HA de la cepa A/Indonesia/5/2005 (H5N1).

45

La Figura 3 muestra una cromatografía de exclusión por tamaño de extractos de proteínas de las hojas que producen hemaglutinina H1 o H5. La Figura 3A muestra el perfil de elución de Azul Dextrano 2000 (triángulos) y proteínas (diamantes). La Figura 3B muestra fracciones de elución de inmunodetección (transferencias tipo Western; anti H1) de H1 (A/ Nueva Caledonia/20/99 (H1N1)) después de cromatografía de exclusión por tamaño (perlas S500HR). La Figura 3C muestra el perfil de elución de H5; Azul Dextrano 2000 (triángulos) y proteínas (diamantes). La Figura 3D muestra las fracciones de elución de inmunodetección (transferencias tipo Western; anti H5) de H5 (A/ Indonesia/5/2005 (H5N1)) después de la cromatografía de exclusión por tamaño (perlas S500HR).

50

La Figura 4A muestra la secuencia que codifica el fragmento N terminal de H1 (A/New Caledonia/20/99 (H1N1))

(SEQ ID NO: 1). La Figura 4B muestra la secuencia que codifica el fragmento C terminal de H1 (A/New Caledonia/20/99 (H1N1)) (SEQ ID NO: 2).

La Figura 5 muestra la secuencia completa que codifica HA0 de H1 (A/New Caledonia/20/99 (H1N1)) (SEQ ID NO: 28).

5 La Figura 6 muestra la secuencia que codifica H5 (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)) flanqueada por un sitio HindIII inmediatamente secuencia arriba del ATG inicial, y un sitio SacI inmediatamente secuencia abajo del codón de detención (TAA) (SEQ ID NO: 3)

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

10

La Figura 8A muestra la secuencia de aminoácidos de la H1 (A/New Caledonia/20/99 (H1N1); SEQ ID NO: 9). La Figura 8B muestra la secuencia de aminoácidos de H5 (A/Indonesia/5/2005 (H5N1); SEQ ID NO: 10). El péptido señal nativo se indica en negrita.

La Figura 9 muestra la secuencia de nucleótidos del subtipo H7 de HA de la influenza (SEQ ID No: 11).

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

20

25

30

35 La Figura 11 muestra una representación esquemática de varios constructos, como se usa en la presente invención. El constructo 660 comprende la secuencia de nucleótidos para codificar el subtipo H5 de HA (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)) operativamente unido al promotor de plastocianina (plasto) y el terminador (Pter); el constructo 540 comprende la secuencia de nucleótidos para codificar el subtipo H1 de HA (A/New Caledonia/20/99 (H1N1)) en combinación con un péptido señal de la proteína disulfuro isomerasa de la alfalfa (PDI SP), y está unido operativamente a un promotor de plastocianina (Plasto) y el terminador (Pter); el constructo 544 ensamblado para la expresión de del subtipo H1 de HA (A/New Caledonia/20/99 (H1N1)), la secuencia de nucleótidos que codifica H1 se combina con un péptido señal de la proteína disulfuro isomerasa de la alfalfa (PDI SP) y una cremallera de leucina GCN4pII (en lugar del dominio transmembrana y la cola citoplasmática de HI) y operativamente unida al promotor de plastocianina (Plasto) y el terminador (Pter); y el constructo 750 para la expresión de la región codificante de M1 de la influenza A/PR/8/34 se combina con el virus del grabado del tabaco (TEV) 5'UTR y operativamente unido con el promotor doble 35S y el terminador Nos.

40

45

La Figura 12 muestra la inmunodetección de H5 (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)), utilizando anticuerpos anti-H5 (Vietnam), en extractos de proteína de hojas de *N. benthamiana* transformadas con el constructo 660 (carril 3). Se utilizó H5 comercial de la influenza A/Vietnam/1203/2004 como control positivo de la detección (carril 1), y se utilizó un extracto de proteína de las hojas transformadas con un vector vacío como control negativo (carril 2).

50 La Figura 13 muestra la caracterización de las estructuras de hemaglutinina por cromatografía de exclusión por tamaño. Se separaron el extracto de proteína a partir de biomásas separadas que producen H5 (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)), H1 (A/New Caledonia/20/99 (H1N1)), H1 soluble, o H1 y M1 por filtración en gel sobre S-500 HR. Se fraccionó también H1 Comercial (A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1)) en forma de rosetas (roseta H1). La Figura 13A muestra las fracciones de elución analizadas por el contenido relativo de proteína (Nivel relativo de proteína - se muestra un perfil de elución de proteína estándar de un fraccionamiento de la biomasa). Se indica el pico de elución del Azul Dextrano 2000 (estándar de referencia de 2 MDa). La Figura 13B muestra las fracciones de elución

55

analizadas por la presencia de hemaglutinina por inmunotransferencia con anticuerpos anti-H5 (Vietnam) (para H5). La Figura 13C muestra las fracciones de elución analizadas para anticuerpos anti-influenza A para H1. La Figura 13D muestra fracciones de elución analizadas para anticuerpos anti-influenza A para H1 soluble. La Figura 13E muestra las fracciones de elución analizadas para anticuerpos anti-influenza A para roseta H1. La Figura 13F muestra fracciones de elución analizadas para anticuerpos anti-influenza A para H1 + M1.

La Figura 14 muestra la concentración de estructuras H5 de influenza (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)) mediante centrifugación en gradiente de sacarosa y examen por microscopía electrónica de fracciones concentradas de hemaglutinina. La Figura 14A muestra la caracterización de las fracciones de la centrifugación en gradiente de densidad de sacarosa. Cada fracción se analizó por la presencia de H5 mediante inmunotransferencia utilizando anticuerpos anti-H5 (Vietnam) (panel superior), y por su contenido relativo de proteína y la capacidad de hemaglutinación (gráfico). La Figura 14B muestra el examen por microscopía electrónica de transmisión con coloración negativa de las fracciones reunidas 17, 18 y 19 de la centrifugación en gradiente de sacarosa. La barra representa 100 nm.

La Figura 15 muestra la purificación de las VLP H5 de influenza. La Figura 15A muestra el análisis por SDS-PAGE con tinte de Coomassie del contenido de proteína en las etapas de clarificación - carril 1, extracto sin purificar; carril 2, extracto ajustado a pH 6; carril 3, extracto tratado con calor; carril 4, extracto filtrado por DE; las etapas de purificación de afinidad por fetuina: carril 5, carga; carril 6, flujo continuo; carril 7, elución (concentrado 10 veces). La Figura 15B muestra el examen por microscopía electrónica de transmisión con tinción negativa de la muestra purificada de la VLP H5. La barra representa 100 nm. La Figura 15C muestra la VLP H5 aislada ampliada para mostrar detalles de la estructura. La Figura 15D muestra el producto de la VLP H5 en un SDS-PAGE reductor teñido con Coomassie (carril A) y una transferencia tipo Western (carril B) usando anticuerpo policlonal de conejo surgido contra HA de la cepa A/Vietnam/1203/2004 (H5N1).

La Figura 16 muestra una secuencia de nucleótidos para el gen de la hemaglutinina (HA) del virus de Influenza A (A/New Caledonia/20/99 (H1N1)), cds completo. Número de acceso del GenBank AY289929 (SEQ ID NO: 33)

La Figura 17 muestra una secuencia de nucleótidos para ARNm de *Medicago sativa* para proteína disulfuro isomerasa. Número de acceso del GenBank Z11499 (SEQ ID NO: 34).

La Figura 18 muestra una secuencia de nucleótidos para el segmento 7 del virus de la Influenza A (A/Puerto Rico/8/34 (H1N1)), secuencia completa. Número de acceso del GenBank NC_002016.1 (SEQ ID NO: 35).

La Figura 19 muestra la localización de la acumulación de VLP mediante observación por microscopía electrónica de transmisión de tinción positiva del tejido que produce H5. CW: pared celular, ch: cloroplasto, pm: membrana plasmática, VLP: partículas similares al virus. La barra representa 100 nm.

La Figura 20 muestra la inducción de respuestas de anticuerpos en suero 14 días después del refuerzo en ratones Balb/c vacunados con VLP H5 de la influenza producidos por plantas (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)) o H5 soluble recombinante (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)). La Figura 20 (A) Las respuestas de anticuerpos de ratones inmunizados mediante inyección intramuscular. La Figura 20 (B) Las respuestas de anticuerpos de ratones inmunizados mediante administración intranasal. Las respuestas de anticuerpos se midieron contra los virus H5N1 completos inactivados (A/Indonesia/5/05). GMT: media geométrica de los títulos. Los valores son la GMT (ln) de títulos de punto final recíprocos de cinco ratones por grupo. Las barras representan la desviación media. *p < 0,05 comparado con H5 soluble recombinante.

La Figura 21 muestra la respuesta de anticuerpos de inhibición de hemaglutinación (HAI) 14 días después del refuerzo en ratones Balb/c vacunados con la VLP H5 de la influenza producidos por plantas (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)) o H5 soluble recombinante (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)). Figura 21 (A) Las respuestas de anticuerpos de ratones inmunizados mediante inyección intramuscular. Figura 21 (B) Las respuestas de anticuerpos de ratones inmunizados mediante administración intranasal. Se midieron las respuestas de anticuerpos HAI utilizando virus H5N1 completos inactivados (A/Indonesia/5/05). GMT: media geométrica de los títulos. Los valores son la GMT (ln) de títulos de punto final recíprocos de cinco ratones por grupo. Las barras representan la desviación media. * p < 0,05 y ** p < 0,01 en comparación con H5 soluble recombinante.

La Figura 22 muestra el efecto del adyuvante sobre la inmunogenicidad de las VLP en ratones Balb/c. Figura 22 (A) Efecto del alumbre en los ratones inmunizados por medio de inyección intramuscular. Figura 22 (B) Efecto del quitosano en ratones inmunizados mediante administración intranasal. Las respuestas de anticuerpos HAI se midieron utilizando los virus H5N1 completos inactivados (A/Indonesia/5/05). GMT: media geométrica del título. Los valores son la GMT (ln) de títulos de punto final recíprocos de cinco ratones por grupo. Las barras representan la desviación media. * p < 0,05 comparado con el correspondiente H5 soluble recombinante.

La Figura 23 muestra la respuesta de anticuerpos a la administración de la VLP H5 (A/Indonesia/5/2005 (H5N1) A). Figura 23 (A) Isótopo de inmunoglobulina anti-Indonesia/5/05 en ratones inmunizados mediante administración

- intramuscular, 30 días después del refuerzo. Los valores son la GMT ($\log_2$) de títulos de punto final recíprocos de cinco ratones por grupo. ELISA realizado usando virus H5N1 inactivados completos (A/Indonesia/5/2005) como el agente de recubrimiento. Las barras representan la desviación media. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$ comparado con el H5 soluble recombinante correspondiente (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)). Figura 23 (B) Títulos de anticuerpos contra los virus inactivados completos (A/Indonesia/5/2005 (H5N1) y (A/Vietnam/1194/04 (H5N1))). Todos los grupos son estadísticamente diferentes al control negativo.
- La Figura 24 muestra el título de anticuerpos contra virus inactivados completos homólogos (A/Indonesia/5/05), 14 días después de la primera semana de la dosis (semana 2), 14 días después del refuerzo (semana 5) o 30 días después del refuerzo (7 semanas) de ratones Balb/c inmunizados con VLP H5 (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)). GMT: media geométrica del título. Los valores son la GMT ($\ln$) de títulos de punto final recíprocos de cinco ratones por grupo. * $p < 0,05$ comparado con H5 soluble recombinante.
- La Figura 25 muestra reactividad cruzada *in vitro* de los anticuerpos en suero de ratones Balb/c inmunizados con VLP H5 (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)) 30 días después del refuerzo. (A) Los títulos de anticuerpos de virus inactivados completos. (B) Títulos de inhibición de la hemaglutinación contra diversos virus inactivados completos. Los valores son la GMT ($\ln$) de títulos de punto final recíprocos de cinco ratones por grupo. Las barras representan la desviación media. Todos los grupos son estadísticamente diferentes al control negativo. * $p < 0,05$ comparado con el correspondiente H5 soluble recombinante. A todos los valores inferiores a 10 se les dio un valor arbitrario de 5 (1,6 para $\ln$) y se consideran negativos.
- La Figura 26 muestra la eficacia de la VLP H5 elaborada por la planta (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)). (A) Tasa de supervivencia de los ratones después de la exposición a 1.000 LD_{50} ($4,09 \times 10^6 \text{ CCID}_{50}$) de la cepa de influenza A/Turquía/582/06 (H5N1) (B) Peso corporal de ratones inmunizados después de la exposición. Los valores son la media del peso corporal de los ratones supervivientes.
- La Figura 27 muestra origen de las VLP de influenza derivados de plantas. (A) Composición de lípidos polares de las VLP de influenza purificadas. Los lípidos contenidos en un equivalente de $40 \mu\text{g}$ de proteínas, se extrajeron de VLP como se describió, se separaron por HP-TLC, y se compararon con el perfil de migración de los lípidos aislados a partir de la membrana plasmática (PM) de tabaco altamente purificada. Las abreviaturas de lípidos son las siguientes: DGDG, digalactosildiacilglicerol; gluCER, glucosil-ceramida; PA, ácido fosfático; PC, fosfatidilcolina; PE, fosfatidiletanolamina; PG, fosfatidilglicerol; PI, fosfatidilinositol; PS, fosfatidilserina; SG, esteril-glicósido. (B) Composición de lípidos neutros de las VLP de influenza purificadas. Se extrajeron los lípidos contenidos en un equivalente de $20 \mu\text{g}$ de proteínas de VLP como se describió, se separaron por HP-TLC y se compararon con la migración de sitosterol. (C) Inmunodetección de la ATPasa de la bomba de protones marcadora de la membrana plasmática (PMA) en las VLP purificadas y PM altamente purificada a partir de hojas de tabaco (PM_L) y células de tabaco BY2 (PM_{BY2}). Se cargaron dieciocho microgramos de proteína en cada carril.
- La Figura 28 muestra la secuencia que abarca desde los sitios DralII hasta SacI del clon 774 - secuencia de nucleótidos de A/Brisbane/59/2007 (H1N1) (SEQ ID NO: 36). La secuencia de codificación está flanqueada por una región reguladora de plastocianina, comenzando con un sitio de restricción DralII en el extremo 5' y por un codón de detención y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción están subrayados; ATG está en negrita y subrayado.
- La Figura 29 muestra la secuencia que abarca desde los sitios DralII hasta SacI de clon 775 - secuencia de nucleótidos de A/Islas Salomón 3/2006 (H1N1) (SEQ ID NO: 37). La secuencia de codificación está flanqueada por una región reguladora de plastocianina, comenzando con un sitio de restricción DralII en el extremo 5' y por un codón de detención y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción están subrayados; ATG está en negrita y subrayado.
- La Figura 30 muestra la secuencia que abarca desde los sitios DralII hasta SacI del clon 776 - secuencia de nucleótidos de A/Brisbane 10/2007 (H3N2) (SEQ ID NO: 38). La secuencia de codificación está flanqueada por una región reguladora de plastocianina, comenzando con un sitio de restricción DralII en el extremo 5' y por un codón de detención y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción están subrayados; ATG está en negrita y subrayado.
- La Figura 31 muestra la secuencia que abarca desde los sitios DralII hasta SacI del clon 777 - secuencia de nucleótidos de A/Wisconsin/67/2005 (H3N2) (SEQ ID NO: 39). La secuencia de codificación está flanqueada por una región reguladora de plastocianina, comenzando con un sitio de restricción DralII en el extremo 5' y por un codón de detención y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción están subrayados; ATG está en negrita y subrayado.
- La Figura 32 muestra la secuencia que abarca desde los sitios DralII hasta SacI del clon 778 - secuencia de nucleótidos de B/Malasia/2506/2004 (SEQ ID NO: 40). La secuencia de codificación está flanqueada por una región reguladora de plastocianina, comenzando con un sitio de restricción DralII en el extremo 5' y por un codón de

detención y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción están subrayados; ATG está en negrita y subrayado.

La Figura 33 muestra la secuencia que abarca desde los sitios DraIII hasta SacI del clon 779 - secuencia de nucleótidos de B/Florida/4/2006 (SEQ ID NO: 41). La secuencia de codificación está flanqueada por una región reguladora de plastocianina, comenzando con un sitio de restricción DraIII en el extremo 5' y por un codón de detención y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción están subrayados; ATG está en negrita y subrayado.

La Figura 34 muestra la secuencia que abarca desde los sitios DraIII hasta SacI del clon 780 - secuencia de nucleótidos de A/Singapur/1/57 (H2N2) (SEQ ID NO: 42). La secuencia de codificación está flanqueada por una región reguladora de plastocianina, comenzando con un sitio de restricción DraIII en el extremo 5' y por un codón de detención y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción están subrayados; ATG está en negrita y subrayado.

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

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

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

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

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

La Figura 40A muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 48) del polipéptido traducido a partir del clon 774 (A/Brisbane/59/2007 (H1N1)). El marco de lectura abierto del clon 774 comienza con el ATG indicado en la Figura 28. La Figura 40B muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 49) del polipéptido traducido a partir del clon 775 (A/Islands Salomón 3/2006 (H1N1)). El marco de lectura abierto del clon 775 comienza con el ATG indicado en la Figura 29.

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

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

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

(A/Anhui/1/2005 (H5N1)). El marco de lectura abierto del clon 781 comienza con el ATG indicado en la Figura 35.

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

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

La Figura 46 muestra la inmunodetección (transferencia tipo Western) de las fracciones de elución 7-17 de las VLP producidas por plantas, después de la cromatografía de exclusión por tamaño. El pico de elución (fracción 10) de Azul Dextrano se indica por la flecha. Se muestran los subtipos de hemaglutinina H1, H2, H3, H5, H6 y H9. La hemaglutinina se detecta en las fracciones 7-14, correspondientes a la elución de las VLP.

La Figura 47 muestra un análisis de inmunotransferencia de la expresión de una serie de hemaglutinina de las cepas epidémicas anuales. Se cargaron diez y veinte microgramos de extractos de proteína de hoja en los carriles 1 y 2, respectivamente, para las plantas que expresan HA de diferentes cepas de influenza (indicados en la parte superior de las inmunotransferencias).

La Figura 48A muestra un análisis de inmunotransferencia de la expresión de una serie de hemaglutininas H5 de potenciales cepas pandémicas. Se cargaron diez y veinte microgramos de extractos de proteína en los carriles 1 y 2, respectivamente. La Figura 48B muestra un análisis de inmunotransferencia de la expresión de hemaglutinina H2, H7 y H9 de cepas de influenza seleccionadas. Se cargaron diez y veinte microgramos de extractos de proteína en los carriles 1 y 2, respectivamente.

La Figura 49 muestra una inmunotransferencia de H5 de la cepa A/Indonesia/5/2005, en extractos de proteínas de hojas de *Nicotiana tabacum*, agroinfiltradas con AGL1/660. Se infiltraron dos plantas (planta 1 y planta 2) y se cargaron 10 y 20 µg de proteína soluble extraída de cada planta en los carriles 1 y 2, respectivamente.

La Figura 50 muestra la reactividad cruzada *in vitro* de anticuerpos en suero. Títulos de inhibición de la hemaglutinación (HI) en sueros de hurón, 14 días (A) después de primera inmunización y (B) después del segundo refuerzo con VLP H5 de influenza producidos por plantas (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)). Las respuestas de anticuerpos HAI se midieron utilizando los siguientes virus H5N1 completos inactivados: A/pavo/Turquía/1/05, A/Vietnam/1194/04, A/Anhui/5/05 y la cepa homóloga A/Indonesia/5/05. Los valores son la GMT (log₂) de títulos de punto final recíprocos de cinco hurones por grupo. Veta diagonal - A/Indonesia/6/06 (clado 2.1.3); comprobado - A/pavo/Turquía/1/05 (clado 2.2); barra blanca - A/Vietnam/1194/04 (clado 1); barra negra A/Anhui/5/05. Se indican los respondedores. Las barras representan la desviación media.

La Figura 51 muestra la secuencia de ácido nucleico (SEQ ID NO: 60) de un casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia de codificación de la hemaglutinina de H5 de A/Indonesia/5/2005 (constructo # 660), plastocianina de alfalfa 3' UTR secuencias terminadora.

La Figura 52 muestra la secuencia de ácido nucleico (SEQ ID NO: 61) de un casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia de codificación de hemaglutinina de H1 de A/Nueva Caledonia/20/1999 (constructo # 540), plastocianina de alfalfa 3' UTR secuencias terminadora.

La Figura 53 muestra la secuencia de ácido nucleico (SEQ ID NO: 62) de un casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia de codificación de hemaglutinina de H1 de A/Brisbane/59/2007 (constructo # 774), plastocianina de alfalfa 3' UTR secuencias terminadoras.

La Figura 54 muestra la secuencia de ácido nucleico (SEQ ID NO: 63) de un casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia de codificación de hemaglutinina de H1 de A/Islas Salomón/3/2006 (H1N1) (constructo # 775), plastocianina de alfalfa 3' UTR y secuencias terminadoras.

La Figura 55 muestra la secuencia de ácido nucleico (SEQ ID NO: 64) de un casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia de codificación de hemaglutinina de H2 de A/Singapur/1/57 (H2N2) (constructo # 780), plastocianina de alfalfa 3' UTR y secuencias terminadoras.

La Figura 56 muestra la secuencia de ácido nucleico (SEQ ID NO: 65) de un casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia de codificación de hemaglutinina de H5 de A/Anhui/1/2005 (H5N1) (constructo # 781), plastocianina de alfalfa 3' UTR y secuencias terminadoras.

- La Figura 57 muestra la secuencia de ácido nucleico (SEQ ID NO: 66) de un casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia de codificación de hemaglutinina de H5 de A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) (constructo # 782), plastocianina de alfalfa 3' UTR y secuencias terminadoras.
- 5 La Figura 58 muestra la secuencia de ácido nucleico (SEQ ID NO: 67) de un casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia de codificación de hemaglutinina de H6 de A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1) (constructo # 783), plastocianina de alfalfa 3' UTR y secuencias terminadoras.
- 10 La Figura 59 muestra la secuencia de ácido nucleico (SEQ ID NO: 68) de un casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia de codificación de hemaglutinina de H9 de A/Hong Kong/1073/99 (H9N2) (constructo # 785), plastocianina de alfalfa 3' UTR y secuencias terminadoras.
- La Figura 60 muestra la secuencia de ácido nucleico (SEQ ID NO: 69) de un casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia de codificación de hemaglutinina de H3 de A/Brisbane/10/2007 (H3N2), plastocianina de alfalfa 3' UTR y secuencias terminadoras.
- 15 La Figura 61 muestra la secuencia de ácido nucleico (SEQ ID NO: 70) de un casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia de codificación de hemaglutinina de H3 de A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), plastocianina de alfalfa 3' UTR y secuencias terminadoras.
- La Figura 62 muestra la secuencia de ácido nucleico (SEQ ID NO: 71) de un casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia de codificación de hemaglutinina de H7 de A/Equino/Praga/56 (H7N7), plastocianina de alfalfa 3' UTR y secuencias terminadoras.
- 20 La Figura 63 muestra la secuencia de ácido nucleico (SEQ ID NO: 72) de un casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia de codificación de hemaglutinina de HA de B/Malasia/2506/2004, plastocianina de alfalfa 3' UTR y secuencias terminadoras.
- La Figura 64 muestra la secuencia de ácido nucleico (SEQ ID NO: 73) de un casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia de codificación de hemaglutinina de HA de B/Florida/4/2006, plastocianina de alfalfa 3' UTR y secuencias terminadoras.
- 25 La Figura 65 muestra una secuencia de aminoácidos de consenso (SEQ ID NO: 74) para HA de A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1) (codificada por la SEQ ID NO: 33), A/Brisbane/59/2007 (H1N1) (SEQ ID NO: 48), A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1) (SEQ ID NO: 49) y SEQ ID NO: 9. X1 (posición 3) es A o V; X2 (posición 52) es D o N; X3 (posición 90) es K o R; X4 (posición 99) es K o T; X5 (posición 111) es Y o H; X6 (posición 145) es V o T; X7 (posición 154) es E o K; X8 (posición 161) es R o K; X9 (posición 181) es V o A; X10 (posición 203) es D o N; X11 (posición 205) es R o K; X12 (posición 210) es T o K; X13 (posición 225) es R o K; X14 (posición 268) es W o R; X15 (posición 283) es T o N; X16 (posición 290) es E o K; X17 (posición 432) es I o L; X18 (posición 489) es N o D.
- 30 La Figura 66 muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 75) de H1 Nueva Caledonia (AAP34324.1) codificada por la SEQ ID NO: 33.
- 35 La Figura 67 muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 76) de H1 Puerto Rico (NC_0409878.1) codificada por la SEQ ID NO: 35
- La Figura 68 muestra la secuencia de ácido nucleico de una porción del casete de expresión número 828, desde PacI (promotor secuencia arriba) hasta Ascl (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS). La secuencia HT 5'UTR del CPMV subrayado con ATG mutado. Sitio de restricción Apal (inmediatamente secuencia arriba del ATG de la secuencia de codificación de la proteína que va a ser expresada, en este caso la cadena ligera kappa C5-1).
- 40 La Figura 69 muestra la secuencia de ácido nucleico de una porción del constructo número 663, desde HindIII (en el sitio de clonación múltiple, secuencia arriba del promotor de plastocianina) hasta EcoRI (inmediatamente secuencia abajo del terminador de plastocianina). La secuencia de codificación de H5 (de A/Indonesia/5/2005) en fusión con PDI SP está subrayada.
- 45 La Figura 70 muestra la secuencia de ácido nucleico de una porción del constructo número 787, desde HindIII (en el sitio de clonación múltiple, secuencia arriba del promotor de plastocianina) hasta EcoRI (inmediatamente secuencia abajo del terminador de plastocianina). La secuencia de codificación de H1 (de A/Brisbane/59/2007) en fusión con PDI SP está subrayada.
- 50 La Figura 71 muestra la secuencia de ácido nucleico de una porción del constructo número 790, desde HindIII (en el sitio de clonación múltiple, secuencia arriba del promotor de plastocianina) hasta EcoRI (inmediatamente secuencia abajo del terminador de plastocianina). La secuencia de codificación de H3 (de A/Brisbane/10/2007) en fusión con

PDI SP está subrayada.

- 5 La Figura 72 muestra la secuencia de ácido nucleico de una porción del constructo número 798, desde HindIII (en el sitio de clonación múltiple, secuencia arriba del promotor de plastocianina) hasta EcoRI (inmediatamente secuencia abajo del terminador de plastocianina). La secuencia de codificación de HA de B/Florida/4/2006 en fusión con PDI SP está subrayada.
- 10 La Figura 73 muestra la secuencia de ácido nucleico de una porción del constructo número 580, desde PacI (secuencia arriba del promotor 35S) hasta AscI (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS). La secuencia de codificación de H1 (de A/Nueva Caledonia/20/1999) en fusión con PDI SP está subrayada.
- La Figura 74 muestra la secuencia de ácido nucleico de una porción del constructo número 685, desde PacI (secuencia arriba del promotor 35S) hasta AscI (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS). La secuencia de codificación de H5 de A/Indonesia/5/2005 está subrayado.
- 15 La Figura 75 muestra la secuencia de ácido nucleico de una porción del constructo número 686, desde PacI (secuencia arriba del promotor 35S) hasta AscI (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS). La secuencia de codificación de H5 de A/Indonesia/5/2005 en fusión con PDI SP está subrayada.
- La Figura 76 muestra la secuencia de ácido nucleico de una porción del constructo número 732, desde PacI (secuencia arriba del promotor 35S) hasta AscI (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS). La secuencia de codificación de H1 de A/Brisbane/59/2007 está subrayada.
- 20 La Figura 77 muestra la secuencia de ácido nucleico de una porción del constructo número 733, desde PacI (secuencia arriba del promotor 35S) hasta AscI (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS). La secuencia de codificación de H1 de A/Brisbane/59/2007 en fusión con PDI SP está subrayada.
- La Figura 78 muestra la secuencia de ácido nucleico de una porción del constructo número 735, desde PacI (secuencia arriba del promotor 35S) hasta AscI (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS). La secuencia de codificación de H3 de A/Brisbane/10/2007 está subrayada.
- 25 La Figura 79 muestra la secuencia de ácido nucleico de una porción del constructo número 736, desde PacI (secuencia arriba del promotor 35S) hasta AscI (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS). La secuencia de codificación de H3 de A/Brisbane/10/2007 en fusión con PDI SP está subrayada.
- La Figura 80 muestra la secuencia de ácido nucleico de una porción del constructo número 738, desde PacI (secuencia arriba del promotor 35S) hasta AscI (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS). La secuencia de codificación de HA de B/Florida/4/2006 está subrayada.
- 30 La Figura 81 muestra la secuencia de ácido nucleico de una porción del constructo número 739, desde PacI (secuencia arriba del promotor 35S) hasta AscI (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS). La secuencia de codificación de HA de B/Florida/4/2006 en fusión con PDI SP está subrayada.
- La Figura 82 muestra una secuencia de ácido nucleico que codifica Msj1 (SEQ ID NO: 114).
- 35 La Figura 83 muestra la secuencia de ácido nucleico de una porción del constructo número R850, desde HindIII (en el sitio de clonación múltiple, secuencia arriba del promotor) hasta EcoRI (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS). La secuencia de codificación de HSP40 está subrayada.
- La Figura 84 muestra la secuencia de ácido nucleico de una porción del constructo número R860, desde HindIII (en el sitio de clonación múltiple, secuencia arriba del promotor) hasta EcoRI (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS). La secuencia de codificación de HSP70 está subrayada.
- 40 La Figura 85 muestra la secuencia de ácido nucleico de una porción del constructo número R870, desde HindIII (en el sitio de clonación múltiple, secuencia arriba del promotor) hasta EcoRI (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS). La secuencia de codificación de HSP40 está en cursiva subrayada y la secuencia de codificación de HSP70 está subrayada. A) nucleótidos 1 - 5003; B) nucleótidos 5004 - 9493.
- La Figura 86 muestra una representación esquemática del constructo R472.
- 45 La Figura 87 muestra un análisis de inmunotransferencia de la expresión de HA usando un péptido señal de la proteína disulfuro isomerasa de alfalfa. Se cargaron veinte microgramos de extracto de proteína de la hoja obtenida de 3 plantas separadas en el SDS-PAGE a excepción de la H1 (A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1)) donde se usaron cinco microgramos. Los controles indicados (virus inactivado completo (WIV) de una cepa homóloga) se enriquecieron en cinco o veinte microgramos de plantas infiltradas en forma simulada. a) Expresión de H1 de A/Nueva Caledonia/20/99, b) expresión de H1 de A/Brisbane/59/2007, c) expresión de H3 de A/Brisbane/10/2007,
- 50

d) expresión de H5 de A/Indonesia/5/2005, e) expresión de HA de B/Florida/4/2006. Las flechas indican la inmunobanda correspondiente a HA0. SP WT: péptido señal nativo, PS PDI: péptido señal PDI de alfalfa.

La Figura 88 muestra una comparación de estrategias de expresión de HA mediante análisis de inmunotransferencia de extractos de proteínas de la hoja. Se produjo HA usando casetes basados en CPMV-HT o plastocianina-HT. Para CPMV-HT, también se compararon el péptido señal HA de tipo silvestre y el péptido señal de PDI de alfalfa. Se cargaron veinte microgramos de extracto de proteína en el SDS-PAGE para el subtipo HA analizado excepto para la H1 Nueva Caledonia para la que se cargaron cinco microgramos de proteínas. a) Expresión de H1 de A/Nueva Caledonia/20/1999, b) expresión de H1 de A/Brisbane/59/2007, c) expresión de H3 de A/Brisbane/10/2007, d) expresión de H5 de A/Indonesia/5/2005, y e) expresión de B de B/Florida/4/2006. Las flechas indican la inmunobanda correspondiente a HA0; las cepas específicas de *Agrobacterium* que comprenden los vectores específicos utilizados para la expresión de HA se indican en la parte superior de los carriles.

La Figura 89 muestra un inmunotransferencia de acumulación de HA cuando se coexpresa con Hsp40 y Hsp70. H1 Nueva Caledonia (AGL1/540) y H3 Brisbane (AGL1/790) se expresaron solas o coexpresadas con AGL1/R870. Se evaluó el nivel de acumulación de HA mediante análisis de inmunotransferencia de extractos de proteínas de las hojas infiltradas. Se utilizaron como controles el virus completo inactivado (WIV) de la cepa A/New Caledonia/20/99 o Brisbane/10/2007.

La Figura 90 muestra un casete de expresión basado en CPMV-HT para H1 de A/California/04/09 (constructo # 560).

La Figura 91 muestra un análisis de transferencia tipo Western de H1 de A/California/04/09 en extractos de proteínas de plantas agroinfiltradas 2 días después de la infiltración. Las muestras que corren en cada carril se presentan en la Tabla 20.

La Figura 92A muestra la secuencia de nucleótidos (SEQ ID NO: 127) del casete de expresión basado en CPMV-HT para H1 de A/California/04/09 (casete número 560). El péptido señal de la proteína disulfuro isomerasa de alfalfa que codifica la secuencia está subrayada y la secuencia de codificación de H1 madura está resaltado en negrita. La Figura 92B muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 128) de la H1 de A/California/04/09 (como la codificada por la SEQ ID NO: 127). El péptido señal de la proteína disulfuro isomerasa de alfalfa está subrayada.

La Figura 93 muestra la secuencia de nucleótidos del promotor 2X35S (SEQ ID NO: 129).

La Figura 94 muestra la secuencia de nucleótidos del casete de expresión intermediario número 972 (SEQ ID NO: 134), desde PacI (promotor secuencia arriba) hasta Ascl (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS). La secuencia promotora 2X35S está subrayada. ATG mutado están en un cajón. El sitio de restricción de Apal (inmediatamente secuencia abajo de ATG para la secuencia de codificación de la proteína que se va a expresar, en este caso HA0 de H5 A/Indonesia proteína), está sombreado.

La Figura 95 muestra la secuencia de nucleótidos de la secuencia nativa de H1 A/California/4/2009 (SEQ ID NO: 135). El péptido señal de H1 A/California/4/2009 nativa está subrayado. Los sitios de restricción SacI y StuI están en un cajón.

La Figura 96 muestra las secuencias de nucleótidos de la secuencia final (SEQ ID NO: 136) sintetizada que contiene la secuencia de H1 de A/California/4/2009. La porción de la proteína M del sitio de restricción de DraIII y Apal está subrayado. PDISP está en negrita. Los sitios de restricción SacI y StuI mutados están en cajones.

La Figura 97 muestra la secuencia de nucleótidos de los fragmentos 1 (SEQ ID NO: 137), 2 (SEQ ID NO: 138) y 3 (SEQ ID NO: 139) utilizados para sintetizar la secuencia de A/California/4/2009 mediante ligación con base en PCR.

La Figura 98 muestra la secuencia de nucleótidos del casete de expresión número 560 (SEQ ID NO: 146), desde PacI (promotor secuencia arriba) hasta Ascl (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS). La secuencia de PDISP-HAO H1 A/California/4/2009 está subrayada.

Descripción detallada

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

La siguiente descripción es de una realización preferida.

La presente invención provee un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un antígeno de un virus en envoltura, por ejemplo, la hemaglutinina de la influenza (HA), unida operativamente a una región reguladora activa en una planta.

Además, la presente invención provee un método para producir partículas similares al virus (VLP) en una planta. El método implica la introducción de un ácido nucleico que codifica un antígeno unido operativamente a una región reguladora activa en la planta, dentro de la planta, o porción de la planta, y la incubación de la planta o una porción de la planta bajo condiciones que permiten la expresión del ácido nucleico, produciendo de este modo las VLP.

- 5 Las VLP pueden ser producidas a partir virus de la influenza, sin embargo, las VLP también pueden ser producidas a partir de otro virus derivado de membrana plasmática incluyendo, pero sin limitarse a sarampión, Ébola, Marburgo, y VIH.

10 La invención incluye las VLP de todos los tipos de virus de la influenza que pueden infectar a los humanos, incluyendo por ejemplo, pero sin limitarse al subtipo A muy prevalente (H1N1) (por ejemplo, A/New Caledonia/20/99 (H1N1)), el subtipo A/Indonesia/5/05 (H5N1) (SEQ ID NO: 60) y el tipo B menos común (por ejemplo, la SEQ ID NO: 26, Figura 100) y el tipo C (SEQ ID NO: 27, Figura 10P), y con las HA obtenidas a partir de otros subtipos de influenza. Las VLP de otros subtipos de influenza se incluyen también en la presente invención, por ejemplo, A/Brisbane/59/2007 (H1N1; SEQ ID NO: 48), A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1; SEQ ID NO: 49), A/Singapur/1/57 (H2N2; SEQ ID NO: 54), A/Anhui/1/2005 (H5N1; SEQ ID NO: 55), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1; SEQ ID NO: 56),
15 A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1; SEQ ID NO: 57), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2; SEQ ID NO: 59), A/Brisbane/10/2007 (H3N2; SEQ ID NO: 50), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2; SEQ ID NO: 51), A/Equino/Praga/56 (H7N7; SEQ ID NO: 58), B/Malasia/2506/2004 (SEC ID NO: 52), B/Florida/4/2006 (SEQ ID NO: 53) o A/California/04/09 (H1N1) (SEQ ID NO: 127).

20 La presente invención también se refiere a virus de la influenza que infectan a otros mamíferos o animales hospedantes, por ejemplo seres humanos, primates, caballos, cerdos, aves, aves acuáticas, aves migratorias, codornices, patos, ocas, aves de corral, pollo, camello, cánidos, perros, felinos, gatos, tigre, leopardo, algalia, visón, garduña, hurones, animales domésticos, animales de granja, ratones, las ratas, foca, ballena y similares.

25 Los ejemplos no limitantes de otros antígenos que pueden ser expresados en virus derivados de la membrana plasmática incluyen, la proteína de la cápside del VIH - p24; gp120, gp41 - proteínas de la envoltura, las proteínas estructurales VP30 y VP35; Gp/SGP (una proteína integral de membrana glicosilada) de filovirus, por ejemplo Ébola o Marburgo, o la proteína H, y la proteína F de paramixovirus, por ejemplo, sarampión.

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

35 Generalmente, el término "lípidos" se refiere a moléculas de origen natural, solubles en grasa (lipofílicas). El término también se utiliza más específicamente para referirse a ácidos grasos y sus derivados (incluidos los tri, di y monoglicéridos y fosfolípidos), así como otros metabolitos que contienen esteroles solubles en grasa o esteroides. Los fosfolípidos son un componente importante de todas las membranas biológicas, junto con glicolípidos, esteroides y proteínas. Los ejemplos de fosfolípidos incluyen fosfatidiletanolamina, fosfatidilcolina, fosfatidilinositol, fosfatidilserina, fosfatidilglicerol y similares. Los ejemplos de esteroides incluyen zoosteroides (por ejemplo, colesterol) y fitoesteroides (por ejemplo, sitosterol) y esteril-glucósido. Se han identificado más de 200 fitoesteroides en varias especies de plantas, siendo los más comunes campesterol, estigmasterol, ergosterol, brasicasterol, delta-7-estigmasterol, delta-7-avenasterol, daunosterol, sitosterol, 24-metilcolesterol, colesterol o beta-sitosterol. Como un experto en la técnica entenderá, la composición lipídica de la membrana plasmática de una célula puede variar con las condiciones de cultivo o de crecimiento de la célula u organismo del que se obtiene la célula.

45 Las membranas celulares comprenden generalmente bicapas lipídicas, así como proteínas para varias funciones. Se pueden encontrar concentraciones localizadas de lípidos particulares en la bicapa lipídica, denominados 'balsas lipídicas'. Sin desear estar limitado por la teoría, las balsas lipídicas pueden tener funciones importantes en endo y exocitosis, la entrada o salida de virus u otros agentes infecciosos, la transducción de señales entre células, la interacción con otros componentes estructurales de la célula u organismo, tales como matrices intracelular y extracelulares.

50 Con referencia al virus de la influenza, el término "hemaglutinina" o "HA", como se usa aquí, se refiere a una glicoproteína que se encuentra en el exterior de las partículas virales de influenza. HA es una glicoproteína tipo I de membrana homotrimérica, que generalmente comprende un péptido señal, un dominio HA1, y un dominio HA2 que comprende un sitio de anclaje que abarca la membrana en el terminal C y una pequeña cola citoplasmática (Figura 1B). Las secuencias de nucleótidos que codifican HA son bien conocidas y están disponibles - véase, por ejemplo, la base BioDefence Public Health (virus de la influenza; véase URL: biohealthbase.org) o en el Centro Nacional de Información Biotecnológica (véase URL: ncbi.nlm.nih.gov), ambas se incorporan aquí como referencia.

55 El término "homotrimérico" u "homotrimérico" indica que un oligómero está formado por tres moléculas de proteína HA. Sin desear estar limitado por la teoría, la proteína HA se sintetiza como proteína precursora monomérica (HA0)

de aproximadamente 75 kDa, que se ensambla en la superficie en una proteína trimérica alargada. Antes de que ocurra la trimerización, la proteína precursora se escinde en un sitio de escisión conservado de activación (también denominado como péptido de fusión) en 2 cadenas de polipéptidos, HA1 y HA2 (que comprende la región transmembrana), unidas por un enlace disulfuro. El segmento de HA1 puede ser de 328 aminoácidos de longitud, y el segmento de HA2 puede ser de 221 aminoácidos de longitud. Aunque esta escisión puede ser importante para la infectividad del virus, puede que no sea esencial para la trimerización de la proteína. La inserción de HA dentro de la membrana del retículo endoplasmático (ER) de la célula huésped, la escisión del péptido señal y la glicosilación de proteínas son eventos cotraduccionales. El repliegamiento correcto de HA requiere la glicosilación de la proteína y la formación de 6 enlaces disulfuro dentro de la cadena. El trímero de HA se ensambla en el complejo cis y trans-Golgi, en donde el dominio transmembrana juega un papel en el proceso de trimerización. Las estructuras cristalinas de las proteínas HA tratadas con bromelina, que carecen del dominio transmembrana, han mostrado una estructura altamente conservada entre las cepas de influenza. También se ha establecido que HA sufre grandes cambios conformacionales durante el proceso de infección, que requiere que el HA0 precursor se escinda en el 2 cadenas de polipéptido HA1 y HA2. La proteína HA puede ser procesada (es decir, comprende los dominios HA1 y HA2), o puede ser no procesada (es decir, comprende el dominio HA0).

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

La HA de la presente invención puede ser obtenida de cualquier subtipo. Por ejemplo, la HA puede ser del subtipo H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, H16 o de influenza tipo B. La HA recombinante de la presente invención también puede comprender una secuencia de aminoácidos basada en la secuencia de cualquier hemaglutinina conocida en la técnica - véase, por ejemplo, la base BioDefence Public Health (virus de la influenza; véase URL: biohealthbase.org) o el Centro Nacional de Información Biotecnológica (véase URL: ncbi.nlm.nih.gov). Además, la HA puede basarse en la secuencia de una hemaglutinina que se aísla a partir de uno o más virus de influenza emergentes o recientemente identificados.

La presente invención también incluye las VLP que comprenden las HA obtenidas de uno o más de un subtipo de la influenza. Por ejemplo, las VLP puede comprender uno o más de una HA del subtipo H1 (codificada por la SEQ ID NO: 28), H2 (codificada por la SEQ ID NO: 12), H3 (codificada por la SEQ ID NO: 13), H4 (codificada por la SEQ ID NO: 14), H5 (codificada por la SEQ ID NO: 15), H6 (codificada por la SEQ ID NO: 16), H7 (codificada por la SEQ ID NO: 11), H8 (codificada por la SEQ ID NO: 17), H9 (codificada por la SEQ ID NO: 18), H10 (codificada por la SEQ ID NO: 19), H11 (codificada por la SEQ ID NO: 20), H12 (codificada por la SEQ ID NO: 21), H13 (codificada por la SEQ ID NO: 27), H14 (codificada por la SEQ ID NO: 23), H15 (codificada por la SEQ ID NO: 24), H16 (codificada por la SEQ ID NO: 25), o influenza tipo B (codificada por la SEQ ID NO: 26), o una combinación de las mismas. Una o más de una HA de uno o más de uno de los subtipos de influenza pueden ser coexpresados dentro de una planta o célula de insecto para garantizar que la síntesis de una o más de una HA resulte en la formación de las VLP que comprende una combinación de las HA obtenidas a partir de uno o más de un subtipo de influenza. La selección de la combinación de las HA puede ser determinada por el uso pretendido de la vacuna preparada a partir de la VLP. Por ejemplo una vacuna para uso en la inoculación de aves puede comprender cualquier combinación de subtipos de HA, mientras que las VLP útiles para la inoculación de seres humanos puede comprender subtipos de uno o más de uno de los subtipos H1, H2, H3, H5, H7, H9, H10, N1, N2, N3 y N7. Sin embargo, se pueden preparar otras combinaciones de subtipos de HA dependiendo del uso del inóculo.

Por lo tanto, la presente invención está dirigida a una VLP que comprende uno o más de un subtipo de HA, por ejemplo dos, tres, cuatro, cinco, seis, o más subtipos de HA.

La presente invención también provee ácidos nucleicos que codifican hemaglutininas que forman las VLP cuando se expresan en plantas.

Los ejemplos de ácidos nucleicos pueden comprender secuencias de nucleótidos de hemaglutinina a partir de cepas seleccionadas de subtipos de influenza. Por ejemplo, un subtipo A (H1N1) tal como A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1) (SEQ ID NO: 33), el subtipo A/Indonesia/5/05 (H5N1) (que comprende el constructo # 660; SEQ ID NO: 60) y el tipo B menos común (por ejemplo, SEQ ID NO: 26, Figura 100), y el tipo C (SEQ ID NO: 27, Figura 10P), y con las HA obtenidas de otros subtipos de influenza. Las VLP de otros subtipos de influenza se incluyen también en la presente invención, por ejemplo, A/Brisbane/59/2007 (H1N1; SEQ ID NO: 36), A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1; SEQ ID NO: 37), A/Singapur/1/57 (H2N2; SEQ ID NO: 42), A/Anhui/1/2005 (H5N1; SEQ ID NO: 43), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1; SEQ ID NO: 44), A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1; SEQ ID NO: 45), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2; SEQ ID NO: 47), A/Brisbane/10/2007 (H3N2; SEQ ID NO: 38), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2; SEQ ID NO: 39), A/Equino/Praga/56 (H7N7; SEQ ID NO: 46), B/Malasia/2506/2004 (SEC ID NO: 40), B/Florida/4/2006 (SEQ ID NO: 41) o A/California/04/09 (H1N1) (SEQ ID NO: 127).

El plegamiento correcto de las hemaglutininas puede ser importante para la estabilidad de la proteína, la formación

de multímeros, la formación de las VLP y la función de la HA (capacidad de hemoaglutinación), entre otras características de hemaglutininas de influenza. El plegamiento de una proteína puede estar influido por uno o más factores, incluyendo, pero no limitado a, la secuencia de la proteína, la abundancia relativa de la proteína, el grado de apiñamiento intracelular, la disponibilidad de cofactores que pueden unirse o asociarse transitoriamente con la proteína plegada, parcialmente plegada o no plegada, la presencia de una o más proteínas chaperonas, o similares.

Las proteínas de choque térmico (Hsp) o las proteínas del estrés son ejemplos de proteínas chaperonas, que pueden participar en varios procesos celulares, incluyendo la síntesis de proteínas, el tráfico intracelular, la prevención de un mal plegamiento, la prevención de la agregación de proteínas, el montaje y desmontaje de los complejos de proteínas, plegamiento de proteínas, y desagregación de proteínas. Los ejemplos de tales proteínas chaperonas incluyen, pero no se limitan a, Hsp60, Hsp65, Hsp70, Hsp90, Hsp100, Hsp20-30, Hsp10, Hsp100-200, Hsp100, Hsp90, Lon, TF55, las FKBP, ciclofilinas, ClpP, GrpE, ubiquitina, calnexina, y proteína disulfuro isomerasas. Véase, por ejemplo, Macario, A. J. L., Cold Spring Harbor Laboratory Res. 25: 59 - 70. 1995; Parsell, D. A. & Lindquist, S. Ann. Rev. Genet. 27: 437 - 496 (1993); la patente estadounidense No. 5.232.833. En algunos ejemplos, un grupo particular de proteínas chaperonas incluye Hsp40 y Hsp70.

Los ejemplos de Hsp70 incluyen Hsp72 y Hsc73 de células de mamífero, DnaK de bacterias, particularmente micobacterias tales como *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium tuberculosis* y *Mycobacterium bovis* (tales como el bacilo de Calmette-Guerin: denominado en el presente documento como Hsp71). DnaK de *Escherichia coli*, levadura y otros procariotas, y BIP y Grp78 de eucariotas, tales como *A. thaliana* (Lin et al. 2001 (Cell Stress and Chaperones 6: 201 - 208). Un ejemplo particular de una Hsp70 es Hsp70 de *A. thaliana* (codificada por la SEQ ID NO: 122, o la SEQ ID NO: 123). Hsp70 es capaz de unirse específicamente a ATP así como a polipéptidos y péptidos no plegados, participando así en el plegamiento y despliegue de proteínas, así como en el montaje y desmontaje de complejos de proteínas.

Los ejemplos de Hsp40 incluyen DnaJ de procariotas tales como *E. coli* y micobacterias, y HSPJ1, HDJ1 y Hsp40 de eucariotas, tales como alfalfa (Frugis et al., 1999. Plant Molecular Biology 40: 397 - 408). Un ejemplo particular de una Hsp40 es MSJ1 de *M. sativa* (codificada por las SEQ ID NOs: 121, 123 o 114). Hsp40 desempeña un papel como chaperona molecular en el plegado de proteínas, tolerancia térmica y replicación del ADN, entre otras actividades celulares.

Entre las Hsp, Hsp70 y su cochaperona, Hsp40, están involucradas en la estabilización de la traducción y los polipéptidos recientemente sintetizados antes de que la síntesis esté completa. Sin desear estar limitado por la teoría, Hsp40 se une a los parches hidrófobos de polipéptidos no plegados (nacientes o recién transferidos), facilitando así la interacción del complejo Hsp70-ATP con el polipéptido. La hidrólisis de ATP conduce a la formación de un complejo estable entre el polipéptido, Hsp70 y ADP, y la liberación de Hsp40. La asociación del complejo Hsp70-ADP con los parches hidrófobos del polipéptido impide su interacción con otros parches hidrófobos, impidiendo el plegamiento incorrecto y la formación de agregados con otras proteínas (revisado en Hartl, FU. 1996. Nature 381: 571 - 579).

De nuevo, sin desear estar ligado por la teoría, a medida que aumenta la producción de proteínas en un sistema de expresión de proteína recombinante, los efectos de aglomeración en la expresión de proteína recombinante pueden dar lugar a la agregación y/o una acumulación reducida de la proteína recombinante resultante de la degradación de un polipéptido mal plegado. Las proteínas chaperonas nativas pueden ser capaces de facilitar el plegamiento correcto de bajos niveles de proteína recombinante, pero a medida que los niveles de expresión aumentan, las chaperonas nativas pueden convertirse en un factor limitante. Los altos niveles de expresión de la hemaglutinina en las hojas agroinfiltradas pueden conducir a la acumulación de polipéptidos de hemaglutinina en el citosol, y coexpresión de una o más de una proteínas chaperonas tales como Hsp70, Hsp40 o tanto Hsp70 como Hsp40 puede aumentar la estabilidad en el citosol de las células que expresan los polipéptidos en las células, reduciendo así el nivel de polipéptidos de hemaglutinina mal plegados o agregados, y aumentando el número de polipéptidos que se acumulan como hemaglutinina estable, que exhiben características estructurales terciarias y cuaternarias que permiten la hemaglutinación y/o la formación de partículas similares a virus.

Por lo tanto, la presente invención también provee un método de producción de las VLP de la influenza en una planta, en el que un primer ácido nucleico que codifica una HA de la influenza es coexpresada con un segundo ácido nucleico que codifica una chaperona. Los primero y segundo ácidos nucleicos se pueden introducir a la planta en la misma etapa, o se pueden introducir secuencialmente a la planta. La presente invención también proporciona un método para la producción de las VLP de la influenza en una planta, donde la planta comprende el primer ácido nucleico y el segundo ácido nucleico se introduce posteriormente.

La presente invención también proporciona una planta que comprende un ácido nucleico que codifica una o más de una hemaglutinina de la influenza y un ácido nucleico que codifica una o más de una chaperonas.

Se ha propuesto que el procesamiento de una secuencia del péptido señal (SP) del terminal N durante la expresión y/o secreción de hemaglutininas de influenza juega un papel en el proceso de plegamiento. El término "péptido

5 señal" se refiere generalmente a una secuencia corta (alrededor de 5 - 30 aminoácidos) de aminoácidos, que se encuentra generalmente en el terminal N de un polipéptido de hemaglutinina que pueden dirigir la translocación del polipéptido recientemente traducido a un orgánulo particular, o ayudar en el posicionamiento de dominios específicos del polipéptido. El péptido señal de hemaglutininas dirige la translocación de la proteína en el retículo endoplasmático y se han propuesto que ayuda en el posicionamiento del dominio proximal del terminal N con respecto a un dominio de anclaje a la membrana del polipéptido naciente de hemaglutinina para ayudar en la escisión y el plegado de la hemaglutinina madura. La remoción de un péptido señal (por ejemplo, por una peptidasa señal), puede requerir la escisión precisa y la remoción del péptido señal para proveer la hemaglutinina madura - esta escisión precisa puede depender de cualquiera de varios factores, incluyendo una porción o la totalidad de los péptidos señal, la secuencia de aminoácidos que flanquea el sitio de escisión, la longitud del péptido señal, o una combinación de éstos, y no se pueden aplicar todos los factores a cualquier secuencia dada.

10 Un péptido señal puede ser nativo a la hemaglutinina que está siendo expresada, o una hemaglutinina recombinante que comprende un péptido señal de un primer tipo, subtipo o cepa de influenza con el equilibrio de la hemaglutinina de un segundo tipo, subtipo o cepa de influenza. Por ejemplo, el SP nativo de los subtipos de HA: H1, H2, H3, H5, H6, H7, H9 o influenza tipo B puede usarse para expresar la HA en un sistema de una planta.

15 Un péptido señal también puede ser no nativo, por ejemplo, de una proteína estructural o hemaglutinina de un virus distinto de la influenza, o de un polipéptido de una planta, animal o bacteriano. Un ejemplo de un péptido señal es aquel de la proteína disulfuro isomerasa (PDISP) de la alfalfa (nucleótidos 32-103 del acceso No. Z11499; SEQ ID NO: 34; Figura 17; secuencia de aminoácidos MAKNVAIFGLLSLLLLVPSQIFAEE).

20 La presente invención también provee una hemaglutinina de la influenza que comprende un péptido señal nativo, o no nativo, y ácidos nucleicos que codifican tales hemaglutininas.

25 Las proteínas HA de la influenza presentan una gama de similitudes y diferencias con respecto al peso molecular, punto isoeléctrico, tamaño, complemento de glicano y similares. Las propiedades fisicoquímicas de las diferentes hemaglutininas pueden ser útiles para permitir la diferenciación entre las HA expresadas en un sistema de planta, célula de insecto o de levadura, y puede ser de especial utilidad cuando más de un HA es coexpresada en un solo sistema. Ejemplos de tales propiedades fisicoquímicas se proporcionan en la Tabla 1.

Tabla 1: Propiedades fisicoquímicas de hemaglutininas de la influenza

Clon	Cepas de influenza		AA			Glicanos			Peso molecular (kDa)						Punto isoelectrico		
	No.	Tipo	HA0	HA1	HA2	HA0	HA1	HA2	HA0	HA0 ¹	HA1	HA1 ¹	HA2	HA2 ₁	HA0	HA1	HA2
	774	H1	548	326	222	9	7	2	61	75	36	47	25	28	6.4	7.5	5.3
	775	H1	548	326	222	9	7	2	61	75	36	47	25	28	6.1	6.7	5.3
	776	H3	550	329	221	12	11	1	62	80	37	54	25	27	8.5	9.6	5.2
	777	H3	550	329	221	11	10	1	62	79	37	52	25	27	8.8	9.6	5.3
	778	B	570	347	223	12	8	4	62	80	38	50	24	30	8.0	9.7	4.5
	779	B	569	346	223	10	7	3	62	77	38	48	24	29	8.0	9.7	4.5
	780	H2	547	325	222	6	4	2	62	71	36	42	25	28	6.0	7.5	4.9
	781	H5	551	329	222	7	5	2	62	73	37	45	25	28	6.2	8.9	4.7
	782	H5	552	330	222	7	5	2	63	74	38	45	25	28	6.4	9.1	4.8
	783	H6	550	328	222		5	3	62	75	37	45	25	30	5.7	5.9	5.6
	784	H7	552	331	221	8	4	2	62	71	37	43	25	28	8.9	9.7	4.9
	785	H9	542	320	199	6	7	2	61	75	36	46	23	26	8.4	9.5	5.3

La presente invención también incluye secuencias de nucleótidos SEQ ID NO: 28; SEQ ID NO: 3; SEQ ID NO: 11, que codifican HA de H1, H5 o H7, respectivamente. La presente invención también incluye una secuencia de nucleótidos que se hibrida bajo condiciones de hibridación rigurosas con SEQ ID NO: 28; SEQ ID NO: 3; SEQ ID NO: 11. La presente invención también incluye una secuencia de nucleótidos que hibrida en condiciones de hibridación rigurosas con un complemento de la SEQ ID NO: 28; SEQ ID NO: 3; SEQ ID NO: 1. Estas secuencias de nucleótidos que se hibridan con SEQ ID o un complemento de la SEQ ID codifican una proteína hemaglutinina que, cuando se expresa forma una VLP, y la VLP induce la producción de un anticuerpo cuando se administra a un sujeto. Por ejemplo, la expresión de la secuencia de nucleótidos dentro de una célula de una planta forma una VLP, y la VLP puede ser utilizada para producir un anticuerpo que es capaz de unirse a HA, incluyendo HA, HA0, HA1 o HA2 madura de uno o más tipos o subtipos de influenza. La VLP, cuando se administra a un sujeto, induce una respuesta inmune.

La presente invención también incluye las secuencias de nucleótidos SEQ ID NO: 12 SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEC ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 127 o SEQ ID NO: 47. La presente invención también incluye una secuencia de nucleótidos que se hibrida en condiciones de hibridación rigurosas con la SEQ ID NO: 12 SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 127 o la SEQ ID NO: 47. La presente invención también incluye una secuencia de nucleótidos que hibrida en condiciones de hibridación rigurosas con un complemento de la SEQ ID NO: 12 SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 127 o la SEQ ID NO: 47 o un complemento de la SEQ ID NO: 12 SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 127 o la SEQ ID NO: 47 codifican una proteína hemaglutinina que, cuando se expresa forma una VLP, y la VLP induce la producción de un anticuerpo cuando se administra a un sujeto. Por ejemplo, la expresión de la secuencia de nucleótidos dentro de una célula de la planta forma una VLP, y la VLP puede ser utilizada para producir un anticuerpo que es capaz de unirse a HA, incluyendo HA, HA0, HA1 o HA2 madura de uno o más tipos o subtipos de influenza. La VLP, cuando se administra a un sujeto, induce una respuesta inmune.

En algunas realizaciones, la presente invención también incluye las secuencias de nucleótidos SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 127 o SEQ ID NO: 47, que codifican HA a partir de los subtipos H1, H2, H3, H5, H7 o H9 de la influenza A, o HA a partir de la influenza tipo B. La presente invención también incluye una secuencia de nucleótidos que hibrida bajo condiciones de hibridación rigurosas con la SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 127 o la SEQ ID NO: 47. La presente invención también incluye una secuencia de nucleótidos que hibrida bajo condiciones de hibridación rigurosas con un complemento de la SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 127 o la SEQ ID NO: 47. Estas secuencias de nucleótidos que se hibridan con la SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 127 o la SEQ ID NO: 47 o un complemento de la SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 127 o la SEQ ID NO: 47 codifican una proteína hemaglutinina que, cuando se expresa forma una VLP, y la VLP induce la producción de un anticuerpo cuando se administra a un sujeto. Por ejemplo, la expresión de la secuencia de nucleótidos dentro de una célula de la planta forma una VLP, y la VLP puede ser utilizada para producir un anticuerpo que es capaz de unirse a HA, incluyendo HA, HA0, HA1 o HA2 madura de uno o más tipos o subtipos de influenza. La VLP, cuando se administra a un sujeto, induce una respuesta inmune.

La hibridación bajo condiciones de hibridación rigurosas es conocida en la técnica (véase, por ejemplo Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel et al., eds 1995 y suplementos; Maniatis et al., en Molecular Cloning (A Laboratory Manual), Cold Spring Harbor Laboratory, 1982; Sambrook y Russell, en Molecular Cloning: A Laboratory Manual, tercera edición 2001, cada uno de los cuales se incorpora aquí como referencia). Un ejemplo de una de tales condiciones de hibridación rigurosas puede ser de aproximadamente 16 - 20 horas de hibridación en 4 X SSC a 65 °C, seguido de lavado en 0,1 X SSC a 65 °C durante una hora, o 2 lavados en 0,1 X SSC a 65 °C cada uno durante 20 o 30 minutos. Alternativamente, un ejemplo de una condición de hibridación rigurosa podría ser durante la noche (16 - 20 horas) en 50% de formamida, 4 x SSC a 42 °C, seguido de lavado en 0,1 X SSC a 65 °C durante una hora, o 2 lavados en 0,1 X SSC a 65 °C cada uno durante 20 o 30 minutos, o durante la noche (16 - 20 horas), o hibridación en un amortiguador de fosfato acuoso de Church (7% de SDS; amortiguador de NaPO₄ 0,5 M de pH 7,2; EDTA 10 mM) a 65 °C, con 2 lavados, ya sea a 50 °C en 0,1 X SSC, 0,1% de SDS durante 20 o 30 minutos cada uno, o 2 lavados a 65 °C en 2 X SSC, 0,1% de SDS durante 20 o 30 minutos cada uno.

Adicionalmente, la presente invención incluye secuencias de nucleótidos que se caracterizan por tener aproximadamente 70, 75, 80, 85, 87, 90, 91, 92, 93 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100% o cualquier cantidad intermedia, de identidad de secuencia o similitud de secuencia, con la secuencia de nucleótidos que codifica HA a partir de H1 (SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 127), H5 (SEQ ID NO: 3) o H7 (SEQ ID NO: 11), en donde la secuencia de nucleótidos codifica una proteína hemaglutinina que cuando se expresa forma una VLP, y que la VLP induce la producción de un anticuerpo. Por ejemplo, la expresión de la secuencia de nucleótidos dentro de una célula de la planta forma una VLP, y la VLP puede ser utilizada para producir un anticuerpo que sea capaz de unirse a HA, incluyendo HA, HA0, HA1 o HA2 madura. La VLP, cuando se administra a un sujeto, induce una respuesta inmune.

Adicionalmente, la presente invención incluye secuencias de nucleótidos que se caracterizan por tener aproximadamente 70, 75, 80, 85, 87, 90, 91, 92, 93 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100% o cualquier cantidad intermedia, de identidad de secuencia o similitud de secuencia, con la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 12 SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 127 o la SEQ ID NO: 47, en donde la secuencia de nucleótidos codifica una proteína hemaglutinina que cuando se expresa forma una VLP, y que la VLP induce la producción de un anticuerpo. Por ejemplo, la expresión de la secuencia de nucleótidos dentro de una célula de la planta forma una VLP, y la VLP puede ser utilizada para producir un anticuerpo que es capaz de unirse a HA, incluyendo HA, HA0, HA1 o HA2 madura. La VLP, cuando se administra a un sujeto, induce una respuesta inmune.

Adicionalmente, la presente invención incluye secuencias de nucleótidos que se caracterizan por tener aproximadamente 70, 75, 80, 85, 87, 90, 91, 92, 93 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100% o cualquier cantidad intermedia, de identidad de secuencia o similitud de secuencia, con la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 127 o la SEQ ID NO: 47, en donde la secuencia de nucleótidos codifica una proteína hemaglutinina que cuando se expresa forma una VLP, y que la VLP induce la producción de un anticuerpo. Por ejemplo, la expresión de la secuencia de nucleótidos dentro de una célula de la planta forma una VLP, y la VLP puede ser utilizada para producir un anticuerpo que es capaz de unirse a HA, incluyendo HA, HA0, HA1 o HA2 madura. La VLP, cuando se administra a un sujeto, induce una respuesta inmune.

Del mismo modo, la presente invención incluye tiene las HA asociadas con los siguientes subtipos de H1 (codificada por la SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 127), H2 (codificada por la SEQ ID NO: 12), H3 (codificada por la SEQ ID NO: 13), H4 (codificada por la SEQ ID NO: 14), H5 (codificada por la SEQ ID NO: 15), H6 (codificada por la SEQ ID NO: 16), H7 (codificada por la SEQ ID NO: 11), H8 (codificada por la SEQ ID NO: 17), H9 (codificada por la SEQ ID NO: 18), H10 (codificado por la SEQ ID NO: 19), H11 (codificada por la SEQ ID NO: 20), H12 (codificada por la SEQ ID NO: 21), H13 (codificada por la SEQ ID NO: 27), H14 (codificada por la SEQ ID NO: 23), H15 (codificada por la SEQ ID NO: 24), H16 (codificada por la SEQ ID NO: 25), o influenza tipo B (codificada por la SEQ ID NO: 26); véanse las Figuras 10A a 10O), y las secuencias de nucleótidos que se caracterizan por tener aproximadamente de 70 a 100% o cualquier cantidad intermedia, de 80 a 100% o cualquier cantidad intermedia, 90 - 100% o cualquier cantidad intermedia, o 95 - 100% o cualquier cantidad intermedia, de identidad de secuencia con H1 (SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 127), H2 (SEQ ID NO: 12), H3 (SEQ ID NO: 13), H4 (SEQ ID NO: 14), H5 (SEQ ID NO: 15), H6 (SEQ ID NO: 16), H7 (SEQ ID NO: 11), H8 (SEQ ID NO: 17), H9 (SEQ ID NO: 18), H10 (SEQ ID NO: 19), H11 (SEQ ID NO: 20), H12 (SEQ ID NO: 21), H13 (SEQ ID NO: 27), H14 (SEQ ID NO: 23), H15 (SEQ ID NO: 24), H16 (SEQ ID NO: 25), en donde la secuencia de nucleótidos codifica una proteína hemaglutinina que cuando se expresa forma una VLP, y que la VLP induce la producción de un anticuerpo. Por ejemplo, la expresión de la secuencia de nucleótidos dentro de una célula de la planta forma una VLP, y la VLP puede ser utilizada para producir un anticuerpo que es capaz de unirse a HA, incluyendo HA, HA0, HA1 o HA2 madura. La VLP, cuando se administra a un sujeto, induce una respuesta inmune.

Una "respuesta inmune" se refiere generalmente a una respuesta del sistema inmune adaptativo. El sistema inmune adaptativo comprende generalmente una respuesta humoral, y una respuesta mediada por células. La respuesta humoral es el aspecto de la inmunidad que está mediada por anticuerpos secretados, producidos en las células del linaje de linfocitos B (células B). Los anticuerpos secretados se unen a antígenos en la superficie de los microbios invasores (tales como virus o bacterias), que los marca para su destrucción. La inmunidad humoral se utiliza generalmente para referirse a la producción de anticuerpos y los procesos que lo acompañan, así como las funciones efectoras de anticuerpos, incluyendo la activación de células Th2 y la producción de citoquinas, la generación de células de memoria, la promoción de opsonina de la fagocitosis, la eliminación de patógenos y similares. Los términos "modular" o "modulación" o similares se refieren a un aumento o disminución en una respuesta o parámetro particular, tal como se determina por cualquiera de varios ensayos generalmente conocidos o usados, algunos de los cuales se ejemplifican en este documento.

Una respuesta mediada por células es una respuesta inmunitaria que no implica anticuerpos sino que implica la activación de macrófagos, células asesinas naturales (NK), linfocitos T citotóxicos específicos de antígeno, y la liberación de varias citoquinas en respuesta a un antígeno. La inmunidad mediada por células se utiliza generalmente para referirse a alguna activación de células Th, activación de células Tc y respuestas mediadas por células T. La inmunidad mediada por células es de particular importancia en la respuesta a las infecciones virales.

Por ejemplo, la inducción de linfocitos T CD8 positivos específicos del antígeno se puede medir usando un ensayo ELISPOT; la estimulación de linfocitos T CD4 positivos se puede medir usando un ensayo de proliferación. Los títulos de anticuerpos anti-influenza se pueden cuantificar usando un ensayo ELISA; también se pueden medir isotipos de anticuerpos específicos de antígeno o de reactividad cruzada usando anticuerpos anti-isotipo (por ejemplo, anti-IgG, IgA, IgE o IgM). Los métodos y técnicas para realizar tales ensayos son bien conocidos en la técnica.

También se puede utilizar un ensayo de inhibición de la hemaglutinación (HI, o HAI) para demostrar la eficacia de los anticuerpos inducidos por una vacuna, o una composición de vacuna puede inhibir la aglutinación de glóbulos rojos (RBC) por HA recombinante. Los títulos de anticuerpos inhibitorios de hemaglutinación de las muestras de suero pueden ser evaluados por HAI a través de microtitulación (Aymard et al. 1973). Se pueden utilizar eritrocitos de cualquiera de varias especies - por ejemplo, caballo, pavo, pollo o similar. Este ensayo brinda información indirecta sobre el montaje del trímero de HA en la superficie de la VLP, lo que confirma la presentación adecuada de los sitios antígenicos sobre las HA.

Los títulos de HAI de reactividad cruzada también se puede utilizar para demostrar la eficacia de una respuesta inmune a otras cepas de virus relacionadas con el subtipo de vacuna. Por ejemplo, el suero de un sujeto inmunizado con una composición de vacuna de una primera cepa (por ejemplo, las VLP de A/Indonesia/5/05) se puede utilizar en un ensayo de HAI con una segunda cepa de partículas virales o virus completos (por ejemplo, A/Vietnam/1194/2004), y el título de HAI determinado.

La presencia o los niveles de citoquina también pueden ser cuantificados. Por ejemplo, una respuesta de células auxiliares T (Th1/Th2) se caracteriza por la medición de células secretoras de IFN- γ e IL-4 utilizando ELISA (por ejemplo, los kits OptEIA de BD Biosciences). Se pueden cultivar células mononucleares de sangre periférica (PBMC) o esplenocitos obtenidos de un sujeto, y se analiza el sobrenadante. Los linfocitos T también pueden ser cuantificados mediante clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS), usando etiquetas fluorescentes específicas del marcador y métodos como los conocidos en la técnica.

También puede llevarse a cabo un ensayo de microneutralización para caracterizar una respuesta inmune en un sujeto, véase, por ejemplo los métodos de Rowe et al., 1973. Los títulos de neutralización de virus se pueden obtener de varias maneras, incluyendo: 1) la enumeración de las placas de lisis (ensayo de placa) después de la fijación / coloración con cristal violeta de las células; 2) la observación microscópica de la lisis celular en cultivo; 3) detección por ELISA y espectrofotométrica de proteína del virus NP (correlación con la infección por el virus de las células huésped)

La identidad de secuencia o la similitud de secuencias se pueden determinar mediante un programa de comparación de secuencias de nucleótidos, tal como aquel suministrado en DNASIS (por ejemplo, usando, pero sin limitarse a, los siguientes parámetros: penalización de 5 por GAP, # de diagonales superiores 5, penalización de 10 por GAP fijo, k-tupla 2, brecha flotante 10, y tamaño de la ventana 5). Sin embargo, se conocen bien en la técnica otros métodos de alineación de secuencias para comparación, por ejemplo, los algoritmos de Smith & Waterman (1981, Adv. Appl. Math. 2: 482), Needleman y Wunsch (J. Mol. Biol. 48: 443, 1970), Pearson & Lipman (1988, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 85: 2444), y mediante implementaciones computarizadas de estos algoritmos (por ejemplo, GAP, BESTFIT, FASTA y BLAST), o mediante alineación manual e inspección visual.

El término "dominio de hemaglutinina" se refiere a un péptido que comprende ya sea el dominio de HA0, o los dominios de HA1 y HA2 (alternativamente denominados fragmentos HA1 y HA2). HA0 es un precursor de los fragmentos HA1 y HA2. El monómero HA generalmente puede subdividirse en 2 dominios funcionales - el dominio

del vástago y la cabeza globular, o de dominio de cabeza. El dominio del vástago está involucrado en la infectividad y patogenicidad del virus a través del cambio conformacional que puede experimentar cuando se expone a pH ácido. El dominio del vástago puede subdividirse a la vez en 4 subdominios o fragmentos - el subdominio de fusión o péptido (un tramo hidrófobo de aminoácidos que participan en la fusión con la membrana del huésped en el estado conformacional de pH ácido); el subdominio del vástago (puede acomodar las dos o más conformaciones), el dominio transmembrana o subdominio (TmD) (implicado en la afinidad de la HA para balsas de lípidos), y la cola citoplasmática (subdominio de la cola citoplasmática) (C_{cola}) (involucrada en la secreción de HA). La cabeza globular se divide en 2 subdominios, el subdominio RB y el dominio de esterasa vestigial (E). El subdominio E puede estar parcial o totalmente enterrado y no expuesto a la superficie de la cabeza globular, por lo tanto, algunos anticuerpos surgidos contra HA se unen al subdominio RB.

El término "partícula similar a un virus" (VLP), o "partículas semejantes a virus" o "VLP" se refiere a las estructuras que se autoensamblan y comprenden proteínas estructurales tales como la proteína HA de la influenza. Las VLP son generalmente morfológica y antigénicamente similares a viriones producidos en una infección, pero carecen de la información genética suficiente para replicarse y por lo tanto no son infecciosas. En algunos ejemplos, las VLP puede comprender una única especie de proteína, o más de una especie de proteína. Para las VLP que comprenden más de una especie de proteína, la especie de proteína puede ser de la misma especie de virus, o puede comprender una proteína de un especie diferente, género, subfamilia o familia de virus (según lo señalado por la nomenclatura ICTV). En otros ejemplos, uno o más de las especies de proteína que comprenden una VLP pueden ser modificadas a partir de la secuencia de origen natural. Las VLP pueden ser producidas en células huésped adecuadas, incluyendo células huésped de insecto y de planta. Después de la extracción de la célula huésped y después del aislamiento y purificación adicional en condiciones adecuadas, las VLP se puede purificar como estructuras intactas.

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

Las VLP de la presente invención se pueden producir en una célula huésped que se caracteriza por que carece de la capacidad de sializar proteínas, por ejemplo una célula vegetal, una célula de insecto, hongo y otros organismos, incluyendo la esponjas, celentéreo, anélida, artrópoda, moluscos, nematelmintos, troquelminetos, platelmintos, quetognatos, tentaculados, clamidia, espiroquetas, bacterias Gram positivas, cianobacterias, arqueobacterias, o similares. Véase, por ejemplo Glycoforum (URL: glycoforum.gr.jp/science/word/evolution/ES-A03E.html), o Gupta et al, 1999. Nucleic Acids Research 27: 370 - 372; o Toukach et al., 2007. Nucleic Acids Research 35: D280 - D286; o URL: glycostructures.jp (Nakahara et al., 2008. Nucleic Acids Research 36: D368 - D371; publicado en línea el 11 de octubre de 2007 doi: 10.1093/NAR/gkm833). Las VLP producidas como se describe en el presente documento por lo general no comprenden neuraminidasa (NA). Sin embargo, la NA puede ser coexpresada con HA siendo deseable que las VLP comprendan HA y NA.

Una VLP producida en una planta de acuerdo con algunos aspectos de la invención puede formar un complejo con lípidos derivados de la planta. La VLP puede comprender un péptido HA0, HA1 o HA2. Los lípidos derivados de plantas pueden estar en la forma de una bicapa lipídica, y pueden comprender además una envoltura que rodea la VLP. Los lípidos derivados de plantas pueden comprender componentes lipídicos de la membrana plasmática de la planta donde la VLP es producida, incluyendo, pero sin limitarse a, fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE), glicoesfingolípidos, fitoesteres o una combinación de los mismos. Un lípido de origen vegetal puede alternativamente ser denominado como un "lípido de la planta. Se conocen ejemplos de fitoesteres en la técnica, e incluyen, por ejemplo, estigmasterol, sitosterol, 24-metilcolesterol y el colesterol - véase, por ejemplo, Mongrand et al., 2004.

Las VLP pueden ser evaluadas por la estructura y tamaño, por ejemplo, ensayo de hemaglutinación, microscopía electrónica, o por cromatografía de exclusión por tamaño.

Para la cromatografía de exclusión por tamaño, se pueden extraer las proteínas solubles totales del tejido de la planta por homogeneización (Polytron) de la muestra de material vegetal triturado congelado en amortiguador de extracción, y se remueve el material insoluble por centrifugación. La precipitación con PEG también puede ser beneficiosa. La proteína soluble se cuantifica, y se pasa el extracto a través de una columna Sephacryl^{MR}. Se puede utilizar Azul Dextrano 2000 como estándar de calibración. Después de la cromatografía, se pueden analizar las fracciones adicionalmente por inmunotransferencia para determinar el complemento de proteína de la fracción.

Sin desear estar limitado por la teoría, la capacidad de HA para unirse a RBC de diferentes animales es impulsada por la afinidad de HA por ácidos siálicos $\alpha 2,3$ o $\alpha 2,6$ y la presencia de estos ácidos siálicos en la superficie de RBC. Las HA equina y aviar de virus de influenza aglutinan eritrocitos de todas las diferentes especies, incluyendo pavos, pollos, patos, conejillos de indias, seres humanos, ovejas, caballos y vacas; mientras que las HA humanas se unirán

a los eritrocitos de pavo, pollos, patos, conejillos de indias, humanos y ovejas (véase también Ito T. et al., 1997, Virology, vol 227, p 493 - 499 y Medeiros R et al., 2001, Virology, vol 289 p.74 - 85). En las Tablas 2A y 2B se muestran ejemplos de la reactividad de las especies las HA de diferentes cepas de la influenza.

Tabla 2A: Especies de RBC enlazadas por las HA de cepas seleccionadas de la gripe estacional.

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

5

Tabla 2B: Especies de RBC enlazadas por las HA de cepas seleccionadas de la gripe pandémica.

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

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

Por ejemplo, un fragmento o porción pueden comprender aproximadamente desde 60% hasta aproximadamente 100%, de la longitud de la longitud completa de la proteína, o cualquier cantidad intermedia, siempre y cuando el fragmento pueda formar una VLP cuando se expresa. Por ejemplo, aproximadamente desde 60% hasta aproximadamente 100%, aproximadamente desde 70% hasta aproximadamente 100%, aproximadamente desde 80% hasta aproximadamente 100%, aproximadamente desde 90% hasta aproximadamente 100%, aproximadamente desde 95% hasta aproximadamente 100%, de la longitud de la longitud completa de la proteína, o cualquier cantidad intermedia. Alternativamente, un fragmento o porción puede ser de aproximadamente 150 a aproximadamente 500 aminoácidos, o cualquier cantidad intermedia, dependiendo de la HA, y siempre que el fragmento pueda formar una VLP cuando se expresa. Por ejemplo, un fragmento puede ser de 150 hasta aproximadamente 500 aminoácidos, o cualquier cantidad intermedia, de aproximadamente 200 hasta aproximadamente 500 aminoácidos, o cualquier cantidad intermedia, de aproximadamente 250 hasta aproximadamente 500 aminoácidos, o cualquier cantidad intermedia, de aproximadamente 300 hasta aproximadamente 500 o cualquier cantidad intermedia, de aproximadamente 350 hasta aproximadamente 500 aminoácidos, o cualquier cantidad intermedia, de aproximadamente 400 hasta aproximadamente 500 o cualquier cantidad intermedia, de aproximadamente 450 hasta aproximadamente 500 o cualquier cantidad intermedia, dependiendo de la HA, y siempre que el fragmento pueda formar una VLP cuando se expresa. Por ejemplo, pueden removerse aproximadamente 5, 10, 20, 30, 40 o 50 aminoácidos, o cualquier cantidad intermedia de la terminal C, el

terminal N o tanto el terminal N como el C de una proteína HA, siempre que el fragmento puede formar una VLP cuando se expresa.

La numeración de los aminoácidos en cualquier secuencia dada son relativos a la secuencia particular, sin embargo un experto puede determinar fácilmente la 'equivalencia' de un aminoácido particular en una secuencia basada en la estructura y/o la secuencia. Por ejemplo, si se removieron 6 aminoácidos del terminal N en la construcción de un clon para cristalografía, esto cambiaría la identidad numérica específica del aminoácido (por ejemplo, respecto a la longitud completa de la proteína), pero no modificaría la posición relativa del aminoácido en la estructura.

Las comparaciones de una secuencia o secuencias pueden realizarse usando un algoritmo de BLAST (Altschul et al., 1990. J. Mol Biol. 215: 403 - 410). Una búsqueda por BLAST permite la comparación de una secuencia de consulta con una secuencia específica o grupo de secuencias, o con una biblioteca o base de datos mayor (por ejemplo, GenBank o GenPept) de secuencias, e identificar no sólo las secuencias que muestran 100% de identidad, sino también aquellos con menor grado de identidad. Se pueden comparar secuencias de ácidos nucleicos o de aminoácidos utilizando un algoritmo de BLAST. Además, la identidad entre dos o más secuencias puede determinarse alineando las secuencias juntas y determinando el % de identidad entre las secuencias. La alineación puede llevarse a cabo utilizando el algoritmo BLAST (por ejemplo como se encuentra disponible a través del GenBank; URL: ncbi.nlm.nih.gov/cgi-bin/BLAST/ usando parámetros predeterminados: Programa: blastn; Base de datos: nr; Esperar: 10; filtro: predeterminado; Alineación: por parejas; códigos genéticos de consulta: Estándares (1)), o BLAST2 a través de EMBL URL: emb1-heidelberg.de/Services/index.html utilizando parámetros predeterminados: Matriz BLOSUM62; Filtro: predeterminado, filtro de eco: encendido, Esperar: 10, corte: predeterminado; Hebra: ambas; Descripciones: 50, Alineaciones: 50; o FASTA, utilizando los parámetros predeterminados), o mediante la comparación manual de las secuencias y calcular el % de identidad.

La presente invención describe, pero no se limita a, la clonación de un ácido nucleico que codifica HA en un vector de expresión de la planta, y la producción de las VLP de la influenza de la planta, adecuado para la producción de vacunas. Los ejemplos de tales ácidos nucleicos incluyen, por ejemplo, pero no se limitan a, una influenza A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1) virus HA (por ejemplo, SEQ ID NO: 61), una HA de A/California/04/09 (SEQ ID NO: 127), una HA de A/Indonesia/5/05 subtipo (H5N1) (por ejemplo, SEQ ID NO: 60), A/Brisbane/59/2007 (H1N1) (por ejemplo, la SEQ ID NO: 36, 48, 62), A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1) (por ejemplo, la SEQ ID NO: 37, 49, 63), A/Singapur/1/57 (H2N2) (por ejemplo, la SEQ ID NO: 42, 54, 64), A/Anhui/1/2005 (H5N1) (por ejemplo, la SEQ ID NO: 43, 55, 65), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) (por ejemplo, la SEQ ID NO: 44, 56, 66), A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1) (por ejemplo, la SEQ ID NO: 45, 57, 67), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2) (por ejemplo, la SEQ ID NO: 47, 59, 68), A/Brisbane/10/2007 (H3N2) (por ejemplo, la SEQ ID NO: 38, 50, 69), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2) (por ejemplo, la SEQ ID NO: 39, 51, 70), A/Equino/Praga/56 (H7N7) (por ejemplo, la SEQ ID NO: 46, 58, 71), B/Malasia/2506/2004 (por ejemplo, la SEQ ID NO: 40, 52, 72), B/Florida/4/2006 (por ejemplo, la SEQ ID NO: 41, 53, 73). Los números correspondientes del clon o del constructo para estas cepas se proporcionan en la Tabla 1. Las secuencias de ácido nucleico correspondientes a las SEQ ID NOS: 36 - 47 comprenden una plastocianina secuencia arriba y unida operativamente a la secuencia de codificación de la HA para cada uno de los tipos o subtipos, como se ilustra en las Figuras 28 - 39. Las secuencias de ácido nucleico correspondientes a las SEQ ID NOS: 60 - 73 comprenden un casete de expresión de HA que comprende un promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia de codificación de hemaglutinina HA, plastocianina 3' UTR de alfalfa y secuencias de terminación, como se ilustra en las Figuras 51 - 64.

Las VLP también se pueden utilizar para producir reactivos compuestos de proteínas estructurales recombinantes de influenza que se autoensamblan en estructuras proteicas macromoleculares homotípicas inmunogénicas y funcionales, incluyendo partículas subvirales de influenza y VLP de influenza, en células huésped transformadas, por ejemplo, células vegetales o células de insectos.

Por lo tanto, la invención provee VLP, y un método para la producción de las VLP virales en un sistema de expresión vegetal, a partir de la expresión de una sola proteína de la envoltura. Las VLP pueden ser VLP de influenza, o las VLP producidas a partir de otros virus derivados de la membrana plasmática incluyendo, pero sin limitarse a, sarampión, Ébola, Marburgo y VIH.

También se pueden utilizar las proteínas de otros virus con envoltura, por ejemplo, pero sin limitarse a Filoviridae (por ejemplo, virus del Ébola, el virus de Marburgo, o similares), Paramyxoviridae (por ejemplo, virus del sarampión, virus de las paperas, virus sincitial respiratorio, neumovirus, o similares), Retroviridae (por ejemplo, virus de inmunodeficiencia humana 1, virus de inmunodeficiencia humana 2, virus 1 de leucemia de células T humanas, o similares), Flaviviridae (por ejemplo, encefalitis del Nilo Occidental, virus del Dengue, virus de la hepatitis C, virus de la fiebre amarilla, o similares), Bunyaviridae (por ejemplo, Hantavirus o similares), Coronaviridae (por ejemplo coronavirus, SARS, o similares), como es conocido por los expertos en la técnica. Ejemplos no limitantes de antígenos que pueden expresarse en virus derivados de la membrana plasmática incluyen, la proteína de la cápside del VIH - p24; glicoproteínas gp120 o gp41 del VIH, proteínas de Filovirus incluyendo VP30 o VP35 del virus del Ébola o Gp/SGP del virus de Marburgo o la proteína H o la proteína F del paramixovirus del sarampión. Por ejemplo, P24 del VIH (por ejemplo, GenBank referencia gi: 19172948) es la proteína obtenida por la traducción y escisión de

la secuencia de gag del genoma del virus del VIH (por ejemplo, GenBank referencia gi: 9629357); gp 120 y gp41 del VIH son glicoproteínas obtenidas por la traducción y escisión de la proteína gp160 (por ejemplo, GenBank referencia gi: 9629363), codificada por *env* del genoma del virus VIH. VP30 del virus del Ébola (GenPept Referencia gi: 55770813) es la proteína obtenida por la traducción de la secuencia *vp30* del genoma del virus del Ébola (por ejemplo, GenBank referencia gi: 55770807); VP35 del virus del Ébola (GenPept Referencia gi: 55770809) es la proteína obtenida por la traducción de la secuencia *vp35* del genoma del virus del Ébola. GP/SGP del virus de Marburgo (GenPept referencia gi: 296965) es la proteína obtenida por la traducción de la (secuencia) del genoma del virus de Marburgo (GenBank referencia gi: 158539108). La proteína H (GenPept referencia gi: 9626951) es la proteína de la secuencia H del genoma del virus del sarampión (GenBank referencia gi: 9626945); la proteína F (GenPept referencia gi: 9626950) es la proteína de la secuencia F del genoma del virus del sarampión.

Sin embargo, se pueden utilizar otras proteínas de la envoltura dentro de los métodos de la presente invención, tal como lo sabe un experto en la técnica.

La invención, por lo tanto, proporciona una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica p24 del VIH, gp120 del VIH, gp41 del VIH, VP30 del virus del Ébola, VP35 del virus del Ébola, Gp/SGP del virus de Marburgo, la proteína H o la proteína F del virus del sarampión. La molécula de ácido nucleico puede estar ligada operativamente a una región reguladora activa en una célula de insecto, levadura o planta, o en un tejido de una planta particular.

La presente invención proporciona, además, la clonación de un ácido nucleico que codifica una HA, por ejemplo, pero sin limitarse a, HA del virus de influenza humana A/Indonesia/5/05 (H5N1) o una HA de la cepa de influenza A/California/04/09 en un vector de expresión de planta o de insecto (por ejemplo, vectores de expresión de baculovirus) y la producción de candidatos de vacunas de la influenza o reactivos compuestos de proteínas estructurales recombinantes de influenza que se autoensamblan en estructuras de proteínas macromoleculares homotípicas funcionales e inmunogénicas, incluyendo partículas subvirales de influenza y VLP de la influenza, en células transformadas de plantas o células transformadas de insectos.

El ácido nucleico que codifica la HA de los subtipos de la influenza, por ejemplo, pero sin limitarse a, A/New Caledonia/20/99 (H1N1), A/California/04/09 (H1N1) A/Indonesia/5/05 el subtipo (H5N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1), A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2), A/Brisbane/10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), A/Equino/Praga/56 (H7N7), B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006 se pueden expresar, por ejemplo, utilizando un sistema de expresión de baculovirus en una línea celular apropiada, por ejemplo, células de *Spodoptera frugiperda* (por ejemplo, línea celular Sf-9; ATCC PTA-4047). También se pueden utilizar otras líneas de células de insectos.

El ácido nucleico que codifica la HA puede, alternativamente, ser expresado en una célula de una planta, o en una planta. El ácido nucleico que codifica HA se puede sintetizar por transcripción inversa y reacción en cadena de polimerasa (PCR) usando ARN de HA. Como ejemplo, el ARN puede ser aislado del virus de influenza humana A/New Caledonia/20/99 (H1N1) o del virus de influenza humana A/Indonesia/5/05 (H5N1), o de otros virus de la influenza por ejemplo, A/California/04/09 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1), A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2), A/Brisbane/10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), A/Equino/Praga/56 (H7N7), B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006, o de células infectadas con un virus de influenza. Para la transcripción inversa y PCR, pueden usarse cebadores de oligonucleótidos específicos para ARN de HA, por ejemplo, pero sin limitarse a, secuencias de HA del virus de influenza humana A/New Caledonia/20/99 (H1N1) o las secuencias de HA0 del virus de influenza humana A/Indonesia/5/05 (H5N1), o las secuencias de HA de los subtipos de influenza A/California/04/09 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1), A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2), A/Brisbane/10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), A/Equino/Praga/56 (H7N7), B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006. Además, se puede sintetizar químicamente un ácido nucleico que codifica HA usando métodos como aquellos conocidos por un experto en la técnica.

Las copias de ADNc resultantes de estos genes pueden clonarse en un vector de expresión adecuado según lo requerido por el sistema de expresión del huésped. A continuación se describen ejemplos de vectores de expresión apropiados para las plantas, alternativamente, un vector de expresión de baculovirus, por ejemplo, pFastBac1 (Invitrogen), resultando en plásmidos basados en pFastBac1, usando métodos conocidos, y se puede utilizar la información proporcionada por las instrucciones del fabricante.

La presente invención está dirigida además a una construcción génica que comprende un ácido nucleico que codifica HA, como se describió anteriormente, unido operativamente a un elemento regulador que es operativo en una planta. Los ejemplos de elementos reguladores operativos en una célula vegetal y que pueden ser utilizados de acuerdo con la presente invención incluyen, pero no se limitan a una región reguladora de plastocianina (patente estadounidense No. 7.125.978; que se incorpora aquí como referencia), o una región reguladora de la ribulosa 1,5-

bifosfato carboxilasa/oxigenasa (RuBisCO; patente estadounidense No. 4.962.028; que se incorpora aquí como referencia), proteína de enlazamiento de clorofila a/b (CAB; Leutwiler et al; 1986; que se incorpora aquí como referencia), ST-LS1 (asociada con el complejo que emite oxígeno del fotosistema II y descrito por Stockhaus et al. 1987, 1989; que se incorpora aquí como referencia). Un ejemplo de una región reguladora de plastocianina es una secuencia que comprende los nucleótidos 10 - 85 de la SEQ ID NO: 36, o una región similar de cualquiera de las

5 secuencias que comprende los nucleótidos 10 - 85 de la SEQ ID NO: 36, o una región similar de cualquiera de las SEQ ID NOS: 37 - 47. Un elemento regulador o región reguladora puede mejorar la traducción de una secuencia de nucleótidos a la que está ligada operativamente - la secuencia de nucleótidos puede codificar una proteína o polipéptido. Otro ejemplo de una región reguladora es aquella derivada de las regiones no traducidas del virus del mosaico del caupí (CPMV), que puede ser utilizada preferentemente para traducir la secuencia de nucleótidos a la

10 que está unida operativamente. Esta región reguladora del CPMV comprende un sistema CMPV-HT - véase, por ejemplo, Sainsbury et al., 2008, *Plant Physiology* 148: 1212 - 1218.

Si la construcción se expresa en una célula de insecto, los ejemplos de elementos reguladores operativos en una célula de insecto incluyen, pero no se limitan al promotor de la polihedrina (Possee y Howard 1987. *Nucleic Acids Research* 15: 10.233 - 10.248), el promotor gp64 (Kogan et al., 1995. *J Virology* 69: 1452 - 1461) y similares.

Por lo tanto, un aspecto de la invención proporciona un ácido nucleico que comprende una región reguladora y una secuencia que codifica una HA de la influenza. La región reguladora puede ser un elemento regulador de plastocianina, y la HA de la influenza se puede seleccionar de un grupo de cepas de la influenza o subtipos, que comprende A/California/04/09 (H1N1), A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1), A/Indonesia/5/05 subtipo (H5N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1), A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2), A/Brisbane/10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), A/Equino/Praga/56 (H7N7), B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006. Las secuencias de ácido nucleico que comprende un elemento regulador de plastocianina y una HA de la influenza se ejemplifican en este documento por las SEQ ID NOS: 36 - 47.

Se sabe que puede haber diferencias de secuencia en la secuencia de las secuencias de aminoácidos de hemaglutinina de la influenza, o los ácidos nucleicos que los codifican, cuando el virus de la influenza se cultiva en huevos, o en células de mamífero, (por ejemplo, células MDCK) o cuando se aíslan de un sujeto infectado. Los ejemplos no limitantes de tales diferencias se ilustran aquí, incluyendo el Ejemplo 18. Además, como un experto en la técnica lo notaría, se puede observar una variación adicional dentro de hemaglutininas de influenza obtenida a partir de las nuevas cepas a medida que se siguen produciendo mutaciones adicionales. Debido a la conocida variabilidad de secuencia entre diferentes hemaglutininas de influenza, la presente invención incluye las VLP que se pueden elaborar utilizando cualquier hemaglutinina de la influenza a condición de que cuando se exprese en un huésped tal como se describe en el presente documento, la hemaglutinina de la influenza forme una VLP.

Los alineamientos de secuencias y las secuencias de consenso se pueden determinar usando cualquiera de los diversos paquetes de software conocidos en la técnica, por ejemplo MULTALIN (F. CORPET, 1988, *Nucl. Acids Res.*, 16 (22), 10881 - 10890), o se puede alinear secuencias en forma manual y se pueden determinar las similitudes y diferencias entre las secuencias determinadas.

La estructura de las hemaglutininas está bien estudiada y se sabe que las estructuras están altamente conservadas. Cuando se superponen estructuras de la hemaglutinina, se observa un alto grado de conservación estructural (msd <2Å). Esta conservación estructural se observa a pesar de que la secuencia de aminoácidos puede variar en algunas posiciones (véase, por ejemplo, Skehel y Wiley, 2000 *Ann Rev. Biochem* 69: 531 - 69; Vaccaro et al. 2005). Regiones de hemaglutininas están también bien conservadas, por ejemplo:

- Dominios estructurales: La poliproteína HA0 se escinde para proporcionar HA madura. HA es un homotrímero comprendiendo cada monómero un dominio de unión al receptor (HA1) y un dominio de anclaje a la membrana (HA2) unidos por un único enlace disulfuro; los 20 residuos del terminal N de la subunidad HA2 también se pueden denominar como el dominio o secuencia de fusión de HA. También está presente una región de "cola" (en la parte interna de la envoltura de la membrana). Cada hemaglutinina comprende estas regiones o dominios. Las regiones o dominios individuales están típicamente conservados en longitud.

- Todas las hemaglutininas contienen el mismo número y la ubicación de puentes disulfuro intra e intermoleculares. La cantidad y la ubicación en la secuencia de aminoácidos de las cisteínas que participan en la red de puentes de disulfuro se conservan entre las HA. Ejemplos de estructuras que ilustran la característica de puentes disulfuro intra e intermoleculares y otros aminoácidos conservados y sus posiciones relativas se describen en, por ejemplo, Gamblin et al 2004 (*Science* 303: 1838 - 1842). Los ejemplos de estructuras y secuencias incluyen 1RVZ, 1RVX, 1RVT, 1RV0, 1RUY, 1RU7, disponibles a partir del Banco de datos de Proteínas (Berman et al. 2003. *Nature Structural Biology* 10: 980; URL: rcsb.org)

- Cola citoplasmática - la mayoría de las hemaglutininas comprenden 3 cisteínas en posiciones conservadas. Una o más de estas cisteínas puede estar palmitoilada como una modificación post-transducción.

Una variación de aminoácidos se tolera en hemaglutininas de los virus de influenza. Esta variación proporciona nuevas cepas que son continuamente identificadas. La infectividad entre las nuevas cepas puede variar. Sin embargo, se mantiene la formación de trímeros de hemaglutinina, que posteriormente forman las VLP. La presente invención, por lo tanto, proporciona una secuencia de aminoácidos de hemaglutinina, o un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos de hemaglutinina, que forma las VLP en una planta, e incluye secuencias conocidas y secuencias variantes que se pueden desarrollar.

La Figura 65 ilustra un ejemplo de tal variación conocida. Esta figura muestra una secuencia de aminoácidos de consenso (SEQ ID NO: 74) para HA de las siguientes cepas H1N1:

A/New Caledonia/20/99 (H1N1) (codificada por la SEQ ID NO: 33),

A/Brisbane/59/2007 (H1N1) (SEQ ID NO: 48),

A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1) (SEQ ID NO: 49) y

SEQ ID NO: 9. X1 (posición 3) es A o V; X2 (posición 52) es D o N; X3 (posición 90) es K o R; X4 (posición 99) es K o T; X5 (posición 111) es Y o H; X6 (posición 145) es V o T; X7 (posición 154) es E o K; X8 (posición 161) es R o K; X9 (posición 181) es V o A; X10 (posición 203) es D o N; X11 (posición 205) es R o K; X12 (posición 210) es T o K; X13 (posición 225) es R o K; X14 (posición 268) es W o R; X15 (posición 283) es T o N; X16 (posición 290) es E o K; X17 (posición 432) es I o L; X18 (posición 489) es N o D.

Como otro ejemplo de tal variación, una alineación de secuencia y una secuencia consenso para la HA de A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1) (codificada por la SEQ ID NO: 33), A/Brisbane/59/2007 (H1N1) (SEQ ID NO: 48), A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1) (SEQ ID NO: 49), A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) y la SEQ ID NO: 9 se muestra a continuación en la Tabla 3.

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

SEQ ID NO.	Secuencia				
	1				50
75	MKAKLLVLLC	TFTATYADTI	CIGYHANNST	DTVDTVLEKN	VTVTHSVNLL
9	MKAKLLVLLC	TFTATYADTI	CIGYHANNST	DTVDTVLEKN	VTVTHSVNLL
48	MKVKLLVLLC	TFTATYADTI	CIGYHANNST	DTVDTVLEKN	VTVTHSVNLL
49	MKVKLLVLLC	TFTATYADTI	CIGYHANNST	DTVDTVLEKN	VTVTHSVNLL
76					
Consenso	mkxkllvllc	tftatyadti	cigyhannst	dtvdtvlekn	vtvthsvnll
	51				100
75	EDSHNGKLCL	LKGIAPLQLG	NCSVAGWILG	NPECELLISK	ESWSYIVETP
9	EDSHNGKLCL	LKGIAPLQLG	NCSVAGWILG	NPECELLISK	ESWSYIVETP
48	ENSHNGKLCL	LKGIAPLQLG	NCSVAGWILG	NPECELLISK	ESWSYIVEKP
49	EDSHNGKLCL	LKGIAPLQLG	NCSVAGWILG	NPECELLISR	ESWSYIVEKP
76					
Consenso	exshngklcl	lkgiaplqlg	ncsvagwilg	npecellis.	eswsyive.p
	101				150
75	NPENGTCYPG	YFADYEELRE	QLSSVSSFER	FEIFPKESSW	PNHTVTGVSA
9	NPENGTCYPG	YFADYEELRE	QLSSVSSFER	FEIFPKESSW	PNHTVTGVSA
48	NPENGTCYPG	HFADYEELRE	QLSSVSSFER	FEIFPKESSW	PNHTVTGVSA
49	NPENGTCYPG	HFADYEELRE	QLSSVSSFER	FEIFPKESSW	PNHTTTGVSA
76					
Consenso	npengtcypg	xfadyeelre	qlssvssfer	feifpkessw	pnhtxtgvsa
	151				200
75	SCSHNGKSSF	YRNLLWLTGK	NGLYPNLSKS	YVNNKEKEVL	VLWGVHHPPN
9	SCSHNGKSSF	YRNLLWLTGK	NGLYPNLSKS	YVNNKEKEVL	VLWGVHHPPN
48	SCSHNGESSF	YRNLLWLTGK	NGLYPNLSKS	YANNKEKEVL	VLWGVHHPPN
49	SCSHNGESSF	YKNLLWLTGK	NGLYPNLSKS	YANNKEKEVL	VLWGVHHPPN
76					
Consenso	scshngxssf	yxnllwltgk	nglypnlsks	yxnnkekevl	vlwgvhhppn
	201				250
75	IGNQRALYHT	ENAYVSVVSS	HYSRRFTPEI	AKRPKVRDQE	GRINYWTLL
9	IGNQRALYHT	ENAYVSVVSS	HYSRRFTPEI	AKRPKVRDQE	GRINYWTLL

48	IGDQKALYHT	ENAYVSVVSS	HYSRKFTPEI	AKRPKVRDQE	GRINYYWTLL
49	IGDQRALYHK	ENAYVSVVSS	HYSRKFTPEI	AKRPKVRDQE	GRINYYWTLL
76		MSLLT	EVETVLSII	PSGPLKAEIA	QRLEDVFGAG
Consenso	igxqxalyhx	enayvsvvss	hysrxftpei	akrPkvr#qe	gRi#yywtll
251					300
75	EPGDTIIFEA	NGNLIAPWYA	FALSRGFGSG	IITSNAPMDE	CDAKCQTPQG
9	EPGDTIIFEA	NGNLIAPWYA	FALSRGFGSG	IITSNAPMDE	CDAKCQTPQG
48	EPGDTIIFEA	NGNLIAPRYA	FALSRGFGSG	IINSNAPMDK	CDAKCQTPQG
49	EPGDTIIFEA	NGNLIAPRYA	FALSRGFGSG	IINSNAPMDE	CDAKCQTPQG
76	NTDLEVLMEW	...LKTRPIL	SPLTKGILGF	VFTLTVPSER	GLQRRRFVQN
Consenso	#pgdt!ifEa	ngnLiapxya	faLsrGfgsg	!itsnaPm#x	cdakcqtPQg
301					350
75	AINSSLPFQN	VHPVTIGEC	KYVRSACLRLM	VT.GLRNIPS	IQSRGLFGAI
9	AINSSLPFQN	VHPVTIGEC	KYVRSACLRLM	VT.GLRNIPS	IQSRGLFGAI
48	AINSSLPFQN	VHPVTIGEC	KYVRSACLRLM	VT.GLRNIPS	IQSRGLFGAI
49	AINSSLPFQN	VHPVTIGEC	KYVRSACLRLM	VT.GLRNIPS	IQSRGLFGAI
76	ALNG.....N	GDPNNMDKAV	KLYRKLKREI	TFHGAKEISL	SYSAGALASC
Consenso	AiNsslpfqN	vhPvtigecp	KyvRsaKlrm	vtxGlr#Ips	iqSrGlfgai
351					400
75	AGFIEGGWTG	MVDGWYGYHH	QNEQGSYAA	DQKSTQNAIN	GITNKVNSVI
9	AGFIEGGWTG	MVDGWYGYHH	QNEQGSYAA	DQKSTQNAIN	GITNKVNSVI
48	AGFIEGGWTG	MVDGWYGYHH	QNEQGSYAA	DQKSTQNAIN	GITNKVNSVI
49	AGFIEGGWTG	MVDGWYGYHH	QNEQGSYAA	DQKSTQNAIN	GITNKVNSVI
76	MGLIYNRM.G	AVTTEVAFGL	VCATCEQIAD	SQHRSHRQMV	TTTNPLIRHE
Consenso	aGfIeggwtG	mVdgwyg%hh	qneqgsyAa	dQkstqnain	giTNkvnsvi
401					450
75	EKMNTQFTAV	GKEFNKLERR	MENLNKKVDD	GFLDIWTYNA	ELLVLLENER
9	EKMNTQFTAV	GKEFNKLERR	MENLNKKVDD	GFLDIWTYNA	ELLVLLENER
48	EKMNTQFTAV	GKEFNKLERR	MENLNKKVDD	GFIDIWTYNA	ELLVLLENER
49	EKMNTQFTAV	GKEFNKLERR	MENLNKKVDD	GFIDIWTYNA	ELLVLLENER
76	NRMVLASTTA	.KAMEQMAGS	SEQAAEAMEV	A.....S	QARQMVQAMR
Consenso	#kMntqfTav	gKef#k\$err	mE#lnkkv#d	gfxdiwtyna	#llv\$l#neR
451					500
75	TLDFHDSNVK	NLYEKVKSQ	KNNAKEIGNG	CFEFYHKCNN	ECMESVKNGT
9	TLDFHDSNVK	NLYEKVKSQ	KNNAKEIGNG	CFEFYHKCNN	ECMESVKNGT
48	TLDFHDSNVK	NLYEKVKSQ	KNNAKEIGNG	CFEFYHKCND	ECMESVKNGT
49	TLDFHDSNVK	NLYEKVKSQ	KNNAKEIGNG	CFEFYHKCND	ECMESVKNGT
76	TIGTHPSSSA	GLKNDLLENL	QAYQKRMGVQ	MQRFK.....	
	TldfHdSnvk	nLy#kvks#L	knnaKeiGng	cfeFyhkcnx	ecmesvkngt
501					550
75	YDYPKYSEES	KLNREKIDGV	KLESMGVYQI	LAIYSTVASS	LVLLVSLGAI
9	YDYPKYSEES	KLNREKIDGV	KLESMGVYQI	LAIYSTVASS	LVLLVSLGAI
48	YDYPKYSEES	KLNREKIDGV	KLESMGVYQI	LAIYSTVASS	LVLLVSLGAI
49	YDYPKYSEES	KLNREKIDGV	KLESMGVYQI	LAIYSTVASS	LVLLVSLGAI
76					
Consenso	ydyPKysees	klnrekidgv	klesmgvyqi	laiystvass	lvllvslgai
551					566
75	SFWMCSNGSL	QCRICI			
9	SFWMCSNGSL	QCRICI			
48	SFWMCSNGSL	QCRICI			
49	SFWMCSNGSL	QCRICI			
76					
Consenso	sfwmcsngsl	qcrici			

La secuencia de consenso indica en letras mayúsculas aminoácidos comunes a todas las secuencias en una

posición designada; las letras minúsculas indican los aminoácidos comunes a al menos la mitad, o la mayoría de las secuencias; el símbolo ! es uno cualquiera de I o V; el símbolo \$ es uno cualquiera de L o M; el símbolo% es uno cualquiera de F o Y; el símbolo # es uno cualquiera de N, D, Q, E, B o Z; el símbolo "." es ningún aminoácido (por ejemplo, una supresión); X en la posición 3 es uno cualquiera de A o V; X en la posición 52 es uno cualquiera de E o N; X en la posición 90 es K o R; X en la posición 99 es T o K; X en la posición 111 es uno cualquiera de Y o H; X en la posición 145 es uno cualquiera de V o T; X en la posición 157 es K o E; X en la posición 162 es R o K; X en la posición 182 es V o A; X en la posición 203 es N o D; X en la posición 205 es R o K; X en la posición 210 es T o K; X en la posición 225 es K o Y; X en la posición 333 es H o una supresión; X en la posición 433 es I o L; X en la posición 49) es N o D.

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

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

SEQ ID NO.	Secuencia				
	1				50
10	MEKIVLLLLAI	VSLVKSDQIC	IGYHANNSTE	QVDTIMEKNV	TVTHAQDILE
56	MEKIVLLFAI	VSLVKSDQIC	IGYHANNSTE	QVDTIMEKNV	TVTHAQDILE
55	MEKIVLLLLAI	VSLVKSDQIC	IGYHANNSTE	QVDTIMEKNV	TVTHAQDILE
Consenso	MEKIVLLLLAI	VSLVKSDQIC	IGYHANNSTE	QVDTIMEKNV	TVTHAQDILE
	51				100
10	KTHNGKLCDL	DGVKPLILRD	CSVAGWLLGN	PMCDEFINVP	EWSYIVEKAN
56	KTHNGKLCDL	DGVKPLILRD	CSVAGWLLGN	PMCDEFINVP	EWSYIVEKAN
55	KTHNGKLCDL	DGVKPLILRD	CSVAGWLLGN	PMCDEFINVP	EWSYIVEKAN
Consenso	KTHNGKLCDL	DGVKPLILRD	CSVAGWLLGN	PMCDEFINVP	EWSYIVEKAN
	101				150
10	PTNDLCYPGS	FNDYEELKHL	LSRINHFEDI	QIIPKSSWSD	HEASSGVSSA
56	PVNDLCYPGD	FNDYEELKHL	LSRINHFEDI	QIIPKSSWSS	HEASLGVSAA
55	PANDLCYPGN	FNDYEELKHL	LSRINHFEDI	QIIPKSSWSD	HEASSGVSSA
Consenso	PxNDLCYPGx	FNDYEELKHL	LSRINHFEDI	QIIPKSSWSd	HEASsGVSSA
	151				200
10	CPYLGSPSFF	RNVVWLIKKN	STYPTIKKSY	NNTNQEDLLV	LWGIHHPNDA
56	CPYQGKSSFF	RNVVWLIKKN	STYPTIKRSY	NNTNQEDLLV	LWGIHHPNDA
55	CPYQGTPSFF	RNVVWLIKKN	NTYPTIKRSY	NNTNQEDLLI	LWGIHHSNDA
Consenso	CPYqGxpSFF	RNVVWLIKKN	sTYPTIKrSY	NNTNQEDLL!	LWGIHHpNDA
	201				250
10	AEQTRLYQNP	TTYISIGTST	LNQRLVPKIA	TRSKVNGQSG	RMEFFWTILK
56	AEQTKLYQNP	TTYISVGTST	LNQRLVPRIA	TRSKVNGQSG	RMEFFWTILK
55	AEQTKLYQNP	TTYISVGTST	LNQRLVPKIA	TRSKVNGQSG	RMDFFWTILK
Consenso	AEQTKLYQNP	TTYIS!GTST	LNQRLVPkIA	TRSKVNGQSG	RM#FFWTILK

	251				300
10	PNDAINFESN	GNFIAPEYAY	KIVKKGDSAI	MKSELEYGNC	NTKCQTPMGA
56	PNDAINFESN	GNFIAPEYAY	KIVKKGDSTI	MKSELEYGNC	NTKCQTPMGA
55	PNDAINFESN	GNFIAPEYAY	KIVKKGDSAI	VKSEVEYGNC	NTKCQTPIGA
Consenso	PNDAINFESN	GNFIAPEYAY	KIVKKGDSaI	mKSElEYGNC	NTKCQTPmGA
	301				350
10	INSSMPFHNI	HPLTIGECPK	YVKS NRLVLA	TGLRNSPQRE	SRRKKRGLFG
56	INSSMPFHNI	HPLTIGECPK	YVKS NRLVLA	TGLRNSPQRE	RRRKKRGLFG
55	INSSMPFHNI	HPLTIGECPK	YVKS NKLVLA	TGLRNSPLRE	RRRK.RGLFG
Consenso	INSSMPFHNI	HPLTIGECPK	YVKS NrLVLA	TGLRNSPqRE	rRRKkRGLFG
	351				400
10	AIAGFIEGGW	QGMVDGWYGY	HHSNEQSGY	AADKESTQKA	IDGVTNKVNS
56	AIAGFIEGGW	QGMVDGWYGY	HHSNEQSGY	AADKESTQKA	IDGVTNKVNS
55	AIAGFIEGGW	QGMVDGWYGY	HHSNEQSGY	AADKESTQKA	IDGVTNKVNS
Consenso	AIAGFIEGGW	QGMVDGWYGY	HHSNEQSGY	AADKESTQKA	IDGVTNKVNS
	401				450
10	IIDKMNTQFE	AVGREFNNLE	RRIENLNKKM	EDGFLDVWTY	NAELLVLMEN
56	IIDKMNTQFE	AVGREFNNLE	RRIENLNKKM	EDGFLDVWTY	NAELLVLMEN
55	IIDKMNTQFE	AVGREFNNLE	RRIENLNKKM	EDGFLDVWTY	NAELLVLMEN
Consenso	IIDKMNTQFE	AVGREFNNLE	RRIENLNKKM	EDGFLDVWTY	NAELLVLMEN
	451				500
10	ERTLDFHDSN	VKNLYDKVRL	QLRDNAKELG	NGCFEFYHKC	DNECMESIRN
56	ERTLDFHDSN	VKNLYDKVRL	QLRDNAKELG	NGCFEFYHKC	DNECMESVRN
55	ERTLDFHDSN	VKNLYDKVRL	QLRDNAKELG	NGCFEFYHKC	DNECMESVRN
Consenso	ERTLDFHDSN	VKNLYDKVRL	QLRDNAKELG	NGCFEFYHKC	DNECMES!RN
	501				550
10	GTYNYPQYSE	EARLKREEIS	GVKLESIGTY	QILSIYSTVA	SSLALAIMMA
56	GTYDYPQYSE	EARLKREEIS	GVKLESIGIY	QILSIYSTVA	SSLALAIMVA
55	GTYDYPQYSE	EARLKREEIS	GVKLESIGTY	QILSIYSTVA	SSLALAIMVA
Consenso	GTY#YPQYSE	EARLKREEIS	GVKLESIGtY	QILSIYSTVA	SSLALAIMvA
	551	568			
10	GLSLWMCSNG	SLQCRICI			
56	GLSLWMCSNG	SLQCRICI			
55	GLSLWMCSNG	SLQCRICI			
Consenso	GLSLWMCSNG	SLQCRICI			

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

Las alineaciones y secuencias de consenso anteriormente ilustradas y descritas son ejemplos no limitantes de variantes en las secuencias de aminoácidos de hemaglutinina que se pueden utilizar en diversas realizaciones de la invención para la producción de las VLP en una planta.

Un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos se puede determinar fácilmente, ya que los codones para cada aminoácido son conocidos en la técnica. La provisión de una secuencia de aminoácidos, por lo tanto, enseña las secuencias de ácido nucleico degeneradas que la codifican. La presente invención, por lo tanto,

proporciona una secuencia de ácido nucleico que codifica la hemaglutinina de esas cepas y subtipos de influenza descritos en este documento (por ejemplo, A/California/04/09 (H1N1), A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1) A/Indonesia/5/2006 (H5N1), A/pollo/Nueva York/1995, A/gaviota arenquera/DE/677/88 (H2N8), A/Texas/32/2003 A/pato/MN/33/00, A/pato/Shanghái/1/2000 A/ánade rabudo/TX/828189/02, A/Turquía/Ontario/6118/68 (H8N4), A/pato cuchara/Irán/G54/03, A/pollo/Alemania/N/1949 (H10N7), A/pato/Inglaterra/56 (H11N6), A/pato/Alberta/60/76 (H12N5), A/Gaviota/Maryland/704/77 (H13N6), A/Ánade real/Gurjev/263/82, A/pato/Australia/341/83 (H15N8), A/gaviota de cabeza negra/Suecia/5/99 (H16N3), B/Lee/40, C/Johannesburgo/66, A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Islands Salomón 3/2006 (H1N1), A/Brisbane 10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006, A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Equino/Praga/56 (H7N7), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2)), así como las secuencias degeneradas que codifican las hemaglutininas anteriores.

Además, se puede determinar fácilmente una secuencia de aminoácidos codificada por un ácido nucleico, ya que el codón o codones para cada aminoácido son conocidos. La provisión de un ácido nucleico, por lo tanto, enseña una secuencia de aminoácidos codificada por el mismo. La invención, por lo tanto, proporciona secuencias de aminoácidos de la hemaglutinina de esas cepas y subtipos de influenza descritas en este documento que se divulgan en el presente documento (por ejemplo, A/California/04/09 (H1N1), A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1) A/Indonesia/5/2006 (H5N1), A/pollo/Nueva York/1995, A/gaviota arenquera/DE/677/88 (H2N8), A/Texas/32/2003 A/pato/MN/33/00, A/pato/Shanghái/1/2000 A/ánade rabudo/TX/828189/02, A/Turquía/Ontario/6118/68 (H8N4), A/pato cuchara/Irán/G54/03, A/pollo/Alemania/N/1949 (H10N7), A/pato/Inglaterra/56 (H11N6), A/pato/Alberta/60/76 (H12N5), A/Gaviota/Maryland/704/77 (H13N6), A/Ánade real/Gurjev/263/82, A/pato/Australia/341/83 (H15N8), A/gaviota de cabeza negra/Suecia/5/99 (H16N3), B/Lee/40, C/Johannesburgo/66, A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Islands Salomón 3/2006 (H1N1), A/Brisbane 10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006, A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Equino/Praga/56 (H7N7), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2)).

En las plantas, las VLP de la influenza brotan de la membrana plasmática (véase el Ejemplo 5, y la Figura 19), por lo tanto, la composición de lípidos de las VLP refleja su origen. Las VLP producidas de acuerdo con la presente invención comprenden HA de uno o más de un tipo o subtipo de influenza, formando complejo con lípidos derivados de la planta. Los lípidos de la planta pueden estimular células inmunes específicas y mejorar la respuesta inmune inducida. Las membranas vegetales están hechas de lípidos, fosfatidilcolina (PC) y fosfatidiletanolamina (PE), y también contienen glicoesfingolípidos, saponinas, y fitoesteres. Además, también se encuentran balsas de lípidos en las membranas plasmáticas de la planta - estos microdominios se enriquecen en esfingolípidos y esteroides. En las plantas, se sabe que se producen una variedad de fitoesteres, incluyendo estigmasterol, sitosterol, 24-metilcolesterol y colesterol (Mongrand et al., 2004).

PC y PE, así como glicoesfingolípidos se pueden unir a moléculas CD1 expresadas por células del sistema inmune de mamíferos tales como células presentadoras de antígeno (las APC) como células dendríticas y macrófagos y otras células incluyendo linfocitos B y T en el timo y el hígado (Tsuji M, 2006). Las moléculas CD1 son estructuralmente similares a las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase I y su papel es presentar antígenos glicolípidos a células NKT (células asesinas naturales T). Tras la activación, las células NKT activan las células inmunes innatas tal como las células NK y las células dendríticas, y también activan células inmunitarias adaptativas tales como las células B productoras de anticuerpos y las células T.

Se puede encontrar una variedad de fitoesteres en una membrana plasmática - el complemento específico puede variar dependiendo de la especie, las condiciones de crecimiento, los recursos de nutrientes o estado patógeno, para nombrar unos pocos factores. Generalmente, el beta-sitosterol es el más abundante fitoesterol.

Los fitoesteres presentes en una VLP de influenza formando complejo con una bicapa lipídica, tal como una envoltura derivada de membrana plasmática pueden proporcionar una composición de vacuna ventajosa. Sin desear estar limitado por la teoría, las VLP producidas por plantas que forman complejo con una bicapa lipídica, tal como una envoltura derivada de una membrana plasmática, pueden inducir una reacción inmune más fuerte que las VLP elaboradas en otros sistemas de expresión, y pueden ser similares a la reacción inmune inducida por las vacunas de virus enteros vivos o atenuados.

Por lo tanto, en algunas realizaciones, la invención proporciona una VLP que forma complejo con una bicapa lipídica derivada de la planta. En algunas realizaciones, la bicapa lipídica que se deriva de la planta puede comprender la envoltura de la VLP.

La VLP producida dentro de una planta puede incluir una HA que comprende N-glicanos específicos de la planta. Por lo tanto, esta invención también proporciona una VLP que comprende HA que tiene N-glicanos específicos de la planta.

Además, la modificación de N-glicano en plantas es conocida (véase por ejemplo la solicitud de patente

estadounidense No. 60/944.344; que se incorpora aquí como referencia) y se puede producir HA que tiene N-glicanos modificados. Se puede obtener HA que comprende un patrón de glicosilación modificado, por ejemplo, con N-glicanos fucosilados, xilosilados reducidos, o ambos, fucosilados y xilosilados, o se puede obtener HA que tiene un patrón de glicosilación modificado, en donde la proteína carece de fucosilación, xilosilación, o ambos, y comprende mayor galactosilación. Además, la modulación de las modificaciones posteriores a la traducción, por ejemplo, la adición de galactosa terminal puede resultar en una reducción de la fucosilación y xilosilación de la HA expresada cuando se compara con una planta de tipo silvestre que expresa HA.

Por ejemplo, que no debe considerarse como limitante, la síntesis de HA que tiene un patrón de glicosilación modificado se puede lograr mediante la coexpresión de la proteína de interés junto con una secuencia de nucleótidos que codifica beta-1,4-galactosiltransferasa (GalT), por ejemplo, pero sin limitarse a GalT de mamífero, o GalT humana; sin embargo también se puede utilizar GalT de otra fuentes. El dominio catalítico de GalT también se puede fusionar a un dominio CTS (es decir, la cola citoplasmática, dominio transmembrana, región del vástago) de N-acetilglucosaminil transferasa (GNT1), para producir una enzima híbrida GNT1-GalT, y la enzima híbrida puede ser coexpresada con HA. La HA también puede ser coexpresada junto con una secuencia de nucleótidos que codifica N-acetilglucosaminil transferasa III (GnT-III), por ejemplo, pero sin limitarse a GnT-III de mamíferos o GnT-III humana, también se puede utilizar GnT-III de otras fuentes. Además, también se puede utilizar una enzima híbrida GNT1-GnT-III, que comprende la CTS de GNT1 fusionada a GnT-III.

Por lo tanto la presente invención también incluye las VLP que comprenden HA que tiene N-glicanos modificados.

Sin desear estar limitado por la teoría, la presencia de N-glicanos de plantas en HA puede estimular la respuesta inmune mediante la promoción de la unión de HA mediante las células presentadoras de antígeno. La estimulación de la respuesta inmune usando N-glicano de planta ha sido propuesto por Saint-Jore-Dupas et al. (2007). Además, la conformación de la VLP puede ser ventajosa para la presentación del antígeno, y mejora el efecto adyuvante de VLP cuando forma complejo con una capa de lípidos derivada de la planta.

Por "región reguladora", "elemento regulador" o "promotor" se entiende una porción de ácido nucleico típicamente, pero no siempre, secuencia arriba de la región de codificación de la proteína de un gen, que puede estar compuesto ya sea por ADN o por ARN, o tanto ADN como ARN. Cuando se activa una región reguladora, y en asociación operativa, o unida operativamente, con un gen de interés, esto puede resultar en la expresión del gen de interés. Un elemento regulador puede ser capaz de mediar la especificidad del órgano, o el control de la activación temporal o de desarrollo del gen. Una "región reguladora" incluye elementos promotores, elementos promotores centrales que exhiben una actividad basal del promotor, elementos que son inducibles en respuesta a un estímulo externo, elementos que median la actividad del promotor, tales como elementos reguladores negativos o potenciadores transcripcionales. "Región reguladora", como se usa en este documento, también incluye elementos que son activos después de la transcripción, por ejemplo, elementos reguladores que modulan la expresión génica, tal como potenciadores de la traducción y de la transcripción, represores de la traducción y de la transcripción, secuencias de activación secuencia arriba, y determinantes de la inestabilidad del ARNm. Varios de estos últimos elementos pueden estar situados cerca a la región de codificación.

En el contexto de esta descripción, el término "elemento regulador" o "región reguladora" se refiere típicamente a una secuencia de ADN, por lo general, pero no siempre, secuencia arriba (5') a la secuencia de codificación de un gen estructural, que controla la expresión de la región de codificación proporcionando el reconocimiento para la ARN polimerasa y/o otros factores requeridos para la transcripción para el inicio en un sitio particular. Sin embargo, se entiende que otras secuencias de nucleótidos, localizadas dentro de intrones, o 3' de la secuencia también pueden contribuir a la regulación de la expresión de una región de codificación de interés. Un ejemplo de un elemento regulador que permite el reconocimiento para la ARN polimerasa u otros factores transcripcionales para asegurar el inicio en un sitio particular es un elemento promotor. La mayoría, pero no todos, los elementos promotores eucariotas contienen una caja TATA, una secuencia de ácido nucleico conservada compuesta de pares de bases de los nucleótidos adenosina y timidina, usualmente situados aproximadamente 25 pares de bases secuencia arriba de un sitio de inicio transcripcional. Un elemento promotor comprende un elemento promotor basal, responsable de la iniciación de la transcripción, así como otros elementos reguladores (como se enumera más arriba) que modifica la expresión del gen.

Hay varios tipos de regiones reguladoras, incluidas aquellas que están reguladas por el desarrollo, inducibles o constitutivas. Una región reguladora que está regulado por el desarrollo, o que controla la expresión diferencial de un gen bajo su control, se activa dentro de ciertos órganos o tejidos de un órgano en momentos específicos durante el desarrollo de ese órgano o tejido. Sin embargo, algunas regiones reguladoras que están regulados por el desarrollo puede ser preferentemente ser activas dentro de ciertos órganos o tejidos en etapas de desarrollo específicas, también pueden ser activas en una forma regulada por el desarrollo, o en un nivel basal en otros órganos o tejidos también dentro de la planta. Los ejemplos de regiones reguladoras específicas del tejido, por ejemplo, véase una región reguladora específica, que incluyen al promotor de napina, y al promotor de cruciferina (Rask et al., 1998, J. Plant Physiol. 152: 595 - 599; Bilodeau et al., 1994, Plant Cell 14: 125 - 130). Un ejemplo de un promotor específico de las hojas incluye al promotor de plastocianina (Figura 1b; patente estadounidense No. 7.125.978, que se

incorpora aquí como referencia).

Una región reguladora inducible es una que es capaz de activar directa o indirectamente la transcripción de una o más secuencias de ADN o de genes en respuesta a un inductor. En la ausencia de un inductor, no se transcribirán las secuencias de ADN o de genes. Normalmente, el factor de la proteína que se une específicamente a una región reguladora inducible para activar la transcripción puede estar presente en una forma inactiva, que es luego directa o indirectamente convertida en la forma activa por el inductor. Sin embargo, el factor de la proteína también puede estar ausente. El inductor puede ser un agente químico tal como una proteína, un metabolito, un regulador del crecimiento, un herbicida o un compuesto fenólico o un estrés fisiológico impuesto directamente por calor, frío, sal o elementos tóxicos o indirectamente a través de la acción de un agente patógeno o enfermedad tal como un virus. Una célula de una planta que contiene una región reguladora inducible puede estar expuesta a un inductor mediante la aplicación en forma externa del inductor a la célula o la planta tal como mediante rocío, riego, calentamiento o métodos similares. Los elementos reguladores inducibles se pueden derivar ya sea de genes de plantas o bien no vegetales (por ejemplo, Gatz, C. y Lenk, I. R. P., 1998, Trends Plant Sci. 3, 352 - 358; que se incorpora como referencia). Los ejemplos de potenciales promotores inducibles incluyen, pero no se limitan a, un promotor inducible por tetraciclina (Gatz, C., 1997, Ann. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol. 48, 89 - 108; que se incorpora como referencia), el promotor inducible por esteroides (Aoyama, T. y Chua, N. H., 1997, Plant J. 2, 397 - 404; que se incorpora como referencia) y el promotor inducible por etanol (Salter, M. G., et al., 1998, Plant Journal 16, 127 - 132; Caddick, M. X., et al., 1998, Nature Biotech 16, 177 - 180, que se incorporan como referencia), genes IB6 y CK11 inducibles por citoquinina (Brandstatter, I. y Kieber, J. J., 1998, Plant Cell 10, 1009 - 1019; Kakimoto, T., 1996, Science 274, 982 - 985; que se incorporan como referencia) y el elemento inducible por auxina, DR5 (Ulmasov, T., et al, 1997, Plant Cell 9, 1963 - 1971; que se incorpora como referencia).

Una región reguladora constitutiva dirige la expresión de un gen a través de las diversas partes de una planta y continuamente durante todo el desarrollo de la planta. Los ejemplos de elementos reguladores constitutivos conocidos incluyen promotores asociados con el transcripto 35S del CaMV (Odell et al., 1985, Nature, 313: 810 - 812), la actina 1 de arroz (Zhang et al., 1991, Plant Cell, 3: 1155 - 1165), la actina 2 (An et al., 1996, Plant J., 10: 107 - 121), o tms 2 (patente estadounidense No. 5.428.147, que se incorpora aquí como referencia), y genes para trifosfato isomerasa 1 (Xu et al., 1994, Plant Physiol 106: 459 - 467), gen para ubiquitina 1 del maíz (Cornejo et al., 1993, Plant Mol. Biol. 29: 637 - 646), los genes 1 y 6 para ubiquitina de *Arabidopsis* (Holtorf et al., 1995, Plant Mol. Biol. 29: 637 - 646), y el gen para el factor 4A de iniciación de la traducción del tabaco (Mandel et al., 1995 Plant Mol. Biol. 29: 995 - 1004). El término "constitutivo" como se usa en el presente documento no indica necesariamente que un gen bajo el control de la región reguladora constitutiva se exprese al mismo nivel en todos los tipos de células, sino que el gen se expresa en una amplia gama de tipos de células a pesar de que se observa a menudo una variación en abundancia. Los elementos reguladores constitutivos se pueden acoplar con otras secuencias para mejorar aún más la transcripción y/o la traducción de la secuencia de nucleótidos a la que están unidos operativamente. Por ejemplo, el sistema CMPV-HT (Sainsbury et al., 2008, Plant Physiology 148: 1212 - 1218) se deriva de las regiones no traducidas del virus del mosaico del caupí (COMV) y demuestra una mejor traducción de la secuencia de codificación asociada.

Por "nativo" se entiende que la secuencia de ácido nucleico o de aminoácidos es de origen natural, o de "tipo silvestre".

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

Las una o más de una secuencias de nucleótidos de la presente invención se pueden expresar en cualquier planta huésped adecuada que se transforma por la secuencia de nucleótidos, o constructos o vectores de la presente invención. Los ejemplos de huéspedes adecuados incluyen, pero no se limitan a, cultivos agrícolas incluyendo alfalfa, canola, *Brassica* spp., maíz, *Nicotiana* spp., alfalfa, patata, ginseng, guisante, avena, arroz, soja, trigo, cebada, girasol, algodón y similares.

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

lectura de la secuencia de codificación para asegurar la traducción de toda la secuencia.

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

Como se describe en el presente documento, se ha encontrado que los promotores que comprenden secuencias potenciadoras con eficiencia demostrada en la expresión en la hoja, son eficaces en la expresión transitoria. Sin desear estar limitado por la teoría, la unión de elementos reguladores secuencia arriba de un gen fotosintético por la unión a la matriz nuclear puede mediar una expresión fuerte. Por ejemplo hasta -784 desde el sitio de inicio de la traducción del gen de plastocianina de guisante puede ser utilizado para mediar una expresión fuerte del gen reportero.

Para ayudar en la identificación de células de plantas transformadas, se pueden manipular adicionalmente los constructos de esta invención para incluir marcadores seleccionables de plantas. Los marcadores seleccionables útiles incluyen enzimas que proporcionan resistencia a compuestos químicos tales como un antibióticos, por ejemplo, gentamicina, higromicina, kanamicina, o herbicidas tales como fosfotricina, glifosato, clorosulfurona, y similares. Del mismo modo, se pueden usar enzimas que permiten la producción de un compuesto identificable por cambio de color, tal como GUS (beta-glucuronidasa), o luminiscencia, tal como luciferasa o GFP.

También se consideran parte de esta invención plantas transgénicas, células de plantas o semillas que contienen el constructo de gen quimérico de la presente invención. Los métodos de regeneración de plantas enteras a partir de células de plantas también son conocidos en la técnica. En general, las células de plantas transformadas se cultivan en un medio apropiado, que puede contener agentes selectivos tales como antibióticos, donde se usan marcadores seleccionables para facilitar la identificación de las células de plantas transformadas. Una vez que se forma el callo, se puede fomentar la formación de brotes mediante el empleo de las hormonas vegetales apropiadas de acuerdo con los métodos conocidos y se transfieren los brotes a medio de enraizamiento para la regeneración de las plantas. Se pueden utilizar luego las plantas para establecer generaciones repetitivas, ya sea a partir de semillas o utilizando técnicas de propagación vegetativa. Las plantas transgénicas también se pueden generar sin el uso de cultivos de tejidos.

También se consideran parte de esta invención las células de plantas transgénicas, árboles, levaduras, bacterias, hongos, insectos y animales que contienen el constructo del gen quimérico que comprende un ácido nucleico que codifica HAO recombinante para la producción de VLP, de acuerdo con la presente invención.

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

Los métodos para la transformación estable, y la regeneración de estos organismos están establecidos en la técnica y son conocidos por un experto en la técnica. El método de obtención de plantas transformadas y regeneradas no es crítica para la presente invención.

Por "transformación" se entiende la transferencia interespecífica estable de la información genética (secuencia de nucleótidos) que se manifiesta genotípicamente, fenotípicamente o ambos. La transferencia interespecífica de información genética a partir de un constructo quimérico a un huésped puede ser hereditaria y la transferencia de información genética considerada estable, o la transferencia puede ser transitoria y la transferencia de información genética no es heredable.

Por el término "materia vegetal", se entiende cualquier material derivado de una planta. La materia vegetal puede comprender una planta entera, tejido, células, o cualquier fracción de las mismas. Además, la materia vegetal puede comprender componentes intracelulares de la planta, componentes extracelulares de la planta, extractos líquidos o sólidos de las plantas, o una combinación de los mismos. Además, la materia vegetal puede comprender plantas, células de plantas, tejidos, un extracto líquido, o una combinación de los mismos, de las hojas de la planta, tallos, frutos, raíces o una combinación de los mismos. La materia vegetal puede comprender una planta o porción de la misma que no haya sido sometida a ninguna etapa de procesamiento. Una porción de una planta puede comprender materia vegetal. Sin embargo, también se contempla que el material vegetal pueda ser sometido a etapas de procesamiento mínimas como se define a continuación, o de procesamiento más riguroso, incluyendo la purificación parcial o sustancial de proteínas usando técnicas comúnmente conocidas dentro de la técnica, incluyendo, pero sin

limitarse a cromatografía, electroforesis y similares.

Por el término "procesamiento mínimo" se entiende la materia vegetal, por ejemplo, una planta o porción de la misma que comprende una proteína de interés que se purifica parcialmente para producir un extracto de la planta, homogeneizado, fracción de homogeneizado de plantas o similares (es decir, mínimamente procesados). La purificación parcial puede comprender, pero no se limitan a romper las estructuras celulares de las plantas, creando así una composición que comprende componentes vegetales solubles y componentes vegetales insolubles que se pueden separar por ejemplo, pero sin limitarse a, mediante centrifugación, filtración o una combinación de los mismos. En este sentido, las proteínas secretadas en el espacio extracelular de la hoja o de otros tejidos podrían ser obtenidas fácilmente usando vacío o extracción por centrifugación, o se podrían extraer los tejidos bajo presión mediante el paso a través de rodillos o de molienda o similar para exprimir o liberar la proteína libre desde dentro del espacio extracelular. Un procesamiento mínimo también podría implicar la preparación de extractos crudos de proteínas solubles, ya que estas preparaciones tendrían una contaminación insignificante a partir de productos vegetales secundarios. Además, un procesamiento mínimo puede implicar la extracción acuosa de la proteína soluble de las hojas, seguido por precipitación con cualquier sal adecuada. Otros métodos pueden incluir maceración a gran escala y la extracción del jugo con el fin de permitir el uso directo del extracto.

La materia vegetal, en la forma de material de planta o tejido puede ser suministrado por vía oral a un sujeto. La materia vegetal puede ser administrada como parte de un suplemento dietético, junto con otros alimentos, o encapsulado. La materia vegetal o tejido también se puede concentrar para mejorar o aumentar la palatabilidad, o se puede suministrar junto con otros materiales, ingredientes o excipientes farmacéuticos, según sea necesario.

Ejemplos de un sujeto u organismo objetivo que las cuales se pueden suministrar las VLP de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, seres humanos, primates, aves, aves acuáticas, aves migratorias, codorniz, pato, oca, aves de corral, pollo, cerdo, ovejas, equino, caballo, camello, canino, perros, felino, gatos, tigre, leopardo, algalia, visón, garduña, hurones, animales domésticos, animales de granja, conejos, ratones, ratas, cobayas y otros roedores, foca, ballena y similares. Tales organismos objetivo son ejemplos, y no deben ser considerados limitativos para las aplicaciones y usos de la presente invención.

Se contempla que una planta que comprende la proteína de interés, o que expresa la VLP que comprende la proteína de interés puede ser administrada a un sujeto u organismo objetivo, en una variedad de formas dependiendo de la necesidad y de la situación. Por ejemplo, la proteína de interés obtenida de la planta puede ser extraída antes de usarla ya sea en forma cruda, parcialmente purificada, o purificada. Si se va a purificar la proteína, entonces se puede producir ya sea en plantas comestibles o no comestibles. Además, si se administra la proteína en forma oral, se puede cosechar el tejido de la planta y se administra directamente al sujeto, o se puede secar el tejido recogido antes de su administración, o se puede permitir que un animal paste sobre la planta sin necesidad de cosechar previamente. También se considera dentro del alcance de esta invención administrar tejidos de la planta cosechada como un complemento alimenticio en la alimentación animal. Si se administra el tejido de la planta a un animal con poco o ninguna transformación, se prefiere que el tejido de la planta que se administra sea comestible.

El silenciamiento de genes posterior a la transcripción (PTGS) puede estar implicado en la limitación de la expresión de transgenes en las plantas, y se puede utilizar la coexpresión de un supresor de silenciamiento del virus Y de la patata (HcPro) para contrarrestar la degradación específica de los ARNm del transgén (Brigneti et al., 1998). Se conocen supresores del silenciamiento alternativos en la técnica y pueden ser utilizados como se describe aquí (Chiba et al., 2006, Virology 346: 7 - 14; que se incorpora aquí como referencia), por ejemplo pero sin limitarse a, TEV-p1/Hc-Pro (virus p1/Hc-Pro de grabado del tabaco), BYV-p21, p19 del virus del enanismo arbustivo del tomate (TBSV p19), proteína de la cápside del virus que arruga el tomate (TCV-CP), 2b del virus del mosaico del pepino; CMV-2b), p25 del virus X de la patata (PVX-p25), p11 del virus M de la patata (PVM-p11), p11 del virus S de la patata (PVS-p11), p16 del virus que quema el arándano (BScV-p16), p23 del virus de la tristeza de los cítricos (CTV-p23), p24 del virus 2 asociado con el enrollamiento de la hoja de la vid, (GLRaV-2 p24), p10 del virus A de la vis, (GVA-p10), p14 del virus B de la vid (GVB-p14), p10 del virus latente Heracleum (HLV-p10), o p16 del virus latente común del ajo (GCLV-p16). Por lo tanto, un supresor de silenciamiento, por ejemplo, pero no limitado a, Hc-Pro, TEV-p1/Hc-Pro, BYV-p21, TBSV p19, TCV-CP, CMV-2b, PVX-p25, PVM-p11, PVS-p11, BScV-p16, CTV-p23, GLRaV-2 p24, GBV-p14, HLV-p10, GCLV-p16 o GVA-p10, pueden ser coexpresados junto con la secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de interés para garantizar aún más altos niveles de producción de proteínas dentro de una planta.

Además, se pueden producir las VLP que comprenden una combinación de subtipos de HA. Por ejemplo, las VLP puede comprender uno o más de una HA del subtipo H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, H16, tipo B, o una combinación de los mismos. La selección de la combinación de las HA se puede determinar mediante el uso previsto de la vacuna preparada a partir de la VLP. Por ejemplo una vacuna para su uso en la inoculación de aves puede comprender cualquier combinación de subtipos de HA, mientras que las VLP útiles para la inoculación de seres humanos puede comprender subtipos de uno o más de uno de los subtipos H1, H2, H3, H5, H6, H7, H9 o B. Sin embargo, se pueden preparar otras combinaciones de subtipos de HA dependiendo del uso de la VLP. Con el fin de producir las VLP que comprenden combinaciones de subtipos de HA, el subtipo HA deseado

puede ser coexpresado en la misma célula, por ejemplo una célula de una planta.

Además, las VLP producidas como se describe en este documento no comprenden neuraminidasa (NA). Sin embargo, NA puede ser coexpresada con HA siempre y cuando se deseen las VLP que comprenden HA y NA.

Por lo tanto, la presente invención incluye además un vector adecuado que comprende el constructo químico adecuado para uso con cualquiera de los sistemas de expresión estable o transitorio. La información genética puede ser suministrada también dentro de uno o más de un constructo. Por ejemplo, se puede introducir una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de interés en un constructo, y se puede introducir una segunda secuencia de nucleótidos que codifica una proteína que modifica la glicosilación de la proteína de interés usando un constructo separado. Estas secuencias de nucleótidos pueden entonces coexpresarse dentro de una planta. Sin embargo, también puede usarse un constructo que comprende una secuencia nucleotídica que codifica tanto la proteína de interés como la proteína que modifica el perfil de glicosilación de la proteína de interés. En este caso, la secuencia de nucleótidos comprendería una primera secuencia que comprende una primera secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de interés operativamente enlazada a una región promotora o reguladora, y una segunda secuencia que comprende una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína que modifica el perfil de glicosilación de la proteína de interés, la segunda secuencia operativamente enlazada a una región promotora o reguladora.

Por "coexpresado" se entiende que dos, o más de dos, secuencias de nucleótidos se expresan aproximadamente al mismo tiempo dentro de la planta, y dentro del mismo tejido de la planta. Sin embargo, las secuencias de nucleótidos no necesitan ser expresados exactamente al mismo tiempo. Más bien, las dos o más secuencias de nucleótidos se expresan de una manera tal que los productos codificados tienen la oportunidad de interactuar. Por ejemplo, la proteína que modifica la glicosilación de la proteína de interés puede ser expresada ya sea antes o durante el período en que se expresa la proteína de interés por lo que tiene lugar la modificación de la glicosilación de la proteína de interés. Las dos o más de dos secuencias de nucleótidos pueden ser coexpresadas utilizando un sistema de expresión transitorio, donde se introducen las dos o más secuencias dentro de la planta más o menos al mismo tiempo en condiciones tales que ambas secuencias se expresan. Alternativamente, una planta de plataforma que comprende una de las secuencias de nucleótidos, por ejemplo la secuencia que codifica la proteína que modifica el perfil de glicosilación de la proteína de interés, se puede transformar, ya sea de manera transitoria o de manera estable, con una secuencia adicional que codifica la proteína de interés. En este caso, la secuencia que codifica la proteína que modifica el perfil de glicosilación de la proteína de interés puede ser expresada dentro de un tejido deseado, durante una etapa de desarrollo deseada, o su expresión puede ser inducida utilizando un promotor inducible, y la secuencia adicional que codifica la proteína de interés puede ser expresada bajo condiciones similares y en el mismo tejido, para asegurar que las secuencias de nucleótidos se coexpresen.

Los constructos de la presente invención pueden introducirse en células vegetales usando plásmidos Ti, plásmidos Ri, vectores de virus de plantas, transformación directa de ADN, microinyección, electroporación, infiltración, y similares. Para revisiones de tales técnicas véase por ejemplo Weissbach y Weissbach, *Methods for Plant Molecular Biology*, Academy Press, Nueva York VIII, páginas 421 - 463 (1988); Geierson y Corey, *Plant Molecular Biology*, 2da Ed. (1988); y Miki e Iyer, *Fundamentals of Gene Transfer in Plants*. En *Plant Metabolism*, 2da Ed. DT. Dennis, DH Turpin, D. D. Lefebvre, D. B. Layzell (eds), Addison-Wesley, Langmans Ltd. Londres, páginas 561 - 579 (1997). Otros métodos incluyen incorporación directa de ADN, el uso de liposomas, electroporación, por ejemplo usando protoplastos, microinyección, microproyectiles o bigotes, e infiltración al vacío. Véase, por ejemplo, Bilang, et al. (*Gene* 100: 247 - 250 (1991), Scheid et al. (*Mol. Gen. Genet.* 228: 104 - 112, 1991), Guerche et al. (*Plant Science* 52: 111 - 116, 1987), Neuhaus et al. (*Theor. Appl Genet.* 75: 30 - 36, 1987), Klein et al., *Nature* 327: 70 - 73 (1987); Howell et al. (*Science* 208: 1265, 1980), Horsch et al. (*Science* 227: 1229 - 1231, 1985), DeBlock et al., *Plant Physiology* 91: 694 - 701, 1989), *Methods for Plant Molecular Biology* (Weissbach y Weissbach, eds., Academic Press Inc., 1988), *Methods in Plant Molecular Biology* (Schuler y Zielinski, eds., Academic Press Inc., 1989), Liu y Lomonosoff (*J. Virol Meth*, 105: 343 - 348, 2002.), patentes de los Estados Unidos Nos. 4.945.050; 5.036.006; 5.100.792; 6.403.865; 5.625.136, (todos los cuales se incorporan aquí como referencia).

Se pueden utilizar métodos de expresión transitoria para expresar los constructos de la presente invención (véase Liu y Lomonosoff, 2002, *Journal of Virological Methods*, 105: 343 - 348; que se incorpora aquí como referencia). Alternativamente, se puede utilizar un método expresión transitoria con base en el vacío, como lo describen Kapila et al. 1997 (incorporado aquí como referencia). Estos métodos pueden incluir, por ejemplo, pero no se limitan a, un método de agroinoculación o agroinfiltración, sin embargo, también se pueden utilizar otros métodos transitorios como se señaló anteriormente. Ya sea con agroinoculación o agroinfiltración, una mezcla de agrobacterias que comprende el ácido nucleico deseado entra en los espacios intercelulares de un tejido, por ejemplo las hojas, la parte aérea de la planta (incluyendo el tronco, hojas y flores), otra porción de la planta (tallo, raíz, flor), o la planta completa. Después de cruzar la epidermis del *Agrobacterium* infecta y transfiere copias de ADN-t en las células. El ADN-t se transcribe de forma episomal y se traduce el ARNm, lo que conduce a la producción de la proteína de interés en las células infectadas, sin embargo, el paso del ADN-t dentro del núcleo es transitorio.

Si la secuencia de nucleótidos de interés codifica un producto que es directa o indirectamente tóxico para la planta, a

continuación, utilizando el método de la presente invención, tal toxicidad puede reducirse en toda la planta, expresando selectivamente la secuencia de nucleótidos de interés dentro de un tejido deseado o en una etapa deseada de desarrollo de la planta. Además, el período de tiempo limitado de la expresión resultante de la expresión transitoria puede reducir el efecto cuando se produce un producto tóxico en la planta. Se pueden utilizar un promotor inducible, un promotor específico del tejido o un promotor específico de la célula, para la expresión selectiva directa de la secuencia de interés.

Las VLP de HA recombinante de la presente invención se puede usar junto con vacunas existentes contra la influenza, para complementar las vacunas, volviéndolas más eficaces, y para reducir la administración de las dosificaciones necesarias. Como es sabido por una persona experta en la técnica, la vacuna puede ser dirigida contra uno o más de un virus de la influenza. Algunos ejemplos de vacunas adecuadas incluyen, pero no se limitan a, las disponibles comercialmente de Sanofi-Pasteur, ID Biomedical, Merial, Sinovac, Chiron, Roche, MedImmune, GlaxoSmithKline, Novartis, Sanofi-Aventis, Serono, Shire Pharmaceuticals y similares.

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

Por lo tanto, la presente invención proporciona un método para la inducción de inmunidad al virus de la influenza en un organismo animal u objetivo que comprende la administración de una dosis eficaz de una vacuna que comprende una o más de una VLP. La vacuna se puede administrar por vía oral, por vía intradérmica, intranasal, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, o subcutánea.

La administración de las VLP producidas de acuerdo con la presente invención se describe en el Ejemplo 6. La administración de la VLP de H5 elaborada por la planta resultó en una respuesta significativamente mayor en comparación con la administración de HA soluble (véanse las Figuras 21A y 21B).

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

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

Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición que comprende una dosis eficaz de una VLP que comprende una proteína HA de virus de la influenza, uno o más de un lípido de la planta, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La proteína HA del virus de la influenza puede ser H5 Indonesia/5/2006, A/Brisbane/50/2007, A/Islas Salomón 3/2006, A/Brisbane/10/2007, A/Wisconsin/67/2005, B/Malasia/2506/2005, B/Florida/4/2006, A/Singapur/1/57, A/Anhui/1/2005, A/Vietnam/1194/2004, A/Cerceta/Hong Kong/W312/97, A/Equino/Praga/56, A/California/04/09 (H1N1) o A/Hong-Kong/1073/99. También se proporciona un método para inducir inmunidad a una infección por virus de la influenza en un sujeto. El método comprende la administración de la partícula similar a un virus que comprende una proteína HA del virus de la influenza, uno o más de un lípido de la planta, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La partícula similar a un virus se puede administrar a un sujeto por vía oral, por vía intradérmica, intranasal, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, o subcutánea.

Las composiciones de acuerdo con diversas realizaciones de la invención pueden comprender las VLP de dos o más cepas o subtipos de la influenza. "Dos o más" se refiere a dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, 10 o más cepas o subtipos. Las cepas o subtipos representados pueden ser de un solo subtipo (por ejemplo, todos H1N1, o todos H5N1), o pueden ser una combinación de subtipos. Los ejemplos de subtipos y cepas incluyen, pero no se limitan a, aquellos descritos en el presente documento (por ejemplo, A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1), A/Indonesia/5/2006 (H5N1), A/pollo/Nueva York/1995, A/gaviota arenquera/DE/677/88 (H2N8), A/Texas/32/2003, A/pato/MN/33/00, A/pato/Shanghai/1/2000 A/ánade rabudo/TX/828189/02, A/Turquía/Ontario/6118/68 (H8N4), A/pato cuchara/Irán/G54/03, A/pollo/Alemania/N/1949 (H10N7), A/pato/Inglaterra/56 (H11N6), A/pato/Alberta/60/76 (H12N5), A/Gaviota/Maryland/704/77 (H13N6), A/Ánade real/Gurjev/263/82, A/pato/Australia/341/83 (H15N8), A/gaviota de cabeza negra/Suecia/5/99 (H16N3), B/Lee/40, C/Johannesburgo/66, A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Islas Salomón 3/2006 (H1N1), A/Brisbane 10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006, A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Equino/Praga/56 (H7N7), A/California/04/09 (H1N1) o A/Hong Kong/1073/99 (H9N2)).

- 5 La elección de la combinación de cepas y subtipos puede depender de la zona geográfica de los sujetos susceptibles a ser expuestos a la influenza, la proximidad de especies animales a una población humana que va a ser inmunizada (por ejemplo, especies de aves acuáticas, animales de granja tales como cerdos, etc.) y las cepas que portan, están expuestos a, o puedan estar expuestos a, las predicciones de la deriva antigénica dentro de subtipos o cepas, o combinaciones de estos factores. Los ejemplos de combinaciones utilizadas en años anteriores se encuentran disponibles (véase URL: who.int/csr/disease/influenza/vaccine_recomendaciones1/en). Algunas o todas estas cepas se pueden emplear en las combinaciones mostradas, o en otras combinaciones, en la producción de una composición de vacuna.
- 10 Más particularmente, se pueden incluir ejemplos de combinaciones de las VLP a partir de dos o más cepas o subtipos seleccionados de entre el grupo que comprende: A/California/04/09 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), un virus similar a A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Brisbane/10/2007 (H3N2), un virus similar a A/Brisbane/10/2007 (H3N2), B/Florida/4/2006 o un virus similar a B/Florida/4/2006.
- 15 Otro ejemplo de combinación puede incluir las VLP a partir de dos o más cepas o subtipos seleccionados del grupo que comprende A/Indonesia/5/2005, un virus similar a A/Indonesia/5/2005, A/Vietnam/1194/2004, un virus similar a A/Vietnam/1194/2004, A/Anhui/1/05, un virus similar a A/Anhui/1/05, A/Oca/Guiyang/337/2006, un virus similar a A/Oca/Guiyang/337/2006, A/pollo/Shanxi/2/2006, un virus similar a A/pollo/Shanxi/2/2006, A/California/04/09 (H1N1) o un virus similar a A/California/04/09 (H1N1).
- Otro ejemplo de combinación puede incluir las VLP de las cepas de influenza A/pollo/Italia/13474/99 (tipo H7) o A/Pollo/Columbia Británica/04 (H7N3).
- 20 Otro ejemplo de combinación puede incluir las VLP de A/pollo/Hong Kong/G9/97 o A/Hong Kong/1073/99. Otro ejemplo de combinación puede comprender las VLP de A/Islas Salomón/3/2006. Otro ejemplo de combinación puede comprender las VLP de A/Brisbane/10/2007. Otro ejemplo de combinación puede comprender las VLP de A/Wisconsin/67/2005. Otro ejemplo de combinación puede comprender las VLP de las cepas o subtipos B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006 o B/Brisbane/3/2007.
- 25 Las dos o más VLP pueden ser expresadas de forma individual, y las VLP purificadas o semipurificadas posteriormente combinadas. Alternativamente, las VLP pueden ser coexpresadas en el mismo huésped, por ejemplo una planta. Las VLP se pueden combinar o producir en una relación deseada, por ejemplo aproximadamente razones equivalentes, o se pueden combinar de tal manera que uno o subtipo o cepa comprende la mayoría de las VLP en la composición.
- 30 Por lo tanto, la invención proporciona composiciones que comprenden las VLP de dos o más cepas o subtipos.
- 35 Las VLP de virus en envoltura generalmente adquieren su envoltura de la membrana de la que brotan. Las membranas plasmáticas de la planta tienen un complemento de fitoesteroles que puedan tener efectos inmunoestimuladores. Para investigar esta posibilidad, se administraron las VLP de H5 producidas por plantas a animales en presencia o en ausencia de un adyuvante, y la HAI (respuesta de anticuerpos para inhibición de la hemaglutinación) determinada (Figuras 22A, 22B). En ausencia de un adyuvante añadido, las VLP de H5 producidas por plantas, demuestran una HAI significativa, indicativo de una respuesta inmune sistémica a la administración del antígeno. Además, los perfiles de isotipos de anticuerpos de las VLP administradas en presencia o en ausencia de adyuvante son similares (Figura 23A).

La Tabla 5 enumera secuencias proporcionadas en diversas realizaciones de la invención.

40 Tabla 5: Descripción de la secuencia de identificadores de secuencia.

SEQ ID No.	Descripción de la secuencia	En la divulgación
1	fragmento H1 del terminal N	Figura 4a
2	fragmento H1 del terminal C	Figura 4b
3	secuencia de codificación de H5	Figura 6
4	cebador Plato-443c	Figura 7a
5	cebador SpHA(Ind)-Plasto.r	Figura 7b

(continuación)

SEQ ID No.	Descripción de la secuencia	En la divulgación
6	cebador Plasto-SpHA(Ind).c	Figura 7c
7	cebador HA(Ind)-Sac.r	Figura 7d
8	Secuencia del casete de expresión con base en plastocianina de alfalfa usada para la expresión de H1	Figura 1
9	secuencia peptídica de HA1 (A/Nueva Caledonia/20/99)	Figura 8a
10	secuencia peptídica de HA5 (A/Indonesia/5/2006)	Figura 8b
11	Secuencia de codificación del subtipo H7 de influenza A (A/pollo/Nueva York/1995)	Figura 9
12	Secuencia de codificación del subtipo H2 de influenza A (A/gaviota arenquera/DE/677/88 (H2N8))	Figura 10a
13	Secuencia de codificación del subtipo H3 de influenza A (A/Texas/32/2003)	Figura 10b
14	Secuencia de codificación del subtipo H4 de influenza A (A/ánade real/MN/33/00)	Figura 10c
15	Secuencia de codificación del subtipo H5 de influenza A (A/pato/Shanghái/1/2000)	Figura 10d
16	Secuencia de codificación del subtipo H6 de influenza A (A/ánade rabudo/TX/828189/02)	Figura 10e
17	Secuencia de codificación del subtipo H8 de influenza A (A/Turquía/Ontario/6118/68(H8N4))	Figura 10f
18	Secuencia de codificación del subtipo H9 de influenza A (A/pato cuchara/Irán/G54/03)	Figura 10g
19	Secuencia de codificación del subtipo H10 de influenza A (A/pollo/Alemania/N/1949(H10N 7))	Figura 10h
20	Secuencia de codificación del subtipo H11 de influenza A (A/pato/Inglaterra/56(H11N6))	Figura 10i
21	Secuencia de codificación del subtipo H12 de influenza A (A/pato/Alberta/60/76(H12N5))	Figura 10j
22	Secuencia de codificación del subtipo H13 de influenza A (A/Gaviota/Maryland/704/77(H13N6))	Figura 10k
23	Secuencia de codificación del subtipo H14 de influenza A (A/Ánade real/Gurjev/263/82)	Figura 10l
24	Secuencia de codificación del subtipo H15 de influenza A (A/pato/Australia/341/83 (H15N8))	Figura 10m
25	Secuencia de codificación del subtipo H16 de influenza A (A/gaviota de cabeza negra/Suecia/5/99(H16N3))	Figura 10n
26	secuencia de codificación de HA de influenza B (B/Lee/40)	Figura 10o

(continuación)

SEQ ID No.	Descripción de la secuencia	En la divulgación
27	secuencia de codificación de HA de influenza C (C/Johannesburgo/66)	Figura 10p
28	secuencia de H1 de HAO completa	Figura 5
29	Cebador XmaI-pPlas.c	Figura 10q
30	Cebador SacI-ATG-pPlas.r	Figura 10r
31	Cebador SacI-PlasTer.c	Figura 10s
32	Cebador EcoRI-PlasTer.r	Figura 10t
33	A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1), GenBank Acceso No. AY289929	Figura 16
34	proteína disulfuro isomerasa de <i>M. Sativa</i> , GenBank Acceso No. Z11499	Figura 17
35	A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), GenBank Acceso No. NC_002016.1	Figura 18
36	Clon 774: ADN de DraIII hasta SacI que comprende una región reguladora de plastocianina operativamente enlazada a una secuencia que codifica HA de A/Brisbane/59/2007 (H1N1)	Figura 28
37	Clon 775: ADN de DraIII hasta SacI que comprende una región reguladora de plastocianina operativamente enlazada a una secuencia que codifica HA de A/Isas Salomón 3/2006 (H1N1)	Figura 29
38	Clon 776: ADN de DraIII hasta SacI que comprende una región reguladora de plastocianina operativamente enlazada a una secuencia que codifica HA de A/Brisbane 10/2007 (H3N2)	Figura 30
39	Clon 777: ADN de DraIII hasta SacI que comprende una región reguladora de plastocianina operativamente enlazada a una secuencia que codifica HA de A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)	Figura 31
40	Clon 778: ADN de DraIII hasta SacI que comprende una región reguladora de plastocianina operativamente enlazada a una secuencia que codifica HA de B/Malaysia/2506/2004	Figura 32
41	Clon 779: ADN de DraIII hasta SacI que comprende una región reguladora de plastocianina operativamente enlazada a una secuencia que codifica HA de B/Florida/4/2006	Figura 33
42	Clon 780: ADN de DraIII hasta SacI que comprende una región reguladora de plastocianina operativamente enlazada a una secuencia que codifica HA de A/Singapur/1/57 (H2N2)	Figura 34
43	Clon 781: ADN de DraIII hasta SacI que comprende una región reguladora de plastocianina operativamente enlazada a una secuencia que codifica HA de A/Anhui/1/2005 (H5N1)	Figura 35
44	Clon 782: ADN de DraIII hasta SacI que comprende una región reguladora de plastocianina operativamente enlazada a una secuencia que codifica HA de A/Vietnam/1194/2004 (H5N1)	Figura 36
45	Clon 783: ADN de DraIII hasta SacI que comprende una región reguladora de plastocianina operativamente enlazada a una secuencia que codifica HA de A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1)	Figura 37

(continuación)

SEQ ID No.	Descripción de la secuencia	En la divulgación
46	Clon 784: ADN de DraIII hasta SacI que comprende una región reguladora de plastocianina operativamente enlazada a una secuencia que codifica HA de A/Equino/Praga/56 (H7N7)	Figura 38
47	Clon 785: ADN de DraIII hasta SacI que comprende una región reguladora de plastocianina operativamente enlazada a una secuencia que codifica HA de A/Hong Kong/1073/99 (H9N2)	Figura 39
48	Clon 774 Secuencia de aminoácidos de HA de A/Brisbane/59/2007 (H1N1)	Figura 40A
49	Clon 775 Secuencia de aminoácidos de HA de A/Islas Salomón 3/2006 (H1N1)	Figura 40B
50	Clon 776 Secuencia de aminoácidos de HA de A/Brisbane 10/2007 (H3N2)	Figura 41A
51	Clon 777 Secuencia de aminoácidos de HA de A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)	Figura 41B
52	Clon 778 Secuencia de aminoácidos de HA de B/Malasia/2506/2004	Figura 42A
53	Clon 779 Secuencia de aminoácidos de HA de B/Florida/4/2006	Figura 42B
54	Clon 780 Secuencia de aminoácidos de HA de A/Singapur/1/57 (H2N2)	Figura 43A
55	Clon 781 Secuencia de aminoácidos de HA de A/Anhui/1/2005 (H5N1)	Figura 43B
56	Clon 782 Secuencia de aminoácidos de HA de A/Vietnam/1194/2004 (H5N1)	Figura 44A
57	Clon 783 Secuencia de aminoácidos de HA de A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1)	Figura 44B
58	Clon 784 Secuencia de aminoácidos de HA de A/Equino/Praga/56 (H7N7)	Figura 45A
59	Clon 785 Secuencia de aminoácidos de HA de A/Hong Kong/1073/99 (H9N2)	Figura 45B
60	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H5 de A/Indonesia/5/2005 (Constructo # 660) , 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras	Figura 51
61	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H1 de A/Nueva Caledonia/20/1999 (Constructo # 540) , 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras	Figura 52
62	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H1 de A/Brisbane/59/2007 (constructo #774) , 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras	Figura 53
63	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H1 de A/Islas Salomón/3/2006 (H1N1) (constructo #775) , 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras	Figura 54
64	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H2 de A/Singapur/1/57 (H2N2) (constructo # 780) , 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras	Figura 55

(continuación)

SEQ ID No.	Descripción de la secuencia	En la divulgación
65	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H5 de A/Anhui/1/2005 (H5N1) (Constructo # 781) , 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras	Figura 56
66	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H5 de A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) (Constructo # 782) , 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras	Figura 57
67	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H6 de A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1) (Constructo # 783) , 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras	Figura 58
68	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H9 de A/Hong Kong/1073/99 (H9N2) (Constructo # 785) , 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras	Figura 59
69	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H3 de A/Brisbane/10/2007 (H3N2) , 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras	Figura 60
70	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H3 de A/Wisconsin/67/2005 (H3N2) , 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras	Figura 61
71	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H7 de A/Equino/Praga/56 (H7N7) , 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras	Figura 62
72	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de HA de B/Malasia/2506/2004 , 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras	Figura 63
73	Casete de expresión de HA que comprende al promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de HA de B/Florida/4/2006 , 3' UTR de plastocianina de alfalfa y secuencias terminadoras	Figura 64
74	Secuencia de aminoácidos de consenso de la SEQ ID NO: 49, 48, 33 y 9	Figura 65
75	Secuencia de aminoácidos de H1 Nueva Caledonia (AAP34324.1) codificada por la SEQ ID NO: 33	Figura 66
76	Secuencia de aminoácidos de H1 Puerto Rico (NC_0409878.1) codificada por la SEQ ID NO: 35□	Figura 67
77	pBinPlus.2613c	AGGAAGGGAAGAAA GCGAAAGGAG

(continuación)

SEQ ID No.	Descripción de la secuencia	En la divulgación
78	Mut-ATG115.r	GTGCCGAAGCACGAT CTGACAACGTTGAAG ATCGCT <u>CAC</u> GCAAGA AAGACAAGAGA
79	Mut-ATG161.c	GTTGTCAGATCGTGC TTCGGCACCAGTACA <u>ACG</u> TTTTCTTCACTG AAGCGA
80	LC-C5-1.110r	TCTCCTGGAGTCACA GACAGGGTGG
81	Casete de expresión número 828, de PacI (promotor secuencia arriba) hasta Ascl (inmediatamente secuencia arriba del terminador NOS).	Figura 68
82	SpPDI-HA(Ind).c	GTTCTTCTCAGATCT TCGCTGATCAGATT GCATGGTTACCATG CA
83	Constructo número 663, de HindIII (en el sitio de clonación múltiple, secuencia arriba del promotor de plastocianina) hasta EcoRI (inmediatamente secuencia abajo del terminador de plastocianina).	Figura 69
84	SpPDI-H1B.c	<u>TCTCAGATCTTCG</u> CTGACACAATATGT ATAGGCTACCATGC TAACAAC
85	SacI-H1B.r	<u>CTTAGAGCTCTTAG</u> ATGCATATTCTACA CTGTAAAGACCCAT TGGAA
86	Constructo número 787, de HindIII (en el sitio de clonación múltiple, secuencia arriba del promotor de plastocianina) hasta EcoRI (inmediatamente secuencia abajo del terminador de plastocianina)	Figura 70
87	H3B-SpPDI.r	TGTCATTCCGGGA AGTTTTTG <u>AGCGAA</u> <u>GATCTGAGAAGGA</u> ACCA
88	SpPDI-H3B.c	<u>TCTCAGATCTTCG</u> <u>CTCAAAAACTCCC</u> GGAAATGACAACA GCACG
89	H3(A-Bri).982r	TTGCTTAACATATC TGGGACAGG
90	Constructo número 790, de HindIII (en el sitio de clonación múltiple, secuencia arriba del promotor de plastocianina) hasta EcoRI (inmediatamente secuencia abajo del terminador de plastocianina).	Figura 7
91	HBf-SpPDI.r	GTTATTCCAGTGCA GATTTCGATC <u>AGCGA</u> <u>AGATCTGAGAAGG</u> <u>AACCAACAC</u>

(continuación)

SEQ ID No.	Descripción de la secuencia	En la divulgación
92	SpPDI-HBF.c	<u>CAGATCTTCGCTGA</u> TCGAATCTGCACTG GAATAACATCTTCA AACTCACC
93	Plaster80r	CAAATAGTATTTCA TAACAACAACGATT
94	Constructo número 798, de HindIII (en el sitio de clonación múltiple, secuencia arriba del promotor de plastocianina) hasta EcoRI (inmediatamente secuencia abajo Del terminador de plastocianina).	Figura 72
95	Apal-SpPDI.c	<u>TTGTCGGGCCCCAT</u> GGCGAAAAACGTT GCGATTTTCGGCTT ATTGT
96	StuI-H1(A-NC).r	<u>AAAATAGGCCTTT</u> AGATGCATATTCTA CACTGCAAAGACCC A
97	Constructo número 580, de PaeI (secuencia arriba del promotor 35S) hasta AscI (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS).	Figura 73
98	Apal-H5 (A-Indo).1c	<u>TGTCGGGCCCCATG</u> GAGAAAATAGTGCT TCTTCTTGCAAT
99	H5 (A-Indo)-StuI.1707r	<u>AAATAGGCCTTTA</u> AATGCAAATTCTGC ATTGTAACGA
100	Constructo número 685, de PaeI (secuencia arriba del promotor 35S) hasta AscI (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS).	Figura 74
101	Constructo número 686, de PaeI (secuencia arriba del promotor 35S) hasta AscI (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS)	Figura 75
102	Apal-H1B.c	<u>TGTCGGGCCCCATG</u> AAAGTAAACTACT GGTCCTGTTATGCA CATT
103	StuI-H2B.r	<u>AAATAGGCCTTTA</u> GATGCATATTCTAC ACTGTAAAGACCCA TTGGA
104	Constructo 732, de PaeI (secuencia arriba del promotor 35S) hasta AscI (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS).	Figura 76
105	Constructo número 733, de PaeI (secuencia arriba del promotor 35S) hasta AscI (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS).	Figura 77

(continuación)

SEQ ID No.	Descripción de la secuencia	En la divulgación
106	Apal-H3B.c	TTGTCGGGCCCCAT GAAGACTATCATTG CTTTGAGCTACATT CTATGTC
107	Stul-H3B.r	AAAATAGGCCTTC AAATGCAAATGTTG CACCTAATGTTGCC TTT
108	Constructo número 735, de PacI (secuencia arriba del promotor 35S) hasta Ascl (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS).	Figura 78
109	Constructo número 736, de PacI (secuencia arriba del promotor 35S) hasta Ascl (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS).	Figura 79
110	Apl-HBF.c	TTGTCGGGCCCCAT GAAGGCAATAATTG TACTACTCATGGTA GTAAC
111	Stul-HBF.r	AAAATAGGCCTTT ATAGACAGATGGA GCATGAAACGTTGT CTCTGG
112	Constructo número 738, de PacI (secuencia arriba del promotor 35S) hasta Ascl (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS).	Figura 80
113	Constructo número 739, de PacI (secuencia arriba del promotor 35S) hasta Ascl (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS).	Figura 81
114	Secuencia de codificación de Msj1 de <i>M. Sativa</i>	Figura 82
115	Hsp-40Luz.lc	ATGTTTGGGCGCGG ACCAAC
116	Hsp40Luz-Sacl.1272r	AGCTGAGCTCCTAC TGTTGAGCGCATTG CAC
117	Hsp40Luz-Plasto.r	GTTGGTCCGCGCCC AAACATTTCTCTC AAGATGAT
118	Hsp70Ara-Sacl.1956r	ATGTCGGGTAAAGG AGAAGGA
119	Hsp70Ara-Plasto.r	AGCTGAGCTCTTAG TCGACCTCCTCGAT CTTAG
120	Constructo número 739, de PacI (secuencia arriba del promotor 35S) hasta Ascl (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS).	TCCTTCTCCTTTACC CGACATTTCTCTC AAGATGAT
121	Constructo número R850, de HindIII (en el sitio de clonación múltiple, secuencia arriba del promotor) hasta EcoRI (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS).	Figura 83

(continuación)

SEQ ID No.	Descripción de la secuencia	En la divulgación
122	Constructo número R860, de HindIII (en el sitio de clonación múltiple, secuencia arriba del promotor) hasta EcoRI (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS)	Figura 84
123	Constructo número R870, de HindIII (en el sitio de clonación múltiple, secuencia arriba del promotor) hasta EcoRI (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS).	Figura 85
124	supP19-plasto.r	CCTTGTATAGCTCG TTCCATTTTCTCTCA AGATG
125	supP19-1c	ATGGAACGAGCTAT ACAAGG
126	SupP19-SacI.r	AGTCGAGCTCTTAC TCGCTTTCTTTTTCG AAG
127	Secuencia de nucleótidos del casete de expresión basado en CPMV-HT para H1 de A/California/04/09 (casete número 560).	Figura 92A
128	Secuencia de aminoácidos de H1 de A/California/04/09	Figura 92B
129	Promotor 2x35S	Figura 93
130	cebador PacI - <u>MCS</u> -2X35S.c	AATTGTTAATTAAG TCGACAAGCTTGCA TGCCTGCAGGTCAA C
131	cebador CPMV 5'UTR- <u>2X35S</u> .r	TCAAAACCTATTAA GATTTTAATACCTC TCCAAATGAAATGA ACTTCC
132	cebador <u>2X35S</u> -CPMV 5'UTR.c	TTGGAGAGGTATTA AAATCTTAATAGGT TTGATAAAAGCGA ACGTGGG
133	cebador Apal -M prot.r	TCTCCATGGGCCCCG ACAAATTTGGGCAG AATATACAGAAGCT TA
134	vector intermediario 972	Figura 94
135	H1 de A/California/4/2009	Figura 95
136	porción de CPMV M (sitio de restricción de DraIII hasta Apal), péptido señal de PDISP de alfalfa, HA0 de hemaglutinina de A/California/4/2009 con el sitio de restricción SacI y StuI mutado	Figura 96
137	Fragmento 1	Figura 97

(continuación)

SEQ ID No.	Descripción de la secuencia	En la divulgación
138	Fragmento 2	Figura 97
139	Fragmento 3	Figura 97
140	cebador <u>Dralll</u> -MProt#2.c	ATGCTAATATCACG TAGTGCGGCGCCAT TAAATAACGTGTAC TTGTCC
141	cebador H1 Cal.390r	GCTTAATTGCTCTC TTAGCTCCTCATAA TCGATGAAATCTCC
142	cebador H1 Cal.310c	TGGAAACACCTAGT TCAGACAATGGAAC GTGTTACCCAGGAG
143	cebador H1 Cal.1159r	CTGCATATCCTGAC CCCTGCTCATTTTG ATGGTGATAACCGT
144	cebador H1 Cal.1081c	TTGAAGGGGGGTG GACAGGGATGGTA GATGGATGGTACGG TT
145	cebador <u>Stul</u> -H1 Cal.r	TATTAGGCCTTTAA ATACATATTCTACA CTGTAGAGACCCAT TAG
146	SpPDI-H1 A/California/4/2009 (en el casete de expresión 2X35S/ CPMV-HT) constructo 560	Figura 98

La invención se describirá ahora en detalle a modo de referencia sólo para los siguientes ejemplos no limitativos.

5 Métodos y materiales

1. Montaje de casetes de expresión con base en plastocianina para HA nativa

10 Todas las manipulaciones se realizaron utilizando los protocolos generales de biología molecular de Sambrook y Russell (2001; que se incorpora aquí como referencia). La primera etapa de clonación consistió en el montaje de un plásmido receptor que contiene elementos reguladores secuencia arriba y secuencia abajo del gen de plastocianina de alfalfa. El promotor de plastocianina y las secuencias 5'UTR fueron amplificados a partir de ADN genómico de alfalfa usando los cebadores de oligonucleótidos XmaI-pPlas.c (SEQ ID NO: 29; Figura 10Q) y SacI-ATG-pPlas.r (SEQ ID NO: 30; Figura 10R). El producto de amplificación resultante fue digerido con XmaI y SacI y se ligó en pCAMBIA2300 (Cambia, Canberra, Australia), previamente digerido con las mismas enzimas, para crear el pCAMBIApromoPlasto. Del mismo modo, se amplificaron las secuencias 3'UTR y el terminador del gen de plastocianina a partir del ADN genómico de alfalfa utilizando los siguientes cebadores: SacI-PlasTer.c (SEQ ID NO: 31; Figura 10S) y EcoRI-PlasTer.r (SEQ ID NO: 32; Figura 10T), y se digirió el producto con SacI y EcoRI antes de ser insertado en los mismos sitios de pCAMBIApromoPlasto para crear pCAMBIAPlasto.

20 Se sintetizó un fragmento que codifica la hemaglutinina de la cepa de la influenza A/Indonesia/5/05 (H5N1; Acc. No. LANL ISDN125873) mediante Epoch Biolabs (Sugar Land, TX, EE.UU). El fragmento producido, que contiene la región de codificación completa de H5 incluyendo el péptido señal nativo flanqueado por un sitio HindIII

inmediatamente secuencia arriba del ATG inicial, y un sitio SacI inmediatamente secuencia abajo del codón de detención (TAA), se presenta en la SEQ ID NO: 3 (Figura 6). Se clonó la región codificante de H5 en un casete de expresión basado en plastocianina por el método de ligadura basado en PCR presentado en Darveau et al. (1995). En resumen, se obtuvo una primera amplificación por PCR usando los cebadores Plato-443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y SpHA(Ind)-Plasto.r (SEQ ID NO: 5; Figura 7B) y pCAMBIAPromoPlasto como plantilla. En forma paralela, se llevó a cabo una segunda amplificación con los cebadores Plasto-SpHA(Ind).c (SEQ ID NO: 6; Figura 7C) y HA(Ind)-Sac.r (SEQ ID NO: 7; Figura 7D) con el fragmento de codificación de H5 como plantilla. Se mezcló la amplificación obtenida a partir de ambas reacciones y la mezcla sirvió como plantilla para una tercera reacción (reacción de ensamblaje) usando Plato-443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y HA(Ind)-Sac.r (SEQ ID NO: 7; Figura 7D) como cebadores. El fragmento resultante se digirió con BamHI (en el promotor de plastocianina) y SacI (en el extremo 3' del fragmento) y se clonó en pCAMBIAPlasto previamente digerido con las mismas enzimas. El plásmido resultante, denominado 660, se presenta en la Figura 2B (véase también la Figura 11).

Se ensamblaron los casetes de expresión de hemaglutinina números 774 a 785 de la siguiente manera. Se sintetizó un fragmento sintético que comprende la secuencia de codificación completa de la hemaglutinina (desde ATG hasta detención) flanqueado en 3' por las secuencias del gen de plastocianina de alfalfa correspondientes a los primeros 84 nucleótidos secuencia arriba del ATG de plastocianina y terminando con un sitio de restricción DralIII. Los fragmentos sintéticos también comprendían un sitio SacI inmediatamente después del codón de detención.

Los fragmentos sintéticos de hemaglutinina fueron sintetizados por Top Gen Technologies (Montreal, QC, Canadá), Epoch Biolabs (Sugar Land, TX, EE.UU.). Los fragmentos sintetizados se representan en las Figuras 28 a 39 y corresponden a la SEQ ID NO: 36 hasta la SEQ ID NO: 47. Para el montaje de los casetes de expresión completos, se digirieron los fragmentos sintéticos con DralIII y SacI y se clonaron en pCAMBIAPlasto previamente digeridos con las mismas enzimas. La Tabla 6 presenta los casetes producidos con el correspondiente HA y otras referencias en el texto.

Tabla 6: Casetes de expresión de hemaglutinina ensamblados a partir de fragmentos sintéticos de DralIII - SacI

Número de casete	HA correspondiente	Fragmento sintético		Casete completo	
		Figura	SEQ ID NO del fragmento sintético	Figura	SEQ ID NO del casete final
774	HA de A/Brisbane/59/2007 (H1N1)	28	36	53	62
775	HA de A/Islas Salomón 3/2006 (H1N1)	29	37	54	63
776	HA de A/Brisbane 10/2007 (H3N2)	30	38	60	69
777	HA de A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)	31	39	61	70
778	HA de B/Malasia/2506/2004	32	40	63	72
779	HA de B/Florida/4/2006	33	41	64	73
780	HA de A/Singapur/1/57 (H2N2)	34	42	55	64
781	HA de A/Anhui/1/2005 (H5N1)	35	43	56	65
782	HA de A/Vietnam/1194/2004 (H5N1)	36	44	57	66
783	HA de A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1)	37	45	58	67
784	HA de A/Equino/Praga/56 (H7N7)	38	46	62	71
785	HA de A/Hong Kong/1073/99 (H9N2)	39	47	59	68

Montaje de casetes de expresión de fusión de PDISP/HA con base en plastocianina

H1 de A/Nueva Caledonia/20/99 (número del constructo 540)

El marco de lectura abierto del gen para H1 de la cepa de influenza A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1) se sintetizó en dos fragmentos (Plant Biotechnology Institute, National Research Council, Saskatoon, Canadá). Un primer fragmento sintetizado corresponde a la secuencia de codificación de H1 de tipo silvestre (GenBank acceso No. AY289929; SEQ ID NO: 33; Figura 16) que carece de la secuencia de codificación del péptido señal en el extremo 5' y la secuencia de codificación del dominio transmembrana en el extremo 3'. Se añadió un sitio de restricción BglII en el extremo 5' de la secuencia de codificación y un sitio dual SacI/StuI inmediatamente secuencia abajo del codón de detención en el extremo 3' del fragmento, para producir la SEQ ID NO: 1 (Figura 5A). También se sintetizó un segundo fragmento que codifica el extremo del terminal C de la proteína H1 (que comprende un dominio transmembrana y una cola citoplasmática) desde el sitio KpnI hasta el codón de detención, y flanqueado en 3' por sitios de restricción SacI y StuI (SEQ ID NO: 2; Figura 5B).

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

H5 de A/Indonesia/5/2005 (constructo número 663)

El péptido señal de la proteína disulfuro isomerasa de la alfalfa (PDISP) (nucleótidos 32 - 103; Acceso No. Z11499; SEQ ID NO: 34; Figura 17) estaba enlazado a la secuencia de codificación de HA0 de H5 de A/Indonesia/5/2005 de la siguiente forma. Se amplificó la secuencia de codificación de H5 con los cebadores SpPDI-HA(Ind).c (SEQ ID NO: 82) y HA(Ind)-SacI.r (SEQ ID NO: 7; Figura 7D) utilizando el constructo número 660 (SEQ ID NO: 60; Figura 51) como plantilla. El fragmento resultante consistía en la secuencia de codificación de H5 flanqueada, en 5', por los últimos nucleótidos que codifican PDISP (incluyendo un sitio de restricción BglII), y en 3', por un sitio de restricción SacI. El fragmento fue digerido con BglII y SacI y se clonó dentro del constructo número 540 (SEQ ID NO: 61; Figura 52) previamente digerido con las mismas enzimas de restricción. El casete final, número llamado constructo número 663 (SEQ ID NO: 83), se presenta en la Figura 69.

H1 de A/Brisbane/59/2007 (constructo 787)

El péptido señal de la proteína disulfuro isomerasa de la alfalfa (PDISP) (nucleótidos 32 - 103; Acceso No. Z11499; SEQ ID NO: 34; Figura 17) estaba enlazado a la secuencia de codificación de H1 de A/Brisbane HA0/59/2007 de la siguiente forma. La secuencia de codificación H1 se amplificó con los cebadores SpPDI-H1B.c (SEQ ID NO: 84) y SacI-H1B.r (SEQ ID NO: 85) utilizando la construcción de 774 (SEQ ID NO: 62; Figura 53) como plantilla. El fragmento resultante consistía en la secuencia de codificación flanqueada H1, en 5', por los últimos nucleótidos que codifican PDISP (incluyendo un sitio de restricción BglII), y en 3', por un sitio de restricción SacI. El fragmento fue digerido con BglII y SacI y se clonó en número constructo 540 (SEQ ID NO: 61; Figura 52) previamente digerido con las mismas enzimas de restricción. El casete final, número llamado constructo 787 (SEQ ID NO: 86), se presenta en la Figura 70.

H3 de A/Brisbane/10/2007 (constructo número 790)

El péptido señal de la proteína disulfuro isomerasa de la alfalfa (PDISP) (nucleótidos 32 a 103; Acceso No. Z11499; SEQ ID NO: 34; Figura 17) estaba enlazado a la secuencia de codificación de HA0 de H3 de A/Brisbane HA0/10/2007 de la siguiente forma. PDISP estaba enlazado a la secuencia de codificación de H3 por el método de ligadura basado en PCR presentado en Darveau et al. (Methods in Neuroscience 26: 77 - 85 (1995)). En una primera ronda de PCR, se amplificó un segmento del promotor de plastocianina fusionado a PDISP usando los cebadores Plasto-443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y H3B-SpPDI.r (SEQ ID NO: 87) con el constructo 540 (SEQ ID NO: 61; Figura 52) como plantilla. En forma paralela, se amplificó otro fragmento que contiene una porción de la secuencia de codificación de H3 de A/Brisbane/10/2007 (desde el codón 17 hasta el sitio de restricción SpeI) con cebadores SpPDI-H3B.c (SEQ ID NO: 88) y H3(A-Bri).982r (SEQ ID NO: 89) utilizando el constructo 776 (SEQ ID NO: 69; Figura 60) como plantilla. Se mezclaron luego los productos de amplificación y se usaron como plantilla para una segunda ronda de amplificación (reacción de ensamblaje) con cebadores Plasto-443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y H3(A-Bri).982r (SEQ ID NO: 89). El fragmento resultante se digirió con BamHI (en el promotor de plastocianina) y SpeI (en la secuencia de codificación de H3) y se clonó en el constructo número 776 (SEQ ID NO: 69; Figura 60), previamente digerido con las mismas enzimas de restricción para producir el constructo número 790 (SEQ ID NO: 90). El constructo se presenta en la Figura 71.

HA de B/Florida/4/2006 (constructo número 798)

El péptido señal de la proteína disulfuro isomerasa de la alfalfa (PDISP) (nucleótidos 32 - 103; Acceso No. Z11499; SEQ ID NO: 34; Figura 17) estaba enlazado a la secuencia de codificación de HA0 de HA de B/Florida/4/2006 por el método de ligación basado en la PCR presentado en Darveau et al. (Methods in Neuroscience 26: 77 - 85 (1995)). En una primera ronda de amplificación, se amplificó una porción del promotor de plastocianina fusionado a la PDISP usando los cebadores Plasto-443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y HBF-SpPDI.r (SEQ ID NO: 91) con un constructo número 540 (SEQ ID NO: 61; Figura 52) como plantilla. En forma paralela, se amplificó otro fragmento que contiene una porción de la secuencia de codificación de HB B/Flo fusionada con el terminador de plastocianina con los cebadores SpPDI-HBF.c (SEQ ID NO: 92) y Plaster80r (SEQ ID NO: 93) utilizando el constructo número 779 (SEQ ID NO: 73; Figura 64) como plantilla. Los productos de la PCR se mezclaron a continuación y se utilizaron como plantilla para una segunda ronda de amplificación (reacción de ensamblaje) con cebadores Plasto-443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y Plaster80r (SEQ ID NO: 93). El fragmento resultante se digirió con BamHI (en el promotor de plastocianina) y AflII (en la secuencia de codificación de HA de B/Florida/4/2006) y se clonó en el constructo número 779 (SEQ ID NO: 73; Figura 64), previamente digerido con la mismas enzimas de restricción para producir el constructo número 798 (SEQ ID NO: 94). El casete de expresión resultante se presenta en la Figura 72.

Montaje de casetes de expresión con base en CPMV-HT

Los casetes de expresión CPMV-HT utilizan el promotor 35S para controlar la expresión de un ARNm que comprende una secuencia de codificación de interés flanqueada, en 5' por los nucleótidos 1 - 512 del ARN2 del virus del mosaico del caupí (CPMV) con ATG mutado en las posiciones 115 y 161 y en 3', por los nucleótidos 3.330 - 3.481 del ARN2 del CPMV (correspondientes a la 3' UTR), seguido por el terminador NOS. Se utilizó el plásmido pBD-CS-1LC, (Sainsbury et al. 2008; Plant Biotechnology Journal. 6: 82 - 92 y la publicación PCT WO 2007/135480), para el montaje de casetes de expresión de hemaglutinina basados en CPMV-HT. La mutación de ATG en la posición 115 y 161 del ARN2 del CPMV se realizó utilizando un método de ligación basado en la PCR presentado en Darveau et al. (Methods in Neuroscience 26: 77 - 85 (1995)). Se llevaron a cabo dos PCR independientes usando PBD-C5-1LC como plantilla. Los cebadores para la primera amplificación son pBinPlus.2613c (SEQ ID NO: 77) y Mut-ATG115.r (SEQ ID NO: 78). Los cebadores para la segunda amplificación fueron Mut-ATG161.c (SEQ ID NO: 79) y LC-C5-1.110r (SEQ ID NO: 80). Los dos fragmentos obtenidos se mezclan a continuación y se utiliza como plantilla para la tercera amplificación utilizando pBinPlus.2613c (SEQ ID NO: 77) y LC-C5-1.110r (SEQ ID NO: 80) como cebadores. El fragmento resultante se digiere con PacI y ApaI y se clona dentro de PBD-C5-1LC digerido con la misma enzima. La secuencia del casete de expresión generado, llamado 828, se presenta en la Figura 68 (SEQ ID NO: 81).

Montaje de SpPDI-H1 de A/Nueva Caledonia/20/99 en el casete de expresión de CPMV-HT (constructo número 580).

Se clonó una secuencia que codifica el péptido señal PDI de alfalfa fusionado a HA0 de H1 de A/Nueva Caledonia/20/99 en CPMV-HT de la siguiente manera. Se añadieron los sitios de restricción ApaI (inmediatamente secuencia arriba de ATG inicial) y StuI (inmediatamente secuencia abajo del codón de detención) a la secuencia de codificación de hemaglutinina mediante la realización de una amplificación por PCR con cebadores ApaI-SpPDI.c (SEQ ID NO: 95) y StuI-H1(A -NC).r (SEQ ID NO: 96) utilizando el constructo número 540 (SEQ ID NO: 61; Figura 52) como plantilla. Se digirió el fragmento resultante con las enzimas de restricción ApaI y StuI y se clonó en el constructo número 828 (SEQ ID NO: 81) digerido con las mismas enzimas. El casete resultante se denominó constructo número 580 (SEQ ID NO: 97).

Montaje de SpPDI-H1 de A/California/4/2009 en el casete de expresión de 2X35S/CPMV-HT (constructo número 560)

Se clonó un fragmento que codifica el péptido señal PDI de alfalfa fusionado a HA0 de H1 de A/California/4/2009 en 2X35S-CPMV-HT de la siguiente manera.

En primer lugar se creó un vector intermediario que contiene el promotor 2X35S en el casete de expresión de CPMV-HT en reemplazo del promotor 35S utilizado anteriormente. Se realizó el cambio de promotor mediante el método de ligación basado en la PCR presentado en Darveau et al. (Methods in Neuroscience 26: 77 - 85 (1995)). Se amplificó un primer fragmento que contiene el promotor 2X35S de la SEQ ID NO: 129 (Figura 93) por PCR con los cebadores:

PacI-MCS-2X35S.c (SEQ ID NO: 130):

AATTGTTAATTAAGTCGACAAGCTTGCATGCCTGCAGGTCAAC

y CPMV 5'UTR-**2X35S**.r: (SEQ ID NO: 131):

TCAAAACCTATTAAGATTTTAATACCTCTCCAAATGAAATGAAGTTC

usando un plásmido que contiene el promotor 2X35S como plantilla. En forma paralela, se realizó una segunda PCR

con los cebadores:

2X35S-CPMV 5'UTR.c (SEQ ID NO: 132):

TTGGAGAGGTATTTAAATCTTAATAGGTTTTGATAAAAGCGAACGTGGG

y **Apal**-M prot.r (SEQ ID NO: 133):

5 TCTCCAT**GGGCC**GACAAATTTGGGCAGAATATACAGAAGCTTA

usando el constructo 685 (SEQ ID NO: 100; Figura 74) como plantilla. Se mezclaron luego los dos fragmentos obtenidos y se usaron como plantilla para una segunda ronda de PCR (reacción de montaje) utilizando cebadores **PacI**-**MCS**-2X35S.c (SEQ ID NO: 130) y **Apal**-M prot.r (SEQ ID NO: 133). Se digirió luego el fragmento resultante con **PacI** y **Apal** y se clonó en el constructo 685 (SEQ ID NO: 100; Figura 74) digerido con las mismas enzimas de restricción. La secuencia del vector intermediario, llamado 972 (SEQ ID NO: 134), se presenta en la Figura 94.

15 Se obtuvo la secuencia nativa de H1 de A/California/4/2009 de la base de datos GISAID (número de acceso EPI176470) y se presenta en la Figura 95 (SEQ ID NO: 135). Una secuencia de nucleótidos que comprende una porción de la proteína M del CPMV (en el casete de expresión de CPMV-HT) desde el sitio de restricción **DraIII** hasta **Apal** junto con el péptido señal de la proteína disulfuro isomerasa de la alfalfa (PDISP) (nucleótidos 32 - 103; Acceso No. Z11499; SEQ ID NO: 34; Figura 17) y HA0 de la hemaglutinina de A/California/4/2009 con el sitio de restricción mutado de **SacI** y **StuI** se presentan en la Figura 96 (SEQ ID NO: 136). Se sintetizó la secuencia mediante DNA2.0 (Menlo Park, CA, EE.UU.) en tres fragmentos diferentes. Se ensamblaron el fragmento 1 (SEQ ID NO: 137; Figura 97), 2 (SEQ ID NO: 138; Figura 97) y 3 (SEQ ID NO: 139; Figura 97) utilizando el método de ligación basado en la PCR presentado en Darveau et al. (Methods in Neuroscience 26: 77 - 85 (1995)). En una primera ronda de amplificación, se hicieron tres PCR diferentes. El primer fragmento se amplificó usando el cebador:

DraIII-MProt # 2.c (SEQ ID NO: 140)

ATGCTAATAT**CACGTA**GTGCGGCGCCATTAAATAACGTGTACTTGTCC

y H1 Cal.390r (SEQ ID NO: 141)

GCTTAATTGCTCTCTTAGCTCCTCATAATCGATGAAATCTCC

25 usando el vector pJ201 (vector DNA2.0 patentado) que contiene el fragmento 1 (SEQ ID NO: 139) como plantilla. El segundo fragmento se amplificó usando los cebadores:

H1 Cal.310c (SEQ ID NO: 142)

TGGAAACACCTAGTTCAGACAATGGAACGTGTTACCCAGGAG

y H1 Cal.1159r (SEQ ID NO: 143)

30 CTGCATATCCTGACCCCTGCTCATTTTGATGGTGATAACCGT

utilizando el vector pJ201 (vector ADN2.0 patentado) que contiene el fragmento 2 (SEQ ID NO: 138) como plantilla. Finalmente, se amplificó el último fragmento usando los cebadores:

H1 Cal.1081c (SEQ ID NO: 144)

TTGAAGGGGGGTGGACAGGGATGGTAGATGGATGGTACGGTT

35 y **StuI**-H1 Cal.r (SEQ ID NO: 145)

TATT**AGGCCT**TTAAATACATATTCTACACTGTAGAGACCCATTAG

40 usando el vector pJ201 (vector DNA2.0 patentado) que contiene el fragmento 3 (SEQ ID NO: 139) como plantilla. En una segunda ronda de PCR (reacción de ensamblaje), se mezclaron luego los tres fragmentos de amplificación y se utilizaron como plantilla con cebadores **DraIII**-MProt # 2.c (SEQ ID NO: 140) y **StuI**-H1 Cal.r (SEQ ID NO: 145). Se digirió el fragmento resultante con **DraIII** y **StuI** y se insertó en el constructo 972 (SEQ ID NO: 134) digerido con las mismas enzimas de restricción. La secuencia de nucleótidos del constructo resultante se denominó 560 (SEQ ID NO: 146; Figura 98).

Montaje de H5 de A/Indonesia/5/2005, en el casete de expresión de CPMV-HT (constructo número 685).

Se clonó la secuencia de codificación de H5 de A/Indonesia/5/2005 en CPMV-HT como sigue. Se añadieron los sitios de restricción Apal (inmediatamente secuencia arriba de ATG) y Stul (inmediatamente secuencia abajo del codón de detención) a la secuencia de codificación de hemaglutinina mediante la realización de una amplificación por PCR con cebadores Apal-H5 (A-Indo).1C (SEQ ID NO: 98) y H5 (A-Indo)-Stul.1707r (SEQ ID NO: 99) utilizando el constructo número 660 (SEQ ID NO: 60; Figura 51) como plantilla. Se digirió el fragmento resultante con enzimas de restricción Apal y Stul y se clonó en el constructo número 828 (SEQ ID NO: 81) digerido con las mismas enzimas. El casete resultante se denominó constructo número 685 (SEQ ID NO: 100).

Montaje de SpPDI-H5 de A/Indonesia/5/2005, en el casete de expresión de CPMV-HT (constructo número 686).

Se clonó una secuencia que codifica el péptido señal PDI de alfalfa fusionado a HA0 de H5 de A/Indonesia/5/2005 en CPMV-HT de la siguiente manera. Se añadieron los sitios de restricción Apal (inmediatamente secuencia arriba de ATG) y Stul (inmediatamente secuencia abajo del codón de detención) a la secuencia de codificación de hemaglutinina mediante la realización de una amplificación por PCR con cebadores Apal-SpPDI.c (SEQ ID NO: 95) y H5 (A-Indo)-Stul.1707r (SEQ ID NO: 99) utilizando el constructo número 663 (SEQ ID NO: 83) como plantilla. Se digirió el fragmento resultante con enzimas de restricción Apal y Stul y se clonó en el constructo número 828 (SEQ ID NO: 81) digerido con las mismas enzimas. El casete resultante se denominó constructo número 686 (SEQ ID NO: 101).

Montaje de H1 de A/Brisbane/59/2007 en el casete de expresión de CPMV-HT (constructo número 732).

Se clonó la secuencia de codificación de HA de H1 de A/Brisbane/59/2007 en CPMV-HT de la siguiente manera. Se añadieron los sitios de restricción Apal (inmediatamente secuencia arriba de ATG) y Stul (inmediatamente secuencia abajo del codón de detención) a la secuencia de codificación mediante la realización de una amplificación por PCR con cebadores Apal-H1B.c (SEQ ID NO: 102) y Stul-H1B.r (SEQ ID NO: 103) usando el constructo número 774 (SEQ ID NO: 62; Figura 53) como plantilla. Se digirió el fragmento resultante con enzimas de restricción Apal y Stul y se clonó en el constructo número 828 (SEQ ID NO: 81) digerido con las mismas enzimas. El casete resultante se denominó constructo número 732 (SEQ ID NO: 104).

Montaje de SpPDI-H1 de A/Brisbane/59/2007 en el casete de expresión de CPMV-HT (constructo número 733).

Se clonó una secuencia que codifica péptido el péptido PDI de alfalfa fusionado a HA0 de H1 de A/Brisbane/59/2007 en CPMV-HT de la siguiente manera. Se añadieron los sitios de restricción Apal (inmediatamente secuencia arriba de ATG) y Stul (inmediatamente secuencia abajo del codón de detención) a la secuencia de codificación de hemaglutinina mediante la realización de una amplificación por PCR con cebadores Apal-SpPDI.c (SEQ ID NO: 95) y Stul-H1B.r (SEQ ID NO: 103) usando el constructo número 787 (SEQ ID NO: 86) como plantilla. Se digirió el fragmento resultante con enzimas de restricción Apal y Stul y se clonó en el constructo número 828 (SEQ ID NO: 81) digerido con las mismas enzimas. El casete resultante se denominó constructo número 733 (SEQ ID NO: 105).

Montaje de H3 de A/Brisbane/10/2007 en el casete de expresión de CPMV-HT (constructo número 735).

Se clonó la secuencia de codificación de HA de H3 de A/Brisbane/10/2007 en CPMV-HT de la siguiente manera. Se añadieron los sitios de restricción Apal (inmediatamente secuencia arriba de ATG) y Stul (inmediatamente secuencia abajo del codón de detención) a la secuencia de codificación de hemaglutinina mediante la realización de una amplificación por PCR con cebadores Apal-H3B.c (SEQ ID NO: 106) y Stul-H3B.r (SEQ ID NO: 107) usando el constructo número 776 (SEQ ID NO: 69) como plantilla. Se digirió el fragmento resultante con enzimas de restricción Apal y Stul y se clonó en el constructo número 828 (SEQ ID NO: 81) digerido con las mismas enzimas. El casete resultante se denominó constructo número 735 (SEQ ID NO: 108).

Montaje de SpPDI-H3 de A/Brisbane/10/2007 en el casete de expresión de CPMV-HT (constructo número 736).

Se clonó una secuencia que codifica al péptido señal PDI de alfalfa fusionado a HA0 de H3 de A/Brisbane/10/2007 en CPMV-HT de la siguiente manera. Se añadieron los sitios de restricción Apal (inmediatamente secuencia arriba de ATG) y Stul (inmediatamente secuencia abajo del codón de detención) a la secuencia de codificación de hemaglutinina mediante la realización de una amplificación por PCR con cebadores Apal-SpPDI.c (SEQ ID NO: 95) y Stul-H3B.r (SEQ ID NO: 107) usando el constructo número 790 (SEQ ID NO: 90) como plantilla. Se digirió el fragmento resultante con enzimas de restricción Apal y Stul y se clonó en el constructo número 828 (SEQ ID NO: 81) digerido con las mismas enzimas. El casete resultante se denominó número constructo 736 (SEQ ID NO: 109).

Montaje de HA de B/Florida/4/2006 en el casete de expresión de CPMV-HT (constructo número 738).

Se clonó la secuencia de codificación de HA de B/Florida/4/2006 en CPMV-HT de la siguiente manera. Se añadieron los sitios de restricción Apal (inmediatamente secuencia arriba de ATG) y Stul (inmediatamente secuencia abajo del codón de detención) a la secuencia de codificación de hemaglutinina mediante la realización de una amplificación por PCR con cebadores Apal-HBF.c (SEQ ID NO: 110) y Stul-HBF.r (SEQ ID NO: 111) usando el constructo número 779 (SEQ ID NO: 73; Figura 64) como plantilla. Se digirió el fragmento resultante con enzimas de restricción Apal y

Stul y se clonó en el constructo número 828 (SEQ ID NO: 81) digerido con las mismas enzimas. El casete resultante se denominó constructo número 738 (SEQ ID NO: 112).

Montaje de SpPDI-HA de B/Florida/4/2006 en el casete de expresión de CPMV-HT (constructo número 739).

Se clonó una secuencia que codifica el péptido señal PDI de la alfalfa fusionada a HA0 de B/Florida/4/2006 en CPMV-HT de la siguiente manera. Se añadieron los sitios de restricción Apal (inmediatamente secuencia arriba de ATG) y Stul (inmediatamente secuencia abajo del codón de detención) a la secuencia de codificación de hemaglutinina mediante la realización de una amplificación por PCR con cebadores **Apal**-SpPDI.c (SEQ ID NO: 95) y hemaglutinina **Stul**-HBF.r (SEQ ID NO: 111) usando el constructo número 798 (SEQ ID NO: 94) como plantilla. Se digirió el fragmento resultante con enzimas de restricción Apal y Stul y se clonó en el constructo número 828 (SEQ ID NO: 81) digerido con las mismas enzimas. El casete resultante se denominó constructo número 739 (SEQ ID NO: 113).

Montaje de casetes de expresión de chaperonas

Se ensamblaron dos casetes de expresión de proteína de choque térmico (Hsp). En un primer casete, se controla la expresión de la HSP70 citosólica de *Arabidopsis thaliana* (ecotipo Columbia) (Athsp70-1 en Lin et al. (2001) Cell Stress and Chaperones 6: 201 - 208) mediante un promotor quimérico que combina elementos de los promotores de la nitrato reductasa de la alfalfa (Nir) y Plastocianina de la alfalfa (Nir/Plasto). Se ensambló también un segundo casete que comprende la región de codificación de la HSP40 citosólica de alfalfa (MsJ1; Frugis et al. (1999) Plant Molecular Biology 40: 397 - 408) bajo el control del promotor quimérico Nir/Plasto.

Se ensambló primero un plásmido aceptor que contiene el promotor de nitrato reductasa de la alfalfa (Nir), el gen reportero GUS y el terminador NOS en el vector binario de la planta. Se digirió el plásmido pNir3K51 (descrito previamente en la patente de Estados Unidos No. 6.420.548) con HindIII y EcoRI. Se clonó el fragmento resultante en pCAMBIA2300 (Cambia, Canberra, Australia) digerido por la misma enzima de restricción para producir pCAMBIA-Nir3K51.

Se clonaron las secuencias de codificación para Hsp70 y Hsp40 por separado en el plásmido aceptor pCAMBIANir3K51 por el método de ligación basado en la PCR presentado en Darveau et al. (Methods in Neuroscience 26: 77 - 85 (1995)).

Para Hsp40, se amplificó la secuencia de codificación Msj 1 (SEQ ID NO: 114) por RT-PCR a partir de ARN total de hoja de la alfalfa (ecotipo Rangelander) usando cebadores Hsp40Luz.1c (SEQ ID NO: 115) y Hsp40Luz-Sacl.1272r (SEQ ID NO: 116). Se llevó a cabo una segunda amplificación con los cebadores Plasto-443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y Hsp40Luz-Plasto.r (SEQ ID NO: 117) con el constructo 660 (SEQ ID NO: 60; Figura 51) como plantilla. Se mezclaron luego los productos de la PCR y se usaron como plantilla para una tercera amplificación (montaje de reacción) con los cebadores Plasto-443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y Hsp40Luz-Sacl.1272r (SEQ ID NO: 116). Se digirió el fragmento resultante con HpaI (en el promotor de plastocianina) y se clonó en pCAMBIANir3K51, previamente digerido con HpaI (en el promotor Nir) y SacI, y se presentó con T4 ADN polimerasa para generar extremos romos. Se seleccionaron los clones obtenidos para la orientación correcta y se secuenciaron para la integridad de secuencia. El plásmido resultante, denominado R850, se presenta en la Figura 83 (SEQ ID NO: 121). Se amplificó la región de codificación de la Athsp70-1 por RT-PCR a partir del ARN de la hoja de *Arabidopsis* usando los cebadores Hsp70Ara.1c (SEQ ID NO: 118) y Hsp70Ara-Sacl.1956r (SEQ ID NO: 119). Se llevó a cabo una segunda amplificación con los cebadores Plasto-443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y Hsp70Ara-Plasto.r (SEQ ID NO: 120) con el constructo 660 (SEQ ID NO: 60; Figura 51) como plantilla. Se mezclaron luego los productos de la PCR y se usaron como plantilla para una tercera amplificación (montaje de reacción) con los cebadores Plasto-443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y Hsp70ARA-Sacl.1956r (SEQ ID NO: 119). Se digirió el fragmento resultante con HpaI (en el promotor de plastocianina) y se clonó en pCAMBIANir3K51 digerido con HpaI (en el promotor Nir) y SacI y se presentó con T4 ADN polimerasa para generar extremos romos. Se seleccionaron los clones obtenidos para la orientación correcta y se secuenciaron para la integridad de secuencia. El plásmido resultante, denominado R860, se presenta en la Figura 84 (SEQ ID NO: 122).

Se ensambló un plásmido de expresión dual Hsp de la siguiente forma. Se digirió R860 con BsrBI (secuencia abajo del terminador NOS), se lo trató con T4 ADN polimerasa para generar un extremo romo, y se digirió con SbfI (secuencia arriba del promotor quimérico NIR/Plasto). Se clonó el fragmento resultante (promotor quimérico Nir/Plasto - secuencia de codificación HSP70 - terminador Nos) en R850 previamente digerido con SbfI y SmaI (ambos localizados en el sitio de clonación múltiple secuencia arriba del promotor quimérico Nir/Plasto). El plásmido resultante, denominado R870, se presenta en la Figura 85 (SEQ ID NO: 123).

Montaje de otros casetes de expresión

Casete de expresión de H1 soluble

El casete que codifica la forma soluble de H1 se preparó mediante el reemplazo de la región que codifica para el dominio transmembrana y la cola citoplasmática en 540 por un fragmento que codifica la variante de la cremallera de leucina GCN4 pII (Harbury et al., 1993, Science 1993; 262: 1401 - 07). Este fragmento se sintetizó con los sitios de flanqueo KpnI y SacI para facilitar la clonación. El plásmido resultante de este reemplazo fue denominado 544 y el casete de expresión se ilustra en la Figura 11.

Casete de expresión de M1 de A/Puerto Rico/8/34/

Se sintetizó una fusión entre la 5'UTR del virus del grabado del tabaco (TEV) y el marco de lectura abierto del gen M1 de la influenza A/PR/8/34 (Acceso # N_002016) con un sitio de flanqueo SacI añadió secuencia abajo del codón de detención. Se digirió el fragmento con SmaI (en la 5'UTR del TEV) y SacI, y se clonó en un casete de expresión basado en 2X35S/TEV en un plásmido binario pCambia. El plásmido resultante horada la región de codificación de M1 bajo el control de un promotor 2X35S/TEV y 5'UTR y el terminador NOS (constructo 750; Figura 11).

Casete de expresión de HcPro

Se preparó un constructo HcPro (35HcPro) como se describe en Hamilton et al. (2002). Se secuenciaron todos los clones para confirmar la integridad de los constructos. Se usaron los plásmidos para transformar *Agrobacterium tumefaciens* AGL1 (AGL1; ATCC, Manassas, VA 20108, EE.UU.) mediante electroporación (Mattanovich et al., 1989). Se confirmó la integridad de todas las cepas de *A. tumefaciens* mediante mapeo de restricción.

Casete de expresión de P19

Se enlazó la secuencia de codificación de la proteína p19 del virus del enanismo arbustivo del tomate (TBSV) con el casete de expresión de la plastocianina de alfalfa por el método de ligación basado en la PCR presentado en Darveau et al. (Methods in Neuroscience 26: 77 - 85 (1995)). En una primera ronda de PCR, se amplificó un segmento del promotor de plastocianina usando los cebadores Plasto-443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y supP19-plasto.r (SEQ ID NO: 124) con el constructo 660 (SEQ ID NO: 60; Figura 51) como plantilla. En forma paralela, se amplificó otro fragmento que contiene la secuencia de codificación de p19 con los cebadores supP19-1c (SEQ ID NO: 125) y SupP19-SacI.r (SEQ ID NO: 126) usando el constructo 35S:p19 como se describe en Voinnet et al. (The Plant Journal 33: 949 - 956 (2003)) como plantilla. Se mezclaron luego los productos de amplificación y se utilizaron como plantilla para una segunda ronda de amplificación (montaje de reacción) con cebadores Plasto-443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y SupP19-SacI.r (SEQ ID NO: 126). Se digirió el fragmento resultante con BamHI (en el promotor de plastocianina) y SacI (al final de la secuencia de codificación de p19) y se clonó en el constructo número 660 (SEQ ID NO: 60; Figura 51), previamente digerido con las mismas enzimas de restricción para producir el constructo número R472. El plásmido R472 se presenta en la Figura 86.

3. Preparación de la biomasa vegetal, el inóculo, la agroinfiltración, y la cosecha

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

Se cultivaron agrobacterias transfectadas con cada constructo en un medio YEB suplementado con ácido 2-[N-morfolino]jetanosulfónico (MES) 10 mM, acetosiringona 20 µM, 50 µg/ml de kanamicina y 25 µg/ml de carbenicilina pH 5,6 hasta que alcanzaron una DO₆₀₀ entre 0,6 y 1,6. Se centrifugaron las suspensiones de *Agrobacterium* antes de usarlas y se resuspendieron en medio de infiltración (MgCl₂ 10 mM y MES 10 mM, pH 5,6). Se llevó a cabo una infiltración con jeringa como lo describen Liu y Lomonosoff (2002, Journal of Virological Methods, 105: 343 - 348). Para la infiltración al vacío, se centrifugaron suspensiones de *A. tumefaciens*, se resuspendieron en el medio de infiltración y se almacenaron durante la noche a 4 °C. En el día de la infiltración, se diluyeron los lotes de cultivo en 2,5 volúmenes de cultivo y se dejaron calentar antes de su uso. Se colocaron plantas enteras de *N. benthamiana* o *N. tabacum* boca abajo en la suspensión bacteriana en un tanque de acero inoxidable hermético bajo un vacío de 20 - 40 Torr durante 2 min. Después de la infiltración con jeringa o al vacío, se devolvieron las plantas al invernadero durante un período de incubación de 2 - 6 días hasta la cosecha. A menos que se especifique lo contrario, todas las infiltraciones se realizaron como una co-infiltración con AGL1/35S-HCPro en una proporción de 1:1, a excepción de las cepas que tienen un casete de CPMV-HT que fueron co-infiltradas con la cepa AGL1/R472 en una proporción de 1:1.

4. Muestreo de hojas y la extracción de la proteínas total

Después de la incubación, se cosechó la parte aérea de las plantas, se congeló a -80 °C, moliendo en trozos. Se

extrajeron las proteínas solubles totales mediante homogeneización (Polytron) de cada muestra de material vegetal triturada y congelada en 3 volúmenes de Tris 50 mM frío, pH 7,4, NaCl 0,15 M, y fluoruro de fenilmetanosulfonilo 1 mM. Después de la homogeneización, se centrifugaron las suspensiones a 20.000 g durante 20 min a 4 °C y se conservaron estos extractos crudos clarificados (sobrenadante) para los análisis. Se determinó el contenido total de proteínas de los extractos crudos clarificados por el ensayo de Bradford (Bio-Rad, Hercules, CA) usando albúmina de suero bovino como patrón de referencia.

5. Cromatografía de exclusión por tamaño del extracto de proteína

Se empacaron y equilibraron las columnas de cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) de 32 ml de Sephacryl^{MR} S-500 de perlas de alta resolución (S-500 HR: GE Healthcare, Uppsala, Suecia, Cat. No. 17-0613-10), con amortiguador de equilibrado/elución (Tris 50 mM pH 8, NaCl 150 mM). Se cargaron 1,5 ml de extracto de proteína cruda en la columna seguido por una etapa de elución con 45 ml de amortiguador equilibrado / elución. Se recolectó la elución en fracciones de 1,5 ml, se controló el contenido relativo de proteína de las fracciones eluidas mediante la mezcla de 10 µL de la fracción con 200 µL de reactivo colorante diluido de proteína Bio-Rad (Bio-Rad, Hercules, CA). Se lavó la columna con 2 volúmenes de columna de NaOH 0,2 N seguido por 10 volúmenes de columna de Tris 50 mM pH 8, NaCl 150 mM, etanol al 20%. Cada separación fue seguida por una calibración de la columna con Azul Dextrano 2000 (GE Healthcare Bio-Science Corp., Piscataway, NJ, EE.UU.). Se compararon los perfiles de elución de Azul Dextrano 2000 y las proteínas huésped solubles entre cada separación para asegurar la uniformidad de los perfiles de elución entre las columnas utilizadas.

6. Análisis de proteína e inmunotransferencias

Las concentraciones de proteína se determinaron mediante el ensayo de proteína BCA (Pierce Bioquímicos, Rockport IL). Se separaron las proteínas por SDS-PAGE bajo condiciones reductoras y se tiñeron con Azul de Coomassie. Se escanearon los geles teñidos y se realizó un análisis de densitometría usando el software ImageJ (NIH).

Se precipitaron las proteínas de la fracción de la elución a partir de SEC con acetona (Bollag et al., 1996), se resuspendieron en 1/5 de volumen en amortiguador de equilibrado / elución y se separaron por SDS-PAGE bajo condiciones reductoras y se electrotransferieron sobre membranas de difluoruro de polivinileno (PVDF) (Roche Diagnostics Corporation, Indianapolis, IN) para la inmunodetección. Antes de la inmunotransferencia, se bloquearon las membranas con leche desnatada al 5% y Tween-20 al 0,1% en solución salina amortiguada con Tris (TBS-T) durante 16 - 18 h en 4 °C.

Se realizó la inmunotransferencia mediante incubación con un anticuerpo adecuado (Tabla 6), en 2 µg/ml en leche desnatada al 2% en TBS-Tween 20 al 0,1%. Los anticuerpos secundarios utilizados para la detección de quimioluminiscencia fueron como se indican en la Tabla 4, se diluyó como se indicó en leche descremada al 2% en TBS-Tween 20 al 0,1%. Se detectaron los complejos inmunorreactivos mediante quimioluminiscencia utilizando luminol como el sustrato (Roche Diagnostics Corporation). Se llevó a cabo la conjugación de la enzima de peroxidasa de rábano picante de anticuerpo IgG humana mediante el uso del kit de conjugación de peroxidasa activada EZ-Link Plus® (Pierce, Rockford, IL). Los virus completos inactivados (WIV), que se utilizaron como controles de detección para los subtipos H1, H3 y B, fueron adquiridos al Instituto Nacional de Estándares Biológicos y de Control (NIBSC).

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

Subtipo HA	Cepa de influenza	Condición de la electroforesis	Anticuerpo primario	Dilución	Anticuerpo secundario	Dilución
H1	A/California/0 4/09 (H1N1)	Reductora	FII 10-I50F	4 µg/ml	Antirrátón de cabra (JIR 115-035-146)	1:10 000
H1	A/Brisbane/59 /2007 (H1N1)	Reductora	FII 10-I50	4 µg/ml	Antirrátón de cabra (JIR 115-035-146)	1:10 000
H1	A/Islas Salomón/3/ 2006 (H1N1)	Reductora	NIBSC 07/104	1:2000	Antioveja de conejo (JIR 313-035-045)	1:10 000
H1	A/Nueva Caledonia/ 20/ 99 (H1N1)	Reductora	FII 10-I50	4 µg/ml	Antirrátón de cabra (JIR 115-035-146)	1:10 000
H2	A/Singapur/1 /57 (H2N2)	No reductora	NIBSC 00/440	1:1000	Antioveja de conejo (JIR 313-035-045)	1:10 000

(continuación)

Subtipo HA	Cepa de influenza	Condición de la electroforesis	Anticuerpo primario	Dilución	Anticuerpo secundario	Dilución
H3	A/Brisbane/10/2007 (H3N2)	No reductora	TGA AS393	1:4000	Antioveja de conejo (JIR 313-035-045)	1:10 000
H3	A/Brisbane/10/2007 (H3N2)	No reductora	NIBSC 08/136	1:1000	Antioveja de conejo (JIR 313-035-045)	1:10 000
H3	A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)	No reductora	NIBSC 05/236	1:1000	Antioveja de conejo (JIR 313-035-045)	1:10 000
H5	A/Indonesia/5/2005 (H5N1)	Reductora	ITC IT- 003-005V	1:4000	Anticonejo de cabra (JIR 111-035-144)	1:10 000
H5	A/Anhui/1/2005 (H5N1)	Reductora	NIBSC 07/338	1:750	Antioveja de conejo (JIR 313-035-045)	1:10 000
H5	A/Vietnam/1194/2004 (H5N1)	No reductora	ITC IT- 003-005	1:2000	Anticonejo de cabra (JIR 111-035-144)	1:10 000
H6	A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1)	No reductora	BEI NR 663	1:500	Antioveja de conejo (JIR 313-035-045)	1:10 000
H7	A/Equino/Praga/56 (H7N7)	No reductora	NIBSC 02/294	1:1000	Antioveja de conejo (JIR 313-035-045)	1:10 000
H9	A/Hong Kong/1073/99 (H9N2)	Reductora	NIBSC 07/146	1:1000	Antioveja de conejo (JIR 313-035-045)	1:10 000
B	B/Malasia/2506/2004	No reductora	NIBSC 07/184	1:2000	Antioveja de conejo (JIR 313-035-045)	1:10 000
B	B/Florida/4/2006	No reductora	NIBSC 07/356	1:2000	Antioveja de conejo (JIR 313-035-045)	1:10 000

FII: Fitzgerald Industries International, Concord, MA, EE.UU;

NIBSC: National Institute for Biological Standards and Control;

JIR: Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA, EE.UU;

BEI NR: Biodefense and emerging infections research resources repository;

ITC: Immune Technology Corporation, Woodside, NY, EE.UU;

TGA: Therapeutic Goods Administration, Australia.

El ensayo de hemaglutinación para H5 se basó en un método descrito por Nayak y Reichl (2004). En resumen, se realizaron diluciones seriales dobles de las muestras de ensayo (100 µl) en placas de microtitulación de 96 pozos con fondo en V que contenían 100 µL de PBS, dejando 100 µL de la muestra diluida por pozo. Se añadieron 100 µL de una suspensión al 0,25% de glóbulos rojos pavo (Bio Link Inc., Syracuse, NY) a cada pozo, y se incubaron las placas durante 2 h a temperatura ambiente. Se registró el recíproco de la mayor dilución que muestra hemaglutinación completa como actividad de HA. En forma paralela, se diluyó un estándar recombinante de HA en PBS y se hizo una corrida como control en cada placa.

Se combinaron un mililitro de las fracciones 9, 10 y 11 eluidas de la cromatografía de filtración en gel en la biomasa que contenía H5, se cargó en un gradiente de densidad discontinuo de sacarosa de 20 - 60% (p/v), y se centrifugó 17,5 horas a 125 000 g (4 °C). Se fraccionó el gradiente en 19 fracciones de 3 ml a partir de la parte superior, y se dializaron para eliminar la sacarosa antes de los ensayos de hemaglutinación y de los análisis inmunológicos.

5 8. Microscopía electrónica

Se colocaron 100 µL de las muestras que se iban a examinar en un tubo de ultracentrifugación Airfuge (Beckman Instruments, Palo Alto, CA, EE.UU.). Se colocó una rejilla en la parte inferior del tubo que luego se centrifugó durante 5 min a 120 000 g. Se retiró la rejilla, se la secó suavemente, y se la colocó en una gota de ácido fosfotúngstico al 3% a pH 6 para la tinción. Se examinaron las rejillas en un microscopio electrónico de transmisión Hitachi 7100 (TEM) (para las imágenes de las Figuras 14B, 15B y 15C).

Para las imágenes en la Figura 19, se fijaron bloques de hojas de aproximadamente 1 mm³ en PBS que contenía glutaraldehído al 2,5% y se lavaron en PBS que contenía sacarosa al 3% antes de una etapa posterior de fijación en tetróxido de osmio al 1,33%. Se embebieron muestras fijadas en resina Spurr y se colocaron capas ultrafinas sobre una rejilla. Se tiñeron las muestras positivamente con acetato de uranilo al 5% y citrato de plomo al 0,2% antes de la observación. Se examinaron las rejillas en un microscopio electrónico de transmisión Hitachi 7100 (TEM).

9. Análisis de lípidos de la membrana plasmática

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

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

10. Purificación de las VLP de H5 (A/Indonesia/5/2005)

Se homogenizaron hojas infiltradas congeladas con 660 de *N. benthamiana* en 1,5 volúmenes de Tris 50 mM pH 8, NaCl 150 mM y meta-bisulfito de sodio al 0,04% usando un mezclador comercial. Se complementó el extracto resultante con PMSF 1 mM y se ajustó a pH 6 con ácido acético 1 M antes de ser calentado a 42 °C durante 5 min. Se añadió tierra de diatomeas (DE) al extracto tratado con calor para adsorber los contaminantes precipitados por el cambio del pH y el tratamiento con calor, y se filtró la suspensión a través de un filtro de papel Whatman. Se centrifugó el extracto clarificado resultante a 10.000 x g durante 10 minutos a RT para eliminar el DE residual, se lo pasó a través de filtros Acropack 20 de 0,8/0,2 µm y se lo cargó en una columna de afinidad de fetuína - agarosa (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE.UU.). Después de una etapa de lavado en NaCl 400 mM, Tris 25 mM pH 6, se eluyeron las proteínas enlazadas con NaCl 1,5 M, MES 50 mM pH 6. Se complementaron las VLP eluidas con Tween-80 hasta una concentración final de 0,0005% (v/v). Se concentraron las VLP sobre una membrana Amicon de 100 kDa MWCO, se centrifugó a 10.000 x g durante 30 minutos a 4 °C y se resuspendieron en PBS pH 7,4 con Tween-80 al 0,01% y timerosal al 0,01%. Se esterilizaron a través de un filtro las VLP suspendidas antes de uso.

11. Estudios en animales.

40 Ratones

Los estudios sobre la respuesta inmune a la administración de VLP de influenza se realizaron con ratones BALB/c hembra de 6-8 semanas de edad (Charles River Laboratories). Se dividieron al azar setenta ratones en catorce grupos de cinco animales. Se usaron ocho grupos para inmunización intramuscular y se utilizaron seis grupos para probar por la ruta de administración intranasal. Todos los grupos fueron inmunizados en un regimiento de dos dosis, realizando la inmunización de refuerzo 3 semanas después de la primera inmunización.

Para la administración intramuscular en las patas traseras, se inmunizaron los ratones no anestesiados ya sea con la vacuna de VLP de H5 producida por plantas (A/Indonesia/5/2005 (H5N1) (0,1, 1, 5 o 12 µg), o un antígeno de hemaglutinina de control (H5). La H5 de control que contenía hemaglutinina recombinante soluble producida con base en la cepa A/Indonesia/5/05 H5N1 y purificada a partir de un cultivo de células 293 (Immune Technology Corp., Nueva York, EE.UU.) (utilizado 5 µg por inyección a menos que se indique lo contrario). El amortiguador de control era PBS. Este antígeno consiste de los aminoácidos 18 - 530 de la proteína HA, y tiene una etiqueta de His y un sitio de escisión modificado. La microscopía electrónica confirmó que este producto comercial no está en la forma de las VLP.

Para medir el efecto del adyuvante, se inmunizaron dos grupos de animales con 5 µg de la vacuna de H5 de las VLP producidas por plantas más un volumen de 2% de Alhydrogel (alumbre, Accurate Chemical & Scientific Corporation, Westbury, NY, EE.UU.) o con 5 µg de hemaglutinina recombinante purificada a partir de un cultivo de células 293 más 1 volumen de alumbre. Se dividieron setenta ratones al azar en catorce grupos de cinco animales. Se usaron ocho grupos para la inmunización intramuscular y se utilizaron seis grupos para probar la ruta de administración intranasal. Todos los grupos fueron inmunizados de acuerdo con un régimen de refuerzo principal, la inmunización de refuerzo se realizó 3 semanas después de la primera inmunización.

Para la administración intramuscular en las patas traseras, se inmunizaron los ratones no anestesiados con la VLP de H5 producida por plantas (0,1, 1, 5 o 12 µg), o el antígeno hemaglutinina (HA) de control (5 µg) o PBS. Todas las preparaciones de antígeno se mezclaron con 1% de Alhydrogel (alumbre, Accurate Chemical & Scientific Corporation, Westbury, NY, EE.UU.) en una proporción de 1:1 en volumen antes de las inmunizaciones. Para medir el efecto del adyuvante, se inmunizaron dos grupos de animales ya sea con 5 µg de vacuna de H5 de VLP producidas por plantas o con 5 µg de antígeno HA de control sin ningún adyuvante.

Para la administración intranasal, se anestesiaron brevemente los ratones por inhalación de isoflurano usando una cámara de inducción automatizada. Luego fueron inmunizados mediante la adición de 4 µl gota/fosa nasal con la vacuna de VLP producida por plantas (0,1 o 1 µg), o con antígeno HA de control (1 µg) o con PBS. Todas las preparaciones de antígeno se mezclaron con 1% de glutamato de quitosano (Protosan, Novamatrix / FMC BioPolymer, Noruega) antes de las inmunizaciones. Luego los ratones respiran en las soluciones. Para verificar el efecto del adyuvante con la ruta de administración intranasal, se inmunizaron dos grupos de animales con 1 µg de vacuna de H5 de VLP producida por la planta o con 1 µg de antígeno HA de control.

Hurones

Se utilizaron diez grupos de 5 hurones (machos, 18 - 24 semanas de edad, masa de aproximadamente 1 kg). El tratamiento para cada grupo es como se describe en la Tabla 7. El adyuvante utilizado fue 2% de Alhydrogel (alumbre) (Superfos Biosector, Dinamarca) (final = 1%). La composición de la vacuna fueron las VLP de A/Indonesia/5/05 (H5N1) asociadas a la membrana producidas como se describió. El control de vacunas (control positivo) fue un H5 recombinante enlazado a la membrana totalmente glicosilada de la cepa Indonesia producido utilizando adenovirus en cultivo de células 293 por Immune Technology Corporation (TTC).

Tabla 7. Grupos de tratamiento

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

Se evaluó el estado general de salud y apariencia de los hurones (peso corporal, temperatura rectal, postura, piel, patrones de movimiento, respiración, excrementos) regularmente durante el estudio. Se inmunizaron los animales mediante inyección intramuscular (0,5 - 1,0 de volumen total) en los cuádriceps en el día 0, 14 y 28; para los protocolos que incorporan adyuvante, se combinó la composición de la vacuna con Alhydrogel inmediatamente antes de la inmunización en una proporción en volumen de 1:1). Se obtuvieron las muestras de suero en el día 0

antes de la inmunización, y en el día 21 y 35. Los animales fueron sacrificados (desangramiento / punción cardíaca) en los días 40 - 45, y se recogieron los bazo y se realizaron necropsias.

Se pueden cuantificar los títulos de anticuerpos anti-influenza en ensayos de ELISA utilizando virus H5N1 inactivados, homólogos y heterólogos.

- 5 Los títulos de anticuerpos inhibidores de hemaglutinación de muestras de suero (pre-inmune, día 21 y día 35) fueron evaluados por HAI de microtitulación como se describe (Aymard et al. 1973). En resumen, los sueros fueron pretratados con enzima destructora del receptor, inactivados con calor y mezclados con una suspensión de eritrocitos (glóbulos rojos-RBC lavados). Se recomiendan los RBC lavados de caballo (10%) de Lampire y teniendo en cuenta que el ensayo puede variar dependiendo de la fuente de los RBC (dependiendo del caballo), se probaron los RBC lavados de 10 caballos para seleccionar el lote más sensible. Alternativamente, se pueden utilizar RBC de pavo. El título de anticuerpos se expresó como el recíproco de la mayor dilución que inhibe completamente la hemaglutinación.

- 15 Títulos de reactividad cruzada de HAI: se midieron los títulos de HAI de hurones inmunizados con una vacuna para el A/Indonesia/5/05 (clado 2.1) usando cepas de influenza H5N1 inactivadas de otro subclado o clado tal como el clado 1 Vietnam cepas A/Vietnam/1203/2004 y A/Vietnam/1194/2004 o el A/Anhui/01/2005 (subclado 2.3) o el A/pavo/Turquía/1/05 (subclado 2.2). Todos los análisis se realizaron sobre muestras individuales.

Análisis de los datos: El análisis estadístico (ANOVA) se realizó sobre todos los datos para establecer si las diferencias entre los grupos son estadísticamente significativas.

Diseño experimental para exposición letal (ratones)

- 20 Se dividieron al azar ciento veintiocho ratones en dieciséis grupos de ocho animales, siendo un grupo no inmunizado y no expuesto (control negativo). Todos los grupos fueron inmunizados mediante administración intramuscular en un régimen de dos dosis, siendo realizada la segunda inmunización 2 semanas después de la primera inmunización.

- 25 Para la administración intramuscular en las patas traseras, se inmunizaron ratones no anestesiados con la VLP de H5 producida por plantas (1, 5 o 15 µg), o 15 µg de antígeno HA de control o PBS. Todas las preparaciones de antígeno se mezclaron con un volumen de 1% de Alhydrogel antes de las vacunas (alumbré, Accurate Chemical & Scientific Corporation, Westbury, NY, EE.UU.).

Durante el periodo de inmunización, se pesaron los ratones una vez a la semana y fueron observados y controlados por las reacciones locales en el sitio de la inyección.

- 30 Veintidós días después de la segunda inmunización, se expusieron los ratones anestesiados por vía intranasal (i.n.) en un laboratorio de contención BL4 (P4-Jean Mérieux-INSERM, Lyon, Francia) a una dosis infecciosa para el 50% del cultivo celular (CCID50) con $4,09 \times 10^6$ virus de influenza A/Turquía/582/06 (amablemente proporcionada por el doctor Bruno Lina, de la Universidad de Lyon, Lyon, Francia). Después de la exposición, se observaron los ratones por los síntomas clínicos de enfermedad y fueron pesaron diariamente, durante un periodo de catorce días. Los ratones con síntomas de infección grave y pérdida de peso $\geq 25\%$ fueron sacrificados después de la anestesia.

- 35 Recolección de sangre, lavados nasales y de pulmón y recolección del bazo

Se realizó una recolección de sangre de la vena safena lateral catorce días después de la primera inmunización y catorce días después de la segunda inmunización en animales no anestesiados. Se recogió el suero por centrifugación a 8000 g durante 10 min.

- 40 Cuatro semanas después de la segunda inmunización, los ratones fueron anestesiados con gas CO₂ e inmediatamente después de terminar, se utilizó una punción cardíaca para recoger la sangre.

- 45 Después de sangrado final, se insertó un catéter en la tráquea hacia los pulmones y se colocó un ml de una solución fría de un cóctel inhibidor de PBS-proteasa en una jeringa de 1 cc unida al catéter y se inyectó en los pulmones y luego se la removió para su análisis. Este procedimiento de lavado se realizó dos veces. Los lavados pulmonares se centrifugaron para remover los desechos celulares. Para los lavados nasales, se insertó un catéter hacia la zona nasal y se introdujeron 0,5 ml de la solución del cóctel inhibidor de PBS-proteasa a través del catéter en los pasajes nasales y luego se recogieron. Se centrifugaron los lavados nasales para remover los desechos celulares. La recolección del bazo se realizó en ratones inmunizados por vía intramuscular con 5 µg de la vacuna con adyuvante producida por plantas o 5 µg de antígeno H5 recombinante con adyuvante, así como en ratones inmunizados en forma intranasal con 1 µg de la vacuna con adyuvante producida por plantas o 1 µg de antígeno H5 recombinante con adyuvante. Los bazo recolectados fueron colocados en RPMI complementado con gentamicina y hechos puré en un tubo cónico de 50 ml con el émbolo de una jeringa de 10 ml. Se lavaron los bazo hechos puré 2 veces y se centrifugaron a 2000 rpm durante 5 min y se resuspendieron en amortiguador de lisis ACK durante 5 min a temperatura ambiente. Se lavaron los esplenocitos en PBS-gentamicina, se resuspendieron en RPMI al 5% y se hizo

el recuento. Se utilizaron los esplenocitos para el ensayo de proliferación.

Títulos de anticuerpos

Se midieron los títulos de anticuerpos anti-influenza de los sueros a los 14 días después de la primera inmunización, así como 14 y 28 días después de la segunda inmunización. Se determinaron los títulos mediante un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), utilizando el virus inactivado A/Indonesia/5/05 como el antígeno de recubrimiento. Los títulos de punto final se expresaron como el valor recíproco de la dilución más alta que alcanzó un valor de DO de al menos 0,1 mayor que el de las muestras de control negativo.

Para la determinación de la clase de anticuerpo (IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3, IgM), se evaluaron los títulos por ELISA como se describió previamente.

10 Títulos de inhibición de la hemaglutinación (HI)

Se midieron los títulos de inhibición de la hemaglutinación (HI) de los sueros a los 14 y 28 días después de la segunda inmunización como se describió previamente (WHO 2002; Kendal 1982). Se usaron preparaciones de virus inactivados de cepas A/Indonesia/5/05 o A/Vietnam/1203/2004 para poner a prueba las muestras de suero de ratón para la actividad de HI. Los sueros fueron pretratados con enzima II destructora del receptor (RDE II) (Denka Seiken Co., Tokio, Japón) preparado a partir de *Vibrio cholerae* (Kendal 1982). Se llevaron a cabo ensayos de HI con 0,5% de glóbulos rojos de pavo. Se definieron los títulos de anticuerpos de HI como el recíproco de la dilución más alta que causa la inhibición completa de la aglutinación.

Ejemplos

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

La capacidad del sistema de expresión transitorio para producir hemaglutinina de la influenza se determinó a través de la expresión del subtipo H5 de la cepa A/Indonesia/5/05 (H5N1). Tal como se presenta en la Figura 11, se ensambló primero la secuencia de codificación del gen de la hemaglutinina (GenBank, acceso No. EF541394), con su péptido señal nativo y el dominio transmembrana, en el casete de expresión de plastocianina - promotor, 5'UTR, 3'UTR y secuencias de terminación de la transcripción a partir del gen de plastocianina de alfalfa - y se insertó el casete ensamblado (660) en un plásmido binario pCambia. Se transfeció luego este plásmido en *Agrobacterium* (AGL1), creando la cepa recombinante AGL1/660, que se usó para la expresión transitoria.

Se infiltraron plantas de *N. benthamiana* con AGL1/660, y se recogieron las hojas después de un periodo de incubación de seis días. Para determinar si se acumuló H5 en las hojas agroinfiltradas, se extrajo primero la proteína a partir del tejido de la hoja infiltrada y se analizó mediante transferencia tipo Western utilizando anticuerpos policlonales anti-H5 (Vietnam). Se detectó una banda única de aproximadamente 72 kDa en los extractos (Figura 12), que corresponde en tamaño a la forma HA0 no escindida de hemaglutinina de la influenza. La H5 comercial utilizada como control positivo (A/Vietnam/1203/2004; Protein Science Corp., Meriden, CT, EE.UU.) se detectó como dos bandas de aproximadamente 48 y 28 kDa, que corresponden al peso molecular de los fragmentos HA1 y HA2, respectivamente. Esto demostró que la expresión de H5 en hojas infiltradas trae como resultado la acumulación del producto de traducción no escindido.

Se demostró la formación de trímeros de HA activos por la capacidad de los extractos de proteína cruda de hojas transformadas con AGL1/660 de aglutinar glóbulos rojos de pavo (datos no presentados).

Ejemplo 2: Caracterización de estructuras que contienen hemaglutinina en extractos de plantas, usando la cromatografía de exclusión por tamaño

El montaje de la hemaglutinina de la influenza producida por la planta en estructuras de alto peso molecular se evaluó mediante filtración en gel. Se fraccionaron los extractos de proteína cruda de las plantas infiltradas con AGL1/660 (1,5 ml) por cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) en columnas HR S-500 de Sephacryl^{MR} (GE Healthcare Bio-Science Corp., Piscataway, NJ, EE.UU.). Se evaluaron las fracciones de elución para determinar su contenido de proteína total y la abundancia de HA usando inmunodetección con anticuerpos anti-HA (Figura 13A). Como se muestra en la Figura 13A, se produjo un pico temprano por la elución de Azul Dextrano (2 MDa) en la fracción 10, mientras que la mayor parte de las proteínas del huésped fueron retenidas en la columna y eluyeron entre las fracciones 14 y 22. Cuando se concentraron las proteínas de 200 µL de cada fracción de elución SEC (5 veces) por precipitación con acetona y se analizaron por transferencias tipo Western (Figura 15A, H5), se encontró principalmente hemaglutinina (H5) en las fracciones 9 a 14 (Figura 13B). Sin desear estar limitado por la teoría, esto sugiere que la proteína HA o bien se había ensamblado en una gran superestructura o se había unido a una estructura de alto peso molecular.

Se ensambló un segundo casete de expresión con la secuencia de ácido nucleico de H1 de A/Nueva

Caledonia/20/99 (H1N1) (SEQ ID NO: 33; Figura 16; GenBank, acceso No. AY289929) para producir el constructo 540 (Figura 11). Se diseñó un constructo de un gen quimérico con el fin de producir una forma trimérica soluble de H1 en el que se originó el péptido señal a partir de un gen para la proteína disulfuro isomerasa de la planta, y se reemplazó el dominio transmembrana de H1 por la variante pII de la cremallera de leucina GCN4, un péptido que se ha demostrado que se auto-ensambla para formar trímeros (Harbury et al., 1993) (casete 544, Figura 11). Aunque carece del dominio transmembrana, esta forma trimérica soluble era capaz de hemaglutinación (datos no presentados).

Los extractos de proteína de las plantas infiltradas con AGL1/540 o AGL1/544 se fraccionaron por SEC y se examinó la presencia de las fracciones eluidas de H1 por transferencias tipo Western con anticuerpos anti-influenza A (Fitzgerald, Concord, MA, EE.UU.). En las hojas infiltradas con AGL1/540, se acumuló H1 principalmente como una estructura de muy alto peso molecular, con el pico sesgado hacia estructuras de tamaño más pequeño (H1; Figura 13C). En las hojas infiltradas con AGL1/544, se acumuló la forma soluble de H1 como trímeros aislados como se demuestra por el patrón de elución de filtración en gel que es paralelo al perfil de elución de la proteína huésped (H1 soluble; Figura 13D). En comparación, las rosetas de H1 (Protein Science Corp., Meriden, CT, EE.UU.), que consisten en micelas de 5 - 6 trímeros de hemaglutinina eluyeron en las fracciones 12 a 16 (Figura 13E), antes que la forma soluble de H1 (Figura 13D) y después de la H1 nativa (Figura 13C).

Para evaluar el impacto de la coexpresión de M1 en el montaje de hemaglutinina en la estructura, se ensambló un casete de expresión de M1 usando el ácido nucleico correspondiente a la secuencia de codificación de la M1 de A/PR/8/34 (H1N1) (SEQ ID NO: 35; Figura 18; GenBank acceso No. NC_002016). El constructo se denominó 750 y se presenta en la Figura 11. Para la coexpresión de M1 y H1, se mezclaron las suspensiones de AGL1/540 y AGL1/750 en un volumen igual antes de la infiltración. La coinfiltración de múltiples suspensiones de *Agrobacterium* permite la coexpresión de múltiples transgenes. El análisis de transferencias tipo Western de fracciones de elución SEC muestra que la coexpresión de M1 no modificó el perfil de elución de las estructuras de H1, pero dio como resultado una disminución en la acumulación de H1 en las hojas agroinfiltradas (véase la Figura 13F).

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

La observación de la estructura de la hemaglutinina bajo microscopio electrónico (EM) requiere un nivel de concentración y de pureza más alta que la obtenida a partir de SEC en extractos de proteína de la hoja en bruto. Para permitir la observación de las estructuras de H5 por EM, se concentró primero un extracto de proteína de la hoja en bruto mediante precipitación con PEG (20% de PEG), seguido por resuspensión en volúmenes de 1/10 del amortiguador de extracción. El extracto de proteína concentrada se fraccionó mediante filtración en gel HR S-500 y se reunieron las fracciones de elución 9, 10, y 11 (correspondientes al volumen vacío de la columna) y se aislaron adicionalmente de las proteínas del huésped por ultracentrifugación en un gradiente de densidad de sacarosa del 20 - 60%. Se fraccionó el gradiente de sacarosa a partir de la parte superior y se dializaron y concentraron las fracciones en una unidad filtrante para centrifugación de 100 NMWL antes del análisis. Como se muestra en las transferencias tipo Western y los resultados de la hemaglutinación (Figura 14A), H5 se acumula principalmente en las fracciones 16 a 19 que contenían ~60% de sacarosa, mientras que la mayor parte de las proteínas del huésped alcanzó su punto máximo en la fracción 13. Las fracciones 17, 18 y 19 se agruparon, se tiñeron negativamente, y se observaron bajo EM. El examen de la muestra demostró claramente la presencia de estructuras esféricas con púas que varían en tamaño desde 80 hasta 300 nm que se correspondía con las características morfológicas de las VLP de la influenza (Figura 14B).

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

Además de un contenido abundante de proteínas solubles, los extractos de hoja de planta contienen una mezcla compleja de azúcares solubles, ácidos nucleicos y lípidos. El extracto crudo se clarificó mediante un cambio de pH y tratamiento térmico seguido por filtración sobre tierra de diatomeas (véase la sección Material y método para una descripción detallada del método de clarificación). La Figura 15A (carriles 1-4) presenta un gel teñido con azul de Coomassie que compara el contenido de proteína en las distintas etapas de clarificación. Una comparación del contenido de proteína en el extracto bruto (carril 1) y en el extracto clarificado (carril 4) revela la capacidad de las etapas de clarificación para reducir el contenido global de proteína y remover la mayor parte del contaminante principal visible a 50 kDa en los extractos de la hoja en bruto. La banda de 50 kDa corresponde a la subunidad grande de RuBisCO, que representa hasta el 30% de las proteínas totales de las hojas.

Las VLP de H5 de influenza se purificaron a partir de estos extractos clarificados por cromatografía de afinidad en una columna de fetuina. Una comparación de la fracción de carga (Figura 15A, carril 5) con el flujo que la atraviesa (Figura 15A, carril 6) y las VLP eluidas (Figura 15A, carril 7) demuestra la especificidad de la columna de afinidad de fetuina para las VLP de H5 de influenza en extracto clarificado de plantas.

El procedimiento de purificación dio como resultado una pureza de más del 75% en H5, como se determinó por densitometría en el gel de SDS-PAGE teñido con azul de Coomassie (Figura 15A, carril 7). A fin de evaluar la

calidad estructural del producto purificado, se concentró la H5 purificada en una unidad de filtración por centrifugación de 100 NMWL (límite de peso molecular nominal) y se examinó bajo EM después de tinción negativa. La Figura 15B muestra un sector representativo que muestra la presencia profusa de las VLP. Un examen más detenido confirmó la presencia de picos en las VLP (Figura 15C).

- 5 Como se muestra en la Figura 15D, se purificaron las VLP de H5 hasta aprox. 89% de pureza a partir de extracto de hoja clarificado por cromatografía de afinidad en una columna de fetuina, con base en la densidad de hemaglutinina H5 teñida con azul de Coomassie y en la determinación del contenido total de proteína por el método BCA.

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

- 10 Figura 15D también confirma la identidad de la VLP purificada visualizada por transferencia tipo Western e inmunodetección con un suero policlonal anti-H5 (A/Vietnam/1203/2004). Se detectó una banda única de aproximadamente 72 kDa y corresponde en tamaño a la forma HA0 no escindida de hemaglutinina de la influenza. La Figura 15c muestra la estructura de la VLP de la vacuna con los picos de hemaglutinina que cubren su estructura.

- 15 Se formularon VLP para la inmunización de ratones por filtración a través de un filtro de 0,22 μ m; se midió el contenido de endotoxina usando el kit de detección de la endotoxina LAL (lisado de amebocitos de Limulus) (Lonza, Walkersville, MS, EE.UU.). La vacuna filtrada contenía $105,8 \pm 11,6\%$ EU/ml (unidades de endotoxina/ml).

Ejemplo 5: Localización de las VLP de influenza en plantas

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

Ejemplo 6: Análisis de lípidos de la membrana plasmática

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

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

- 40 Se les administró a los ratones las VLP de H5 producidas por las plantas por inyección intramuscular, o intranasal (inhalación). Se inyectaron 0,1 a 12 μ g de las VLP en forma intramuscular en ratones, con alumbre como adyuvante, de acuerdo con los métodos descritos. Se observaron picos de títulos de anticuerpos con la más baja cantidad de antígeno, en una magnitud similar a aquella de 5 μ g de hemaglutinina soluble recombinante (H5) (Figura 20A).

Se administraron 0,1 a 1 μ g de las VLP de H5 producidas por las plantas por vía intranasal con un adyuvante de quitosano previsto para una respuesta de anticuerpos mayor a aquella de la H5 soluble recombinante con un adyuvante de alumbre (Figura 20B).

- 45 Para ambas vías de administración, y en un rango de cantidades de antígeno, se observó seroconversión en todos los ratones analizados. El antígeno recombinante soluble H5 confirió títulos de HI bajos ($<1/40$) o insignificantes ($1 < 1/10$ para H5 recombinante sin adyuvante).

Ejemplo 8: Título de anticuerpos de hemaglutinación-inhibición (HAI) de VLP de H5

- 50 Figura 21A, B ilustra la respuesta de anticuerpos de inhibición de la hemaglutinación (HAI) 14 días después de un "refuerzo" con VLP de H5 producidas por plantas, o H5 soluble recombinante. Cuando se administra a dosis más baja de antígeno (0,1 μ g) por vía intramuscular se produce una respuesta de HAI superior a una administración 10 veces mayor (5 μ g) de H5 soluble recombinante. Dosis crecientes de VLP de H5 proporcionaron un modesto aumento en HAI sobre la dosis más baja.

La respuesta a la HAI después de la administración intranasal se incrementó significativamente en los ratones a los que se les administró las VLP de H5 producidas por plantas (1,0 o 0,1 µg) en comparación con aquellos a los que se les administró 1 µg de H5 soluble recombinante, que fue similar al control negativo. Todos los ratones inmunizados mediante inyección intramuscular de VLP de H5 (de 0,1 a 12 µg) tuvieron mayores títulos de HAI que los ratones inmunizados con el antígeno H5 de control (Figura 21A). Para la misma dosis de 5 µg, las VLP indujeron títulos de HAI 20 veces superiores que la dosis correspondiente del antígeno H5 de control. Las VLP también indujeron títulos significativamente mayores de HAI que el antígeno HA de control cuando se suministró a través de la vía intranasal (Figura 21b). Para una dosis dada de VLP de H5 los niveles de títulos de IHA fueron más bajos en los ratones inmunizados por vía intranasal que para los ratones inmunizados por vía intramuscular; 1 µg de VLP indujo una media del título de HAI de 210 cuando se administra en forma i.m. mientras que la misma dosis indujo una media del título de HAI de 34 administrada en forma i.n.

Cuando se administran por vía intramuscular, todas las dosis de VLP indujeron un nivel alto de anticuerpos capaces de unirse a virus inactivados completos homólogos (Figuras 20a y 24). No se encontró una diferencia significativa entre la vacuna de VLP producida por una planta y el antígeno H5 de control (excepto el grupo de VLP de 12 µg 14 días después del refuerzo), ya que ambas preparaciones de antígeno inducen altos títulos de anticuerpos de unión contra la cepa homóloga. Sin embargo, cuando se administran por vía intranasal, las VLP indujeron títulos de anticuerpos de enlazamiento más altos de lo que lo hizo el antígeno H5 de control (Figura 20b). Cuando se mezcla con quitosano, la inmunización con un microgramo de VLP indujo un título medio de Ab recíproco de 5 500, 8,6 veces mayor que el nivel encontrado en ratones inmunizados con 1 µg del antígeno HA de control (título medio de Ab recíproco de 920).

A continuación, se investigó la inmunogenicidad de las VLP de influenza derivadas de plantas mediante un estudio de intervalos de dosis en ratones. Se inmunizaron grupos de cinco ratones BALB/c por vía intramuscular dos veces a intervalos de 3 semanas con 0,1 µg a 12 µg de VLP que contienen HA de la influenza A/Indonesia/5/05 (H5N1) formulada en alumbre (proporción 1:1). Los títulos de inhibición de la hemaglutinación (HI o HAI), utilizando antígeno del virus completo inactivado (A/Indonesia/05.05 (H5N1)), se midieron en sueros recogidos 14 días después de la segunda inmunización. La inmunización con dosis de VLP tan bajas como 0,1 µg indujo la producción de anticuerpos que inhiben los virus de aglutinar eritrocitos en diluciones altas (Figura 21A). La inmunización en forma paralela de ratones con 5 µg de antígeno H5 de control con alumbre como adyuvante sin VLP (también de A/Indonesia/5/05) induce una respuesta de HI que fue 2-3 registros menor que la lograda con la dosis más baja de VLP .

Para ambas vías de administración, y en un intervalo de cantidades de antígeno, la respuesta de HAI es superior en los ratones a los que se les administraron las VLP.

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

Las VLP de H5 producidas por la planta tienen origen en la membrana plasmática (Figura 19, Ejemplo 5). Sin desear estar limitado por la teoría, los virus con envoltura o las VLP de virus con envoltura generalmente adquirir su envoltura de la membrana de la que brotan. Las membranas plasmáticas de las plantas tienen un complemento de fitoesterol que rara vez, si es que alguna vez se encuentran en células animales, y varios de estos esteroides, se ha demostrado que presentan efectos inmunoestimuladores.

Se administraron las VLP de H5 producidas por las plantas por vía intramuscular (Figura 22A) o intranasal (Figura 22B) a ratones en presencia o en ausencia de un adyuvante, y se determinó la HAI (respuesta de anticuerpos de inhibición de la hemaglutinación). Las VLP, en presencia o en ausencia de un adyuvante añadido (alumbre o quitosano, como en estos ejemplos) en cualquiera de los sistemas de administración demostró una inhibición significativamente mayor de la hemaglutinina HAI que la H5 soluble recombinante. Incluso en ausencia de un adyuvante añadido (es decir, alumbre o quitosano), las VLP de H5 producidas por la planta demuestran una HAI significativa, indicativa de una respuesta inmune sistémica a la administración del antígeno.

El alumbre mejoró el nivel medio de los títulos de HAI en un factor de 5 para la administración intramuscular de VLP (Figura 22a) y en un factor de 3,7 para el antígeno H5 de control. Cuando se administra en forma i.m., 5 µg de las VLP indujeron una media del título de HAI 12 veces mayor que la dosis correspondiente de antígeno H5 de control. El quitosano no reforzó el nivel medio de HAI del antígeno H5 de control (Figura 22b) mientras que aumentó el nivel medio de HAI de los ratones inmunizados con 1 µg de VLP administradas en forma i.n. por un factor de 5 veces.

Ejemplo 10: Isotipos de anticuerpos

Ratones a los que se les administraron VLP de H5 producidas por las plantas o H5 soluble recombinante en presencia o en ausencia de alumbre como un adyuvante añadido demostraron una variedad de isotipos de inmunoglobulina (Figura 23A).

En presencia de un adyuvante añadido, los perfiles de isotipos de anticuerpos de las VLP y el H5 recombinante son similares, siendo IgG1 el isotipo dominante. Cuando las VLP o H5 recombinante se administran sin un adyuvante

añadido, la respuesta de IgG1 se reduce, pero sigue siendo la respuesta al isotipo dominante para las VLP, con IgM, IgG2a, IgG2b e IgG3 manteniendo títulos similares que en presencia de un adyuvante añadido. Los títulos de IgG1, IgG2a e IgG2b se reducen notablemente cuando se administra H5 recombinante sin un adyuvante añadido (Figura 23A).

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

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

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

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

Sin embargo, sólo la VLP producida por una planta indujo un título de HAI contra la cepa A/pavo/Turquía/1/05 (Figura 25b). Los títulos de HAI para A/Indonesia/5/05 fueron altos para las VLP.

- 20 **Ejemplo 12:** Protección cruzada conferida por la inmunización con VLP de H5 producidas por plantas

Los ratones a los que previamente se les había administrado un régimen de dos dosis de las VLP de H5 de A/Indonesia/5/05 H5 VLP como se describió, fueron posteriormente expuestos por vía intranasal con el virus infeccioso de la influenza A/Turquía/582/06 (H5N1) ("Turquía H5N1"), y observados. La dosis administrada, por animal, fue de 10 DL₅₀ (4,09 X 10⁵ CCID₅₀).

- 25 A los 7 días después de la exposición, sólo el 37,5% de los ratones a los que se les administró la vacuna de control de PBS había sobrevivido a la exposición a Turquía H5N1 (Figura 26A). 100% de los animales a los que se les administró el antígeno de control (HA) o 1, 5 o 15 µg de las VLP de H5 de Indonesia sobrevivieron hasta 17 días después de la exposición, cuando se dio por terminado el experimento.

Se controló también la masa corporal de los ratones durante el experimento, y se graficó la masa promedio de los ratones supervivientes (Figura 26B). Los ratones a los que se les administró 1, 5 o 15 µg de las VLP de H5 de Indonesia antes de la exposición no perdieron masa en forma apreciable durante el transcurso del experimento, y en particular los ratones a los que se les administró 5 µg de las VLP parecen haber ganado masa en forma significativa. Los ratones de control negativo (sin exposición a Turquía H5N1) no ganaron o perdieron masa corporal en forma apreciable. Los ratones de control positivo (a los que no se les administró las VLP, pero expuestas a Turquía H5N1)
35 exhibieron una pérdida significativa de masa corporal durante el transcurso del experimento, y tres de estos ratones murieron. Como la masa corporal es un promedio de todos los ratones en la cohorte, la eliminación de los ratones 'más enfermos' (los 3 que murieron) puede conducir a un aumento global aparente en la masa, sin embargo téngase en cuenta que la masa corporal promedio de la cohorte de control positivo está todavía significativamente por debajo de las cohortes negativas o las tratadas con VLP.

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

Estos datos, por lo tanto, demuestran que las plantas son capaces de producir partículas similares al virus de la influenza, y también por primera vez, que las partículas similares al virus pueden brotar de una membrana plasmática de la planta.
45

Además, utilizando la tecnología de expresión transitorio actual, se produjo un primer lote de antígeno sólo 16 días después de obtener la secuencia de la HA objetivo. Bajo los rendimientos actuales para las VLP de H5, y en un ejemplo de dosis de 5 µg por sujeto, cada kg de hoja infiltrada pueden producir 20.000 dosis de vacuna. Esta combinación única de simplicidad de la plataforma, aumento de la capacidad y potente inmunogenicidad proporciona lo necesario, entre otras realizaciones, para un nuevo método de respuesta en el contexto de una pandemia.
50

Ejemplo 13: Caracterización de estructuras que contienen hemaglutinina (H1, H2, H3, H5, H6 y H9) en extractos de plantas, usando la cromatografía de exclusión por tamaño

Se evaluó el montaje de la hemaglutinina de la influenza producida por la planta de diferentes subtipos en estructuras de alto peso molecular mediante filtración en gel. Se fraccionaron los extractos de proteínas concentradas o crudas de plantas infiltradas con AGL1/660, AGL1/540, AGL1/783, AGL1/780, AGL1/785 y AGL1/790 (1,5 ml) por cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) en columnas HR S-500 de Sephacryl^{MR} (GE Healthcare Bio-Science Corp., Piscataway, NJ, EE.UU.). Como se muestra en la Figura 46, eluyó un pico temprano de Azul Dextrano (2 MDa) en la fracción 10. Cuando se concentraron (5 veces) las proteínas de 200 µL de cada fracción de elución por SEC mediante precipitación con acetona y se analizaron por transferencias tipo Western (Figura 46), se encontraron principalmente hemaglutininas en las fracciones 7 a 14, lo que indica la incorporación de HA en las VLP. Sin desear estar limitado por la teoría, esto sugiere que la proteína HA o bien había sido ensamblada en un gran superestructura o se había unido a una estructura de alto peso molecular, independientemente del subtipo producido. En la Figura 46, se produjeron H1 de la cepa A/Nueva Caledonia/20/1999 y H3 de la cepa A/Brisbane/10/2007 utilizando casetes que contienen péptidos señal PDI. Los resultados obtenidos indican que la sustitución del péptido señal nativo por el de la PDI de alfalfa no afecta a la capacidad de HA para ensamblarse en partículas.

Ejemplo 14: Expresión transitoria de la hemaglutinina del virus de la influenza estacional por agroinfiltración en plantas de *N. benthamiana* que utilizan la secuencia de nucleótidos de tipo silvestre

La capacidad del sistema de expresión transitoria para producir hemaglutininas de influenza estacional se determinó a través de la expresión del subtipo H1 a partir de cepas A/Brisbane/59/2007 (H1N1) (plásmido # 774), A/Nueva Caledonia/20/1999 (H1N1) (plásmido # 540) y A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1) (plásmido # 775), del subtipo H3 a partir de las cepas A/Brisbane/10/2007 (plásmido # 776) y A/Wisconsin/67/2005 (plásmido # 777) y del tipo B a partir de cepas B/Malasia/2506/2004 (linaje Victoria) (plásmido # 778) y B/Florida/4/2006 (linaje Yamagata) (plásmido # 779). Las secuencias de codificación del gen de la hemaglutinina se ensamblaron primero en el casete de expresión de plastocianina - promotor, 5'UTR, 3'UTR y secuencias de terminación de la transcripción del gen de plastocianina de la alfalfa - y se insertaron los casetes ensamblados en un plásmido binario pCambia. Se transfectaron luego los plásmidos en *Agrobacterium* (AGL1), produciendo cepas de *Agrobacterium* AGL1/774, AGL1/540, AGL1/775, AGL1/776, AGL1/777, AGL1/778 y AGL1/779, respectivamente.

Se infiltraron plantas de *N. benthamiana* con AGL1/774, AGL1/540, AGL1/775, AGL1/776, AGL1/777, AGL1/778 y AGL1/779 y se recolectaron las hojas después de un período de incubación de seis días. Para determinar si se acumuló H1 en las hojas agroinfiltradas, se extrajo primero la proteína a partir de tejido de la hoja infiltrada y se analizó por transferencias tipo Western utilizando anticuerpos anti-HA (véase la Tabla 6 para los anticuerpos y las condiciones utilizadas para la detección de cada subtipo de HA). Para la HA de las cepas H1, se detectó una única banda de aproximadamente 72 kDa en los extractos (Figura 47), que corresponde en tamaño a la forma HA0 no escindida de hemaglutinina de la influenza. Esto demostró que la expresión de diferentes cepas epidémicas anuales de hemaglutinina en hojas infiltradas da como resultado la acumulación del producto de traducción no escindido. Usando estas estrategias de expresión y de inmunodetección, no se detectó la expresión de HA de influenza del subtipo H3 o de tipo B en los extractos de proteína cruda (Figura 47).

Ejemplo 15: Expresión transitoria de la hemaglutinina del virus de la influenza pandémica potencial por agroinfiltración en plantas de *N. benthamiana* que utilizan la secuencia de nucleótidos de tipo silvestre

Se determinó la capacidad del sistema de expresión transitoria para producir potenciales hemaglutininas de influenza a través de la expresión del subtipo H5 a partir de cepas A/Anhui/1/2005 (H5N1) (plásmido # 781), A/Indonesia/5/2005 (H5N1) (plásmido # 660) y A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) (plásmido # 782), el subtipo H2 de la cepa A/Singapur/1/1957 (H2N2) (plásmido # 780), el subtipo H6 de la cepa A/Cerceta/Hong Kong/W312/1997 (H6N1) (plásmido # 783), el subtipo H7 de la cepa A/Equino/Praga/1956 (H7N7) (plásmido # 784) y, finalmente H9 de la cepa A/Hong Kong/1073/1999 (H9N2) (plásmido # 785). Se ensamblaron primero las secuencias de codificación del gen de la hemaglutinina en el casete de expresión de plastocianina - promotor, 5'UTR, 3'UTR y secuencias de terminación de la transcripción del gen de plastocianina de alfalfa - y se insertaron los casetes ensamblados en un plásmido binario pCambia. Se transfectaron luego los plásmidos en *Agrobacterium* (AGL1), que produce de cepas de *Agrobacterium* AGL1/781, AGL1/660, AGL1/782, AGL1/780, AGL1/783, AGL1/784 y AGL1/785.

Se infiltraron plantas de *N. benthamiana* con AGL1/781, AGL1/660, AGL1/782, AGL1/780, AGL1/784 y AGL1/785, y se recolectaron las hojas después de un período de incubación de seis días. Para determinar si se acumuló H5 en las hojas agroinfiltradas, se extrajo primero la proteína a partir de tejido de la hoja infiltrada y se analizó por transferencias tipo Western utilizando anticuerpos anti-HA apropiados (véase la Tabla 6 para los anticuerpos y las condiciones utilizadas para la detección de cada subtipo de HA). Se detectó una banda única de aproximadamente 72 kDa en extractos de plantas transformadas con constructos de expresión H5 y H2 (Figura 48a y b), que corresponde en tamaño a la forma HA0 no escindida de hemaglutinina de la influenza. Esto demostró que la expresión de diferentes cepas pandémicas potenciales de hemaglutinina en hojas infiltradas da como resultado la acumulación del producto de traducción no escindido. Utilizando estas estrategias de expresión y de inmunodetección, no se detectó la expresión de HA de la influenza de H7 y H9 en los extractos de proteína cruda

(Figura 48b).

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

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

Se infiltraron plantas de *N. tabacum* con AGL1/660 y se recogieron las hojas después de un período de incubación de seis días. Para determinar si se acumuló H5 en las hojas agroinfiltradas, se extrajeron primero las proteínas de las hojas infiltradas y se analizaron mediante transferencias tipo Western utilizando anticuerpos anti-H5. Se detectó una banda única de aproximadamente 72 kDa en los extractos (Figura 49), que corresponde en tamaño a la forma HA0 no escindida de hemaglutinina de la influenza. Esto demostró que la expresión de hemaglutinina en hojas de *N. tabacum* infiltradas dio como resultado la acumulación del precursor de HA0 no escindido.

Ejemplo 17: Inmunogenicidad de la vacuna de VLP de H5N1 producida por la planta de A/Indonesia/5/05 (H5N1) en hurones

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

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

El comité de la agencia europea para evaluación de medicamentos de uso humano (CHMP) (<http://www.emea.europa.eu/htms/general/contacts/CHMP/CHMP.html>) establece tres criterios (aplicados después de la segunda dosis) para la eficacia de la vacuna: 1 - Número de seroconversión o un aumento significativo de los títulos de HI (4 veces) > 40%; 2 - Aumento de la media geométrica de al menos 2,5; 3 - la proporción de sujetos que alcanzaron un título de HI de 1/40 debe ser de al menos el 70%. El análisis de estos criterios en el modelo de hurón se muestra en las Tablas 8 - 11. (*) Es indicativo de que cumplen o superan los criterios del CHMP. Un resumen del análisis de la inmunogenicidad cruzada en relación con los criterios del CHMP para obtener la licencia se muestra en la Tabla 12.

Los animales fueron evaluados diariamente con respecto al peso corporal, la temperatura y el estado general. No se registraron señales de enfermedad o malestar durante el estudio. El peso corporal y la temperatura estaban dentro de los rangos normales durante el estudio. La vacuna era segura y tolerada por los animales.

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

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

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

Día	Criterios	Grupo de estudio								
		1 mg	1 µg con adyuvante	5 µg	5 µg con adyuvante	7,5 µg	15 µg	15 µg con adyuvante	30 µg	5 µg ITC
14 (después de la primera inyección)	% de incremento 4 veces el título de HI.		0%		0 %			0%		
	Incremento de la media geométrica.		1,2		1,2			1,3		
	% del título de HI de 1/40		0%		0%			0%		

(continuación)

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

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

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

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

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

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

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

5 Las secuencias de nucleótidos de la HA fueron recuperadas de una base de datos de secuencia de la influenza (véase URL: flu.lanl.gov), o de las fuentes de virus de la influenza del NCBI (Bao et al., 2008. J. Virology 82 (2): 596 - 601; véase URL: ncbi.nlm.nih.gov/genomes/FLU/FLU.html). Para varias de las secuencias de ácido nucleico de HA, se enumeran múltiples entradas en las bases de datos (Tabla 13). alguna variación se asocia principalmente con el sistema de cultivo (Origen - MDCK, huevo, ARN viral desconocido/aislado clínico); por ejemplo, el sitio de glicosilación en la posición 194 (numeración de la proteína madura) de la HA está ausente cuando el virus de la influenza tipo B se expresa en fluido alantoideo de los huevos (véase también Chen et al., 2008). Para algunas secuencias, pueden faltar los dominios (por ejemplo, clones incompletos, artefactos de secuenciación, etc.). Se discuten generalmente dominios y subdominios de hemaglutinina de la influenza en la descripción. Los dominios o subdominios de una primera secuencia se pueden combinar con un dominio de una segunda secuencia existente, por ejemplo se puede combinar el péptido señal de una primera secuencia de una cepa con el resto de la secuencia de codificación de hemaglutinina de una segunda cepa para proporcionar una secuencia de codificación completa.

10 Tabla 13: Variación de los subtipos de la influenza para las secuencias de codificación de HA seleccionadas

	Cepa	Referencia No. de la base de datos de secuencia	Origen	SP	HA1	HA2	DTm	Divergencia
H1	A/Islands Salomón/3/20 06	ISDN2315 58 (registro de la vacuna)	MDCK	S	S	S	S	189: R o G, 220: K (MDCK) T (Huevo), 249: Q (MDCK) R (Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo)
	A/Islands Salomón/3/20 06	ISDN2381 90	Huevo	S	S	S	S	189: R G, 220: K (MDCK) T (Huevo), 249: Q (MDCK) R (Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo)
	A/Islands Salomón/3/20 06	EU100724	?	S	S	S	S	189: R o G, 220: K (MDCK) T (Huevo), 249: Q (MDCK) R (Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo)
	A/Islands Salomón/3/20 06	ISDN2209 51	MDCK	S	S	N	N	189: R o G, 220: K (MDCK) T (Huevo), 249: Q (MDCK) R (Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo)
	A/Islands Salomón/3/20 06	ISDN2209 53	Huevo	S	S	N	N	189: R o G, 220: K (MDCK) T (Huevo), 249: Q (MDCK) R (Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo)

(continuación)

	Cepa	Referencia No. de la base de datos de secuencia	Origen	SP	HA1	HA2	DTm	Divergencia
	A/Islands Salomón/3/ 2006	EU124137	Huevo	S	S	N	N	189: R o G, 220: K (MDCK) T (Huevo), 249: Q (MDCK) R (Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo)
	A/Islands Salomón/3/ 2006	EU124135	MDCK	S	S	N	N	189: R o G, 220: K (MDCK) T (Huevo), 249: Q (MDCK) R (Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo)
	A/Islands Salomón/3/ 2006	EU124177	MDCK	S	S	S	S	189: R o G, 220: K (MDCK) T (Huevo), 249: Q (MDCK) R (Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo)
H1	A/Brisbane/59/ 2007	ISDN2826 76	MDCK	S	S	S		203: D/I/N D es el más abundante en H1
	A/Brisbane/59/ 2007	ISDN2851 01	Huevo	S	S	N	N	203: D/I/N D es el más abundante en H1
	A/Brisbane/59/ 2007	ISDN2857 77	Huevo	S	S	S	S	203: D/I/N D es el más abundante en H1
	A/Brisbane/59/ 2007	ISDN2826 77	Huevo	S	S	S	S	203: D/I/N D es el más abundante en H1
H3	A/Brisbane/10/2007	ISDN2748 93	Huevo	S	S	S	S	202: V/G, 210:L/P, 215: del Ala, 242: S/I
	A/Brisbane/ 10/2007	ISDN2576 48	MDCK	N	S	S	S	202: V/G, 210:L/P, 215: del Ala, 242: S/I
	A/Brisbane/ 10/2007	ISDN2567 51	Huevo	S	S	S	S	202: V/G, 210:L/P, 215: del Ala, 242: S/I

(continuación)

	Cepa	Referencia No. de la base de datos de secuencia	Origen	SP	HA1	HA2	DTm	Divergencia
	A/Brisbane/ 10/2007	ISDN2737 57	Huevo	S	S	S	S	202: V/G, 210:L/P, 215: del Ala, 242: S/I
	A/Brisbane/ 10/2007	ISDN2737 59	Huevo	S	S	S	S	202: V/G, 210:L/P, 215: del Ala, 242: S/I
	A/Brisbane/ 10/2007	EU199248	Huevo	N	S	S	S	202: V/G, 210:L/P, 215: del Ala, 242: S/I
	A/Brisbane/ 10/2007	EU199366	Huevo	S	S	S	S	202: V/G, 210:L/P, 215: del Ala, 242: S/I
	A/Brisbane/ 10/2007	ISDN2570 43	Huevo	N	S	S	S	202: V/G, 210:L/P, 215: del Ala, 242: S/I
	A/Brisbane/ 10/2007	EU199250	MDCK	N	S	S	S	202: V/G, 210:L/P, 215: del Ala, 242: S/I
	A/Brisbane/ 10/2007	ISDN2753 57	Huevo	N	S	N	N	202: V/G, 210:L/P, 215: del Ala, 242: S/I
	A/Brisbane/ 10/2007	ISDN2604 30	Huevo	N	S	S	S	202: V/G, 210:L/P, 215: del Ala, 242: S/I
H3	A/Wisconsin/67/2005	ISDN1314 64 (Registro de la vacuna)	¿	N	S	S	N	138: A/S 156: H/Q 186: G/V 196: H/S
	A/Wisconsin/67/2005	DQ865947	¿	N	S	parcial	N	138: A/S 156: H/Q 186: G/V 196: H/S
	A/Wisconsin/67/2005	EF473424	¿	N	S	S	N	138: A/S 156: H/Q 186: G/V 196: H/S
	A/Wisconsin/67/2005	ISDN1387 23	Huevo	N	S	S	S	138: A/S 156: H/Q 186: G/V 196: H/S
	A/Wisconsin/67/2005	E473455	Huevo	N	S	S	S	138: A/S 156: H/Q 186: GN 196: H/S
	A/Wisconsin/67/2005	ISDN1387 24	¿	N	S	S	S	138: A/S 156: H/Q 186: G/V 196: H/S

(continuación)

	Cepa	Referencia No. de la base de datos de secuencia	Origen	SP	HA1	HA2	DTm	Divergencia
B	B/Malasia/ 2506/ 2004	ISDN1266 72 (Registro de la vacuna)	Huevo	S	S	N	N	120 K/N 210 T/A
	B/Malasia/2506/ 2004	EF566433	Huevo	S	S	N	N	120 K/N 210 T/A
	B/Malasia/2506/ 2004	ISDN2312 65	Huevo	S	S	S	S	120 K/N 210 T/A
	B/Malasia/2506/ 2004	ISDN2315 57	MDCK	S	S	S	S	120 K/N 210 T/A
	B/Malasia/2506/ 2004	EF566394	MDCK	S	S	N	N	120 K/N 210 T/A
	B/Malasia/2506/ 2004	EU124274	Huevo	S	S	S	S	120 K/N 210 T/A
	B/Malaysia/ 2506/2004	EU 124275	MDCK	S	S	S	S	120 K/N 210 T/A
	B/Malaysia/ 2506/2004	ISDN1247 76	MDCK	S	S	N	N	120 K/N 210 T/A
B	B/Florida/4/ 2006	ISDN2616 49	Huevo	S	S	S	N	Carece de sitio de glicosilación en la posición 211; 10 aminoácidos de DTm/cola citoplasmática
	B/Florida/4/ 2006	EU100604	MDCK	N	S	N	N	
	B/Florida/4/ 2006	ISDN2180 61	MDCK	N	S	N	N	
	B/Florida/4/ 2006	ISDN2857 78	Huevo	S	S	S	S	Incluye cola citoplasmática
B	B/Brisbane/3 /2007	ISDN2566 28	Huevo	N	S	N	N	Carece de sitio de glicosilación en la posición 211
	B/Brisbane/ 3/2007	ISDN2637 82	Huevo	S	S	S	S	Carece de sitio de glicosilación en la posición 211
	B/Brisbane/ 3/2007	ISDN2637 83	MDCK	S	S	S	S	

(continuación)

	Cepa	Referencia No. de la base de datos de secuencia	Origen	SP	HA1	HA2	DTm	Divergencia
H5	A/Vietnam/1194/2004	ISDN3868 6 (Registro de la vacuna)	¿	S	S	S	S	
	A/Vietnam/1194/2004	AY651333	?	S	S	S	S	
	A/Vietnam/1194/2004	EF541402	?	S	S	S	S	
H5	A/Anhui1/1/ 2005	DQ37928 (Registro de la vacuna)	?	S	S	S	S	
	A/Anhui1/1/ 2005	ISDN1314 65	Huevo	S	S	S	S	
H7	A/Pollo/Italia/13474/1999	AJ91720	Gen de ARN	S	S	S	S	
H7	A/Equino/Praga/56	AB298277 (Reclasificado en el laboratorio)	?	S	S	S	S	152 (R/G)□169 (T/I)□208 (N/D) (sitio de glicosilación eliminado)
	A/Equino/Praga/56	X62552	?	S	S	S	S	
H9	A/Hong Kong/1073/1999	AJ404626	?	S	S	S	S	
	A/Hong Kong/1073/1999	AB080226	?	N	S	N	N	
H2	A/Singapur/ 1/1957	AB296074	?	S	S	S	S	
	A/Singapur /1/1957	L20410	RNA	S	S	S	S	
	A/Singapur /1/1957	L11142	?	S	S	S	S	
H2	A/Japón/305/ 1957	L20406	?	S	S	S	S	
	A/Japón/305 /1957	L20407	?	S	S	S	S	

(continuación)

	Cepa	Referencia No. de la base de datos de secuencia	Origen	S P	HA1	HA2	DTm	Divergencia
	A/Japón/305 /1957	CY014976	?	S	S	S	S	
	A/Japón/305 /1957	AY209953	?	S	S	N	N	
	A/Japón/305 /1957	J02127	?	S	S	S	S	
	A/Japón/305 /1957	DQ508841	?	S	S	S	S	
	A/Japón/305 /1957	AY643086	?	S	S	S	N	
	A/Japón/305 /1957	AB289337	?	S	S	S	S	
	A/Japón/305 /1957	AY643085	?	S	S	S	S	
	A/Japón/305 /1957	AY643087	Resistente a fármacos	S	S	S	N	
H6	A/Cerceta/Hong Kong/W312/1997 (H6N1)	AF250479	Huevo	S	S	S	S	
S, N - Sí, No, respectivamente SP - presencia de secuencia de péptido señal S/N HA1 - dominio completo de HA1 S/N HA2 - dominio completo de HA2 S/N DTm - dominio transmembrana completo S/N								

Cepa: H1 de A/Islas Salomón/3/2006

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

Tabla 14. Variación de aminoácido de A/Islas Salomón/3/2006

Aminoácido #*	MDCK	Huevo
212	K	T
241	Q	R
542	L	R
Numeración de la partida M		

Cepa: H1 de A/Brisbane/59/2007

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

Cepa: H3 de A/Brisbane/10/2007

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

Tabla 15: H3 a partir de la variación de aminoácido de A/Brisbane/10/2007

	Origen	202, 210, 215, 235, 242*
ISDN274893	Huevo	V L - Y I
ISDN273759	Huevo	G P A S I
EU 199248	Huevo	G P A S I
EU199366	Huevo	G P A S I
ISDN273757	Huevo	V L - S S
ISDN257043	Huevo	G P A S I
EU199250	MDCK	G L A S I
ISDN375357	Huevo	G P A S I
ISDN260430	Huevo	G P A S I
ISDN256751	Huevo	G P A S I
ISDN257648	MDCK	G L A S I
* Numeración de la partida M		

5

Cepa: H3 de A/Wisconsin/67/2005

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

Tabla 16: H3 a partir de la variación de aminoácido de A/Wisconsin/67/2005

	Origen	138, 156, 186, 196
ISDN138724	Desconocido	A H G H
DQ865947	Desconocido	S H V Y
EF473424	Desconocido	A H G H
ISDN138723	Huevo	S Q V Y
ISDN 131464	Desconocido	A H G H
EF473455	Huevo	A H G H
*Numeración de la proteína madura		

10

Cepa: B de B/Malasia/2506/2004

Se observa una variación en dos posiciones (Tabla 17). La posición 120 no es un sitio de glicosilación; la posición 210 está implicada en la glicosilación; se elimina esta glicosilación tras el cultivo en huevos.

Tabla 17: Hemaglutinina a partir de la variación de aminoácido de B/Malasia/2506/2004

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

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

- 5 Las variaciones observadas incluyen una variación en la secuencia de aminoácidos en la posición 211, que depende del sistema de cultivo. La asparagina (N) se encuentra en las secuencias aisladas de células MDCK, mientras que el ácido glutámico (D) se encuentra en la secuencia aislada de huevos. La posición 211 es un sitio de glicosilación, y se elimina tras el cultivo en huevos.

Cepa: H2 de A/Singapur/1/1957

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

10 Tabla 18: H2 a partir de una variación de aminoácido de A/Singapur/1/1957

	Origen	Aminoácido No. 166 168 199\236 238 358
L20410	Viral RNA	K E T L S V
L11142	Desconocido	E G K L S I
AB296074	Desconocido	K G T Q G V
Consenso A/Japón/305/1957		K G T Q/L G V
¹ Numeración de la proteína madura		

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

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

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

Sólo una entrada fue variable para la cepa (AF250179).

Cepa: H7 de A/Equino/Praga/56

Se encontraron un total de 2 entradas de secuencias en las bases de datos. Se excluyó la entrada AB298877 ya que es una reclasificación de laboratorio.

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

Se encontraron un total de 2 entradas de secuencias en las bases de datos. Sólo una estaba completa.

Ejemplo 20. Expresión transitoria de hemaglutinina del virus de la influenza fusionada a un péptido señal de una proteína secretada por la planta.

- 25 Se investigó también el efecto de la modificación del péptido señal sobre el nivel de acumulación de HA para otras hemaglutininas mediante la expresión de las HA subtipo A a partir de las cepas A/Brisbane/59/2007 (H1N1) (plásmido # 787), A/Nueva Caledonia/20/1999 (H1N1) (plásmido # 540), a partir de las cepas A/Brisbane/10/2007

(H3N2) (plásmido 790) y A/Indonesia/5/2005 (H5N1) (plásmido # 663) y del tipo B a partir de las cepas B/Florida/4/2006 (plásmido # 798) fusionada con el péptido señal (SP; nucleótidos 32 - 103) de la proteína disulfuro isomerasa de alfalfa (PDI; número de acceso Z11499; SEQ ID NO: 34; Figura 17). Se ensamblaron fusiones del gen de SP-hemaglutinina de la PDI en el casete de expresión de plastocianina - promotor, 5'UTR, 3'UTR y secuencias de terminación de la transcripción del gen de plastocianina de alfalfa - y se insertaron los casetes ensamblados en un plásmido binario pCambia. Los plásmidos se transfectaron a continuación en *Agrobacterium* (AGL1), produciendo cepas de *Agrobacterium* AGL1/787, AGL1/540, AGL1/790, AGL1/663 y AGL1/798, respectivamente.

Se infiltraron plantas de *N. benthamiana* con AGL1/787, AGL1/540, AGL1/790, AGL1/663 y AGL1/798. En forma paralela, se infiltró una serie de plantas con AGL1/774, AGL1/776, AGL1/660 y AGL1/779, para efectos de comparación. Se cosecharon las hojas después de un periodo de incubación de seis días y se extrajeron las proteínas de las hojas infiltradas y se analizaron por transferencias tipo Western utilizando los anticuerpos anti-HA apropiados. Se mejoró considerablemente la expresión de HA de H1/Brisbane y H3/Brisbane por medio del uso del SP de PDI en comparación con la expresión observada para las mismas HA con su péptido señal nativo (Fig. 87b y c, respectivamente). Se confirmó la expresión de una tercera HA del subtipo H1 (cepa A/New Caledonia/20/1999) usando esta estrategia de reemplazo del SP (Fig. 87a). La modificación del péptido señal no condujo a un aumento sustancial en la acumulación de HA para H5 (A/Indonesia/5/2005) (Figura 87d), y no se detectó señal para HA de la cepa B/Florida/4/2006, independientemente del péptido señal utilizado para la expresión (Figura 87e). Para todas las condiciones en las que se detectó la expresión de HA, se observó una única banda inmunorreactiva con un peso molecular de aproximadamente 72 kDa (Fig. 87a a d), corresponde en tamaño al precursor de HA0 no escindida.

Ejemplo 21. Expresión de HA bajo el control del casete de expresión de CPMV-HT.

Se utilizó un casete de expresión de CPMV-HT (Sainsbury et al. 2008 Plant Physiology 148: 1212 - 1218, véase también el documento WO 2007/135480) que comprende secuencias no traducidas del ARN2 del virus del mosaico del caupí (CPMV) para la expresión de algunos hemaglutininas en plantas transgénicas. Se expresaron HA de A/Nueva Caledonia/20/1999 (H1), A/Brisbane/59/2007 (H1), A/Brisbane/10/2007 (H3), A/Indonesia/5/2005 (H5) y B/Florida/4/2006 (B) bajo el control de CPMV-HT en plantas de *N. benthamiana*, agroinfiltradas como se describe. Después de la incubación, se recogieron las hojas, se extrajeron y se compararon los contenidos de HA en extractos de proteína por transferencias tipo Western. Como se muestra en la Figura 88, el casete de expresión de CPMV-HT condujo a un mayor nivel de expresión de HA que el casete de plastocianina, independientemente del péptido señal utilizado. Además, para la cepa B de B/Florida/4/2006, el uso del casete de expresión de CPMV-HT permitió la detección de la acumulación de HA que permaneció indetectable bajo estas condiciones de inmunodetección cuando se expresa bajo el casete de plastocianina.

Tabla 19: Casete de expresión usado para la expresión de hemaglutininas de influenza con péptidos señal nativos o de PDI

Cepa Agro	HA expresada	Péptido señal	Casete de expresión
AGL1/560	H1 (A/California/04/09)	PDI	2X35S/CPMV-HT
AGL1/540	H1 (A/New Caledonia/20/99)	PDI	Plastocianina
AGL1/580	H1 (A/New Caledonia/20/99)	PDI	CPMV-HT
AGL1/774	H1 (A/Brisbane/59/2007)	nativo	Plastocianina
AGL1/787	H1 (A/Brisbane/59/2007)	PDI	Plastocianina
AGL1/732	H1 (A/Brisbane/59/2007)	nativo	CPMV-HT
AGL1/776	H3 (A/Brisbane/10/2007)	nativo	Plastocianina
AGL1/790	H3 (A/Brisbane/10/2007)	PDI	Plastocianina
AGL1/735	H3 (A/Brisbane/10/2007)	nativo	CPMV-HT
AGL1/736	H3 (A/Brisbane/10/2007)	PDI	CPMV-HT
AGL1/660	H5 (A/Indonesia/5/2005)	nativo	Plastocianina
AGL1/685	H5 (A/Indonesia/5/2005)	nativo	CPMV-HT

(continuación)

Cepa Agro	HA expresada	Péptido señal	Casete de expresión
AGL1/779	B (B/Florida/4/2006)	nativo	Plastocianina
AGL1/798	B (B/Florida/4/2006)	PDI	Plastocianina
AGL1/738	B (B/Florida/4/2006)	nativo	CPMV-HT
AGL1/739	B (B/Florida/4/2006)	PDI	CPMV-HT

Ejemplo 22. Coexpresión con Hsp70 y Hsp40 en combinación con la modificación del péptido señal.

Hsp70 y Hsp40 citosólicos (constructo número R870) de origen vegetal fueron coexpresados con H1 de Nueva Caledonia (constructo número 540) o H3 de Brisbane (constructo número 790), ambos con un péptido señal de origen vegetal (péptido señal de PDI de alfalfa). Se llevó a cabo la coexpresión mediante la agroinfiltración de plantas de *N. benthamiana* con una suspensión bacteriana que contiene una mezcla (proporción 1:1:1) de AGL1/540, AGL1/R870, AGL1/35SHcPro (Para H1) o AGL1/790, AGL1/R870 y AGL1/35SHcPro (para H3). Las plantas de control fueron agroinfiltradas con una mezcla (proporción 1:2) de AGL1/540, AGL1/35SHcPro (para H1) o AGL1/790, AGL1/35SHcPro (para H3). Después de la incubación, se recolectaron las hojas, se extrajeron y se compararon los contenidos de HA en extractos de proteínas mediante transferencias tipo Western (Figura 89). En las condiciones ensayadas, los resultados obtenidos indican que la coexpresión de Hsp70 y Hsp40 no aumentó el nivel de acumulación de hemaglutinina para H1 de Nueva Caledonia. Sin embargo, para H3 de Brisbane, las transferencias tipo Western indicaron claramente que la coexpresión de Hsp70 y Hsp40 citosólicos resultó en un aumento significativo en el nivel de acumulación de hemaglutinina.

Ejemplo 23. Expresión de H1 de A/California/04/09 bajo el control del casete de expresión de 2X35S/CPMV-HT.

Se utilizó también un casete de expresión de CPMV-HT para la expresión de H1 de A/California/04/09 (constructo # 560, Figuras 90, 98) en plantas de *N. benthamiana*, agroinfiltradas como se describe. Después de 2 días de incubación, se recogieron las hojas, se extrajeron y se compararon los contenidos de HA en extractos de proteína mediante transferencias tipo Western. Como se muestra en la Figura 91, el casete de expresión de CPMV-HT condujo a una expresión significativa de HA 2 días después de la infiltración. Las VLP producidas a partir de la expresión de HA en plantas demostraron la aglutinación de glóbulos rojos.

Tabla 20: muestras para cada carril de la transferencia tipo Western ilustrada en la Figura 91.

Carril #	Descripción	
1	10 ng de H1 (A/Bri/59/07)	Control positivo (ITC, IT-003-0052p)
2	40 ng de H1N1 (A/NC/20/99)	Control positivo (NISBC, 06/170)
3	40 ng de H1 (A/Bri/59/07)	Control positivo (NISBC, 08/100)
4	Planta infiltrada en forma simulada	Control negativo
5	BW09-I001-560-1	2X35S-CPMV HT H1 A/California/4/09
6	BW09-I001-560-2	2X35S-CPMV HT H1 A/California/4/09
7	BW09-I001-560-3	2X35S-CPMV HT H1 A/California/4/09
8	BW09-I001-560-6	2X35S-CPMV HT H1 A/California/4/09

Todas las citas se incorporan como referencia.

La presente invención ha sido descrita con respecto a una o más realizaciones.

Listado de secuencias

<110> Medicago Inc.

<120> Partículas similares al virus de la influenza (VLP) que comprenden hemaglutinina

<130> 1088-0013

5 <140> EP

<141> 2009-07-02

<150> PCT/CA2008/001281

<151> 2008-07-11

<150> PCT/CA2008/000032

10 <151> 2009-01-12

<160> 146

<170> PatentIn versión 3.4

<210> 1

<211> 1556

15 <212> ADN

<213> Virus de la influenza

<400> 1

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

<210> 2

5 <211> 219

<212> ADN

<213> Virus de la influenza

<400> 2

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

<210> 3

5 <211> 1719

<212> ADN

<213> Virus de la influenza

<400> 3

aagcttatgg agaaaatagt gcttcttctt gcaatagtca gtcttggtta aagtgatcag	60
atttgcattg gttaccatgc aaacaattca acagagcagg ttgacacaat catggaaaag	120
aacgttactg ttacacatgc ccaagacata ctggaaaaga cacacaacgg gaagctctgc	180
gatctagatg gagtgaagcc tctaatttta agagattgta gtgtagctgg atggctcctc	240
gggaacccaa tgtgtgacga attcatcaat gtaccggaat ggtcttacat agtggagaag	300
gccaatccaa ccaatgacct ctgttaccga gggagtttca acgactatga agaactgaaa	360
cacctattga gcagaataaa ccattttgag aaaattcaaa tcatccccaa aagttcttgg	420
tccgatcatg aagcctcatc aggagttagc tcagcatgtc catacctggg aagtccctcc	480
ttttttagaa atgtggtatg gcttatcaaa aagaacagta catacccaac aataaagaaa	540
agctacaata ataccaacca agaggatcct ttggtactgt ggggaattca ccatccta	600
gatgcggcag agcagacaag gctatatcaa aaccaacca cctatatattc cattgggaca	660
tcaacactaa accagagatt ggtaccacaaa atagctacta gatccaaagt aaacgggcaa	720
agtggaagga tggagttctt ctggacaatt ttaaaacctt atgatgcaat caacttcgag	780
agtaatggaa atttcattgc tccagaatat gcatacaaaa ttgtcaagaa aggggactca	840
gcaattatga aaagtgaatt ggaatatggt aactgcaaca ccaagtgtca aactccaatg	900

ggggcgataa actctagtat gccattccac aacatacacc ctctcaccat cggggaatgc 960
 cccaaatatg tgaaatcaaa cagattagtc cttgcaacag ggctcagaaa tagccctcaa 1020
 agagagagca gaagaaaaaa gagaggacta tttggagcta tagcaggttt tatagaggga 1080
 ggatggcagg gaatggtaga tggttggtat ggggtaccacc atagcaatga gcaggggagt 1140
 ggggtacgctg cagacaaaaga atccactcaa aaggcaatag atggagtcac caataaggtc 1200
 aactcaatca ttgacaaaat gaacactcag tttgaggccg ttggaaggga atttaataac 1260
 ttagaaagga gaatagagaa tttaaacaag aagatggaag acgggtttct agatgtctgg 1320
 acttataatg ccgaacttct ggttctcatg gaaaatgaga gaactctaga ctttcatgac 1380
 tcaaatgtta agaacctcta cgacaaggtc cgactacagc ttagggataa tgcaaaggag 1440
 ctgggtaacg gttgtttcga gttctatcac aaatgtgata atgaatgtat ggaaagtata 1500
 agaaacggaa cgtacaacta tccgcagtat tcagaagaag caagattaaa aagagaggaa 1560
 ataagtgggg taaaattgga atcaatagga acttaccaaa tactgtcaat ttattcaaca 1620
 gtggcgagtt ccctagcact ggcaatcatg atggctggtc tatctttatg gatgtgctcc 1680
 aatggatcgt tacaatgcag aatttgcatt taagagctc 1719

<210> 4

<211> 25

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> cebador Plasto-443c

<400> 4

gtattagtaa ttagaattg gtgtc 25

10 <210> 5

<211> 44

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> cebador SpHA(Ind)-Plasto.r

<400> 5

gcaagaagaa gcactatctt ctccatttc tcctaagatg atta 44

<210> 6

<211> 45

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> cebador SpHA(Ind)-Plasto.r

5 <400> 6

ttaatcatct tgagagaaaa tggagaaaat agtgcttctt ctgac 45

<210> 7

<211> 38

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> cebador HA(Ind)-Sac.r

<400> 7

actttgagct cttaaatgca aattctgcat tgtaacga 38

15 <210> 8

<211> 1471

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> casete de expresión basado en plastocianina de alfalfa

<400> 8

```

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

```

<210> 9

<211> 565

5 <212> PRT

<213> Virus de la influenza

<400> 9

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

His	Thr	Glu	Asn	Ala	Tyr	Val	Ser	Val	Val	Ser	Ser	His	Tyr	Ser	Arg
	210					215					220				
Arg	Phe	Thr	Pro	Glu	Ile	Ala	Lys	Arg	Pro	Lys	Val	Arg	Asp	Gln	Glu
225					230					235					240
Gly	Arg	Ile	Asn	Tyr	Tyr	Trp	Thr	Leu	Leu	Glu	Pro	Gly	Asp	Thr	Ile
				245					250					255	
Ile	Phe	Glu	Ala	Asn	Gly	Asn	Leu	Ile	Ala	Pro	Trp	Tyr	Ala	Phe	Ala
			260					265					270		
Leu	Ser	Arg	Gly	Phe	Gly	Ser	Gly	Ile	Ile	Thr	Ser	Asn	Ala	Pro	Met
		275					280					285			
Asp	Glu	Cys	Asp	Ala	Lys	Cys	Gln	Thr	Pro	Gln	Gly	Ala	Ile	Asn	Ser
	290					295					300				
Ser	Leu	Pro	Phe	Gln	Asn	Val	His	Pro	Val	Thr	Ile	Gly	Glu	Cys	Pro
305					310					315					320
Lys	Tyr	Val	Arg	Ser	Ala	Lys	Leu	Arg	Met	Val	Thr	Gly	Leu	Arg	Asn
				325					330					335	
Ile	Pro	Ser	Ile	Gln	Ser	Arg	Gly	Leu	Phe	Gly	Ala	Ile	Ala	Gly	Phe
			340					345					350		
Ile	Glu	Gly	Gly	Trp	Thr	Gly	Met	Val	Asp	Gly	Trp	Tyr	Gly	Tyr	His
		355					360					365			
His	Gln	Asn	Glu	Gln	Gly	Ser	Gly	Tyr	Ala	Ala	Asp	Gln	Lys	Ser	Thr
						375					380				
Gln	Asn	Ala	Ile	Asn	Gly	Ile	Thr	Asn	Lys	Val	Asn	Ser	Val	Ile	Glu
385					390					395					400
Lys	Met	Asn	Thr	Gln	Phe	Thr	Ala	Val	Gly	Lys	Glu	Phe	Asn	Lys	Leu
				405					410					415	
Glu	Arg	Arg	Met	Glu	Asn	Leu	Asn	Lys	Lys	Val	Asp	Asp	Gly	Phe	Leu
			420					425					430		
Asp	Ile	Trp	Thr	Tyr	Asn	Ala	Glu	Leu	Leu	Val	Leu	Leu	Glu	Asn	Glu
		435					440					445			
Arg	Thr	Leu	Asp	Phe	His	Asp	Ser	Asn	Val	Lys	Asn	Leu	Tyr	Glu	Lys
	450					455					460				

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

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

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

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

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

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

Cys Arg Ile Cys Ile
565

<210> 10

<211> 568

<212> PRT

5 <213> Virus de la influenza

<400> 10

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

115						120					125				
Lys	Ile	Gln	Ile	Ile	Pro	Lys	Ser	Ser	Trp	Ser	Asp	His	Glu	Ala	Ser
130						135					140				
Ser	Gly	Val	Ser	Ser	Ala	Cys	Pro	Tyr	Leu	Gly	Ser	Pro	Ser	Phe	Phe
145					150					155					160
Arg	Asn	Val	Val	Trp	Leu	Ile	Lys	Lys	Asn	Ser	Thr	Tyr	Pro	Thr	Ile
				165					170					175	
Lys	Lys	Ser	Tyr	Asn	Asn	Thr	Asn	Gln	Glu	Asp	Leu	Leu	Val	Leu	Trp
			180					185					190		
Gly	Ile	His	His	Pro	Asn	Asp	Ala	Ala	Glu	Gln	Thr	Arg	Leu	Tyr	Gln
		195					200					205			
Asn	Pro	Thr	Thr	Tyr	Ile	Ser	Ile	Gly	Thr	Ser	Thr	Leu	Asn	Gln	Arg
	210						215					220			
Leu	Val	Pro	Lys	Ile	Ala	Thr	Arg	Ser	Lys	Val	Asn	Gly	Gln	Ser	Gly
225					230					235					240
Arg	Met	Glu	Phe	Phe	Trp	Thr	Ile	Leu	Lys	Pro	Asn	Asp	Ala	Ile	Asn
				245					250					255	
Phe	Glu	Ser	Asn	Gly	Asn	Phe	Ile	Ala	Pro	Glu	Tyr	Ala	Tyr	Lys	Ile
			260					265					270		
Val	Lys	Lys	Gly	Asp	Ser	Ala	Ile	Met	Lys	Ser	Glu	Leu	Glu	Tyr	Gly
		275					280					285			
Asn	Cys	Asn	Thr	Lys	Cys	Gln	Thr	Pro	Met	Gly	Ala	Ile	Asn	Ser	Ser
	290						295					300			
Met	Pro	Phe	His	Asn	Ile	His	Pro	Leu	Thr	Ile	Gly	Glu	Cys	Pro	Lys
305					310					315					320
Tyr	Val	Lys	Ser	Asn	Arg	Leu	Val	Leu	Ala	Thr	Gly	Leu	Arg	Asn	Ser
				325					330					335	
Pro	Gln	Arg	Glu	Ser	Arg	Arg	Lys	Lys	Arg	Gly	Leu	Phe	Gly	Ala	Ile
			340					345					350		
Ala	Gly	Phe	Ile	Glu	Gly	Gly	Trp	Gln	Gly	Met	Val	Asp	Gly	Trp	Tyr
		355					360					365			
Gly	Tyr	His	His	Ser	Asn	Glu	Gln	Gly	Ser	Gly	Tyr	Ala	Ala	Asp	Lys
	370						375					380			

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
565

<210> 11

<211> 1629

<212> ADN

<213> Virus de la influenza

<400> 11

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

<210> 12

<211> 1773

<212> ADN

<213> Virus de la influenza

5 <400> 12

agcaaaagca ggggttatac catagacaac caaaggcaag acaatggcca tcatttatct	60
aattcttctg ttcacagcag tgagagggga ccaaatatgc attggatacc attccaacaa	120
ttccacagaa aaggttgaca caatcctaga gagaaatgtc actgtgactc acgctgagga	180
cattcttgag aagactcaca atgggaagtt atgcaaacta aatggaatcc ctccacttga	240
attaagggat tgcagcattg ccggatggct ccttgggaat ccagaatgtg atatacttct	300
aactgtgcca gaatggcat acataataga aaaagaaaat ccaaggaacg gcttgtgcta	360

```

cccaggcagt ttcaatgatt atgaagaatt gaagcatctt atcagcagcg tgacacattt 420
tgagaaagta aagattctgc ccagaaatga atggacacag catacaacaa ctggagggttc 480
acaggcttgc gcagactatg gtggtccgtc attcttccgg aacatggtct ggttgacaaa 540
gaaagggtcg aattatccaa ttgccaaaag atcttacaac aatacaagtg gggaacaaat 600
gctgatcatt tgggggatac atcaccccaa tgatgaaagt gaacaaagag cattgtatca 660
gaatgtgggg acctatgtgt cagtaggaac atcaacactg aacaaaagat catccccaga 720
aatagcaaca agacctaaag tgaatggaca aggaggcaga atggaattct cgtggactat 780
cttagatata tggggacacaa taaattttga gagtactggc aatctaattg caccagaata 840
tggtttcaaa atatccaaac gaggtagttc agggatcatg aaaacagaag gaaaacttga 900
aaactgcgag accaagtgcc aaactccttt gggagcaata aatacaacat taccctttca 960
caatatccac ccactgacca ttggtgagtg ccccaaatat gtaaaatcgg aaagattagt 1020
cttagcaaca ggactaagaa acgtccctca gattgagtca aggggattgt ttggggcaat 1080
agctggtttt atagagggtg gatggcaagg aatggttgat ggttggtatg ggtatcatca 1140
cagcaatgac cagggatctg ggtatgcagc agacaaagaa tccactcaaa aggcaattga 1200
tggaatcacc aacaaggtaa attctgtgat cgaaaagatg aacacccaat tcggagctgt 1260
tgghaaagaa ttcagtaact tggagagaag actggagaac ttgaataaaa agatggagga 1320
cggatttcta gatgtgtgga catacaatgc cgagctccta gttctaattg aaaatgagag 1380
gacacttgac tttcatgatt ctaatgtcaa gaatctatat gataaagtca gaatgcaact 1440
gagagacaat gcaaaagaac tagggaatgg atgttttgaa ttttatcaca aatgtgatga 1500
tgaatgcatg aacagtgtga agaatgggac atatgattat tccaagtatg aagaggagtc 1560
taaactaaac aggactgaaa tcaaaggggt taaattgagc aatatggggg tttatcaaat 1620
ccttgccatc tatgctacag tagcagggtc cctgtcactg gcaatcatga tagctgggat 1680
ttctatatgg atgtgctcca acgggtctct gcaatgcaga atctgcatat gatcatcagt 1740
cattttgtaa ttaaaaacac ccttgtttct act 1773

```

<210> 13

<211> 1086

<212> ADN

5 <213> Virus de la influenza

<400> 13

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

<210> 14

5 <211> 1048

<212> ADN

<213> Virus de la influenza

<400> 14

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

<210> 15

5 <211> 1707

<212> ADN

<213> Virus de la influenza

<400> 15

atggagaaaa tagtgcttct tcttgcaata gtcagtcttg ttaaaagtga tcagatttgc	60
attggttacc atgcaaacia ctgcacagag caggttgaca caataatgga aaagaacggt	120
actgttacac atgccaaga catactggaa aagacacaca acgggaaact ctgcgatcta	180
gatggagtga agcctctaata tttgagagat tgtagtgtag ctggatggct cctcggaaac	240
cctatgtgtg acgaattcat caatgtgccg gaatggtctt acatagtgga gaaggccagt	300
ccagccaatg acctctgtta ccaggggat ttcaacgact atgaagaact gaaacaccta	360
ttgagcagaa taaaccactt tgagaaaatt cagatcatcc ccaaaagttc ttggtccaat	420
catgaagcct catcaggggt gagcgcagca tgtccatacc atgggaagcc ctcttttttc	480
agaaatgtgg tatggcttat caaaaagaac agtgcatacc caacaataaa gaggagctac	540
aataatacca accaagaaga tcttttggtta ctgtggggga ttcaccatcc taatgatgcg	600
gcagagcaga caaagctcta tcaaaaccca accacctata tttccgttgg aacatcaaca	660
ctaaaccaga gattggtccc aaaaatagct actagatcca aagtaaacgg gcaaagtgga	720
agaatggagt tcttctggac aattttaaag ccgaatgatg ccataaattt cgagagtaat	780
ggaaatttca ttgctccaga atatgcatac aaaattgtca agaaagggga ctcagcaatt	840
atgaaaagtg aattggaata tggtaactgc aacaccaagt gtcaaaactcc aatgggggcg	900
ataaactcta gtatgccatt ccacaacata caccctctca caatcgggga atgccccaaa	960
tatgtgaaat caaacagatt agtccttgcg actggactca gaaatacccc tcaaagagat	1020
agaagaagaa aaaagagagg actatttggga gctatagcag gttttataga gggaggatgg	1080
caaggaatgg tagatggttg gtatgggtac caccatagca atgagcaggg gagtggatac	1140
gctgcagaca aagaatccac tcaaaaggca atagatggag tcaccaataa ggtcaactcg	1200
atcattgaca aaatgaacac tcagtttgag gccgttggaa ggaatttaa taacttagaa	1260
aggaggatag aaaattttaa caagaagatg gaagacggat tcctagatgt ctggacttat	1320
aatgctgaac ttctggttct catggaaaat gagagaactc tagactttca tgattcaaata	1380
gtcaagaacc tttacaacia ggtccgacta cagcttaggg ataatagcaa ggagctgggt	1440
aatggttggt tcgagttcta tcacaaatgt gataatgaat gtatggaaag tgtaaaaaac	1500
gggacgtatg actaccgcga gtattcagaa gaagcaagac taaacagaga ggaaataagt	1560
ggagtaaaat tggaatcaat gggaacttac caaatactgt caatttattc aacagtggcg	1620
agttccctag cactggcaat catggtagct ggtctatctt tatggatgtg ctccaatggg	1680
tcgttacaat gcagaatttg catttaa	1707

<210> 16

<211> 1050

<212> ADN

<213> Virus de la influenza

5 <400> 16

```

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

```

<210> 17

<211> 1698

<212> ADN

10 <213> Virus de la influenza

<400> 17

atggaaaaat tcatcgcaat agcaaccttg gcgagcacaa atgcatacga taggatatgc	60
attgggtacc aatcaaacia ctccacagac acagtgaaca ctctcataga acagaatgta	120
ccagtcaccc aaacaatgga gctcgtggaa acagagaaac atcccgcctta ttgtaaacact	180
gatttaggtg ccccatgga actgcgagac tgcaagattg aggcagtaat ctatgggaac	240
cccaagtgtg acatccatct gaaggatcaa ggttgggtcat acatagtgga gaggcccagc	300
gcaccagaag ggatgtgtta ccctggatct gtggaaaatc tagaagaact gaggtttgtc	360
ttctccagtg ctgcatctta caagagaata agactatctg actattccag gtggaatgtg	420
actagatctg gaacgagtaa agcatgcaat gcatcaacag gtggccaatc cttctatagg	480
agcatcaatt ggttgaccaa aaaggaacca gacacttatg acttcaatga aggagcttat	540
gttaataatg aagatggaga catcattttc ttatggggga tccatcatcc gccggacaca	600
aaagagcaga caacactata taaaaatgca aacactttga gtagtggtac tactaacact	660
ataaacagaa gctttcaacc aaatattggg cccagaccat tagtaagagg acagcaaggg	720
aggatggatt actattgggg cattctgaaa agaggggaga ctctgaagat caggaccaac	780
ggaaatttaa tcgcacctga atttggttat ctgctcaaag gtgaaagcta cggcagaata	840
attcaaatg aggatatacc catcgggaac tgtaacacaa aatgtcaaac atatgcgga	900
gcaatcaata gcagcaaacc ctttcagaat gcaagtaggc attacatggg agaatgtccc	960
aaatatgtga agaaggcaag cttgcgactt gcagttgggc ttaggaatac gccttctgtt	1020
gaaccagag gactgtttgg agccattgct ggtttcattg aaggaggatg gtctggaatg	1080
attgatgggt ggtatggatt tcatcacagc aattcagagg gaacaggaat ggcagctgac	1140
cagaaatcaa cacaagaagc catcgataag atcaccaata aagtcaacaa tatagttgac	1200
aagatgaaca gggagtttga agttgtgaat catgagttct ctgaagttga aaaaagaata	1260
aacatgataa acgataaaat agatgaccaa attgaagatc tttgggctta caatgcagag	1320
ctccttgtgc tcttagagaa ccagaaaacg ctagacgaac atgattccaa tgtcaaaaac	1380
ctttttgatg aagtgaaaag gagactgtca gccaatgcaa tagatgctgg gaacggttgc	1440
tttgacatac ttcacaaatg cgacaatgag tgtatggaaa ctataaagaa cggaacttac	1500
gatcataagg aatatgaaga ggaggctaaa ctagaaagga gcaagataaa tggagtaaaa	1560
ctagaagaga acaccactta caaaattctt agcatttaca gtacagtggc ggccagtctt	1620
tgcttggcaa tcctgattgc tggaggttta atcctgggca tgcaaatgg atcttgtaga	1680
tgcatgttct gtatttga	1698

<210> 18

<211> 1363

<212> ADN

<213> Virus de la influenza

5 <400> 18

atggaacag tatcactaat gactatacta ctagtagcaa cagcaagcaa tgcagacaaa	60
atctgcatcg gccaccagtc aacaaactcc acagaaactg tggacacgct aacagaaacc	120
aatgttcctg tgacacatgc caaagaattg ctccacacag agcacaatgg aatgctgtgt	180
gcaacaaatc tgggacatcc cctaattctta gacacgtgca ctattgaagg actgatctat	240
ggtaaccctt cttgtgactt gctgttggga ggaagagaat ggtcctacat cgtcgaaagg	300
tcatcagctg taaatggaac gtgttaccct gggaatgtag agaacctaga ggaactcagg	360
acacttttta gttccgctag ttcctaccga agaattccaaa tcttcccaga cacaatctgg	420
aatgtgactt acactggaac aagcaaagca tggtcagatt cattctacag gagtatgaga	480
tggctgactc aaaaaagcgg gtcttaccct gttcaagacg ctcaatacac aaataatatg	540
ggaaagagca ttcttttcgt gtggggcata catcacccac ccactgaagc tgcacagaca	600
aatttgtaca caagaaccga cacaacaaca agcgtgacaa cagaagactt aaataggatc	660
ttcaaaccga tggtagggcc aaggccctt gtcaatggtc tgcaggggaag aattaattat	720
tattggtcgg tactaaaacc aggccagaca ctgagagtaa gatccaatgg gaatctaatt	780
gctccatggt atggacacat tctttcggga gggagccatg gaagaatcct gaagactgat	840
ttaaaaagta gtaattgcgt agtgcaatgt cagactgaaa aaggcggctt aaacagtaca	900
ttgccgttcc acaatatcag taaatatgca tttggaaact gtcccaaata tgtagagtt	960
aaaagtctca aactggcagt aggggttgagg aacgtgcctg ctagatcaag tagaggacta	1020
ttcggagcca tagctggatt catagaagga ggttggccag gactagtcgc tggttggtat	1080
ggtttccagc attcaaata tcaaggggtt ggtattgcgg cagataggga ttcaactcaa	1140
aaggcaattg atagaataac aaccaagggtg aataatatag tgcacaaaat gaacaaacaa	1200
tatgaaataa ttgatcatga attcagtgag gttgaaacta ggctcaacat gatcaataat	1260
aagattgatg accaaataca agacatatgg gcatataatg cagagttgct agtactactt	1320
gaaaaccaga aaacactcga tgagcatgac gcaaatgtga aga	1363

<210> 19

<211> 1727

<212> ADN

<213> Virus de la influenza

5 <400> 19

agcaaaagca	ggggtcacaa	tgtacaaagt	agtagtaata	attgcgctcc	ttggagcagt	60
gaaaggctct	gacagaatct	gcctaggaca	ccatgcggtt	gccaatggaa	ccattgtgaa	120
gacccttaca	aatgaacaag	aggaagtgac	caatgctact	gagacggtag	agagcacaaa	180
tttgaataaa	ttgtgtatga	aaggaagaag	ctacaaggac	ttgggcaatt	gtcacccggt	240
aggaatgttg	ataggaacac	ctgtttgtga	tccgcacttg	accgggacct	gggacactct	300
cattgagcga	gagaatgcca	ttgcccactg	ttatccaggg	gcaaccataa	atgaagaagc	360
attgaggcag	aaaataatgg	aaagtggagg	aatcagcaag	atgagcactg	gcttcactta	420
tgggtcttcc	atcacctcag	ctgggaccac	taaggcatgc	atgagaaatg	gaggagatag	480
tttctatgca	gagctcaa	ggctagtgtc	aaagacaaag	ggacaaaatt	tccctcagac	540
aacaaacacc	tatcggaata	cggacacagc	agaacatctc	ataatatggg	gaattcatca	600

```

cccttccagc acacaggaaa agaattgactt atacggaact cagtcactat ctatatcagt 660
tgagagttct acatatcaga acaactttgt tccagttgtt ggggcaagac ctcaggtcaa 720
tggaacaaagt gggcgaattg acttttactg gacactagta cagccgggtg acaacataac 780
cttctcagac aatggaggtc taatagcacc aagtcgagtt agcaaattaa ctggaaggga 840
tttgggaatc caatcagaag cgttgataga caacagttgt gaatccaaat gcttttggag 900
aggggggttct ataaatacaa agctcccttt tcaaaatctg tcaccagaa cagtaggtca 960
atgccccaaa tacgtaaatc agaggagttt actgcttgca acagggatga ggaatgtgcc 1020
agaagtgggtg cagggaaggg gtctgttttg tgcaatagca gggttcatag aaaacggatg 1080
ggaaggaatg gtagacggct ggtatggttt cagacaccaa aatgccagg gcacaggcca 1140
agctgctgat tacaagagta ctcaagcagc tattgaccaa atcacaggga aactgaacag 1200
gttgattgag aagaccaaca ctgagtttga gtcaatagaa tctgaattca gtgagactga 1260
gcatcaaatt ggtaacgtca ttaattggac caaagattca ataaccgaca tttggactta 1320
caacgcagag ctattagtgg caatggagaa tcagcacaca attgacatgg ctgattcaga 1380
gatgctaaat ctgtatgaaa gggtaagaaa gcaactcaga cagaatgcag aagaagacgg 1440
aaagggatgt tttgagatat atcatacttg tgatgattcg tgcattggaga gtataaggaa 1500
caatacttat gaccattcac aatacagaga ggaggctctt ctgaatagac tgaacatcaa 1560
cccagtgaia ctttcttcgg ggtacaaaga catcatactt tggtttagct tcgggggaatc 1620
atgctttgtt cttctagccg ttgttatggg tcttgttttc ttctgcctga aaaatggaaa 1680
catgcgatgc acaatctgta tttagttaaa aacaccttgt ttctact 1727

```

<210> 20

<211> 1698

<212> ADN

5 <213> Virus de la influenza

<400> 20

atggagaaaa cactgctatt tgcagctatt ttcctttgtg tgaaagcaga tgagatctgt	60
atcgggtatt taagcaacaa ctcgacagac aaagttgaca caataattga gaacaatgtc	120
acggtcacta gctcagtga actggttgag acagaacaca ctggatcatt ctgttcaatc	180
aatggaaaac aaccaataag ccttggagat tgttcatttg ctggatggat attaggaaac	240
cctatgtgtg atgaactaat tggaaagact tcatggtctt acattgtgga aaaacccaat	300
ccaacaaatg gaatctgtta cccaggaact ttagagagtg aagaagaact aagactgaaa	360
ttcagtggag ttttagaatt taacaaattc gaagtattca catcaaatgg atgggggtgct	420
gtaaattcag gagtaggagt aaccgctgca tgcaaattcg ggggttctaa ttctttcttt	480
cgaacatgg tatggctgat acaccaatca ggaacatata ctgtaataaa gagaaccttt	540
aacaacacca aagggagaga tgtactgatt gtttggggaa ttcatcatcc tgctacactg	600
acagaacatc aagatctgta taaaaaggac agctcctatg tagcagtggg ttcagagacc	660
tacaacagaa gattcactcc agaaatcaac actaggccca gagtcaatgg acaggccgga	720
cggatgacat tctactggaa gatagtcaaa ccaggagaat caataacatt cgaatctaata	780
ggggcgttcc tagctcctag atatgctttt gagattgtct ctggttgaaa tgggaaactg	840
ttcaggagcg aactgaacat tgaatcatgc tctaccaaata gtcaaacaga aataggagga	900
attaatacga acaaaagctt ccacaatgtt cacagaaaca ctatcgggga ttgccccaaag	960
tatgtgaatg tcaaatacctt aaagcttgca acaggaccta gaaatgtccc agcaatagca	1020
tcgagaggct tgtttggagc aatagctgga ttcatagaag ggggatggcc tggactgata	1080
aatggatggt atgggttcca acacagggaac gaagaaggaa caggcattgc agcagacaag	1140
gagtcaactc aaaaggcaat agaccagata acatccaagg taaataacat cgttgacagg	1200
atgaatacaa actttgagtc tgtgcaacac gaattcagtg aaatagagga aagaataaat	1260
caattatcaa aacacgtaga tgattctgtg gttgacatct ggtcatataa tgcacagctt	1320
ctcgttttac ttgaaaatga gaagacactg gacctccatg actcaaattgt caggaacctc	1380
catgagaaag tcagaagaat gctaaaggac aatgccaaag atgaggggaa cggatgcttc	1440
accttttacc ataagtgtga caataaatgc attgaacgag ttagaaacgg aacatatgat	1500
cataaagaat tcgaggagga atcaaaaatc aatcgccagg agattgaagg ggtgaaacta	1560
gattctagtg ggaatgtgta taaaataactg tcaatttaca gctgcattgc aagcagtctt	1620
gtattggcag cactcatcat ggggttcatg ttttgggcat gcagtaatgg atcatgtaga	1680
tgtaccattt gcatttag	1698

<210> 21

<211> 1695

<212> ADN

<213> Virus de la influenza

5 <400> 21

atggaaaaat tcatcatttt gagtactgtc ttggcagcaa gctttgcata tgacaaaatt	60
tgcattggat accaaacaaa caactcgact gaaacggtaa acacactaag tgaacaaaac	120
gttccggtga cgcaggtgga agaacttgta catcgtggga ttgatccgat cctgtgtgga	180
acggaactag gatcaccact agtgcttgat gactgttcat tagaggggtct aatcctaggc	240
aatcccaa at gtgatcttta tttgaatggc agggaatggt catacatagt agagaggccc	300
aaagagatgg aaggagtttg ctatccaggg tcaattgaaa accaggaaga gctaagatct	360
ctgttttctt ccatcaaaaa atatgaaaga gtgaagatgt ttgatttcac caaatggaat	420
gtcacataca ctgggaccag caaggcctgc aataatacat caaaccaagg ctcattctat	480
aggagcatga gatggttgac cttaaaatca ggacaatttc cagtccaaac agatgagtac	540
aagaacacca gagattcaga cattgtattc acctgggcca ttcaccaccc accaacatct	600

gatgaacaag taaaattata caaaaatcct gatactctct cttcagtcac caccgtagaa 660
 atcaatagga gcttcaagcc taatataggg ccaagaccac tcgtgagagg acaacaaggg 720
 agaatggatt actactgggc tgttctttaa cctggacaaa cagtcaaaat acaaaccaat 780
 ggtaatctta ttgcacctga atatggtcac ttaatcacag ggaaatcaca tggcaggata 840
 ctcaagaata atttgcccat gggacagtgt gtgactgaat gtcaattgaa cgagggtgta 900
 atgaacacaa gcaaaccctt ccagaacact agtaagcact atattgggaa atgccccaaa 960
 tacataccat caggggagttt aaaattggca atagggctca ggaatgtccc acaagttcaa 1020
 gatcgggggc tctttggagc aattgcaggt ttcatagaag gcggatggcc agggctagtg 1080
 gctggttggt acggatttca gcatcaaaat gcggagggga caggcatagc tgcagacaga 1140
 gacagcacc c aaagggcaat agacaatatg caaaacaaac tcaacaatgt catcgacaaa 1200
 atgaataaac aatttgaagt ggtgaatcat gagttttcag aagtggaaag cagaataaac 1260
 atgattaatt ccaaaattga tgatcagata actgacatat gggcatacaa tgctgaattg 1320
 cttgtcctat tggaaaatca gaagacatta gatgagcatg acgctaattgt aaggaatcta 1380
 catgatcggg tcagaagagt cctgagggaa aatgcaattg acacaggaga cggctgcttt 1440
 gagattttac ataaatgtga caacaattgt atggacacga ttagaaacgg gacatacaat 1500
 cacaagagt atgaggaaga aagcaaaatc gaacgacaga aagtcaatgg tgtgaaactt 1560
 gaggagaatt ctacatataa aattctgagc atctacagca gtgttgctc aagcttagtt 1620
 ctactgctca tgattattgg gggtttcatt ttcgggtgtc aaaatggaaa tgttcgttgt 1680
 actttctgta tttaa 1695

<210> 22

<211> 1701

<212> ADN

5 <213> Virus de la influenza

<400> 22

atggctctaa atgtcattgc aactttgaca cttataagtg tatgtgtaca tgcagacaga	60
atatgcgtgg ggtatctgag caccaattca tcagaaaggg tcgacacgct ccttgaaaat	120
ggggtcccag tcaccagctc cattgatctg attgagacaa accacacagg aacatactgt	180
tctctaaatg gagtcagtcc agtgcatttg ggagattgca gctttgaagg atggattgta	240
ggaaaccag cctgcaccag caactttggg atcagagagt ggtcatacct gattgaggac	300
cccgcggccc ctcatgggct ttgctaccct ggagaattaa acaacaatgg tgaactcaga	360
cacttgttca gtggaatcag gtcattcagt agaacggaat tgatcccacc tacctcctgg	420
ggggaagtac ttgacggtac aacatctgct tgcagagata acacgggaac caacagcttc	480
tatcgaaatt tagtttggtt tataaagaag aatactagat atccagttat cagtaagacc	540
tacaacaata caacgggaag ggatgtttta gttttatggg gaatacatca cccagtgtct	600
gtggatgaga caaagactct gtatgtcaat agtgatccat acacactggg ttccaccaag	660
tcttgagcgc agaaatataa actagaaacg ggagtcgcac ctggctataa tggacagagg	720
agctggatga aaatttattg gtctttgata catccagggg agatgattac tttcgagagt	780
aatggtggat ttttagcccc aagatatggg tacataattg aagaatatgg aaaaggaagg	840
attttccaga gtcgcatcag aatgtctagg tgcaacacca agtgccagac ttcggttggg	900
gggataaaca caaacagaac gttccaaaac atcgataaga atgctcttgg tgactgtccc	960
aaatacataa agtctggcca actcaagcta gccactggac tcagaaatgt gccagctata	1020
tcgaatagag gattgttcgg agcaattgca gggttcatag aaggaggctg gccaggttta	1080
atcaatggtt ggtacggttt tcagcatcaa aatgaacagg gaacaggaat agctgcagac	1140
aaagaatcaa cacagaaagc tatagaccag ataacaacca aaataaataa cattattgat	1200
aaaatgaatg ggaactatga ttcaattagg ggtgaattca atcaagttga gaagcgtata	1260
aacatgcttg cagacagaat agatgatgcc gtgacggaca tttggtcata caatgccaaa	1320
cttcttgat tgctggaaaa tgataaaaact ttagatatgc atgatgctaa tgtaaagaat	1380
ttacatgagc aagtacgaag agaattgaag gacaatgcaa ttgacgaagg aatggctgt	1440
tttgaactcc ttcataaatg caatgactcc tgcattggaaa ctataagaaa tggaacgtat	1500
gaccacactg agtatgcaga ggagtcaaag ttaaagaggc aagaatcga tgggatcaaa	1560
ctcaaactcag aagacaacgt ttacaaagca ttatcaatat acagttgcat tgcaagtagt	1620
gttgtactag taggactcat actctctttc atcatgtggg cctgtagtag tgggaattgc	1680
cgattcaatg tttgtatata a	1701

<210> 23

<211> 1749

<212> ADN

<213> Virus de la influenza

5 <400> 23

```

agcaaaagca ggggaaaatg attgcactca tattggttgc actggctctg agccacactg      60
cttattctca gatcacaaat gggacaacag gaaaccccat tatatgcttg gggcatcatg      120
cagtggaaaa cggcacatct gttaaaacac taacagacaa tcacgtagaa gttgtgtcag      180
ctaaagaatt agttgagacg aaccacactg atgaactgtg cccaagcccc ttgaagcttg      240
tcgacgggca agactgccac ctcatcaatg gtgcattggg gagtccaggc tgtgaccggt      300
tgcaggacac cacttgggat gtcttcattg aaaggcccac tgcagtagac acatgttatc      360
cattcgacgt cccagattac cagagtctca gaagcatcct agcaagcagt gggagtttgg      420
agttcatcgc cgaacaattc acctggaatg gtgtcaaagt tgacggatca agcagtgcct      480
gtttgagggg cggtcgcaac agcttcttct cccgactaaa ctggctaacc aaagcaacaa      540
atggaaacta tggacctatt aacgtcacta aagaaaatac gggctcttat gtcaggctct      600

```

atctctgggg agtgcacac ccatcaagcg ataatgagca aacggatctc tacaaggtgg	660
caacagggag agtaacagta tctacccgct cggaccaaat cagtattgtt cccaatatag	720
gaagtagacc gagggtaagg aatcagagcg gcaggataag catctactgg accctagtaa	780
accagggga ctccatcatt ttcaacagta ttgggaattt gattgcacca agaggccact	840
acaaaataag caaatctact aagagcacag tgcttaaaag tgacaaaagg attgggtcat	900
gcacaagccc ttgcttaact gataaagggt cgatccaaag tgacaaacct tttcagaatg	960
tatcaaggat tgctatagga aactgcccga aatatgtaaa gcaaggggtcc ctgatgttag	1020
caactggaat gcgcaacatc cctggcaaac aggcaaaggg cttatttggg gcaattgctg	1080
gattcattga aaatggttg caaggcctga ttgatgggtg gtatggattc aggcaccaaa	1140
atgctgaagg aacaggaact gctgcagacc tgaagtcaac tcaggcagcc attgatcaga	1200
taaatggcaa gctgaacaga ttgatagaga agacaaatga aaaatatcac caaatagaaa	1260
aggaattcga acaggtggaa ggaagaatac aagacctga gaagtacgtt gaggacacta	1320
agattgattt gtggtcatat aatgctgaat tgctagtagc actagagaat cagcacacaa	1380
tagatgtcac agactccgaa atgaacaagc tttttgaaag agtaagaagg caattaagag	1440
agaatgcaga agatcaaggc aacggttgtt tcgagatatt ccatcagtgt gacaacaatt	1500
gtatagaaag cattagaaac ggaacttatg accacaacat ctacagggat gaagccatca	1560
acaatcgaat caaaaataaat cctgtcactt tgacgatggg gtacaaggac ataatcctgt	1620
ggatttcttt ctccatgtca tgctttgtct tcgtggcact gattctggga tttgttctat	1680
gggcttgtca aaacgggaat atccgatgcc aaatctgtat ataaagaaa aacacccttg	1740
tttctactc	1749

<210> 24

<211> 1762

<212> ADN

5 <213> Virus de la influenza

<400> 24

agcaaaagca ggggatacaa aatgaacact caaatcatcg tcattctagt cctcggactg	60
tcgatggtga gatctgacaa gatttgtctc gggcaccatg ccgtagcaaa tgggacaaaa	120
gtcaacacac taactgagaa aggagtggaa gtggtcaatg ccacggagac agtggagatt	180
acaggaataa ataaagtgtg cacaaaaggg aagaaagcgg tggacttggg atcttgtgga	240
atactgggaa ctatcattgg gcctccacaa tgtgactctc atcttaaatt caaagctgat	300
ctgataatag aaagaagaaa ttcaagtgac atctgttacc cagggaatt cactaatgag	360
gaagcactga gacaaataat cagagaatct ggtggaattg acaaagagcc aatgggattt	420
agatattcag gaataaaaac agacggggca accagtgcgt gtaagagaac agtgtcctct	480
ttctactcag aaatgaaatg gcttttatcc agcaaggcta accaggtggt cccacaactg	540

aatcagacat acaggaacaa cagaaaagaa ccagccctaa ttgtttgggg agtacatcat 600
tcaagttcct tggatgagca aaataagcta tatggagctg ggaacaagct gataacagta 660
ggaagctcaa aataccaaca atcgttttca ccaagtccag gggacaggcc caaagtgaat 720
ggtcaggccg ggaggatcga ctttcattgg atgctattgg acccagggga tacagtcact 780
tttaccttca atggtgcatt catagcccca gatagagcca cttttctccg ctctaattgcc 840
ccatcgggag ttgagtacaa tgggaagtca ctgggaatac agagtgatgc acaaattgat 900
gaatcatgtg aaggggaatg cttctacagt ggaggggacaa taaacagccc ttgcccattt 960
caaaacatcg atagttgggc tgtcgggaagg tgccccagat atgtaaagca atcaagcctg 1020
ccgctggcct taggaatgaa aaatgtacca gagaaaatac atactagggg actgttcggt 1080
gcaattgcag gattcatcga gaatggatgg gaaggactca ttgatggatg gtatggattt 1140
aggcatcaaa atgcacaggg gcaggggaaca gctgctgact acaagagtac tcaggctgca 1200
attgaccaga taacaggga acttaataga ttaattgaaa aaaccaacac acagtttgaa 1260
ctcatagaca atgagttcac tgaagtggag cagcagatag gcaatgtaat aaactggaca 1320
agggactcct tgactgagat ctggtcatac aatgctgaac ttctagtagc aatggaaaat 1380
cagcatacaa ttgaccttgc agattctgaa atgaacaaac tctatgagag agtgagaaga 1440
cagctaaggg agaatgccga ggaggatgga actggatgtt ttgagatttt ccaccgatgt 1500
gacgatcaat gtatggagag catacgaaat aatacttaca atcacactga atatcgacag 1560
gaagccttac agaataggat aatgatcaat ccggtaaagc ttagtggtgg gtacaaagat 1620
gtgatactat ggttttagctt cggggcatca tgtgtaatgc ttctagccat tgctatgggt 1680
cttattttca tgtgtgtgaa aaacgggaat ctgcggtgca ctatctgtat ataattattt 1740
gaaaaacacc cttgtttcta ct 1762

<210> 25

<211> 1760

<212> ADN

5 <213> Virus de la influenza

<400> 25

agcaaaagca ggggatattg tcaaaacaac agaatggtga tcaaagtgct ctactttctc	60
atcgtattgt taagtaggta ttcgaaagca gacaaaatat gcataggata tctaagcaac	120
aacgccacag acacagtaga cacactgaca gagaacggag ttccagtgcac cagctcagtt	180
gatctcgttg aaacaaacca cacaggaaca tactgctcac tgaatggaat cagcccaatt	240
catcttggtg actgcagctt tgagggatgg atcgtaggaa acccttcctg tgccaccaac	300
atcaacatca gagagtggtc gtatctaatt gaggacccca atgcccccaa caaactctgc	360
ttcccaggag agttagataa taatggagaa ttacgacatc tcttcagcgg agtgaactct	420
tttagcagaa cagaattaat aagtcccaac aaatggggag acattctgga tggagtcacc	480

gcttcttgcc gogataatgg ggcaagcagt ttttacagaa atttggtctg gatagtgaag 540
aataaaaatg gaaaataccc tgtcataaag ggggattaca ataacacaac aggcagagat 600
gttctagtagt tctggggcat tcaccatccg gatacagaaa caacagccat aaacttgtac 660
gcaagcaaaa acccctacac attagtatca acaaaggaat ggagcaaaag atatgaacta 720
gaaattggca ccagaatagg tgatggacag agaagttgga tgaaactata ttggcacctc 780
atgcgccctg gagagaggat aatgtttgaa agcaacgggg gccttatagc gccagatac 840
ggatacatca ttgagaagta cggtagacga cgaatthtcc aaagtggagt gagaatggcc 900
aaatgcaaca caaagtgtca aacatcatta ggtgggataa acaccaacaa aactthtcaa 960
aacatagaga gaaatgctct tggagattgc ccaaagtaca taaagtctgg acagctgaag 1020
cttgcaactg ggctgagaaa tgtcccatcc gttggtgaaa gaggtttgtt tgggtgaatt 1080
gcaggcttca tagaaggagg gtggcctggg ctaattaatg gatggtatgg thtccagcat 1140
cagaatgaac aggggactgg cattgctgca gacaaagcct ccactcagaa agcgatagat 1200
gaaataacaa caaaaattaa caatataata gagaagatga acggaaacta tgattcaata 1260
agaggggaat tcaatcaagt agaaaagagg atcaacatgc tcgctgatcg agttgatgat 1320
gcagtaactg acatatggtc gtacaatgct aaactthtctg tactgcttga aaatgggaga 1380
acattggact tacacgacgc aaatgtcagg aacttacacg atcaggtcaa gagaatattg 1440
aaaagtaatg ctattgatga aggagatggg tgcttcaatc thtthtcaaa atgtaatgac 1500
tcatgcatgg aaactattag aaatgggacc tacaatcatg aagattacag ggaagaatca 1560
caactgaaaa ggcaggaaat tgaggggaata aaattgaagt ctgaagacaa tgtgtataaa 1620
gtactgtcga thtatagctg cattgcaagc agtattgtgc tggtaggtct catacttgcg 1680
thcataatgt gggcatgcag caatggaaat tgccggthta atgtthgtat atagtcggaa 1740
aaaataccct tgtthtctact 1760

<210> 26

<211> 1882

<212> ADN

5 <213> Virus de la influenza

<400> 26

agcagaagcg ttgcattttc taatatccac aaaatgaagg caataattgt actactcatg	60
gtagtaacat ccaatgcaga tcgaatctgc actgggataa catcgtcaaa ctcacctcat	120
gtggttaaaa ctgccactca aggggaagtc aatgtgactg gtgtgatacc actaacaaca	180
acacctacca aatctcattt tgcaaattctc aaaggaacac agaccagagg aaaactatgc	240
ccaaactggt ttaactgcac agatctggac gtggccctag gcagaccaa atgcatgggg	300
aacacaccct ccgcaaaagt ctcaatactc catgaagtca aacctgctac atctggatgc	360
tttcctataa tgcacgacag aacaaaaatc agacaactac ctaatcttct cagaggatat	420

gaaaacatca ggttatcaac cagtaatggt atcaatacag agacggcacc aggaggaccc 480
 tacaaggtgg ggacctcagg atcttgccct aacgttgcta atgggaacgg cttcttcaac 540
 acaatggctt gggttatccc aaaagacaac aacaagacag caataaatcc agtaacagta 600
 gaagtaccat acatttggtc agaaggggaa gaccaaatta ctgtttgggg gttccactct 660
 gatgacaaaa cccaaatgga aagactctat ggagactcaa atcctcaaaa gttcacctca 720
 tctgccaatg gagtaaccac acattatggt tctcagattg gtggcttccc aaatcaaaca 780
 gaagacgaag ggctaaaaca aagcggcaga attggtgttg attacatggt aaaaaacct 840
 ggaaaaacag gaacaattgt ttatcaaaga ggcattttat tgcctcaaaa agtgtggtgc 900
 gcaagtggca ggagcaaggt aataaaaggg tccttgccct taattggtga agcagattgc 960
 ctccacgaaa agtacggtgg attaaataaa agcaagcctt actacacagg agagcatgca 1020
 aaggccatag gaaattgccc aatatgggtg aaaacaccct tgaagctggc caatggaacc 1080
 aaatatagac cgcttgcaaa actattaaag gaaagaggtt tcttcggagc tattgctggt 1140
 ttcttggaag gaggatggga aggaatgatt gcaggttggc acggatacac atctcatgga 1200
 gcacatggag tggcagtggc agcagacctt aagagtacac aagaagctat aaacaagata 1260
 aaaaaaaatc tcaactatct aagtgaagta gaagtaaaaa accttcaaag actaagcggga 1320
 gcaatgaatg agcttcacga cgaaatactc gagctagacg aaaaagtgga tgatctaaga 1380
 gctgatacaa taagctcaca aatagagctt gcagtcttgc tttccaacga agggataata 1440
 aacagtgaag atgagcatct cttggcactt gaaagaaaac tgaagaaaat gcttggcccc 1500
 tctgctgtag aaataggga tgggtgcttt gaaaccaaac acaaatgcaa ccagacttgc 1560
 ctagacagga tagctgctgg cacctttaat gcaggagatt tttctcttcc cacttttgat 1620
 tcattaaaca ttactgctgc atctttaaat gatgatggct tggataatca tactatactg 1680
 ctctactact caactgctgc ttctagcttg gctgtaacat taatgatagc tatcttcatt 1740
 gtctacatgg tctccagaga caatgtttct tgttccatct gtctgtgagg gagattaagc 1800
 cctgtgtttt cctttactgt agtgotcatt tgcttgtcac cattacaaag aaacgttatt 1860
 gaaaaatgct cttgttacta ct 1882

<210> 27

<211> 2073

<212> ADN

5 <213> Virus de la influenza

<400> 27

agcagaagca	gggggttaat	aatgtttttc	tcattactct	tggtggtggg	cctcacagag	60
gctgaaaaaa	taaagatatg	ccttcaaaag	caagtgaaca	gtagcttcag	cctacacaat	120
ggcttcggag	gaaatttgta	tgccacagaa	gaaaaaagaa	tgtttgagct	tgtaagccc	180
aaagctggag	cctctgtctt	gaatcaaagt	acatggattg	gctttggaga	ttcaaggact	240

gacaaaagca attcagcttt tcctaggtct gctgatgttt cagcaaaaac tgctgataag	300
tttcggttttt tgtctggtgg atccttaatg ttgagtatgt ttggcccacc tgggaaggta	360
gactaccttt accaaggatg tggaaaacat aaagtttttt atgaaggagt taactggagt	420
ccacatgctg ctataaattg ttacagaaaa aattggactg atatcaaact gaatttccag	480
aaaaacattt atgaattggc ttcacaatca cattgcatga gcttggtgaa tgccttggac	540
aaaactattc ctttacaagt gactgctggg actgcaggaa attgcaacaa cagcttctta	600
aaaaatccag cattgtacac acaagaagtc aagccttcag aaaacaaatg tgggaaagaa	660
aatcttgctt tcttcacact tccaacccaa tttggaacct atgagtgcaa actgcatctt	720
gtggcttctt gctatttcat ctatgatagt aaagaagtg tacaataaaag aggatgtgac	780
aactactttc aagtgatcta tgattcattt ggaaaagtcg ttggaggact agataacagg	840
gtatcacctt acacagggaa ttctggagac accccaacaa tgcaatgtga catgctccag	900
ctgaaacctg gaagatatct agtaagaagc tctccaagat tccttttaat gcctgaaaga	960
agttattgct ttgacatgaa agaaaaagga ccagtcactg ctgtccaatc catttgggga	1020
aaaggcagag aatctgacta tgcagtggat caagcttgct tgagcactcc aggggtgcatg	1080
ttgatccaaa agcaaaagcc atacattgga gaagctgatg atcaccatgg agatcaagaa	1140
atgagggagt tgctgtcagg actggactat gaagctagat gcatatcaca atcaggggtg	1200
gtgaatgaaa ccagtccttt tacggagaaa tacctccttc ctcccaaatt tggaagatgc	1260
cctttggctg caaaggaaga atccattcca aaaatcccag atggccttct aattcccacc	1320
agtggaaccg ataccactgt aacccaaact aagagcagaa tttttggaat cgatgacctc	1380
attattggtg tgctctttgt tgcaatcgtt gaaacaggaa ttggaggcta tctgcttgga	1440
agtagaaaag aatcaggagg aggtgtgaca aaagaatcag ctgaaaaagg gtttgagaaa	1500
attggaaatg acatacaaat tttaaaatct tctataaata tcgcaataga aaaactaaat	1560
gacagaattt ctcatgatga gcaagccatc agagatctaa ctttagaaat tgaaaatgca	1620
agatctgaag ctttattggg agaattggga ataataagag ccttattggt aggaaatata	1680
agcataggat tacaggaatc tttatgggaa ctagcttcag aaataacaaa tagagcagga	1740
gatctagcag ttgaagtctc ccaggttgc tggataattg acaataacat ttgtgatcaa	1800
agctgtcaaa attttatttt caagttcaac gaaactgcac ctgttccaac cattccccct	1860
cttgacacaa aaattgatct gcaatcagat cctttttact ggggaagcag cttgggctta	1920
gcaataactg ctactatttc attggcagct ttggtgatct ctgggatcgc catctgcaga	1980
actaaatgat tgagacaatt ttgaaaaatg gataatgtgt tggccaatat tttgtacagt	2040
tttataaaaa acaaaaatcc ccttgctact gct	2073

<210> 28

<211> 1670

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> secuencia que codifica HA0 de H1 (A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1)

<400> 28

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

<210> 29

<211> 32

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> cebador XmaI-pPlas.c

5 <400> 29

agttccccgg gctggtatat ttatatgttg tc 32

<210> 30

<211> 46

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> cebador SacI-ATG-pPlas.r

<400> 30

aatagagctc cattttctct caagatgatt aattaattaa ttagtc 46

15 <210> 31

<211> 46

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> cebador SacI-PlasTer.c

<400> 31

aatagagctc gttaaaatgc ttcttcgtct cctattata atatgg 46

<210> 32

<211> 48

25 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> cebador EcoRI-PlasTer.r

<400> 32

30 ttacgaattc tccttcctaa ttggtgtact atcattatc aaagggga 48

<210> 33

<211> 1711

<212> ADN

<213> Virus de la influenza

<400> 33

atgaaagcaa aactactggt cctggttatgt acattttacag ctacatatgc agacacaata	60
tgtataggct accatgccaa caactcaacc gacactggtg acacagtact tgagaagaat	120
gtgacagtga cacactctgt caacctactt gaggacagtc acaatggaaa actatgtcta	180
ctaaaaggaa tagccccact acaattgggt aattgcagcg ttgccggatg gatcttagga	240
aaccagaat gcgaattact gatttccaag gaatcatggt cctacattgt agaaacacca	300
aatcctgaga atggaacatg ttaccacaggg tatttcgccg actatgagga actgagggag	360

caattgagtt cagtatcttc atttgagaga ttcgaaatat tccccaaaga aagctcatgg	420
cccaaccaca ccgtaaccgg agtatcagca tcatgctccc ataatgggaa aagcagtttt	480
tacagaaatt tgctatggct gacggggaag aatggtttgt acccaaacct gagcaagtcc	540
tatgtaaaca acaaagagaa agaagtcctt gtactatggg gtgttcatca cccgcctaac	600
atagggaacc aaagggccct ctatcataca gaaaatgctt atgtctctgt agtgtcttca	660
cattatagca gaagattcac ccagaaata gccaaaagac ccaaagtaag agatcaggaa	720
ggaagaatca actactactg gactctgctg gaacctgggg atacaataat atttgaggca	780
aatggaaatc taatagcgcc atgggtatgct tttgcactga gtagaggctt tggatcagga	840
atcatcacct caaatgcacc aatggatgaa tgtgatgcga agtgtcaaac acctcaggga	900
gctataaaca gcagtcttcc tttccagaat gtacaccag tcacaatagg agagtgtcca	960
aagtatgtca ggagtgcaa attaaggatg gttacaggac taaggaacat cccatccatt	1020
caatccagag gtttgtttgg agccattgcc ggtttcattg aaggggggtg gactggaatg	1080
gtagatgggt ggtatggtta tcatcatcag aatgagcaag gatctggcta tgctgcagat	1140
caaaaaagta cacaaaatgc cattaacggg attacaaaca aggtgaattc tgtaattgag	1200
aaaatgaaca ctcaattcac agctgtgggc aaagaattca acaaattgga aagaaggatg	1260
gaaaacttaa ataaaaaagt tgatgatggg tttctagaca tttggacata taatgcagaa	1320
ttgttggttc tactggaaaa tgaaaggact ttggatttcc atgactccaa tgtgaagaat	1380
ctgtatgaga aagtaaaaag ccaattaaag aataatgcc aagaaatagg aaacgggtgt	1440
tttgaattct atcacaagt taacaatgaa tgcattggaga gtgtgaaaaa tggaacttat	1500
gactatccaa aatattccga agaatacaag ttaaacaggg agaaaattga tggagtgaaa	1560
ttggaatcaa tgggagtcta tcagattctg gcgatctact caactgtcgc cagttccctg	1620
gttcttttgg tctccctggg ggcaatcagc ttctggatgt gttccaatgg gtctttgcag	1680
tgtagaatat gcatctgaga ccagaatttc a	1711

<210> 34

<211> 1781

<212> ADN

5 <213> Medicago sativa

<400> 34

ccaaatcctt aacattcttt caacaccaac aatggcgaaa aacgttgcca ttttcgggtt	60
attgttttct cttcttctgt tggttccttc tcagatcttc gctgaggaat catcaactga	120
cgctaaggaa tttgttctta cattggataa cactaatttc catgacactg ttaagaagca	180
cgatttcacg gtcgttgaat tctacgcacc ttggtgtgga cactgtaaga agctagcccc	240
agagtatgag aaggctgctt ctatcttgag cactcacgag ccaccagttg ttttggctaa	300
agttgatgcc aatgaggagc acaacaaaga cctcgcatcg gaaaatgatg ttaagggatt	360

```

cccaaccatt aagattttta ggaatggtgg aaagaacatt caagaatata aaggtccccg 420
tgaagctgaa ggtattgttg agtatttgaa aaaacaaaagt ggccctgcat ccacagaaat 480
taaactctgct gatgatgcga ccgcttttgt tgggtgacaac aaagttgtta ttgtcggagt 540
tttccctaaa ttttctggtg aggagtacga taacttcatt gcattagcag agaagttgcg 600
ttctgactat gactttgctc acactttgaa tgccaaacac cttccaaagg gagactcatc 660
agtgtctggg cctgtgggta gggtatttaa gccatttgac gagctctttg ttgactcaaa 720
ggatttcaat gtagaagctc tagagaaatt cattgaagaa tccagtaccc caattgtgac 780
tgtcttcaac aatgagccta gcaatcacc ttttgttgct aaattcttta actctcccaa 840
cgcaaaggct atgttggtca tcaactttac taccgaagg gctgaatctt tcaaaacaaa 900
ataccatgaa gtggctgagc aatacaaaca acagggagtt agctttcttg ttggagatgt 960
tgagtctagt caaggtgcct tccagtattt tggactgaag gaagaacaag tacctctaata 1020
tattattcag cataatgatg gcaagaagtt tttcaaacc aatttggaac ttgatcaact 1080
cccaacttgg ttgaaggcat acaaggatgg caaggttgaa ccatttgtca agtctgaacc 1140
tattcctgaa actaacaacg agcctgttaa agtggtggtt gggcaaactc ttgaggacgt 1200
tgttttcaag tctgggaaga atgttttgat agagttttat gctccttggg gtgggtcactg 1260
caagcagttg gctccaatct tggatgaagt tgctgtctca ttccaaagcg atgctgatgt 1320
tgttattgca aaactggatg caactgccaa cgatatccca accgacacct ttgatgtcca 1380
aggctatcca accttgact tcaaggtcagc aagtggaaaa ctatcacaat acgacgggtg 1440
taggacaaag gaagacatca tagaattcat tgaaaagaac aaggataaaa ctggtgctgc 1500
tcatcaagaa gtagaacaac caaaagctgc tgctcagcca gaagcagaac aaccaaaga 1560
tgagctttga aaagttccgc ttggaggata tcggcacaca gtcactctgcg ggctttacaa 1620
ctcttttgta tctcagaatc agaagttagg aaatcttagt gccaatctat ctatttttgc 1680
gtttcatttt atctttttgg tttactctaa tgtattactg aataatgtga gttttggcgg 1740
agtttagtac tggaactttt gtttctgtaa aaaaaaaaaa a 1781

```

<210> 35

<211> 1027

<212> ADN

5 <213> Virus de la influenza

<400> 35

agcgaaagca ggtagatatt gaaagatgag tcttctaacc gaggtcgaaa cgtacgttct	60
ctctatcatc ccgtcaggcc ccctcaaagc cgagatcgca cagagacttg aagatgtctt	120
tgcaggaag aacaccgatc ttgaggttct catggaatgg ctaaagacaa gaccaatcct	180
gtcacctctg actaagggga ttttaggatt tgtgttcacg ctcaccgtgc ccagtgcgcg	240
aggactgcag cgtagacgct ttgtccaaaa tgcccttaat gggaacgggg atccaaataa	300
catggacaaa gcagttaaac tgtataggaa gctcaagagg gagataacat tccatggggc	360
caaagaaatc tactcagtt attctgctgg tgcacttgcc agttgtatgg gcctcatata	420
caacaggatg ggggctgtga ccactgaagt ggcatattggc ctggatatgt caacctgtga	480
acagattgct gactcccagc atcgggtctca taggcaaatg gtgacaacaa ccaaccact	540
aatcagacat gagaacagaa tggttttagc cagcactaca gctaaggcta tggagcaa	600
ggctggatcg agtgagcaag cagcagaggc catggagggt gctagtcagg ctaggcaa	660
ggtgcaagcg atgagaacca ttgggactca tcctagctcc agtgctggtc tgaaaaatga	720
tcttcttgaa aatttgcagg cctatcagaa acgaatgggg gtgcagatgc aacggttcaa	780
gtgatcctct cgctattgcc gcaaatatca ttgggatctt gcacttgata ttgtggattc	840
ttgatcgtct ttttttcaaa tgcatttacc gtcgctttaa atacggactg aaaggagggc	900
cttctacgga aggagtgcc aagtctatga gggaagaata tcgaaaggaa cagcagagt	960
ctgtggatgc tgacgatggt cattttgtca gcatagagct ggagtaaaaa actaccttgt	1020
ttctact	1027

<210> 36

5 <211> 1788

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 774 - secuencia de nucleótidos de A/Brisbane/59/2007 (H1N1)

10 <400> 36

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

<211> 1788

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> clon 775 - secuencia de nucleótidos de A/Isas Salomón 3/2006 (H1N1)

<400> 37

cactttgtga	gtctacactt	tgattccctt	caaacacata	caaagagaag	agactaatta	60
attaattaat	catcttgaga	gaaaatgaaa	gtaaaactac	tggtcctggt	atgcacattt	120
acagctacat	atgcagacac	aatatgtata	ggctaccatg	ccaacaactc	aaccgacact	180
gttgacacag	tacttgagaa	gaatgtgaca	gtgacacact	ctgtcaacct	gcttgaggac	240
agtcacaatg	gaaaattatg	tctattaaaa	ggaatagccc	cactacaatt	gggtaattgc	300
agcgttgccg	gatggatctt	aggaaaccca	gaatgcgaat	tactgatttc	cagggaatca	360
tggtcctaca	ttgtagaaaa	accaaatacct	gagaatggaa	catgttacct	agggcatttc	420
gccgactatg	aggaactgag	ggagcaattg	agttcagtat	cttcatttga	gagattcgaa	480
atattcccca	aagaaagctc	atggcccaac	cacaccacaa	ccggagtatc	agcatcatgc	540
tcccataatg	gggaaagcag	tttttacaaa	aatttgctat	ggctgacggg	gaagaatggt	600
ttgtacccaa	acctgagcaa	gtcctatgca	aacaacaaag	agaaagaagt	ccttgtacta	660
tgggggtgttc	atcacccgcc	taacataggt	gaccaaaggg	ctctctatca	taaagaaaat	720

```

gcttatgtct ctgtagtgtc ttcacattat agcagaaaat tcaccccaga aatagccaaa 780
agacccaaag taagagatca agaaggaaga atcaactact actggactct acttgaaccc 840
ggggatacaa taatatttga ggcaaagtga aatctaatag cgccaagata tgctttcgca 900
ctgagtagag gctttggatc aggaatcatc aactcaaagt caccaatgga tgaatgtgat 960
gcgaagtgcc aaacacctca gggagctata aacagcagtc ttcctttcca gaatgtacac 1020
cctgtcacia taggagagtg tccaaagtat gtcaggagtg caaaattaag gatggttaca 1080
ggactaagga acatcccatc cattcaatcc agagggttgt ttggagccat tgccggtttc 1140
attgaagggg ggtggactgg aatggtagat ggttggtagt gttatcatca tcagaatgag 1200
caaggatctg gctatgctgc agatcaaaaa agcacacaaa atgccattaa tgggattaca 1260
aacaaggtca attctgtaat tgagaaaatg aacactcaat tcacagctgt gggcaaagag 1320
ttcaacaaat tggaaagaag gatggaaaac ttaaataaaa aagttgatga tgggtttata 1380
gacatttga catataatgc agaattgttg gttctactgg aaaatgaaag gactttggat 1440
ttccatgact ccaatgtgaa gaatctgtat gagaaagtaa aaagccaatt aaagaataat 1500
gccaaagaaa taggaaatgg gtgttttgag ttctatcata agtgtaacga tgaatgcatg 1560
gagagtgtaa aaaatggaac ttatgactat ccaaaatatt ccgaagaatc aaagttaaac 1620
agggagaaaa ttgatggagt gaaattggaa tcaatgggag tctatcagat tctggcgatc 1680
tactcaacag tcgccagttc tctggttctt ttggtctccc tgggggcaat cagcttctgg 1740
atgtgttcca atgggtcttt gcagtgtaga atatgcatct gagagctc 1788

```

<210> 38

<211> 1791

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 776 - secuencia de nucleótidos de A/Brisbane 10/2007 (H3N2)

<400> 38

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta	60
attaattaat catcttgaga gaaaatgaag actatcattg ctttgagcta cattctatgt	120
ctggttttca ctcaaaaact tcccggaaat gacaacagca cggcaacgct gtgccttggg	180
caccatgcag taccaaacgg aacgatagtg aaaacaatca cgaatgacca aattgaagtt	240
actaatgcta ctgagctggt tcagagttcc tcaacaggtg aaatatgcga cagtcctcat	300
cagatccttg atggagaaaa ctgcacacta atagatgctc tattgggaga ccctcagtgt	360
gatggcttcc aaaataagaa atgggacctt tttgttgaac gcagcaaagc ctacagcaac	420
tgttaccctt atgatgtgcc ggattatgcc tcccttaggt cactagttgc ctcacccggc	480
acactggagt ttaacaatga aagtttcaat tggactggag tcactcaaaa cggaacaagc	540

tctgcttgca taaggagatc taataacagt ttcttttagta gattgaattg gttgaccac	600
ttaaaattca aataccagc attgaacgtg actatgccaa acaatgaaaa atttgacaaa	660
ttgtacattt ggggggttca ccaccgggt acggacaatg accaaatctt cctgtatgct	720
caagcatcag gaagaatcac agtctctacc aaaagaagcc acaaaactgt aatcccgaat	780
atcggatcta gaccagagt aaggaatatc ccagcagaa taagcatcta ttggacaata	840
gtaaaaccgg gagacatact tttgattaac agcacaggga atctaattgc tcctaggggt	900
tacttcaaaa tacgaagtgg gaaaagctca ataatgagat cagatgcacc cattggcaaa	960
tgcaattctg aatgcatcac tccaaacgga agcattccca atgacaaacc attccaaaat	1020
gtaaacagga tcacatacgg ggcctgtccc agatatgtta agcaaaacac tctgaaattg	1080
gcaacaggga tgcgaaatgt accagagaaa caaactagag gcatatttgg cgcaatcgcg	1140
ggtttcatag aaaatggttg ggagggaaatg gtggatgggtt ggtatgggtt caggcatcaa	1200
aattctgagg gaataggaca agcagcagat ctcaaaagca ctcaagcagc aatcgatcaa	1260
atcaatggga agctgaatag gttgatcggg aaaaccaacg agaaattcca tcagattgaa	1320
aaagagttct cagaagtcga agggagaatc caggaccttg agaaatatgt tgaggacacc	1380
aaaatagatc tctggtcata caacgcggag cttcttggtg ccctggagaa ccaacataca	1440
attgatctaa ctgactcaga aatgaacaaa ctgtttgaaa aaacaaagaa gcaactgagg	1500
gaaaatgctg aggatatggg caatggttgt ttcaaaatat accacaaatg tgacaatgcc	1560
tgcataggat caatcagaaa tggaacttat gaccacgatg tatacagaga tgaagcatta	1620
aacaaccggg tccagatcaa gggcggtgag ctgaagtcag gatacaaaga ttggatacta	1680
tggatttcct ttgccatatc atgttttttg ctttgtgttg ctttgttggg gttcatcatg	1740
tgggcctgcc aaaaaggcaa cattaggtgc aacatttgca ttgagagct c	1791

<210> 39

<211> 1791

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 777 - secuencia de nucleótidos de A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)

<400> 39

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta	60
attaattaat catcttgaga gaaaatgaag actatcattg ctttgagcta cattctatgt	120
ctggttttca ctcaaaaact tcccggaaat gacaacagca cggcaacgct gtgccttggg	180
caccatgcag taccaaacgg aacgatagtg aaaacaatca cgaatgacca aattgaagtt	240
actaatgcta ctgagctggt tcagagttcc tcaacagggtg gaatatgcga cagtcctcat	300
cagatccttg atggagaaaa ctgcacacta atagatgctc tattgggaga ccctcagtgt	360
gatggcttcc aaaataagaa atgggacctt tttgttgaac gcagcaaagc ctacagcaac	420

tgttaccctt atgatgtgcc ggattatgcc tcccttaggt cactagttgc ctcatccggc 480
 acactggagt ttaacgatga aagtttcaat tggactggag tcactcaaaa tggacaagc 540
 tctgcttgca aaaggagatc taataacagt ttcttttagta gattgaattg gttgaccac 600
 ttaaaattca aatacccagc attgaacgtg actatgccaa acaatgaaaa atttgacaaa 660
 ttgtacattt ggggggttca ccacccgggt acggacaatg accaaatctt cctgcatgct 720
 caagcatcag gaagaatcac agtctctacc aaaagaagcc acaaaactgt aatcccgaat 780
 atcggatcta gaccagaat aaggaatatc ccagcagaa taagcatcta ttggacaata 840
 gtaaaaccgg gagacatact tttgattaac agcacaggga atctaattgc tcctaggggt 900
 tacttcaaaa tacgaagtgg gaaaagctca ataatgagat cagatgcacc cattggcaaa 960
 tgcaattctg aatgcatcac tccaaatgga agcattccca atgacaaacc atttcaaaat 1020
 gtaaacagga tcacatatgg ggctgtccc agatatgtta agcaaaacac tctgaaattg 1080
 gcaacagga tgcgaaatgt accagagaaa caaactagag gcatatttgg cgcaatcgcg 1140
 ggtttcatag aaaatggttg ggaggggaatg gtggatggtt ggtacggttt caggcatcaa 1200
 aattctgagg gaataggaca agcagcagat ctcaaaagca ctcaagcagc aatcaatcaa 1260
 atcaatggga agctgaatag gttgatcggg aaaaccaacg agaaattcca tcagattgaa 1320
 aaagagttct cagaagtaga agggagaatc caggacctcg agaaatatgt tgaggacact 1380
 aaaatagatc tctggtcata caacgcggag cttcttggtg ccctggagaa ccaacataca 1440
 attgatctaa ctgactcaga aatgaacaaa ctgtttgaaa gaacaaagaa gcaactgagg 1500
 gaaaatgctg aggatatggg caatggttgt ttcaaaatat accacaaatg tgacaatgcc 1560
 tgcataggat caatcagaaa tggaacttat gaccatgatg tatacagaga tgaagcatta 1620
 aacaaccggg tccagatcaa aggcgttgag ctgaagtcag gatacaaaga ttggatacta 1680
 tggatttcct ttgccatata atgttttttg ctttgtgttg ctttgttggg gttcatcatg 1740
 tgggcctgcc aaaaaggcaa cattaggtgc aacatttgca ttgagagct c 1791

<210> 40

<211> 1848

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 778 - secuencia de nucleótidos de B/Malasia/2506/2004

<400> 40

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caagagagaag agactaatta	60
attaattaat catcttgaga gaaaatgaag gcaataattg tactactcat ggtagtaaca	120
tccaatgcag atcgaatctg cactgggata acatcgtcaa actcaccaca tgttgtcaaa	180
actgctactc aaggggaggt caatgtgact ggtgtaatac cactgacaac aacacccacc	240

aaatctcatt	ttgcaaactct	caaaggaaca	gaaaccagag	ggaaactatg	cccaaaatgc	300
ctcaactgca	cagatctgga	cgtggccttg	ggcagaccaa	aatgcacggg	gaacataccc	360
tcggaagag	tttcaatact	ccatgaagtc	agacctgtta	catctgggtg	ctttcctata	420
atgcacgaca	gaacaaaaat	tagacagctg	cctaaacttc	tcagaggata	cgaacatatc	480
aggttatcaa	ctcataacgt	tatcaatgca	gaaaatgcac	caggaggacc	ctacaaaatt	540
ggaacctcag	ggtcttgccc	taacgttacc	aatggaaacg	gattttttcgc	aacaatggct	600
tgggccgtcc	caaaaaacga	caacaacaaa	acagcaacaa	attcattaac	aatagaagta	660
ccatacattt	gtacagaagg	agaagaccaa	attaccgttt	gggggttcca	ctctgataac	720
gaaacccaaa	tggcaaagct	ctatggggac	tcaaagcccc	agaagttcac	ctcatctgcc	780
aacggagtga	ccacacatta	cgtttcacag	attggtggct	tcccaaatac	aacagaagac	840
ggaggactac	cacaaagcgg	tagaattggt	gttgattaca	tggtgcaaaa	atctgggaaa	900
acaggaacaa	ttacctatca	aagagggtatt	ttattgcctc	aaaaagtgtg	gtgcgcaagt	960
ggcaggagca	aggttaataaa	aggatcgttg	cctttaattg	gagaagcaga	ttgcctccac	1020
gaaaaatacg	gtggattaaa	caaaagcaag	ccttactaca	caggggaaca	tgcaaaggcc	1080
ataggaaatt	gcccaatatg	ggtgaaaaca	cccttgaagc	tggccaatgg	aaccaaatat	1140
agacctcctg	caaaactatt	aaaggaaagg	ggtttcttcg	gagctattgc	tggtttctta	1200
gaaggaggat	gggaaggaat	gattgcaggt	tggcacggat	acacatccca	tggggcacat	1260
ggagtagcgg	tggcagcaga	ccttaagagc	actcaagagg	ccataaacia	gataacaaaa	1320
aatctcaact	ctttgagtga	gctggaagta	aagaatcttc	aaagactaag	cgggtgcatg	1380
gatgaactcc	acaacgaaat	actagaacta	gacgagaaag	tggatgatct	cagagctgat	1440
acaataagct	cacaaataga	actcgcagtc	ctgctttcca	atgaaggaat	aataaacagt	1500
gaagatgagc	atctcttggc	gcttgaaaga	aagctgaaga	aatgctggg	cccctctgct	1560
gtagagatag	ggaatggatg	ctttgaaacc	aaacacaagt	gcaaccagac	ctgtctcgac	1620
agaatagctg	ctggtacctt	tgatgcagga	gaattttctc	tccccacttt	tgattcactg	1680
aatattactg	ctgcatcttt	aatgacgat	ggattggata	atcatactat	actgctttac	1740
tactcaactg	ctgcctccag	tttggtgtga	acattgatga	tagctatctt	tgttggttat	1800
atggtctcca	gagacaatgt	ttcttgctcc	atctgtctat	aagagctc		1848

<210> 41

<211> 1845

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 779 - secuencia de nucleótidos de B/Florida/4/2006

5

<400> 41

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta

60

attaattaat	catcttgaga	gaaaatgaag	gcaataattg	tactactcat	ggtagtaaca	120
tccaatgcag	atcgaatctg	cactggaata	acatcttcaa	actcacctca	tgtgggtcaaa	180
acagccactc	aaggggaggt	caatgtgact	ggtgtgatac	cactaacaac	aacaccaaca	240
aaatcttatt	ttgcaaactc	caaaggaaca	aggaccagag	ggaaactatg	cccagactgt	300
ctcaactgca	cagatctgga	tgtggctttg	ggcagaccaa	tgtgtgtggg	gaccacacct	360
tcggcgaagg	cttcaatact	ccacgaagtc	aaacctgtta	catccgggtg	ctttcctata	420
atgcacgaca	gaacaaaaat	caggcaacta	cccaatcttc	tcagaggata	tgaaaaatctc	480
aggctatcaa	cccaaaacgt	catcgatgcg	gaaaaggcac	caggaggacc	ctacagactt	540
ggaacctcag	gatcttgccc	taacgctacc	agtaagagcg	gattttttcgc	aacaatggct	600
tgggctgtcc	caaaggacaa	caacaaaaat	gcaacgaacc	cactaacagt	agaagtacca	660
tacatttgta	cagaagggga	agaccaaata	actgtttggg	ggttccattc	agataacaaa	720
acccaaatga	agaacctcta	tggagactca	aatcctcaaa	agttcacctc	atctgctaata	780
ggagtaacca	cacactatgt	ttctcagatt	ggcagcttcc	cagatcaaac	agaagacgga	840
ggactaccac	aaagcggcag	gattgtttgt	gattacatga	tgcaaaaacc	tgggaaaaca	900
ggaacaattg	tctaccaaag	aggtgttttg	ttgcctcaaa	aggtgtgggtg	cgcgagtggc	960
aggagcaaag	taataaaagg	gtccttgcc	ttaattgggtg	aagcagattg	ccttcatgaa	1020
aaatacgggtg	gattaaacaa	aagcaagcct	tactacacag	gagaacatgc	aaaagccata	1080
ggaaattgcc	caatatgggt	gaaaacacct	ttgaagctcg	ccaatggaac	caaatataga	1140
cctcctgcaa	aactattaaa	ggaaaggggt	ttcttcggag	ctattgctgg	tttcctagaa	1200
ggaggatggg	aaggaatgat	tgcaggctgg	cacggataca	catctcacgg	agcacatgga	1260
gtggcagtg	cggcggacct	taagagtacg	caagaagcta	taaacaagat	aacaaaaaat	1320
ctcaattctt	tgagtgagct	agaagtaaag	aatcttcaaa	gactaagtgg	tgccatggat	1380
gaactccaca	acgaaatact	cgagctggat	gagaaagtgg	atgatctcag	agctgacact	1440
ataagctcgc	aaatagaact	tgcagtcttg	ctttccaacg	aaggaataat	aaacagtgaa	1500
gatgagcatc	tattggcact	tgagagaaaa	ctaaagaaaa	tgctgggtcc	ctctgctgta	1560
gagataggaa	atggatgctt	cgaaaccaa	cacaagtgca	accagacctg	cttagacagg	1620
atagctgctg	gcaccttta	tgcaggagaa	ttttctctcc	ccacttttga	ttcactgaac	1680
attactgctg	catcttttaa	tgatgatgga	ttggataacc	atactatact	gctctattac	1740
tcaactgctg	cttctagttt	ggctgtaaca	ttgatgctag	ctatttttat	tgttttatatg	1800
gtctccagag	acaacgtttc	atgctccatc	tgtctataag	agctc		1845

<210> 42

<211> 1779

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> clon 780 - secuencia de nucleótidos de A/Singapur/1/57 (H2N2)

<400> 42

cactttgtga	gtctacactt	tgattccctt	caaacacata	caaagagaag	agactaatta	60
attaattaat	catcttgaga	gaaaatggcc	atcatttatc	taattctcct	gttcacagca	120
gtgagagggg	accaaataatg	cattggatac	catgccaaata	attccacaga	gaaggtcgac	180
acaattctag	agcggaacgt	cactgtgact	catgccaaag	acattcttga	gaagacccat	240
aacggaaagt	tatgcaaact	aaacggaatc	cctccacttg	aactagggga	ctgtagcatt	300
gccggatggc	tccttggaat	tccagaatgt	gataggcttc	taagtgtgcc	agaatgggtcc	360
tatataatgg	agaaagaaaa	cccagagagac	ggtttgtgtt	atccaggcag	cttcaatgat	420
tatgaagaat	tgaaacatct	cctcagcagc	gtgaaacatt	tcgagaaagt	aaagattctg	480
cccaaagata	gatggacaca	gcatacaaca	actggaggtt	cacgggcctg	cgcggtgtct	540
ggtaatccat	cattcttcag	gaacatggtc	tggctgacaa	agaaagaatc	aaattatccg	600
gttgccaaag	gatcgtacaa	caatacaagc	ggagaacaaa	tgctaataat	ttggggggtg	660
caccatccca	atgatgagac	agaacaaaga	acattgtacc	agaatgtggg	aacctatggt	720
tccgtaggca	catcaacatt	gaacaaaagg	tcaaccccag	acatagcaac	aaggcctaaa	780
gtgaatggac	taggaagtag	aatggagttc	tcttggaacc	tattggatat	gtgggacacc	840
ataaattttg	agagtactgg	taatctaatt	gcaccagagt	atggattcaa	aatatcgaaa	900
agaggtagtt	cagggatcat	gaaaacagaa	ggaacacttg	agaactgtga	gaccaaagtc	960
caaactcctt	tgggagcaat	aaatacaaca	ttgccttttc	acaatgtcca	cccactgaca	1020
ataggtaggt	gccccaaata	tgtaaaatcg	gagaagttgg	tcttagcaac	aggactaagg	1080
aatgttcccc	agattgaatc	aagaggattg	tttggggcaa	tagctgggtt	tatagaagga	1140
ggatggcaag	gaatggttga	tggttggtat	ggataccatc	acagcaatga	ccagggatca	1200
gggtatgcag	cagacaaaga	atccactcaa	aaggcatttg	atggaatcac	caacaaggta	1260
aattctgtga	ttgaaaagat	gaacacccaa	tttgaagctg	ttgggaaaga	gttcagtaac	1320
ttagagagaa	gactggagaa	cttgaacaaa	aagatggaag	acgggtttct	agatgtgtgg	1380
acatacaatg	ctgagcttct	agttctgatg	gaaaatgaga	ggacacttga	ctttcatgat	1440
tctaattgtca	agaatctgta	tgataaagtc	agaatgcagc	tgagagacaa	cgtcaaagaa	1500
ctaggaaatg	gatgttttga	attttatcac	aatgtgatg	atgaatgcat	gaatagtgtg	1560
aaaaacggga	cgtatgatta	tcccaagtat	gaagaagagt	ctaaactaaa	tagaaatgaa	1620
atcaaagggg	taaaattgag	cagcatgggg	gtttatcaaa	tccttgccat	ttatgtctaca	1680
gtagcagggt	ctctgtcact	ggcaatcatg	atggctggga	tctctttctg	gatgtgctcc	1740
aacgggtctc	tgcaagtgcag	gatctgcata	tgagagctc			1779

<211> 1794

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> clon 781 - secuencia de nucleótidos de A/Anhui/1/2005 (H5N1)

<400> 43

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta	60
attaattaat catcttgaga gaaaatggag aaaatagtgc ttcttcttgc aatagtcagc	120
cttgttaaaa gtgatcagat ttgcattggt taccatgcaa acaactcgac agagcagggt	180
gacacaataa tggaaaagaa cgttactggt acacatgccc aagacatact ggaaaagaca	240
cacaacggga agctctgcga tctagatgga gtgaagcctc tgattttaag agattgtagt	300
gtagctggat ggctcctcgg aaaccaatg tgtgacgagt tcatcaatgt gccggaatgg	360
tcttacatag tggagaaggc caaccagcc aatgacctc gttaccagg gaatttcaac	420
gactatgaag aactgaaaca cctattgagc agaataaacc attttgagaa aattcagatc	480
atccccaaaa gttcttggtc cgatcatgaa gcctcatcag gggtcagctc agcatgtcca	540
taccagggaa cgccctcctt ttccagaaat gtggtatggc ttatcaaaaa gaacaataca	600
taccaacaa taaagagaag ctacaataat accaaccagg aagatctttt gatactgtgg	660
gggattcatc attctaata tgcggcagag cagacaaagc tctatcaaaa cccaaccacc	720
tatatttccg ttgggacatc aacactaaac cagagattgg taccaaaaat agctactaga	780
tccaaaagtaa acgggcaaag tggaaggatg gatttcttct ggacaatttt aaaaccgaat	840
gatgcaatca acttcgagag taatggaaat ttcatgtctc cagaatatgc atacaaaatt	900
gtcaagaaag gggactcagc aattgttaaa agtgaagtgg aatatggtaa ctgcaataca	960
aagtgtcaaa ctccaatagg ggcgataaac tctagtatgc cattccacaa catacaccct	1020
ctcaccatcg gggaatgccc caaatatgtg aaatcaaaca aattagtcct tgcgactggg	1080
ctcagaaata gtcctctaag agaaagaaga agaaaaagag gactatttgg agctatagca	1140
gggtttatag agggaggatg gcagggaatg gtagatggtt ggtatgggta ccaccatagc	1200
aatgagcagg ggagtgggta cgctgcagac aaagaatcca ctcaaaggc aatagatgga	1260
gtcaccaata aggtcaactc gatcattgac aaaatgaaca ctcagtttga ggccgttga	1320
agggaattta ataacttaga aaggagaata gagaatttaa acaagaaaat ggaagacgga	1380
ttcctagatg tctggactta taatgctgaa cttctggttc tcatggaaaa tgagagaact	1440
ctagacttcc atgattcaaa tgtcaagaac ctttacgaca aggtccgact acagcttagg	1500
gataatgcaa aggagctggg taacggttgt ttcgagttct atcacaaatg tgataatgaa	1560
tgtatggaaa gtgtaagaaa cggaacgtat gactaccgc agtattcaga agaagcaaga	1620
ttaaaaagag aggaataag tggagtaaaa ttggaatcaa taggaactta ccaaatactg	1680
tcaatttatt caacagttgc gagttctcta gcactggcaa tcatgggtggc tggctctatct	1740
ttgtggatgt gctccaatgg gtcgttacia tgcagaattt gcatttaaga gctc	1794

<210> 44

<211> 1797

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> clon 782 - secuencia de nucleótidos de A/Vietnam/1194/2004 (H5N1)

<400> 44

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta	60
attaattaat catcttgaga gaaaatggag aaaatagtgc ttctttttgc aatagtcagt	120
cttggtaaaa gtgatcagat ttgcattggt taccatgcaa acaactcgac agagcagggt	180
gacacaataa tggaaaagaa cgttactggt acacatgccc aagacatact ggaaaagaca	240
cacaatggga agctctgcga tctagatgga gtgaagcctc taattttgag agattgtagt	300
gtagctggat ggctcctcgg aaacccaatg tgtgacgagt tcatcaatgt gccggaatgg	360
tcttacatag tggagaaggc caatccagtc aatgacctct gttaccaggg ggatttcaat	420
gactatgaag aattgaaaca cctattgagc agaataaacc attttgagaa aattcagatc	480
atccccaaaa gttcttggtc cagtcatgaa gcctcattgg gggtcagctc agcatgtcca	540
taccagggaa agtcctcctt tttcagaaat gtggtatggc ttatcaaaaa gaacagtaca	600
taccaacaa taaagaggag ctacaataat accaaccaag aagatctttt ggtactgtgg	660
gggattcacc atcctaata tgcggcagag cagacaaagc tctatcaaaa cccaaccacc	720
tatatttccg ttgggacatc tacactaaac cagagattgg taccaagaat agctactaga	780
tccaaagtaa acgggcaaag tgggaaggatg gagttcttct ggacaatttt aaaaccgaat	840
gatgcaatca acttcgagag taatggaaat ttcattgctc cagaatatgc atacaaaatt	900
gtcaagaaag gggactcaac aattatgaaa agtgaattgg aatatggtaa ctgcaatacc	960
aagtgtcaaa ctccaatggg ggcgataaac tctagcatgc cattccacaa tatacacctt	1020
ctcaccatcg gggaatgccc caaatatgtg aaatcaaaca gattagtcct tgcgactggg	1080
ctcagaaata gccctcaaag agagagaaga agaaaaaga gaggattatt tggagctata	1140
gcaggtttta tagagggagg atggcaggga atggtagatg gttggtatgg gtaccaccat	1200
agcaacgagc aggggagtggt gtacgctgca gacaaagaat ccactcaaaa ggcaatagat	1260
ggagtcacca ataaggtcaa ctcgattatt gacaaaatga aactcagtt tgaggccggt	1320
ggaagggaat ttaacaactt agaaaggaga atagagaatt taaacaagaa gatggaagac	1380
gggttcctag atgtctggac ttataatgct gaacttctag ttctcatgga aaacgagaga	1440
actctagact ttcatgactc aaatgtcaag aacctttacg acaaggccg actacagctt	1500

```

agggataatg caaaggagct gggtaacggt tgtttcgagt tctatcataa atgtgataat 1560
gaatgtatgg aaagtgtgag aaacggaacg tatgactacc cgcagtattc agaagaagca 1620
agactaaaaa gagaggaaat aagtggagta aaattggaat caataggaat ttaccaaata 1680
ttgtcaattt attctacagt ggccagctcc ctagcactgg caatcatggg agctgggtcta 1740
tccttatgga tgtgctccaa tgggtcggtt caatgcagaa ttgcattta agagctc 1797

```

<210> 45

<211> 1791

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 783 - secuencia de nucleótidos de A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1)

<400> 45

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta	60
attaattaat catcttgaga gaaaatgatt gcaatcattg taatagcaat actggcagca	120
gccggaaagt cagacaagat ctgcattggg tatcatgcc acaattcaac aacacaggta	180
gatacgatac ttgagaagaa tgtgactgtc acacactcaa ttgaattgct ggaaaatcag	240
aaggaagaaa gattctgcaa gatattgaac aaggccctc tcgacttaag ggaatgtacc	300
atagagggtt ggatcttggg gaatcccaa tgcgacctat tgcttgggtga tcaaagctgg	360
tcatacattg tggaaagacc tactgctcaa aacgggatct gctaccagc aaccttaa	420
gaggtagaag aactgagggc acttattgga tcaggagaaa gggtagagag atttgagatg	480
tttcccaaaa gcacctggca aggagttgac accaacagtg gaacaacaag atcctgcct	540
tattctactg gtgcgtcttt ctacagaaac ctcttatgga taataaaaac caagacagca	600
gaatatccag taattaaggg aatttacaac aacactggaa cccagccaat cctctatttc	660
tggggtgtgc atcatcctcc taacaccgac gagcaagata ctctgtatgg ctctggtgat	720
cgatacgtta gaatgggaac tgaaagcatg aattttgcc aagagtcgga aattgcggca	780
aggcctgctg tgaatggaca aagaggcaga attgattatt attggtcggt tttaaaacca	840
ggggaaacct tgaatgtgga atctaattgga aatctaattc ccccttggtg tgcatacaaa	900
tttgtcaaca caaatagtaa aggagccgtc ttcagggtcag atttaccaat cgagaactgc	960
gatgccacat gccagactat tgcaggggtt ctaaggacca ataaaacatt tcagaatgtg	1020
agtcccctgt ggataggaga atgtcccaa tacgtgaaaa gtgaaagtct gaggcttgca	1080
actggactaa gaaatgttcc acagattgaa actagaggac tcttcggagc tattgcaggg	1140
tttattgaag gaggatggac tgggatgata gatgggtggt atggctatca ccatgaaaat	1200
tctcaagggt caggatatgc agcagacaga gaaagcactc aaaaggctgt aacagaatt	1260
acaataagg tcaattccat catcaacaaa atgaacacac aatttgaagc tgtcgatcac	1320

```

gaatTTTcaa atctggagag gagaattgac aatctgaaca aaagaatgca agatggattt 1380
ctggatgttt ggacatacaa tgctgaactg ttggttcttc ttgaaaacga aagaacacta 1440
gacatgcatg acgcaaatgt gaagaaccta catgaaaagg tcaaatacaca actaaggggac 1500
aatgctacga tcttagggaa tggttgcttt gaatTTTggc ataagtgtga caatgaatgc 1560
atagagtctg tcaaaaatgg tacatatgac tatcccaaat accagactga aagcaaatta 1620
aacaggctaa aaatagaatc agtaaagcta gagaaccttg gtgtgtatca aattcttgcc 1680
atttatagta cggtatcgag cagcctagtg ttggtagggc tgatcatggc aatgggtctt 1740
tggatgtgtt caaatggttc aatgcagtgc aggatatgta tataagagct c 1791

```

<210> 46

<211> 1803

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 784 - secuencia de nucleótidos de A/Equino/Praga/56 (H7N7)

<400> 46

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta	60
attaattaat catcttgaga gaaaatgaac actcaaattc taatattagc cacttcggca	120
ttcttctatg tacgtgcaga taaaatctgc ctaggacatc atgctgtgtc taatggaacc	180
aaagtagaca cccttactga aaaaggaata gaagttgtca atgcaacaga aacagttgaa	240
caaacaaaca tccctaagat ctgctcaaaa ggaaaacaga ctgttgacct tgggtcaatgt	300
ggattactag ggaccgttat tggctcctccc caatgtgacc aatttcttga gttctctgct	360
aatttaatatg ttgaaagaag ggaaggtaat gacatttggt atccaggcaa atttgacaat	420
gaagaaacat tgagaaaaat actcagaaaa tccggaggaa ttaaaaagga gaatatggga	480
ttcacatata ccggagttag aaccaatgga gagactagcg catgtagaag gtcaagatct	540
tccttttatg cagagatgaa atggcttcta tccagcacag acaatgggac atttccacaa	600
atgacaaagt cctacaagaa cactaagaag gtaccagctc tgataatctg gggaatccac	660
cactcaggat caactactga acagactaga ttatatggaa gtgggaataa attgataaca	720
gtttggagtt ccaaatacca acaatctttt gtcccaaatac ctggaccaag accgcaaatg	780
aatggtcaat caggaagaat tgactttcac tggctgatgc tagatcccaa tgatactgtc	840
actttcagtt ttaatggggc ctttatagca cctgaccgcg ccagttttct aagaggtaaa	900
tctctaggaa tccaaagtga tgcacaactt gacaataatt gtgaaggtga atgctatcat	960
attggaggta ctataattag caacttgccc tttcaaaaca ttaatagtag ggcaatcgga	1020
aaatgcccc aatacgtgaa gcagaagagc ttaatgctag caacaggaat gaaaaatggt	1080
cctgaagctc ctgcacataa acaactaact catcacatgc gcaaaaaaag aggtttatgt	1140
ggtgcaatag caggattcat tgaaaatggg tgggaaggat taatagacgg atggtatgga	1200

tataagcatc agaatgcaca aggagaaggg actgctgcag actacaaaag tacacaatct	1260
gctatcaacc aaataaccgg aaaattgaac agactaatag aaaaaaccaa ccagcaattc	1320
gaactaatag ataatgagtt caatgaaata gaaaaacaaa ttggcaatgt tattaactgg	1380
actagagatt ctatcatcga agtatgggtca tataatgcag agttcctcgt agcagtggag	1440
aatcaacaca ctattgattt aactgactca gaaatgaaca aactatatga aaaggtaaga	1500
agacaactga gagaaaatgc tgaggaagat ggtaatggct gttttgaaat attccaccaa	1560
tgtgacaatg attgcatggc cagcattaga aacaacacat atgaccataa aaaatacaga	1620
aaagaggcaa tacaaaacag aatccagatt gacgcagtaa agttgagcag tggttacaaa	1680
gatataatac tttggtttag cttcggggca tcatgtttct tttttcttgc cattgcaatg	1740
gggtcttgttt tcatatgtat aaaaaatgga aacatgcggt gcactatttg tatataagag	1800
ctc	1803

<210> 47

<211> 1773

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 785 - secuencia de nucleótidos de A/Hong Kong/1073/99 (H9N2)

<400> 47

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta	60
attaattaat catcttgaga gaaaatggaa acaatatcac taataactat actactagta	120
gtaacagcaa gcaatgcaga taaaatctgc atcggccacc agtcaacaaa ctccacagaa	180
actgtggaca cgctaacaga aaccaatgtt cctgtgacac atgccaaaga attgctccac	240
acagagcata atggaatgct gtgtgcaaca agcctgggac atcccctcat tctagacaca	300
tgcactattg aaggactagt ctatggcaac ccttcttggtg acctgctgtt gggaggaaga	360
gaatggtcct acatcgtcga aagatcatca gctgtaaatg gaacgtgtta ccctgggaat	420
gtagaaaacc tagaggaact caggacactt tttagttccg ctagttccta ccaaagaatc	480
caaatcttcc cagacacaac ctggaatgtg acttacactg gaacaagcag agcatgttca	540
ggttcattct acaggagtat gagatggctg actcaaaaga gcggttttta ccctgttcaa	600
gacgcccaat acacaaataa caggggaaag agcattcttt tcgtgtgggg catacatcac	660
ccaccacct ataccgagca aacaaatttg tacataagaa acgacacaac aacaagcgtg	720
acaacagaag atttgaatag gaccttcaaa ccagtgatag ggccaaggcc ccttgtcaat	780
ggtctgcagg gaagaattga ttattattgg tcggtactaa aaccaggcca aacattgcga	840
gtacgatcca atgggaatct aattgctcca tggatatggac acgttctttc aggagggagc	900
catggaagaa tcctgaagac tgatttaaaa ggtggttaatt gtgtagtgca atgtcagact	960

gaaaaagggtg gcttaaacag tacattgccca ttccacaata tcagtaaata tgcattttgga 1020
 acctgccccca aatatgtaag agttaaatagt ctcaaactgg cagtcgggtct gaggaacgtg 1080
 cctgctagat caagtagagg actatatttga gccatagctg gattcataga aggagggttg 1140
 ccaggactag tcgctggctg gtatgggttc cagcattcaa atgatcaagg ggttggtatg 1200
 gctgcagata gggattcaac tcaaaaggca attgataaaa taacatccaa ggtgaataat 1260
 atagtcgaca agatgaacaa gcaatatgaa ataattgatc atgaatttag tgagggtgaa 1320
 actagactca atatgatcaa taataagatt gatgaccaa tacaagacgt atgggcatat 1380
 aatgcagaat tgctagtact acttgaaaat caaaaaacac tcgatgagca tgatgcgaac 1440
 gtgaacaatc tatataacaa ggtgaagagg gcactgggct ccaatgctat ggaagatggg 1500
 aaaggctgtt tcgagctata ccataaatgt gatgatcagt gcatggaaac aattcggaac 1560
 gggacctata ataggagaaa gtatagagag gaatcaagac tagaaaggca gaaaatagag 1620
 ggggttaagc tggaatctga ggggaacttac aaaatcctca ccattttattc gactgtcgcc 1680
 tcatctcttg tgcttgcaat ggggtttgct gccttcctgt tctgggccat gtccaatgga 1740
 tcttgagat gcaacatttg tatataagag etc 1773

<210> 48

<211> 565

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 774 (A/Brisbane/59/2007 (H1N1))

<400> 48

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

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

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

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

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

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

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

Ala	Asp	Tyr	Glu	Glu	Leu	Arg	Glu	Gln	Leu	Ser	Ser	Val	Ser	Ser	Phe	115	120	125	
Glu	Arg	Phe	Glu	Ile	Phe	Pro	Lys	Glu	Ser	Ser	Trp	Pro	Asn	His	Thr	130	135	140	
Val	Thr	Gly	Val	Ser	Ala	Ser	Cys	Ser	His	Asn	Gly	Glu	Ser	Ser	Phe	145	150	155	160
Tyr	Arg	Asn	Leu	Leu	Trp	Leu	Thr	Gly	Lys	Asn	Gly	Leu	Tyr	Pro	Asn	165	170	175	
Leu	Ser	Lys	Ser	Tyr	Ala	Asn	Asn	Lys	Glu	Lys	Glu	Val	Leu	Val	Leu	180	185	190	
Trp	Gly	Val	His	His	Pro	Pro	Asn	Ile	Gly	Asp	Gln	Lys	Ala	Leu	Tyr	195	200	205	
His	Thr	Glu	Asn	Ala	Tyr	Val	Ser	Val	Val	Ser	Ser	His	Tyr	Ser	Arg	210	215	220	
Lys	Phe	Thr	Pro	Glu	Ile	Ala	Lys	Arg	Pro	Lys	Val	Arg	Asp	Gln	Glu	225	230	235	240
Gly	Arg	Ile	Asn	Tyr	Tyr	Trp	Thr	Leu	Leu	Glu	Pro	Gly	Asp	Thr	Ile	245	250	255	
Ile	Phe	Glu	Ala	Asn	Gly	Asn	Leu	Ile	Ala	Pro	Arg	Tyr	Ala	Phe	Ala	260	265	270	
Leu	Ser	Arg	Gly	Phe	Gly	Ser	Gly	Ile	Ile	Asn	Ser	Asn	Ala	Pro	Met	275	280	285	
Asp	Lys	Cys	Asp	Ala	Lys	Cys	Gln	Thr	Pro	Gln	Gly	Ala	Ile	Asn	Ser	290	295	300	
Ser	Leu	Pro	Phe	Gln	Asn	Val	His	Pro	Val	Thr	Ile	Gly	Glu	Cys	Pro	305	310	315	320
Lys	Tyr	Val	Arg	Ser	Ala	Lys	Leu	Arg	Met	Val	Thr	Gly	Leu	Arg	Asn	325	330	335	
Ile	Pro	Ser	Ile	Gln	Ser	Arg	Gly	Leu	Phe	Gly	Ala	Ile	Ala	Gly	Phe	340	345	350	
Ile	Glu	Gly	Gly	Trp	Thr	Gly	Met	Val	Asp	Gly	Trp	Tyr	Gly	Tyr	His	355	360	365	

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 49

<211> 565

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> clon 775 (A/Isas Salomón 3/2006 (H1N1)

<400> 49

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

Ala	Asp	Thr	Ile	Cys	Ile	Gly	Tyr	His	Ala	Asn	Asn	Ser	Thr	Asp	Thr	20	25	30	
Val	Asp	Thr	Val	Leu	Glu	Lys	Asn	Val	Thr	Val	Thr	His	Ser	Val	Asn	35	40	45	
Leu	Leu	Glu	Asp	Ser	His	Asn	Gly	Lys	Leu	Cys	Leu	Leu	Lys	Gly	Ile	50	55	60	
Ala	Pro	Leu	Gln	Leu	Gly	Asn	Cys	Ser	Val	Ala	Gly	Trp	Ile	Leu	Gly	65	70	75	80
Asn	Pro	Glu	Cys	Glu	Leu	Leu	Ile	Ser	Arg	Glu	Ser	Trp	Ser	Tyr	Ile	85	90	95	
Val	Glu	Lys	Pro	Asn	Pro	Glu	Asn	Gly	Thr	Cys	Tyr	Pro	Gly	His	Phe	100	105	110	
Ala	Asp	Tyr	Glu	Glu	Leu	Arg	Glu	Gln	Leu	Ser	Ser	Val	Ser	Ser	Phe	115	120	125	
Glu	Arg	Phe	Glu	Ile	Phe	Pro	Lys	Glu	Ser	Ser	Trp	Pro	Asn	His	Thr	130	135	140	
Thr	Thr	Gly	Val	Ser	Ala	Ser	Cys	Ser	His	Asn	Gly	Glu	Ser	Ser	Phe	145	150	155	160
Tyr	Lys	Asn	Leu	Leu	Trp	Leu	Thr	Gly	Lys	Asn	Gly	Leu	Tyr	Pro	Asn	165	170	175	
Leu	Ser	Lys	Ser	Tyr	Ala	Asn	Asn	Lys	Glu	Lys	Glu	Val	Leu	Val	Leu	180	185	190	
Trp	Gly	Val	His	His	Pro	Pro	Asn	Ile	Gly	Asp	Gln	Arg	Ala	Leu	Tyr	195	200	205	
His	Lys	Glu	Asn	Ala	Tyr	Val	Ser	Val	Val	Ser	Ser	His	Tyr	Ser	Arg	210	215	220	
Lys	Phe	Thr	Pro	Glu	Ile	Ala	Lys	Arg	Pro	Lys	Val	Arg	Asp	Gln	Glu	225	230	235	240
Gly	Arg	Ile	Asn	Tyr	Tyr	Trp	Thr	Leu	Leu	Glu	Pro	Gly	Asp	Thr	Ile	245	250	255	
Ile	Phe	Glu	Ala	Asn	Gly	Asn	Leu	Ile	Ala	Pro	Arg	Tyr	Ala	Phe	Ala	260	265	270	

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Cys Arg Ile Cys Ile
565

<210> 50

<211> 566

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 776 (A/Brisbane/10/2007 (H3N2))

<400> 50

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Ser Phe Phe Ser Arg Leu Asn Trp Leu Thr His Leu Lys Phe Lys
165 170 175

Tyr Pro Ala Leu Asn Val Thr Met Pro Asn Asn Glu Lys Phe Asp Lys
180 185 190

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

Phe Leu Tyr Ala Gln Ala Ser Gly Arg Ile Thr Val Ser Thr Lys Arg
210 215 220

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

Asn Ile Pro Ser Arg Ile Ser Ile Tyr Trp Thr Ile Val Lys Pro Gly
245 250 255

Asp Ile Leu Leu Ile Asn Ser Thr Gly Asn Leu Ile Ala Pro Arg Gly
260 265 270

Tyr Phe Lys Ile Arg Ser Gly Lys Ser Ser Ile Met Arg Ser Asp Ala
275 280 285

Pro Ile Gly Lys Cys Asn Ser Glu Cys Ile Thr Pro Asn Gly Ser Ile
290 295 300

Pro Asn Asp Lys Pro Phe Gln Asn Val Asn Arg Ile Thr Tyr Gly Ala
305 310 315 320

Cys Pro Arg Tyr Val Lys Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly Met
325 330 335

Arg Asn Val Pro Glu Lys Gln Thr Arg Gly Ile Phe Gly Ala Ile Ala
340 345 350

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

Phe Arg His Gln Asn Ser Glu Gly Ile Gly Gln Ala Ala Asp Leu Lys
370 375 380

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

Ile Gly Lys Thr Asn Glu Lys Phe His Gln Ile Glu Lys Glu Phe Ser
405 410 415

Glu Val Glu Gly Arg Ile Gln Asp Leu Glu Lys Tyr Val Glu Asp Thr
420 425 430

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

Asn Gln His Thr Ile Asp Leu Thr Asp Ser Glu Met Asn Lys Leu Phe
450 455 460

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

Gly Cys Phe Lys Ile Tyr His Lys Cys Asp Asn Ala Cys Ile Gly Ser
485 490 495

Ile Arg Asn Gly Thr Tyr Asp His Asp Val Tyr Arg Asp Glu Ala Leu
500 505 510

Asn Asn Arg Phe Gln Ile Lys Gly Val Glu Leu Lys Ser Gly Tyr Lys
515 520 525

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

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

Arg Cys Asn Ile Cys Ile
565

<210> 51

<211> 566

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 777 (A/Wisconsin/67/2005 (H3N2))

<400> 51

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

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

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

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

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

Thr	Leu	Ile	Asp	Ala	Leu	Leu	Gly	Asp	Pro	Gln	Cys	Asp	Gly	Phe	Gln	85	90	95
Asn	Lys	Lys	Trp	Asp	Leu	Phe	Val	Glu	Arg	Ser	Lys	Ala	Tyr	Ser	Asn	100	105	110
Cys	Tyr	Pro	Tyr	Asp	Val	Pro	Asp	Tyr	Ala	Ser	Leu	Arg	Ser	Leu	Val	115	120	125
Ala	Ser	Ser	Gly	Thr	Leu	Glu	Phe	Asn	Asp	Glu	Ser	Phe	Asn	Trp	Thr	130	135	140
Gly	Val	Thr	Gln	Asn	Gly	Thr	Ser	Ser	Ala	Cys	Lys	Arg	Arg	Ser	Asn	145	150	155
Asn	Ser	Phe	Phe	Ser	Arg	Leu	Asn	Trp	Leu	Thr	His	Leu	Lys	Phe	Lys	165	170	175
Tyr	Pro	Ala	Leu	Asn	Val	Thr	Met	Pro	Asn	Asn	Glu	Lys	Phe	Asp	Lys	180	185	190
Leu	Tyr	Ile	Trp	Gly	Val	His	His	Pro	Gly	Thr	Asp	Asn	Asp	Gln	Ile	195	200	205
Phe	Leu	His	Ala	Gln	Ala	Ser	Gly	Arg	Ile	Thr	Val	Ser	Thr	Lys	Arg	210	215	220
Ser	Gln	Gln	Thr	Val	Ile	Pro	Asn	Ile	Gly	Ser	Arg	Pro	Arg	Ile	Arg	225	230	235
Asn	Ile	Pro	Ser	Arg	Ile	Ser	Ile	Tyr	Trp	Thr	Ile	Val	Lys	Pro	Gly	245	250	255
Asp	Ile	Leu	Leu	Ile	Asn	Ser	Thr	Gly	Asn	Leu	Ile	Ala	Pro	Arg	Gly	260	265	270
Tyr	Phe	Lys	Ile	Arg	Ser	Gly	Lys	Ser	Ser	Ile	Met	Arg	Ser	Asp	Ala	275	280	285
Pro	Ile	Gly	Lys	Cys	Asn	Ser	Glu	Cys	Ile	Thr	Pro	Asn	Gly	Ser	Ile	290	295	300
Pro	Asn	Asp	Lys	Pro	Phe	Gln	Asn	Val	Asn	Arg	Ile	Thr	Tyr	Gly	Ala	305	310	315
Cys	Pro	Arg	Tyr	Val	Lys	Gln	Asn	Thr	Leu	Lys	Leu	Ala	Thr	Gly	Met	325	330	335

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

<210> 52

<211> 585

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> clon 778 (B/Malasia/2506/2004)

<400> 52

Met	Lys	Ala	Ile	Ile	Val	Leu	Leu	Met	Val	Val	Thr	Ser	Asn	Ala	Asp	1	5	10	15
Arg	Ile	Cys	Thr	Gly	Ile	Thr	Ser	Ser	Asn	Ser	Pro	His	Val	Val	Lys	20	25	30	
Thr	Ala	Thr	Gln	Gly	Glu	Val	Asn	Val	Thr	Gly	Val	Ile	Pro	Leu	Thr	35	40	45	
Thr	Thr	Pro	Thr	Lys	Ser	His	Phe	Ala	Asn	Leu	Lys	Gly	Thr	Glu	Thr	50	55	60	
Arg	Gly	Lys	Leu	Cys	Pro	Lys	Cys	Leu	Asn	Cys	Thr	Asp	Leu	Asp	Val	65	70	75	80
Ala	Leu	Gly	Arg	Pro	Lys	Cys	Thr	Gly	Asn	Ile	Pro	Ser	Ala	Arg	Val	85	90	95	
Ser	Ile	Leu	His	Glu	Val	Arg	Pro	Val	Thr	Ser	Gly	Cys	Phe	Pro	Ile	100	105	110	
Met	His	Asp	Arg	Thr	Lys	Ile	Arg	Gln	Leu	Pro	Lys	Leu	Leu	Arg	Gly	115	120	125	
Tyr	Glu	His	Ile	Arg	Leu	Ser	Thr	His	Asn	Val	Ile	Asn	Ala	Glu	Asn	130	135	140	
Ala	Pro	Gly	Gly	Pro	Tyr	Lys	Ile	Gly	Thr	Ser	Gly	Ser	Cys	Pro	Asn	145	150	155	160
Val	Thr	Asn	Gly	Asn	Gly	Phe	Phe	Ala	Thr	Met	Ala	Trp	Ala	Val	Pro	165	170	175	
Lys	Asn	Asp	Asn	Asn	Lys	Thr	Ala	Thr	Asn	Ser	Leu	Thr	Ile	Glu	Val	180	185	190	
Pro	Tyr	Ile	Cys	Thr	Glu	Gly	Glu	Asp	Gln	Ile	Thr	Val	Trp	Gly	Phe	195	200	205	
His	Ser	Asp	Asn	Glu	Thr	Gln	Met	Ala	Lys	Leu	Tyr	Gly	Asp	Ser	Lys	210	215	220	
Pro	Gln	Lys	Phe	Thr	Ser	Ser	Ala	Asn	Gly	Val	Thr	Thr	His	Tyr	Val	225	230	235	240

Ser Gln Ile Gly Gly Phe Pro Asn Gln Thr Glu Asp Gly Gly Leu Pro
245 250 255

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Gly Cys Phe Glu Thr Lys His Lys Cys Asn Gln Thr Cys Leu Asp

500

505

510

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

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

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

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

Asp Asn Val Ser Cys Ser Ile Cys Leu
580 585

<210> 53

<211> 584

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> clon 779 (B/Florida/4/2006)

<400> 53

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

Tyr Glu Asn Ile Arg Leu Ser Thr Gln Asn Val Ile Asp Ala Glu Lys
 130 135 140

Ala Pro Gly Gly Pro Tyr Arg Leu Gly Thr Ser Gly Ser Cys Pro Asn
 145 150 155 160

Ala Thr Ser Lys Ser Gly Phe Phe Ala Thr Met Ala Trp Ala Val Pro
 165 170 175

Lys Asp Asn Asn Lys Asn Ala Thr Asn Pro Leu Thr Val Glu Val Pro
 180 185 190

Tyr Ile Cys Thr Glu Gly Glu Asp Gln Ile Thr Val Trp Gly Phe His
 195 200 205

Ser Asp Asn Lys Thr Gln Met Lys Asn Leu Tyr Gly Asp Ser Asn Pro
 210 215 220

Gln Lys Phe Thr Ser Ser Ala Asn Gly Val Thr Thr His Tyr Val Ser
 225 230 235 240

Gln Ile Gly Ser Phe Pro Asp Gln Thr Glu Asp Gly Gly Leu Pro Gln
 245 250 255

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

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

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

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

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

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

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

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

Tyr Thr Ser His Gly Ala His Gly Val Ala Val Ala Ala Asp Leu Lys

385		390		395		400
Ser Thr Gln Glu Ala Ile Asn Lys Ile Thr Lys Asn Leu Asn Ser Leu	405	410	415			
Ser Glu Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Arg Leu Ser Gly Ala Met Asp	420	425	430			
Glu Leu His Asn Glu Ile Leu Glu Leu Asp Glu Lys Val Asp Asp Leu	435	440	445			
Arg Ala Asp Thr Ile Ser Ser Gln Ile Glu Leu Ala Val Leu Leu Ser	450	455	460			
Asn Glu Gly Ile Ile Asn Ser Glu Asp Glu His Leu Leu Ala Leu Glu	465	470	475			480
Arg Lys Leu Lys Lys Met Leu Gly Pro Ser Ala Val Glu Ile Gly Asn	485	490	495			
Gly Cys Phe Glu Thr Lys His Lys Cys Asn Gln Thr Cys Leu Asp Arg	500	505	510			
Ile Ala Ala Gly Thr Phe Asn Ala Gly Glu Phe Ser Leu Pro Thr Phe	515	520	525			
Asp Ser Leu Asn Ile Thr Ala Ala Ser Leu Asn Asp Asp Gly Leu Asp	530	535	540			
Asn His Thr Ile Leu Leu Tyr Tyr Ser Thr Ala Ala Ser Ser Leu Ala	545	550	555			560
Val Thr Leu Met Leu Ala Ile Phe Ile Val Tyr Met Val Ser Arg Asp	565	570	575			
Asn Val Ser Cys Ser Ile Cys Leu	580					

<210> 54

<211> 562

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> clon 780 (A/Singapur/1/57 (H2N2))

<400> 54

Met	Ala	Ile	Ile	Tyr	Leu	Ile	Leu	Leu	Phe	Thr	Ala	Val	Arg	Gly	Asp
1				5					10					15	

Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Lys Val Asp
 20 25 30
 Thr Ile Leu Glu Arg Asn Val Thr Val Thr His Ala Lys Asp Ile Leu
 35 40 45
 Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Lys Leu Asn Gly Ile Pro Pro
 50 55 60
 Leu Glu Leu Gly Asp Cys Ser Ile Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn Pro
 65 70 75 80
 Glu Cys Asp Arg Leu Leu Ser Val Pro Glu Trp Ser Tyr Ile Met Glu
 85 90 95
 Lys Glu Asn Pro Arg Asp Gly Leu Cys Tyr Pro Gly Ser Phe Asn Asp
 100 105 110
 Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Ser Val Lys His Phe Glu Lys
 115 120 125
 Val Lys Ile Leu Pro Lys Asp Arg Trp Thr Gln His Thr Thr Thr Gly
 130 135 140
 Gly Ser Arg Ala Cys Ala Val Ser Gly Asn Pro Ser Phe Phe Arg Asn
 145 150 155 160
 Met Val Trp Leu Thr Lys Lys Glu Ser Asn Tyr Pro Val Ala Lys Gly
 165 170 175
 Ser Tyr Asn Asn Thr Ser Gly Glu Gln Met Leu Ile Ile Trp Gly Val
 180 185 190
 His His Pro Asn Asp Glu Thr Glu Gln Arg Thr Leu Tyr Gln Asn Val
 195 200 205
 Gly Thr Tyr Val Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Lys Arg Ser Thr
 210 215 220
 Pro Asp Ile Ala Thr Arg Pro Lys Val Asn Gly Leu Gly Ser Arg Met
 225 230 235 240
 Glu Phe Ser Trp Thr Leu Leu Asp Met Trp Asp Thr Ile Asn Phe Glu
 245 250 255
 Ser Thr Gly Asn Leu Ile Ala Pro Glu Tyr Gly Phe Lys Ile Ser Lys
 260 265 270
 Arg Gly Ser Ser Gly Ile Met Lys Thr Glu Gly Thr Leu Glu Asn Cys

275					280					285					
Glu	Thr	Lys	Cys	Gln	Thr	Pro	Leu	Gly	Ala	Ile	Asn	Thr	Thr	Leu	Pro
290						295					300				
Phe	His	Asn	Val	His	Pro	Leu	Thr	Ile	Gly	Glu	Cys	Pro	Lys	Tyr	Val
305					310					315					320
Lys	Ser	Glu	Lys	Leu	Val	Leu	Ala	Thr	Gly	Leu	Arg	Asn	Val	Pro	Gln
				325					330					335	
Ile	Glu	Ser	Arg	Gly	Leu	Phe	Gly	Ala	Ile	Ala	Gly	Phe	Ile	Glu	Gly
			340					345					350		
Gly	Trp	Gln	Gly	Met	Val	Asp	Gly	Trp	Tyr	Gly	Tyr	His	His	Ser	Asn
		355					360					365			
Asp	Gln	Gly	Ser	Gly	Tyr	Ala	Ala	Asp	Lys	Glu	Ser	Thr	Gln	Lys	Ala
		370				375					380				
Phe	Asp	Gly	Ile	Thr	Asn	Lys	Val	Asn	Ser	Val	Ile	Glu	Lys	Met	Asn
385					390					395					400
Thr	Gln	Phe	Glu	Ala	Val	Gly	Lys	Glu	Phe	Ser	Asn	Leu	Glu	Arg	Arg
				405					410					415	
Leu	Glu	Asn	Leu	Asn	Lys	Lys	Met	Glu	Asp	Gly	Phe	Leu	Asp	Val	Trp
			420					425					430		
Thr	Tyr	Asn	Ala	Glu	Leu	Leu	Val	Leu	Met	Glu	Asn	Glu	Arg	Thr	Leu
		435					440					445			
Asp	Phe	His	Asp	Ser	Asn	Val	Lys	Asn	Leu	Tyr	Asp	Lys	Val	Arg	Met
		450				455					460				
Gln	Leu	Arg	Asp	Asn	Val	Lys	Glu	Leu	Gly	Asn	Gly	Cys	Phe	Glu	Phe
465					470					475					480
Tyr	His	Lys	Cys	Asp	Asp	Glu	Cys	Met	Asn	Ser	Val	Lys	Asn	Gly	Thr
				485					490					495	
Tyr	Asp	Tyr	Pro	Lys	Tyr	Glu	Glu	Glu	Ser	Lys	Leu	Asn	Arg	Asn	Glu
			500					505					510		
Ile	Lys	Gly	Val	Lys	Leu	Ser	Ser	Met	Gly	Val	Tyr	Gln	Ile	Leu	Ala
		515						520				525			
Ile	Tyr	Ala	Thr	Val	Ala	Gly	Ser	Leu	Ser	Leu	Ala	Ile	Met	Met	Ala
		530				535					540				

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

Cys Ile

<210> 55

<211> 567

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 781 (A/Anhui/1/2005 (H5N1))

<400> 55

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

180					185					190					
Gly	Ile	His	His	Ser	Asn	Asp	Ala	Ala	Glu	Gln	Thr	Lys	Leu	Tyr	Gln
	195						200					205			
Asn	Pro	Thr	Thr	Tyr	Ile	Ser	Val	Gly	Thr	Ser	Thr	Leu	Asn	Gln	Arg
	210					215					220				
Leu	Val	Pro	Lys	Ile	Ala	Thr	Arg	Ser	Lys	Val	Asn	Gly	Gln	Ser	Gly
225					230					235					240
Arg	Met	Asp	Phe	Phe	Trp	Thr	Ile	Leu	Lys	Pro	Asn	Asp	Ala	Ile	Asn
				245					250					255	
Phe	Glu	Ser	Asn	Gly	Asn	Phe	Ile	Ala	Pro	Glu	Tyr	Ala	Tyr	Lys	Ile
			260					265					270		
Val	Lys	Lys	Gly	Asp	Ser	Ala	Ile	Val	Lys	Ser	Glu	Val	Glu	Tyr	Gly
	275						280					285			
Asn	Cys	Asn	Thr	Lys	Cys	Gln	Thr	Pro	Ile	Gly	Ala	Ile	Asn	Ser	Ser
	290					295					300				
Met	Pro	Phe	His	Asn	Ile	His	Pro	Leu	Thr	Ile	Gly	Glu	Cys	Pro	Lys
305					310					315					320
Tyr	Val	Lys	Ser	Asn	Lys	Leu	Val	Leu	Ala	Thr	Gly	Leu	Arg	Asn	Ser
				325					330					335	
Pro	Leu	Arg	Glu	Arg	Arg	Arg	Lys	Arg	Gly	Leu	Phe	Gly	Ala	Ile	Ala
			340					345					350		
Gly	Phe	Ile	Glu	Gly	Gly	Trp	Gln	Gly	Met	Val	Asp	Gly	Trp	Tyr	Gly
	355						360					365			
Tyr	His	His	Ser	Asn	Glu	Gln	Gly	Ser	Gly	Tyr	Ala	Ala	Asp	Lys	Glu
	370					375					380				
Ser	Thr	Gln	Lys	Ala	Ile	Asp	Gly	Val	Thr	Asn	Lys	Val	Asn	Ser	Ile
385					390					395					400
Ile	Asp	Lys	Met	Asn	Thr	Gln	Phe	Glu	Ala	Val	Gly	Arg	Glu	Phe	Asn
				405					410					415	
Asn	Leu	Glu	Arg	Arg	Ile	Glu	Asn	Leu	Asn	Lys	Lys	Met	Glu	Asp	Gly
			420					425					430		
Phe	Leu	Asp	Val	Trp	Thr	Tyr	Asn	Ala	Glu	Leu	Leu	Val	Leu	Met	Glu
	435						440					445			

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

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

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

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

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

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

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

Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
565

<210> 56

<211> 568

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 782 (A/Vietnam/1194/2004 (H5N1))

<400> 56

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

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

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

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

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

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

ES 2 525 177 T3

85										90					95				
Glu	Lys	Ala	Asn	Pro	Val	Asn	Asp	Leu	Cys	Tyr	Pro	Gly	Asp	Phe	Asn				
			100					105					110						
Asp	Tyr	Glu	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Leu	Ser	Arg	Ile	Asn	His	Phe	Glu				
		115					120					125							
Lys	Ile	Gln	Ile	Ile	Pro	Lys	Ser	Ser	Trp	Ser	Ser	His	Glu	Ala	Ser				
		130				135						140							
Leu	Gly	Val	Ser	Ser	Ala	Cys	Pro	Tyr	Gln	Gly	Lys	Ser	Ser	Phe	Phe				
145					150					155					160				
Arg	Asn	Val	Val	Trp	Leu	Ile	Lys	Lys	Asn	Ser	Thr	Tyr	Pro	Thr	Ile				
				165					170						175				
Lys	Arg	Ser	Tyr	Asn	Asn	Thr	Asn	Gln	Glu	Asp	Leu	Leu	Val	Leu	Trp				
			180					185					190						
Gly	Ile	His	His	Pro	Asn	Asp	Ala	Ala	Glu	Gln	Thr	Lys	Leu	Tyr	Gln				
		195					200					205							
Asn	Pro	Thr	Thr	Tyr	Ile	Ser	Val	Gly	Thr	Ser	Thr	Leu	Asn	Gln	Arg				
		210				215					220								
Leu	Val	Pro	Arg	Ile	Ala	Thr	Arg	Ser	Lys	Val	Asn	Gly	Gln	Ser	Gly				
225					230					235					240				
Arg	Met	Glu	Phe	Phe	Trp	Thr	Ile	Leu	Lys	Pro	Asn	Asp	Ala	Ile	Asn				
				245					250						255				
Phe	Glu	Ser	Asn	Gly	Asn	Phe	Ile	Ala	Pro	Glu	Tyr	Ala	Tyr	Lys	Ile				
			260					265					270						
Val	Lys	Lys	Gly	Asp	Ser	Thr	Ile	Met	Lys	Ser	Glu	Leu	Glu	Tyr	Gly				
		275					280					285							
Asn	Cys	Asn	Thr	Lys	Cys	Gln	Thr	Pro	Met	Gly	Ala	Ile	Asn	Ser	Ser				
		290				295					300								
Met	Pro	Phe	His	Asn	Ile	His	Pro	Leu	Thr	Ile	Gly	Glu	Cys	Pro	Lys				
305					310					315					320				
Tyr	Val	Lys	Ser	Asn	Arg	Leu	Val	Leu	Ala	Thr	Gly	Leu	Arg	Asn	Ser				
				325					330					335					
Pro	Gln	Arg	Glu	Arg	Arg	Arg	Lys	Lys	Arg	Gly	Leu	Phe	Gly	Ala	Ile				
			340					345					350						

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
565

<210> 57

<211> 566

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> clon 783 (A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1))

<400> 57

Met	Ile	Ala	Ile	Ile	Val	Ile	Ala	Ile	Leu	Ala	Ala	Ala	Gly	Lys	Ser	1	5	10	15
Asp	Lys	Ile	Cys	Ile	Gly	Tyr	His	Ala	Asn	Asn	Ser	Thr	Thr	Gln	Val	20	25	30	
Asp	Thr	Ile	Leu	Glu	Lys	Asn	Val	Thr	Val	Thr	His	Ser	Ile	Glu	Leu	35	40	45	
Leu	Glu	Asn	Gln	Lys	Glu	Glu	Arg	Phe	Cys	Lys	Ile	Leu	Asn	Lys	Ala	50	55	60	
Pro	Leu	Asp	Leu	Arg	Glu	Cys	Thr	Ile	Glu	Gly	Trp	Ile	Leu	Gly	Asn	65	70	75	80
Pro	Gln	Cys	Asp	Leu	Leu	Leu	Gly	Asp	Gln	Ser	Trp	Ser	Tyr	Ile	Val	85	90	95	
Glu	Arg	Pro	Thr	Ala	Gln	Asn	Gly	Ile	Cys	Tyr	Pro	Gly	Thr	Leu	Asn	100	105	110	
Glu	Val	Glu	Glu	Leu	Arg	Ala	Leu	Ile	Gly	Ser	Gly	Glu	Arg	Val	Glu	115	120	125	
Arg	Phe	Glu	Met	Phe	Pro	Gln	Ser	Thr	Trp	Gln	Gly	Val	Asp	Thr	Asn	130	135	140	
Ser	Gly	Thr	Thr	Arg	Ser	Cys	Pro	Tyr	Ser	Thr	Gly	Ala	Ser	Phe	Tyr	145	150	155	160
Arg	Asn	Leu	Leu	Trp	Ile	Ile	Lys	Thr	Lys	Thr	Ala	Glu	Tyr	Pro	Val	165	170	175	
Ile	Lys	Gly	Ile	Tyr	Asn	Asn	Thr	Gly	Thr	Gln	Pro	Ile	Leu	Tyr	Phe	180	185	190	
Trp	Gly	Val	His	His	Pro	Pro	Asn	Thr	Asp	Glu	Gln	Asp	Thr	Leu	Tyr	195	200	205	
Gly	Ser	Gly	Asp	Arg	Tyr	Val	Arg	Met	Gly	Thr	Glu	Ser	Met	Asn	Phe	210	215	220	
Ala	Lys	Ser	Pro	Glu	Ile	Ala	Ala	Arg	Pro	Ala	Val	Asn	Gly	Gln	Arg	225	230	235	240
Gly	Arg	Ile	Asp	Tyr	Tyr	Trp	Ser	Val	Leu	Lys	Pro	Gly	Glu	Thr	Leu	245	250	255	

Asn Val Glu Ser Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Tyr Lys
 260 265 270

Phe Val Asn Thr Asn Ser Lys Gly Ala Val Phe Arg Ser Asp Leu Pro
 275 280 285

Ile Glu Asn Cys Asp Ala Thr Cys Gln Thr Ile Ala Gly Val Leu Arg
 290 295 300

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

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

Asn Val Pro Gln Ile Glu Thr Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly
 340 345 350

Phe Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr
 355 360 365

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

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

Asn Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Asp His Glu Phe Ser Asn
 405 410 415

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

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

Glu Arg Thr Leu Asp Met His Asp Ala Asn Val Lys Asn Leu His Glu
 450 455 460

Lys Val Lys Ser Gln Leu Arg Asp Asn Ala Thr Ile Leu Gly Asn Gly
 465 470 475 480

Cys Phe Glu Phe Trp His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Ile Glu Ser Val
 485 490 495

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

Asn Arg Leu Lys Ile Glu Ser Val Lys Leu Glu Asn Leu Gly Val Tyr
515 520 525

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

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

Gln Cys Arg Ile Cys Ile
565

<210> 58

<211> 570

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 784 (A/Equino/Praga/56 (H7N7))

<400> 58

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

Leu Leu Ser Ser Thr Asp Asn Gly Thr Phe Pro Gln Met Thr Lys Ser
 165 170 175

Tyr Lys Asn Thr Lys Lys Val Pro Ala Leu Ile Ile Trp Gly Ile His
 180 185 190

His Ser Gly Ser Thr Thr Glu Gln Thr Arg Leu Tyr Gly Ser Gly Asn
 195 200 205

Lys Leu Ile Thr Val Trp Ser Ser Lys Tyr Gln Gln Ser Phe Val Pro
 210 215 220

Asn Pro Gly Pro Arg Pro Gln Met Asn Gly Gln Ser Gly Arg Ile Asp
 225 230 235 240

Phe His Trp Leu Met Leu Asp Pro Asn Asp Thr Val Thr Phe Ser Phe
 245 250 255

Asn Gly Ala Phe Ile Ala Pro Asp Arg Ala Ser Phe Leu Arg Gly Lys
 260 265 270

Ser Leu Gly Ile Gln Ser Asp Ala Gln Leu Asp Asn Asn Cys Glu Gly
 275 280 285

Glu Cys Tyr His Ile Gly Gly Thr Ile Ile Ser Asn Leu Pro Phe Gln
 290 295 300

Asn Ile Asn Ser Arg Ala Ile Gly Lys Cys Pro Arg Tyr Val Lys Gln
 305 310 315 320

Lys Ser Leu Met Leu Ala Thr Gly Met Lys Asn Val Pro Glu Ala Pro
 325 330 335

Ala His Lys Gln Leu Thr His His Met Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe
 340 345 350

Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Leu Ile Asp
 355 360 365

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

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

Leu Asn Arg Leu Ile Glu Lys Thr Asn Gln Gln Phe Glu Leu Ile Asp
 405 410 415

Asn Glu Phe Asn Glu Ile Glu Lys Gln Ile Gly Asn Val Ile Asn Trp
420 425 430

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

Val Ala Val Glu Asn Gln His Thr Ile Asp Leu Thr Asp Ser Glu Met
450 455 460

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

Glu Asp Gly Asn Gly Cys Phe Glu Ile Phe His Gln Cys Asp Asn Asp
485 490 495

Cys Met Ala Ser Ile Arg Asn Asn Thr Tyr Asp His Lys Lys Tyr Arg
500 505 510

Lys Glu Ala Ile Gln Asn Arg Ile Gln Ile Asp Ala Val Lys Leu Ser
515 520 525

Ser Gly Tyr Lys Asp Ile Ile Leu Trp Phe Ser Phe Gly Ala Ser Cys
530 535 540

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

Asn Gly Asn Met Arg Cys Thr Ile Cys Ile
565 570

<210> 59

<211> 560

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 785 (A/Hong Kong/1073/99 (H9N2))

<400> 59

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

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

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

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

Gly His Pro Leu Ile Leu Asp Thr Cys Thr Ile Glu Gly Leu Val Tyr
 65 70 75 80
 Gly Asn Pro Ser Cys Asp Leu Leu Leu Gly Gly Arg Glu Trp Ser Tyr
 85 90 95
 Ile Val Glu Arg Ser Ser Ala Val Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Asn
 100 105 110
 Val Glu Asn Leu Glu Glu Leu Arg Thr Leu Phe Ser Ser Ala Ser Ser
 115 120 125
 Tyr Gln Arg Ile Gln Ile Phe Pro Asp Thr Thr Trp Asn Val Thr Tyr
 130 135 140
 Thr Gly Thr Ser Arg Ala Cys Ser Gly Ser Phe Tyr Arg Ser Met Arg
 145 150 155 160
 Trp Leu Thr Gln Lys Ser Gly Phe Tyr Pro Val Gln Asp Ala Gln Tyr
 165 170 175
 Thr Asn Asn Arg Gly Lys Ser Ile Leu Phe Val Trp Gly Ile His His
 180 185 190
 Pro Pro Thr Tyr Thr Glu Gln Thr Asn Leu Tyr Ile Arg Asn Asp Thr
 195 200 205
 Thr Thr Ser Val Thr Thr Glu Asp Leu Asn Arg Thr Phe Lys Pro Val
 210 215 220
 Ile Gly Pro Arg Pro Leu Val Asn Gly Leu Gln Gly Arg Ile Asp Tyr
 225 230 235 240
 Tyr Trp Ser Val Leu Lys Pro Gly Gln Thr Leu Arg Val Arg Ser Asn
 245 250 255
 Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Gly His Val Leu Ser Gly Gly Ser
 260 265 270
 His Gly Arg Ile Leu Lys Thr Asp Leu Lys Gly Gly Asn Cys Val Val
 275 280 285
 Gln Cys Gln Thr Glu Lys Gly Gly Leu Asn Ser Thr Leu Pro Phe His
 290 295 300
 Asn Ile Ser Lys Tyr Ala Phe Gly Thr Cys Pro Lys Tyr Val Arg Val
 305 310 315 320

Asn	Ser	Leu	Lys	Leu	Ala	Val	Gly	Leu	Arg	Asn	Val	Pro	Ala	Arg	Ser	325	330	335	
Ser	Arg	Gly	Leu	Phe	Gly	Ala	Ile	Ala	Gly	Phe	Ile	Glu	Gly	Gly	Trp	340	345	350	
Pro	Gly	Leu	Val	Ala	Gly	Trp	Tyr	Gly	Phe	Gln	His	Ser	Asn	Asp	Gln	355	360	365	
Gly	Val	Gly	Met	Ala	Ala	Asp	Arg	Asp	Ser	Thr	Gln	Lys	Ala	Ile	Asp	370	375	380	
Lys	Ile	Thr	Ser	Lys	Val	Asn	Asn	Ile	Val	Asp	Lys	Met	Asn	Lys	Gln	385	390	395	400
Tyr	Glu	Ile	Ile	Asp	His	Glu	Phe	Ser	Glu	Val	Glu	Thr	Arg	Leu	Asn	405	410	415	
Met	Ile	Asn	Asn	Lys	Ile	Asp	Asp	Gln	Ile	Gln	Asp	Val	Trp	Ala	Tyr	420	425	430	
Asn	Ala	Glu	Leu	Leu	Val	Leu	Leu	Glu	Asn	Gln	Lys	Thr	Leu	Asp	Glu	435	440	445	
His	Asp	Ala	Asn	Val	Asn	Asn	Leu	Tyr	Asn	Lys	Val	Lys	Arg	Ala	Leu	450	455	460	
Gly	Ser	Asn	Ala	Met	Glu	Asp	Gly	Lys	Gly	Cys	Phe	Glu	Leu	Tyr	His	465	470	475	480
Lys	Cys	Asp	Asp	Gln	Cys	Met	Glu	Thr	Ile	Arg	Asn	Gly	Thr	Tyr	Asn	485	490	495	
Arg	Arg	Lys	Tyr	Arg	Glu	Glu	Ser	Arg	Leu	Glu	Arg	Gln	Lys	Ile	Glu	500	505	510	
Gly	Val	Lys	Leu	Glu	Ser	Glu	Gly	Thr	Tyr	Lys	Ile	Leu	Thr	Ile	Tyr	515	520	525	
Ser	Thr	Val	Ala	Ser	Ser	Leu	Val	Leu	Ala	Met	Gly	Phe	Ala	Ala	Phe	530	535	540	
Leu	Phe	Trp	Ala	Met	Ser	Asn	Gly	Ser	Cys	Arg	Cys	Asn	Ile	Cys	Ile	545	550	555	560

<210> 60

<211> 3111

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> H5 de A/Indonesia/5/2005 (Constructo # 660)

<400> 60

agaggtaccc	cgggctggta	tatttatatg	ttgtcaaata	actcaaaaac	cataaaaagtt	60
taagttagca	agtgtgtaca	tttttacttg	aacaaaaata	ttcacctact	actgttataa	120
atcattatta	aacattagag	taaagaaata	tggatgataa	gaacaagagt	agtgatattt	180
tgacaacaat	tttgttgcaa	catttgagaa	aattttgttg	ttctctcttt	tcattggtca	240
aaaacaatag	agagagaaaa	aggaagaggg	agaataaaaa	cataatgtga	gtatgagaga	300
gaaagttgta	caaaagttgt	accaaataag	ttgtacaaat	atcattgagg	aatttgacaa	360
aagctacaca	aataaggggt	aattgctgta	aataaataag	gatgacgcat	tagagagatg	420
taccattaga	gaatttttgg	caagtcatta	aaaagaaaga	ataaattatt	tttaaaatta	480
aaagttgagt	catttgatta	aacatgtgat	tatttaatga	attgatgaaa	gagttggatt	540
aaagttgtat	tagtaattag	aatttggtgt	caaatttaat	ttgacatttg	atcttttcct	600
atatattgcc	ccatagagtc	agttaactca	tttttatatt	tcatagatca	aataagagaa	660
ataacggtat	attaatccct	ccaaaaaaaa	aaaacggtat	atttactaaa	aaatctaagc	720
cacgtaggag	gataacagga	tccccgtagg	aggataacat	ccaatccaac	caatcacaac	780
aatcctgatg	agataaccca	ctttaagccc	acgcatctgt	ggcacatcta	cattatctaa	840
atcacacatt	cttccacaca	tctgagccac	acaaaaacca	atccacatct	ttatcaccca	900
ttctataaaa	aatcacactt	tgtgagtcta	cactttgatt	cccttcaaac	acatacaaag	960
agaagagact	aattaattaa	ttaatcatct	tgagagaaaa	tggagaaaat	agtgcttctt	1020
cttgcaatag	tcagtcttgt	taaaagtgat	cagatttgca	ttggttacca	tgcaaacaat	1080
tcaacagagc	aggttgacac	aatcatggaa	aagaacgtta	ctgttacaca	tgcccaagac	1140
atactggaaa	agacacacaa	cgggaagctc	tgcgatctag	atggagtgaa	gcctctaatt	1200
ttaagagatt	gtagtgtagc	tggatggctc	ctcgggaacc	caatgtgtga	ogaattcatc	1260
aatgtaccgg	aatggctcta	catagtggag	aaggccaatc	caaccaatga	cctctgttac	1320
ccaggggagt	tcaacgacta	tgaagaactg	aaacacctat	tgagcagaat	aaaccatttt	1380
gagaaaattc	aaatcatccc	caaaagttct	tgggccgatc	atgaagcctc	atcaggagtt	1440
agctcagcat	gtccatacct	gggaagtccc	tcctttttta	gaaatgtggg	atggcttata	1500
aaaaagaaca	gtacataccc	aacaataaag	aaaagctaca	ataataccaa	ccaagaggat	1560
cttttggtac	tgtggggaat	tcaccatcct	aatgatgcgg	cagagcagac	aaggctatat	1620
caaaacccaa	ccacctatat	ttccattggg	acatcaacac	taaaccagag	attggtacca	1680
aaaatagcta	ctagatccaa	agtaaacggg	caaagtgga	ggatggagtt	cttctggaca	1740
attttaaaac	ctaattgatg	aatcaacttc	gagagtaatg	gaaatttcat	tgctccagaa	1800

tatgcataca aaattgtcaa gaaaggggac tcagcaatta tgaaaagtga attggaatat	1860
ggtaactgca acaccaagtg tcaaactcca atgggggcca taaactctag tatgccattc	1920
cacaacatac accctctcac catcggggaa tgcccccacat atgtgaaatc aaacagatta	1980
gtccttgcaa cagggctcag aaatagccct caaagagaga gcagaagaaa aaagagagga	2040
ctatttggag ctatagcagg ttttatagag ggaggatggc agggaatggt agatggttgg	2100
tatgggtacc accatagcaa tgagcagggg agtgggtacg ctgcagacaa agaatccact	2160
caaaaggcaa tagatggagt caccaataag gtcaactcaa tcattgacaa aatgaacact	2220
cagtttgagg ccgttggaag ggaatttaat aacttagaaa ggagaataga gaatttaaac	2280
aagaagatgg aagacggggt tctagatgtc tggacttata atgccgaact tctggttctc	2340
atggaaaatg agagaactct agactttcat gactcaaatg ttaagaacct ctacgacaag	2400
gtccgactac agcttaggga taatgcaaag gagctgggta acggttggtt cgagttctat	2460
cacaaatgtg ataatgaatg tatggaaagt ataagaaacg gaacgtacaa ctatccgcag	2520
tattcagaag aagcaagatt aaaaagagag gaaataagtg gggtaaaatt ggaatcaata	2580
ggaacttacc aaatactgtc aattttattca acagtggcga gttccctagc actggcaatc	2640
atgatggctg gtctatcttt atggatgtgc tccaatggat cgttacaatg cagaatttgc	2700
atttaagagc tctaagttaa aatgcttctt cgtctcctat ttataaatatg gtttggtatt	2760
gttaattttg ttctttaga agagcttaat taatcgttgt tgttatgaaa tactatttgt	2820
atgagatgaa ctggtgtaat gtaattcatt tacataagtg gagtcagaat cagaatgttt	2880
cctccataac taactagaca tgaagacctg ccgcgtacaa ttgtcttata tttgaacaac	2940
taaaattgaa catcttttgc cacaacttta taagtgggta atatagctca aatatatggt	3000
caagttcaat agattaataa tggaaatatc agttatcgaa attcattaac aatcaactta	3060
acgttattaa ctactaattt tatatcatcc cctttgataa atgatagtac a	3111

<210> 61

<211> 3123

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> H1 de A/Nueva Caledonia/20/1999 (Constructo # 540)

<400> 61

agaggtaccc cgggctggta tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt	60
taagttagca agtgtgtaca tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa	120
atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt	180
tgacaacaat tttgttgcaa cttttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattggtca	240
aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga	300
gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa	360

aagctacaca	aataaggggtt	aattgctgta	aataaataag	gatgacgcat	tagagagatg	420
taccattaga	gaatTTTTTg	caagtcatta	aaaagaaaga	ataaattatt	tttaaaatta	480
aaagttgagt	catttgatta	aacatgtgat	tatttaaatga	attgatgaaa	gagttggatt	540
aaagttgtat	tagtaattag	aatttggtgt	caaatttaat	ttgacatttg	atcttttcct	600
atatattgcc	ccatagagtc	agttaactca	tttttatatt	tcatagatca	aataagagaa	660
ataacggtat	attaatccct	ccaaaaaaa	aaaacggtat	atttactaaa	aaatctaagc	720
cacgtaggag	gataacagga	tccccgtagg	aggataacat	ccaatccaac	caatcacaac	780
aatcctgatg	agataaccca	ctttaagccc	acgcatctgt	ggcacatcta	cattatctaa	840
atcacacatt	cttccacaca	tctgagccac	acaaaaacca	atccacatct	ttatcaccca	900
ttctataaaa	aatcacactt	tgtgagtcta	cactttgatt	cccttcaaac	acatacaaag	960
agaagagact	aattaattaa	ttaatcatct	tgagagaaaa	tggcgaaaaa	cgttgcgatt	1020
ttcggcttat	tgttttctct	tcttgtgttg	gttccttctc	agatcttcgc	tgacacaata	1080
tgtataggct	accatgccaa	caactcaacc	gacactgttg	acacagtact	tgagaagaat	1140
gtgacagtga	cacactctgt	caacctactt	gaggacagtc	acaatggaaa	actatgtcta	1200
ctaaaaggaa	tagccccact	acaattgggt	aattgcagcg	ttgccggatg	gatcttagga	1260
aaccagaat	gcgaattact	gatttccaag	gaatcatggt	cctacattgt	agaaacacca	1320
aatcctgaga	atggaacatg	ttaccagggg	tatttcgccg	actatgagga	actgagggag	1380
caattgagtt	cagtatcttc	atttgagaga	ttcgaaatat	tccccaaaga	aagctcatgg	1440
cccaaccaca	ccgtaaccgg	agtatcagca	tcatgctccc	ataatgggaa	aagcagtttt	1500
tacagaaatt	tgtatggct	gacggggaag	aatggtttgt	acccaaacct	gagcaagtcc	1560
tatgtaaaca	acaaagagaa	agaagtcctt	gtactatggg	gtgttcatca	ccgcctaac	1620
ataggggaacc	aaagggcact	ctatcataca	gaaaatgctt	atgtctctgt	agtgtcttca	1680
cattatagca	gaagattcac	cccagaaata	gccaaaagac	ccaaagtaag	agatcaggaa	1740
ggaagaatca	actactactg	gactctgctg	gaacctgggg	atacaataat	atttgaggca	1800
aatggaaatc	taatagcgcc	atggtatgct	tttgcaactga	gtagaggctt	tggatcagga	1860
atcatcacct	caaatgcacc	aatggatgaa	tgtgatgcga	agtgtcaaac	acctcagggg	1920
gctataaaca	gcagtcttcc	tttccagaat	gtacaccag	tcacaatagg	agagtgtcca	1980
aagtatgtca	ggagtgcaaa	attaaggatg	gttacaggac	taagggaacat	cccatccatt	2040
caatccagag	gtttgtttgg	agccattgcc	ggtttcattg	aaggggggtg	gactggaatg	2100
gtagatgggt	ggtatggtta	tcatcatcag	aatgagcaag	gatctggcta	tgctgcagat	2160
caaaaaagta	cacaaaatgc	cattaacggg	attacaaaca	aggtcaattc	tgtaattgag	2220
aaaatgaaca	ctcaattcac	agctgtgggc	aaagagttca	acaaattgga	aagaaggatg	2280

gaaaacttaa ataaaaaagt tgatgatggg tttctagaca tttggacata taatgcagaa	2340
ttgttggttc tactggaaaa tgaaaggact ttggatttcc atgactccaa tgtgaagaat	2400
ctgtatgaga aagtaaaaag ccaattaaag aataatgcc aagaaatagg aaacgggtgt	2460
tttgagttct atcacaagt taacaatgaa tgcattggaga gtgtgaaaaa tggtagctat	2520
gactatccaa aatattccga agaatacaag ttaaaccagg agaaaattga tggagtga	2580
ttggaatcaa tgggagtata ccagattctg gcgattctact caactgtcgc cagttccctg	2640
gttcttttgg tctccctggg ggcaatcagc ttctggatgt gttccaatgg gtctttgcag	2700
tgtagaatat gcatctaaga gctctaagtt aaaatgcttc ttcgtctcct atttataata	2760
tggtttggtt ttgttaattt tgttcttgta gaagagctta attaatacgtt gttgttatga	2820
aatactatct gtatgagatg aactgggtga atgtaattca ttacataag tggagtgcag	2880
atcagaatgt ttcctccata actaactaga catgaagacc tgccgcgtac aattgtctta	2940
tatttgaaca actaaaattg aacatctttt gccacaactt tataagtggg taatatagct	3000
caaatatatg gtcaagttca atagattaat aatggaaata tcagttatcg aaattcatta	3060
acaatcaact taacgttatt aactactaat tttatatcat cccctttgat aaatgatagt	3120
aca	3123

<210> 62

<211> 3088

<212> ADN

5 <213> Artificial

<220>

<223> H1 de A/Brisbane/59/2007 (Constructo #774)

<400> 62

ctggtatatt tatatgttgt caaataactc aaaaaccata aaagtttaag ttagcaagtg	60
tgtacatddd tacttgaaca aaaatattca cctactactg ttataaatca ttattaaaca	120
ttagagtaaa gaaatatgga tgataagaac aagagtagtg atatdddtgac aacaatdddg	180
ttgcaacatt tgagaaaatt ttgttgttct ctctdddcat tggdcaaaaa caatagagag	240
agaaaaagga agagggagaa taaaaacata atgtgagtat gagagagaaa gttgtacaaa	300
agttgtacca aaatagttgt acaaatatca ttgaggaatt tgacaaaagc tacacaaata	360
agggttaatt gctgtaaata aataaggatg acgcattaga gagatgtacc attagagaat	420
dddttggcaag tcattaaaaa gaaagaataa attatdddta aaattaaaag ttgagtcatt	480
tgattaaaca tgtgattatt taatgaattg atgaaagagt tggattaaag ttgtattagt	540
aattagaatt tggdgtcaaa ttdaatttga catttgatct ttdcctatat attgccccat	600
agagtcagtt aactcatddd tatatdddcat agatcaaata agagaaataa cggtatatta	660
atccctccaa aaaaaaaaaa cggtatatddd actaaaaaat ctaagccacg taggaggata	720
acaggatccc cgtaggagga taacatccaa tccaaccaat cacaacaatc ctgatgagat	780

aaccactttt	aagcccacgc	atctgtggca	catctacatt	atctaaatca	cacattcttc	840
cacacatctg	agccacacaa	aaaccaatcc	acatctttat	cacccattct	ataaaaaatc	900
acactttgtg	agtctacact	ttgattccct	tcaaacacat	acaaagagaa	gagactaatt	960
aattaattaa	tcattcttgag	agaaaatgaa	agtaaaacta	ctggtcctgt	tatgcacatt	1020
tacagctaca	tatgcagaca	caatatgtat	aggctaccat	gctaacaact	cgaccgacac	1080
tggtgacaca	gtacttgaaa	agaatgtgac	agtgcacacac	tctgtcaacc	tgcttgagaa	1140
cagtcacaat	ggaaaactat	gtctattaaa	aggaatagcc	ccactacaat	tgggtaattg	1200
cagcgttgcc	gggtggatct	taggaaaccc	agaatgcgaa	ttactgattt	ccaaggagtc	1260
atggtcctac	attgtagaaa	aaccaaatcc	tgagaatgga	acatgttacc	cagggcattt	1320
cgctgactat	gaggaactga	gggagcaatt	gagttcagta	tcttcatttg	agaggttcga	1380
aatattcccc	aaagaaagct	catggcccaa	ccacaccgta	accggagtgt	cagcatcatg	1440
ctcccataat	ggggaaagca	gtttttacag	aaatttgcta	tggctgacgg	ggaagaatgg	1500
tttgtacca	aacctgagca	agtcctatgc	aaacaacaaa	gaaaaagaag	tccttgact	1560
atggggtgtt	catcaccgc	caaacatagg	tgacccaaaag	gccctctatc	atacagaaaa	1620
tgcttatgtc	tctgtagtgt	cttcacatta	tagcagaaaa	ttcaccccag	aaatagccaa	1680
aagacccaaa	gtaagagatc	aagaaggaag	aatcaattac	tactggactc	tgcttgaacc	1740
cggggataca	ataatatttg	aggcaaatgg	aaatctaata	gcgccaagat	atgctttcgc	1800
actgagtaga	ggctttggat	caggaatcat	caactcaa	gcaccaatgg	ataaatgtga	1860
tgcgagtgc	caaacacctc	agggagctat	aaacagcagt	cttcctttcc	agaacgtaca	1920
cccagtcaca	ataggagagt	gtccaaagta	tgtcaggagt	gcaaaattaa	ggatggttac	1980
aggactaagg	aacatcccat	ccattcaatc	cagaggtttg	tttgagcca	ttgccggttt	2040
cattgaagg	gggtggactg	gaatggtaga	tggttggtat	ggttatcatc	atcagaatga	2100
gcaaggatct	ggctatgctg	cagatcaaaa	aagcacacaa	aatgccatta	atgggattac	2160
aaacaaggtc	aattctgtaa	ttgagaaaat	gaacactcaa	ttcacagcag	tgggcaaaga	2220
gttcaacaaa	ttggaaagaa	ggatggaaaa	cttgaataaa	aaagttgatg	atgggtttat	2280
agacatttg	acataataatg	cagaactgtt	ggttctactg	gaaaatgaaa	ggactttgga	2340
tttccatgac	tccaatgtga	agaatctgta	tgagaaagta	aaaagccagt	taaagaataa	2400
tgctaaagaa	ataggaaatg	ggtgttttga	gttctatcac	aagtgtaacg	atgaatgcat	2460
ggagagtgt	aagaatggaa	cttatgacta	tccaaaatat	tccgaagaat	caaagttaaa	2520
caggagaaaa	attgatggag	tgaaattgga	atcaatggga	gtctatcaga	ttctggcgat	2580
ctactcaaca	gtcgccagtt	ctctggttct	tttgggtctc	ctgggggcaa	tcagcttctg	2640
gatgtgttcc	aatgggtctt	tacagtgtag	aatatgcac	taagagctct	aagttaaaat	2700

gcttcttcgt ctcctattta taatatggtt tgttattggt aattttgttc ttgtagaaga	2760
gcttaattaa tcgttggtgt tatgaaatac tatttgatg agatgaactg gtgtaatgta	2820
attcatttac ataagtggag tcagaatcag aatgtttcct ccataactaa ctagacatga	2880
agacctgccg cgtacaattg tcttatattt gaacaactaa aattgaacat cttttgccac	2940
aactttataa gtggttaata tagctcaa atatggtcaa gttcaataga ttaataatgg	3000
aaatatcagt tatcgaaatt cattaacaat caacttaacg ttattaacta ctaattttat	3060
atcatcccct ttgataaatg atagtaca	3088

<210> 63

<211> 3102

<212> ADN

5 <213> Artificial

<220>

<223> H1 de A/Isas Salomón/3/2006 (H1N1) (Constructo # 775)

<400> 63

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

atttccaggg aatcatggtc ctacattgta gaaaaaccaa atcctgagaa tggaacatgt 1320
 taccagggc atttcgccga ctatgaggaa ctgagggagc aattgagttc agtatcttca 1380
 tttgagagat tcgaaatatt ccccaaagaa agctcatggc ccaaccacac cacaaccgga 1440
 gtatcagcat catgctccca taatggggaa agcagttttt acaaaaattt gctatggctg 1500
 acggggaaga atggtttgta cccaaacctg agcaagtcct atgcaaacaa caaagagaaa 1560
 gaagtccttg tactatgggg tgttcatcac ccgcctaaca taggtgacca aagggtcttc 1620
 tatcataaag aaaatgctta tgtctctgta gtgtcttcac attatagcag aaaattcacc 1680
 ccagaaatag ccaaaagacc caaagtaaga gatcaagaag gaagaatcaa ctactactgg 1740
 actctacttg aacccgggga tacaataata tttgaggcaa atggaaatct aatagcgcca 1800
 agatatgctt tcgcactgag tagaggcttt ggatcaggaa tcatcaactc aaatgcacca 1860
 atggatgaat gtgatgcgaa gtgccaacaa cctcaggag ctataaacag cagtcttcct 1920
 ttccagaatg tacaccctgt cacaatagga gagtgtccaa agtatgtcag gagtgcacaaa 1980
 ttaaggatgg ttacaggact aaggaacatc ccatccattc aatccagagg tttgtttgga 2040
 gccattgccg gtttcattga aggggggtgg actggaatgg tagatggttg gtatggttat 2100
 catcatcaga atgagcaagg atctggctat gctgcagatc aaaaaagcac acaaatgcc 2160
 attaatggga ttacaaacaa ggtcaattct gtaattgaga aaatgaacac tcaattcaca 2220
 gctgtgggca aagagttcaa caaattggaa agaaggatgg aaaacttaaa taaaaaagtt 2280
 gatgatgggt ttatagacat ttggacatat aatgcagaat tgttggttct actggaaaat 2340
 gaaaggactt tggatttcca tgactccaat gtgaagaatc tgtatgagaa agtaaaaagc 2400
 caattaaaga ataatgccaa agaaatagga aatgggtgtt ttgagttcta tcataagtgt 2460
 aacgatgaat gcatggagag tgtaaaaaat ggaacttatg actatccaaa atattccgaa 2520
 gaatcaaagt taaacaggga gaaaattgat ggagtgaat tggaatcaat gggagtctat 2580
 cagattctgg cgatctactc aacagtcgcc agttctctgg ttcttttggt ctccctgggg 2640
 gcaatcagct tctggatgtg ttccaatggg tctttgcagt gtagaatatg catctgagag 2700
 ctctaagtta aaatgcttct tcgtctccta ttataatat ggtttgttat tgttaatttt 2760
 gttctttag aagagcttaa ttaatcgttg ttgttatgaa atactatttg tatgagatga 2820
 actggtgtaa tgtaattcat ttacataagt ggagtcagaa tcagaatgtt tcctccataa 2880
 ctaactagac atgaagacct gccgcgtaca attgtcttat atttgaacaa ctaaaattga 2940
 acatcttttg ccacaacttt ataagtgggt aatatagctc aaatatatgg tcaagttcaa 3000
 tagattaata atggaaatat cagttatcga aattcattaa caatcaactt aacgttatta 3060
 actactaatt ttatatcatc ccctttgata aatgatagta ca 3102

<210> 64

<211> 3093

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> H2 de A/Singapur/1/57 (H2N2) (Constructo # 780)

<400> 64

agaggtaccc	cgggctggta	tatttatatg	ttgtcaaata	actcaaaaac	cataaaagtt	60
taagttagca	agtgtgtaca	tttttacttg	aacaaaaata	ttcacctact	actgttataa	120
atcattatta	aacattagag	taaagaaata	tggatgataa	gaacaagagt	agtgatattt	180
tgacaacaat	tttgttgcaa	catttgagaa	aattttgttg	ttctctcttt	tcattgggtca	240
aaaacaatag	agagagaaaa	aggaagaggg	agaataaaaa	cataatgtga	gtatgagaga	300
gaaagttgta	caaaagttgt	acaaaaatag	ttgtacaaat	atcattgagg	aatttgacaa	360
aagctacaca	aataagggtt	aattgctgta	aataaataag	gatgacgcat	tagagagatg	420
taccattaga	gaatttttgg	caagtcatta	aaaagaaaga	ataaattatt	tttaaaatta	480
aaagttgagt	catttgatta	aacatgtgat	tatttaatga	attgatgaaa	gagttggatt	540
aaagttgtat	tagtaattag	aatttggtgt	caaatttaat	ttgacatttg	atcttttcct	600
atatattgcc	ccatagagtc	agttaactca	tttttatatt	tcatagatca	aataagagaa	660
ataacggtat	attaatccct	ccaaaaaaaa	aaaacggtat	atttactaaa	aatctaagc	720
cacgtaggag	gataacagga	tccccgtagg	aggataacat	ccaatccaac	caatcacaac	780
aatcctgatg	agataaccca	ctttaagccc	acgcatctgt	ggcacatcta	cattatctaa	840
atcacacatt	cttccacaca	tctgagccac	acaaaaacca	atccacatct	ttatcaccca	900
ttctataaaa	aatcacactt	tgtgagtcta	cactttgatt	cccttcaaac	acatacaaag	960
agaagagact	aattaattaa	ttaatcatct	tgagagaaaa	tggccatcat	ttatctaatt	1020
ctcctgttca	cagcagtgag	aggggaccaa	atatgcattg	gataccatgc	caataattcc	1080
acagagaagg	tcgacacaat	tctagagcgg	aacgtcactg	tgactcatgc	caaggacatt	1140
cttgagaaga	cccataacgg	aaagttatgc	aaactaaacg	gaatccctcc	acttgaacta	1200
ggggactgta	gcattgccgg	atggctcctt	ggaaatccag	aatgtgatag	gcttctaagt	1260
gtgccagaat	ggtcctatat	aatggagaaa	gaaaacccga	gagacgggtt	gtgttatcca	1320
ggcagcttca	atgattatga	agaattgaaa	catctcctca	gcagcgtgaa	acatttcgag	1380
aaagtaaaga	ttctgcccga	agatagatgg	acacagcata	caacaactgg	aggttcacgg	1440
gcctgcgcgg	tgtctggtaa	tccatcattc	ttcaggaaca	tggctctggct	gacaaagaaa	1500
gaatcaaatt	atccggttgc	caaaggatcg	tacaacaata	caagcggaga	acaaatgcta	1560
ataatttggg	gggtgcacca	tcccaatgat	gagacagaac	aaagaacatt	gtaccagaat	1620
gtgggaacct	atgtttccgt	aggcacatca	acattgaaca	aaaggtcaac	cccagacata	1680
gcaacaaggc	ctaaagtgaa	tggactagga	agtagaatgg	agttctcttg	gaccctattg	1740

gatatgtggg	acaccataaa	ttttgagagt	actggtaatc	taattgcacc	agagtatgga	1800
ttcaaaatat	cgaaaagagg	tagttcaggg	atcatgaaaa	cagaaggaac	acttgagaac	1860
tgtgagacca	aatgccaaac	tcctttggga	gcaataaata	caacattgcc	ttttcacaat	1920
gtccaccac	tgacaatagg	tgagtgcccc	aaatatgtaa	aatcggagaa	gttgggtctta	1980
gcaacaggac	taaggaatgt	tccccagatt	gaatcaagag	gattgtttgg	ggcaatagct	2040
ggttttatag	aaggaggatg	gcaaggaatg	gttgatgggt	ggtatggata	ccatcacagc	2100
aatgaccagg	gatcagggta	tgcagcagac	aaagaatcca	ctcaaaaggc	atttgatgga	2160
atcaccaaca	aggtaaattc	tgtgattgaa	aagatgaaca	ccaatttga	agctgttggg	2220
aaagagttca	gtaacttaga	gagaagactg	gagaacttga	acaaaaagat	ggaagacggg	2280
tttctagatg	tgtggacata	caatgctgag	cttctagttc	tgatggaaaa	tgagaggaca	2340
cttgactttc	atgattctaa	tgtcaagaat	ctgtatgata	aagtcagaat	gcagctgaga	2400
gacaacgtca	aagaactagg	aaatggatgt	tttgaatttt	atcacaaatg	tgatgatgaa	2460
tgcatgaata	gtgtgaaaaa	cgggacgtat	gattatccca	agtatgaaga	agagtctaaa	2520
ctaaatagaa	atgaaatcaa	aggggtaaaa	ttgagcagca	tgggggttta	tcaaactcctt	2580
gccatttatg	ctacagtagc	aggttctctg	tactggcaa	tcatgatggc	tgggatctct	2640
ttctggatgt	gctccaacgg	gtctctgcag	tgcaggatct	gcatatgaga	gctctaagtt	2700
aaaatgcttc	ttcgtctcct	atttataata	tggtttgtta	ttgttaattt	tggtcttgta	2760
gaagagctta	attaatcggt	gttgttatga	aatactatct	gtatgagatg	aactggtgta	2820
atgtaattca	tttacataag	tgaggtcaga	atcagaatgt	ttcctccata	actaactaga	2880
catgaagacc	tgccgcgtac	aattgtctta	tatttgaaca	actaaaattg	aacatctttt	2940
gccacaactt	tataagtggg	taatatagct	caaatatatg	gtcaagttca	atagattaat	3000
aatggaaata	tcagttatcg	aaattcatta	acaatcaact	taacgttatt	aactactaat	3060
tttatatcat	cccctttgat	aatgatagt	aca			3093

<210> 65

<211> 3108

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> H5 de A/Anhui/1/2005 (H5N1) (Constructo # 781)

<400> 65

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

aaaacaatag	agagagaaaa	aggaagaggg	agaataaaaa	cataatgtga	gtatgagaga	300
gaaagttgta	caaaagttgt	acccaaatag	ttgtacaaat	atcattgagg	aatttgacaa	360
aagctacaca	aataagggtt	aattgctgta	aataaataag	gatgacgcat	tagagagatg	420
taccattaga	gaatttttgg	caagtcatta	aaaagaaaga	ataaattatt	tttaaaatta	480
aaagttgagt	catttgatta	aacatgtgat	tatttaatga	attgatgaaa	gagttggatt	540
aaagttgtat	tagtaattag	aatttggtgt	caaatttaat	ttgacatttg	atcttttcct	600
atatattgcc	ccatagagtc	agttaactca	tttttatatt	tcatagatca	aataagagaa	660
ataacggtat	attaatccct	ccaaaaaaa	aaaacggtat	atttactaaa	aatctaagc	720
cacgtaggag	gataacagga	tccccgtagg	aggataacat	ccaatccaac	caatcacaac	780
aatcctgatg	agataaccca	ctttaagccc	acgcatctgt	ggcacatcta	cattatctaa	840
atcacacatt	cttccacaca	tctgagccac	acaaaaacca	atccacatct	ttatcaccca	900
ttctataaaa	aatcacactt	tgtgagtcta	cactttgatt	cccttcaaac	acatacaaag	960
agaagagact	aattaattaa	ttaatcatct	tgagagaaaa	tggagaaaat	agtgttctt	1020
cttgcaatag	tcagccttgt	taaaagtgat	cagatttgca	ttggttacca	tgcaaacaac	1080
tgcacagagc	aggttgacac	aataatggaa	aagaacgtta	ctgttacaca	tgcccaagac	1140
atactggaaa	agacacacaa	cggaagctc	tgcgatctag	atggagtgaa	gcctctgatt	1200
ttaagagatt	gtagtgtagc	tggatggctc	ctcgaaacc	caatgtgtga	cgagttcatc	1260
aatgtgccgg	aatggtctta	catagtggag	aaggccaacc	cagccaatga	cctctgttac	1320
ccaggaatt	tcaacgacta	tgaagaactg	aaacacctat	tgagcagaat	aaaccatttt	1380
gagaaaattc	agatcatccc	caaaagttct	tggtccgatc	atgaagcctc	atcaggggtc	1440
agctcagcat	gtccatacca	gggaacgccc	tcctttttca	gaaatgtggt	atggcttatac	1500
aaaaagaaca	atacatccc	aacaataaag	agaagctaca	ataataccaa	ccaggaagat	1560
cttttgatac	tgtgggggat	tcatcattct	aatgatgcgg	cagagcagac	aaagctctat	1620
caaaacccaa	ccacctatat	ttccgttggg	acatcaacac	taaaccagag	attggtacca	1680
aaaatagcta	ctagatccaa	agtaaacggg	caaagtggaa	ggatggattt	cttctggaca	1740
attttaaaac	cgaatgatgc	aatcaacttc	gagagtaatg	gaaatttcat	tgctccagaa	1800
tatgcataca	aaattgtcaa	gaaaggggac	tcagcaattg	ttaaaagtga	agtggaatat	1860
ggtaactgca	atacaaagtg	tcaaaactcca	ataggggcga	taaactctag	tatgccattc	1920
cacaacatac	accctctcac	catcggggaa	tgccccaat	atgtgaaatc	aaacaaatta	1980
gtccttgcca	ctgggctcag	aaatagtcct	ctaagagaaa	gaagaagaaa	aagaggacta	2040
tttgagacta	tagcagggtt	tatagaggga	ggatggcagg	gaatggtaga	tggttggtat	2100
gggtaccacc	atagcaatga	gcaggggagt	gggtacgctg	cagacaaaga	atccactcaa	2160
aaggcaatag	atggagtcac	caataaggtc	aactcgatca	ttgacaaaat	gaacactcag	2220

```

tttgaggccg ttggaagga atttaataac ttagaaagga gaatagagaa tttaaacaag 2280
aaaatggaag acggattcct agatgtctgg acttataatg ctgaacttct ggttctcatg 2340
gaaaatgaga gaactctaga cttccatgat tcaaagtca agaaccttta cgacaaggtc 2400
cgactacagc ttagggataa tgcaaaggag ctgggtaacg gttgtttcga gttctatcac 2460
aaatgtgata atgaatgtat ggaaagtga agaaacggaa cgtatgacta cccgcagtat 2520
tcagaagaag caagattaaa aagagaggaa ataagtggag taaaattgga atcaatagga 2580
acttaccaa tactgtcaat ttattcaaca gttgcgagtt ctctagcact ggcaatcatg 2640
gtggctggtc tatctttgtg gatgtgctcc aatgggtcgt tacaatgcag aatttgcatt 2700
taagagctct aagttaaaat gcttcttcgt ctctatttta taatatggtt tgttattggt 2760
aattttgttc ttgtagaaga gcttaattaa tcgttggtgt tatgaaatac tatttgtatg 2820
agatgaactg gtgtaatgta attcatttac ataagtggag tcagaatcag aatgtttcct 2880
ccataactaa ctagacatga agacctgccg cgtacaattg tcttatattt gaacaactaa 2940
aattgaacat cttttgccac aactttataa gtggttaata tagctcaa atatggtcaa 3000
gttcaataga ttaataatgg aaatatcagt tatcgaaatt cattaacaat caacttaacg 3060
ttattaacta ctaattttat atcatcccct ttgataaatg atagtaca 3108

```

<210> 66

<211> 3111

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> H5 de A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) (Constructo # 782)

<400> 66

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

cacgtaggag	gataacagga	tccccgtagg	aggataacat	ccaatccaac	caatcacaaac	780
aatcctgatg	agataaccca	ctttaagccc	acgcatctgt	ggcacatcta	cattatctaa	840
atcacacatt	cttccacaca	tctgagccac	acaaaaacca	atccacatct	ttatcaccca	900
ttctataaaa	aatcacactt	tgtgagtcta	cactttgatt	cccttcaaac	acatacaaag	960
agaagagact	aattaattaa	ttaatcatct	tgagagaaaa	tggagaaaat	agtgcttctt	1020
tttgcaatag	tcagtcttgt	taaaagtgat	cagatttgca	ttggttacca	tgcaaaacaac	1080
tcgacagagc	aggttgacac	aataatggaa	aagaacgtta	ctggttacaca	tgcccaagac	1140
atactggaaa	agacacacaa	tggaagctc	tcgcatctag	atggagtga	gcctctaatt	1200
ttgagagatt	gtagtgtagc	tggtggctc	ctcggaaacc	caatgtgtga	cgagttcatc	1260
aatgtgccgg	aatggtctta	catagtggag	aaggccaatc	cagtcaatga	cctctgttac	1320
ccaggggatt	tcaatgacta	tgaagaattg	aaacacctat	tgagcagaat	aaaccatttt	1380
gagaaaattc	agatcatccc	caaaagttct	tggtccagtc	atgaagcctc	attggggggtc	1440
agctcagcat	gtccatacca	gggaaagtcc	tcctttttca	gaaatgtggt	atggcttatc	1500
aaaaagaaca	gtacataccc	aacaataaag	aggagctaca	ataataccaa	ccaagaagat	1560
cttttggtac	tgtgggggat	tcaccatcct	aatgatgcgg	cagagcagac	aaagctctat	1620
caaaacccaa	ccacctatat	ttccgttggg	acatctacac	taaaccagag	attggtacca	1680
agaatagcta	ctagatccaa	agtaaacggg	caaagtggaa	ggatggagtt	cttctggaca	1740
atttttaaac	cgaatgatgc	aatcaacttc	gagagtaatg	gaaatttcat	tgctccagaa	1800
tatgcataca	aaattgtcaa	gaaaggggac	tcaacaatta	tgaaaagtga	attggaatat	1860
ggtaactgca	ataccaagtg	tcaaactcca	atgggggcga	taaactctag	catgccattc	1920
cacaatatac	accctctcac	catcggggaa	tgccccaat	atgtgaaatc	aaacagatta	1980
gtccttgcca	ctgggctcag	aaatagccct	caaagagaga	gaagaagaaa	aaagagagga	2040
ttatttgagg	ctatagcagg	ttttatagag	ggaggatggc	agggaatggt	agatggttgg	2100
tatgggtacc	accatagcaa	cgagcagggg	agtgggtacg	ctgcagacaa	agaatccact	2160
caaaaggcaa	tagatggagt	caccaataag	gtcaactcga	ttattgacaa	aatgaacact	2220
cagtttgagg	ccgttggaag	ggaatttaac	aacttagaaa	ggagaataga	gaatttaaac	2280
aagaagatgg	aagacgggtt	cctagatgtc	tggacttata	atgctgaact	tctagttctc	2340
atggaaaacg	agagaactct	agactttcat	gactcaaatg	tcaagaacct	ttacgacaag	2400
gtccgactac	agcttaggga	taatgcaaag	gagctgggta	acggttgttt	cgagttctat	2460
cataaatgtg	ataatgaatg	tatggaaagt	gtaagaaacg	gaacgtatga	ctacccgcag	2520
tattcagaag	aagcaagact	aaaaagagag	gaaataagtg	gagtaaaatt	ggaatcaata	2580
ggaatttacc	aaatattgtc	aattttattct	acagtggcca	gctccctagc	actggcaatc	2640
atggtagctg	gtctatcctt	atggatgtgc	tccaatgggt	cgttacaatg	cagaatttgc	2700

```

atttaagagc tctaagttaa aatgcttctt cgtctcctat ttataatatg gtttgttatt 2760
gttaatttttg ttcttgtaga agagcttaat taatcgttgt tgttatgaaa tactatttgt 2820
atgagatgaa ctggtgtaat gtaattcatt tacataagtg gagtcagaat cagaatgttt 2880
cctccataac taactagaca tgaagacctg ccgcgtacaa ttgtcttata tttgaacaac 2940
taaaattgaa catcttttgc cacaacttta taagtgggta atatagtctca aatatatggg 3000
caagttcaat agattaataa tggaaatatc agttatcgaa attcattaac aatcaactta 3060
acgttattaa ctactaattt tatatcatcc cctttgataa atgatatgtac a 3111

```

<210> 67

<211> 3105

<212> ADN

5 <213> Artificial

<220>

<223> H6 de A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1) (Constructo # 783)

<400> 67

agaggtaccc	cgggctggta	tatttatatg	ttgtcaaata	actcaaaaac	cataaaagtt	60
taagtttagca	agtgtgtaca	tttttacttg	aacaaaaata	ttcacctact	actgttataa	120
atcattatta	aacattagag	taaagaaata	tggatgataa	gaacaagagt	agtgatat	180
tgacaacaat	tttgttgcaa	catttgagaa	aattttgttg	ttctctcttt	tcattgggtca	240
aaaacaatag	agagagaaaa	aggaagaggg	agaataaaaa	cataatgtga	gtatgagaga	300
gaaagttgta	caaaagttgt	acaaaaatag	ttgtacaaat	atcattgagg	aatttgacaa	360
aagctacaca	aataagggtt	aattgctgta	aataaataag	gatgacgcat	tagagagatg	420
taccattaga	gaatttttgg	caagtcatta	aaaagaaaga	ataaattatt	tttaaaatta	480
aaagttgagt	catttgatta	aacatgtgat	tatttaatga	attgatgaaa	gagttggatt	540
aaagttgtat	tagtaattag	aatttggtgt	caaatttaat	ttgacatttg	atcttttcct	600
atatattgcc	ccatagagtc	agttaactca	tttttatatt	tcatagatca	aataagagaa	660
ataacggtat	attaatccct	ccaaaaaaa	aaaacggtat	atttactaaa	aaatctaagc	720
cacgtaggag	gataacagga	tccccgtagg	aggataacat	ccaatccaac	caatcacac	780
aatcctgatg	agataaccca	ctttaagccc	acgcatctgt	ggcacatcta	cattatctaa	840
atcacacatt	cttcacacac	tctgagccac	acaaaaacca	atccacatct	ttatcaccca	900
ttctataaaa	aatcacactt	tgtgagtcta	cactttgatt	cccttcaaac	acatacaaag	960
agaagagact	aattaattaa	ttaatcatct	tgagagaaaa	tgattgcaat	cattgtaata	1020
gcaatactgg	cagcagccgg	aaagtcagac	aagatctgca	ttgggtatca	tgccaacaat	1080
tcaacaacac	aggtagatac	gatacttgag	aagaatgtga	ctgtcacaca	ctcaattgaa	1140
ttgctggaaa	atcagaagga	agaaagattc	tgcaagatat	tgaacaaggc	ccctctcgac	1200

ttaagggaat gtaccataga gggttggatc ttggggaatc cccaatgcga cctattgctt	1260
ggtgatcaaa gctggtcata cattgtggaa agacctactg ctcaaaacgg gatctgctac	1320
ccaggaacct taaatgaggt agaagaactg agggcactta ttggatcagg agaaagggta	1380
gagagatttg agatgtttcc ccaaagcacc tggcaaggag ttgacaccaa cagtggaaca	1440
acaagatcct gcccttattc tactgggtgcg tctttctaca gaaacctcct atggataata	1500
aaaaccaaga cagcagaata tccagtaatt aagggaattt acaacaacac tggaaccag	1560
ccaatcctct atttctgggg tgtgcatcat cctcctaaca ccgacgagca agatactctg	1620
tatggctctg gtgatcgata cgtagaatg ggaactgaaa gcatgaattt tgccaagagt	1680
ccggaaattg cggcaaggcc tgctgtgaat ggacaaagag gcagaattga ttattattgg	1740
tcggttttaa aaccagggga aaccttgaat gtggaatcta atggaaatct aatcgcccct	1800
tggtatgcat acaaatttgt caacacaaat agtaaaggag ccgtcttcag gtcagattta	1860
ccaatcgaga actgcgatgc cacatgccag actattgcag gggttctaag gaccaataaa	1920
acatttcaga atgtgagtcc cctgtggata ggagaatgtc ccaaatacgt gaaaagtga	1980
agtctgaggc ttgcaactgg actaagaaat gttccacaga ttgaaactag aggactcttc	2040
ggagctattg cagggtttat tgaaggagga tggactggga tgatagatgg gtggtatggc	2100
tatcaccatg aaaattctca agggtcagga tatgcagcag acagagaaag cactcaaaag	2160
gctgtaaaca gaattacaaa taaggtaaat tccatcatca acaaaatgaa cacacaattt	2220
gaagctgtcg atcacgaatt ttcaaactct gagaggagaa ttgacaatct gaacaaaaga	2280
atgcaagatg gatttctgga tgtttggaca tacaatgctg aactgttggt tcttcttgaa	2340
aacgaaagaa cactagacat gcatgacgca aatgtgaaga acctacatga aaaggcctaaa	2400
tcacaactaa gggacaatgc tacgatctta gggaaatggtt gctttgaatt ttggcataag	2460
tgtgacaatg aatgcataga gtctgtcaaa aatggtacat atgactatcc caaataccag	2520
actgaaagca aattaaacag gctaaaaata gaatcagtaa agctagagaa ccttgggtgtg	2580
tatcaaattc ttgccattta tagtacggta tcgagcagcc tagtgttggt agggctgatc	2640
atggcaatgg gtctttggat gtgttcaaat ggttcaatgc agtgcaggat atgtatataa	2700
gagctctaag ttaaaatgct tcttcgtctc ctattttataa tatggtttgt tattgttaat	2760
tttgttcttg tagaagagct taattaatcg ttgttggtat gaaatactat ttgtatgaga	2820
tgaactggtg taatgtaatt catttacata agtggagtca gaatcagaat gtttcctcca	2880
taactaacta gacatgaaga cctgccgcgt acaattgtct tatatttgaa caactaaaat	2940
tgaacatctt ttgccacaac tttataagtg gttaatatag ctcaaataa tggcgaagtt	3000
caatagatta ataatggaaa tatcagttat cgaaattcat taacaatcaa cttaacgtta	3060
ttaactacta attttatatc atcccctttg ataaatgata gtaca	3105

<210> 68

<211> 3087

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> H9 de A/Hong Kong/1073/99 (H9N2) (Constructo # 785)

<400> 68

agaggtaccc	cgggctggta	tatttatatg	ttgtcaaata	actcaaaaac	cataaaagtt	60
taagtttagca	agtgtgtaca	tttttacttg	aacaaaaata	ttcacctact	actgttataa	120
atcattatta	aacattagag	taaagaaata	tggatgataa	gaacaagagt	agtgatat	180
tgacaacaat	tttggtgcaa	catttgagaa	aattttgttg	ttctctcttt	tcattggtca	240
aaaacaatag	agagagaaaa	aggaagaggg	agaataaaaa	cataatgtga	gtatgagaga	300
gaaagttgta	caaaagttgt	acaaaaatag	ttgtacaaat	atcattgagg	aatttgacaa	360
aagctacaca	aataaggggt	aattgctgta	aataaataag	gatgacgcat	tagagagatg	420
taccattaga	gaatttttgg	caagtcatta	aaaagaaaga	ataaattatt	tttaaaatta	480
aaagttgagt	catttgatta	aacatgtgat	tatttaatga	attgatgaaa	gagttggatt	540
aaagttgtat	tagtaattag	aatttggtgt	caaatttaat	ttgacatttg	atcttttcct	600
atatattgcc	ccatagagtc	agttaactca	tttttatatt	tcatagatca	aataagagaa	660
ataacggtat	attaatccct	ccaaaaaaa	aaaacggtat	atttactaaa	aatctaagc	720
cacgtaggag	gataacagga	tccccgtagg	aggataacat	ccaatccaac	caatcacaac	780
aatcctgatg	agataaccca	ctttaagccc	acgcatctgt	ggcacatcta	cattatctaa	840
atcacacatt	cttcacacac	tctgagccac	acaaaaacca	atccacatct	ttatcaccca	900
ttctataaaa	aatcacactt	tgtgagtcta	cactttgatt	cccttcaaac	acatacaaag	960
agaagagact	aattaattaa	ttaatcatct	tgagagaaaa	tggaacaat	atcactaata	1020
actatactac	tagtagtaac	agcaagcaat	gcagataaaa	tctgcatcgg	ccaccagtca	1080
acaaactcca	cagaaactgt	ggacacgcta	acagaaacca	atgttcctgt	gacacatgcc	1140
aaagaattgc	tccacacaga	gcataatgga	atgctgtgtg	caacaagcct	gggacatccc	1200
ctcattctag	acacatgcac	tattgaagga	ctagtctatg	gcaacccttc	ttgtgacctg	1260
ctgttgggag	gaagagaatg	gtcctacatc	gtcgaaagat	catcagctgt	aatggaacg	1320
tgttaccctg	ggaatgtaga	aaacctagag	gaactcagga	cacttttttag	ttccgctagt	1380
tcctaccaa	gaatccaaat	cttcccagac	acaacctgga	atgtgactta	cactggaaca	1440
agcagagcat	gttcaggttc	attctacagg	agtatgagat	ggctgactca	aaagagcgg	1500
ttttaccctg	ttcaagacgc	ccaatacaca	aataacaggg	gaaagagcat	tcttttcgtg	1560
tggggcatac	atcaccacc	cacctatacc	gagcaaacaa	atttgtacat	aagaaacgac	1620
acaacaacaa	gcgtgacaac	agaagatttg	aataggacct	tcaaaccagt	gatagggcca	1680

```

aggccccttg tcaatggtct gcagggaaga attgattatt attggtcggg actaaaacca 1740
ggccaaacat tgcgagtacg atccaatggg aatctaattg ctccatggta tggacacggt 1800
ctttcaggag ggagccatgg aagaatcctg aagactgatt taaaaggtgg taattgtgta 1860
gtgcaatgtc agactgaaaa aggtggctta aacagtacat tgccattcca caatatcagt 1920
aaatatgcat ttggaacctg ccccaaatat gtaagagtta atagtctcaa actggcagtc 1980
ggtctgagga acgtgcctgc tagatcaagt agaggactat ttggagccat agctggattc 2040
atagaaggag gttggccagg actagtcgct ggctgggtatg gtttccagca ttcaaatgat 2100
caaggggttg gtatggctgc agatagggat tcaactcaaa aggcaattga taaaataaca 2160
tccaaggtga ataatatagt cgacaagatg aacaagcaat atgaaataat tgatcatgaa 2220
tttagtgagg ttgaaactag actcaatatg atcaataata agattgatga ccaaatacaa 2280
gacgtatggg catataatgc agaattgcta gtactacttg aaaatcaaaa aacactcgat 2340
gagcatgatg cgaacgtgaa caatctatat aacaaggtga agagggcact gggctccaat 2400
gctatggaag atgggaaagg ctgtttcgag ctataccata aatgtgatga tcagtgcagt 2460
gaaacaattc ggaacgggac ctataatagg agaaagtata gagaggaatc aagactagaa 2520
aggcagaaaa tagaggggggt taagctggaa tctgagggaa cttacaaaat cctcaccatt 2580
tattcgactg tcgcctcatc tcttgtgctt gcaatgggggt ttgctgcctt cctgttctgg 2640
gccatgtcca atggatcttg cagatgcaac atttgtatat aagagctcta agttaaaatg 2700
cttcttcgtc tcctatttat aatatgggtt gttattgtta attttgttct tgtagaagag 2760
cttaattaat cgttgttggt atgaaatact atttgtatga gatgaactgg tgtaatgtaa 2820
ttcatttaca taagtggagt cagaatcaga atgtttcctc cataactaac tagacatgaa 2880
gacctgccgc gtacaattgt cttatatattg aacaactaaa attgaacatc ttttgcaca 2940
actttataag tggttaatat agctcaaata tatgggtcaag ttcaatagat taataatgga 3000
aatatcagtt atcgaaattc attaacaatc aacttaacgt tattaactac taattttata 3060
tcatcccctt tgataaatga tagtaca 3087

```

<210> 69

<211> 3105

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> H3 de A/Brisbane/10/2007 (H3N2)

<400> 69

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

aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga	300
gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa	360
aagctacaca aataaggggtt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg	420
taccattaga gaatTTTTGG caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta	480
aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaatga attgatgaaa gagttggatt	540
aaagttgtat tagtaattag aatttgggtgt caaatttaaat ttgacatttg atcttttctt	600
atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa	660
ataacggtat attaatccct ccaaaaaaaaa aaaacggtat atttactaaa aaatctaagc	720
cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacaac	780
aatcctgatg agataaccca ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa	840
atcacacatt ctccacaca tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca	900
ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag	960
agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tgaagactat cattgctttg	1020
agctacattc tatgtctggt tttcactcaa aaacttcccg gaaatgacaa cagcacggca	1080
acgtgtgcc ttgggcacca tgcagtacca aacggaacga tagtgaaaac aatcacgaat	1140
gaccaaattg aagttactaa tgctactgag ctgggtcaga gttcctcaac aggtgaaata	1200
tgcgacagtc ctcatcagat ccttgatgga gaaaactgca cactaataga tgctctattg	1260
ggagaccctc agtgtgatgg ctccaaaat aagaaatggg acctttttgt tgaacgcagc	1320
aaagcctaca gcaactgtta cccttatgat gtgccggatt atgcctccct taggtcacta	1380
gttgccatcat ccggcacact ggagtttaac aatgaaagtt tcaattggac tggagtcaat	1440
caaaacggaa caagctctgc ttgcataagg agatctaata acagtttctt tagtagattg	1500
aattggttga cccacttaaa attcaaatac ccagcattga acgtgactat gccaaacaat	1560
gaaaaatttg acaaattgta catttggggg gttcaccacc cgggtacgga caatgaccaa	1620
atcttcctgt atgctcaagc atcaggaaga atcacagtct ctaccaaag aagccaacaa	1680
actgtaatcc cgaatatcgg atctagacct agagtaagga atatccccag cagaataagc	1740
atctattgga caatagtaaa accgggagac atacttttga ttaacagcac aggggaatcta	1800
attgctccta ggggttactt caaaatacga agtgggaaaa gctcaataat gagatcagat	1860
gcaccattg gcaaatgcaa ttctgaatgc atcactccaa acggaagcat tcccaatgac	1920
aaaccattcc aaaatgtaaa caggatcaca tacggggcct gtcccagata tgттаagcaa	1980
aacactctga aattggcaac agggatgcga aatgtaccag agaaacaaac tagaggcata	2040
tttggcgcaa tcgcggttt catagaaaat ggttgggagg gaatggtgga tggttggtat	2100
ggtttcaggc atcaaaattc tgagggaata ggacaagcag cagatctcaa aagcactcaa	2160

gcagcaatcg atcaaatcaa tgggaagctg aatagggtga tcgggaaaac caacgagaaa 2220
 ttccatcaga ttgaaaaaga gttctcagaa gtcgaaggga gaatccagga ccttgagaaa 2280
 tatgttgagg acacccaaat agatctctgg tcatacaacg cggagcttct tgttgccctg 2340
 gagaaccaac atacaattga tctaactgac tcagaaatga acaaactggt tgaaaaaaca 2400
 aagaagcaac tgagggaaaa tgctgaggat atgggcaatg gttgtttcaa aatataccac 2460
 aaatgtgaca atgcctgcat aggatcaatc agaaatggaa cttatgacca cgatgtatac 2520
 agagatgaag cattaacaaa ccggttccag atcaagggcg ttgagctgaa gtcaggatac 2580
 aaagattgga tactatggat ttcctttgcc atatcatggt ttttgctttg tgttgctttg 2640
 ttggggttca tcatgtgggc ctgccaaaaa ggcaacatta ggtgcaacat ttgcatttga 2700
 gagctctaag ttaaaatgct tcttcgtctc ctatttataa tatggtttgt tattgttaat 2760
 tttgttcttg tagaagagct taattaatcg ttgttggtat gaaatactat ttgtatgaga 2820
 tgaactggtg taatgtaatt catttacata agtggagtca gaatcagaat gtttcctcca 2880
 taactaacta gacatgaaga cctgccgcgt acaattgtct tatatttgaa caactaaaat 2940
 tgaacatctt ttgccacaac tttataagtg gttaatatag ctcaaatata tgggtcaagtt 3000
 caatagatta ataatggaaa tatcagttat cgaaattcat taacaatcaa cttaacgtta 3060
 ttaactacta attttatatc atcccctttg ataaatgata gtaca 3105

<210> 70

<211> 3105

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> H3 de A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)

<400> 70

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

cacgtaggag	gataacagga	tccccgtagg	aggataacat	ccaatccaac	caatcacaaac	780
aatcctgatg	agataaccca	ctttaagccc	acgcatctgt	ggcacatcta	cattatctaa	840
atcacacatt	cttccacaca	tctgagccac	acaaaaacca	atccacatct	ttatcaccca	900
ttctataaaa	aatcacactt	tgtgagtcta	cactttgatt	cccttcaaac	acatacaaag	960
agaagagact	aattaattaa	ttaatcatct	tgagagaaaa	tgaagactat	catttgctttg	1020
agctacattc	tatgtctggg	tttcaactca	aaacttcccc	gaaatgacaa	cagcacggca	1080
acgctgtgcc	ttgggcacca	tgcagtacca	aacggaacga	tagtgaaaac	aatcacgaat	1140
gaccaaattg	aagttactaa	tgctactgag	ctgggttcaga	gttcctcaac	aggtggaata	1200
tgcgacagtc	ctcatcagat	ccttgatgga	gaaaactgca	cactaataga	tgctctattg	1260
ggagaccctc	agtgtgatgg	cttccaaaat	aagaaatggg	acctttttgt	tgaacgcagc	1320
aaagcctaca	gcaactgtta	cccttatgat	gtgccggatt	atgcctccct	taggtcacta	1380
gttgccctcat	ccggcacact	ggagtttaac	gatgaaagtt	tcaattggac	tggagtcact	1440
caaaatggaa	caagctctgc	ttgcaaaagg	agatctaata	acagtttctt	tagtagattg	1500
aattggttga	cccacttaaa	attcaaatac	ccagcattga	acgtgactat	gcaaacaat	1560
gaaaaatttg	acaaattgta	catttggggg	gttcaccacc	cgggtacgga	caatgaccaa	1620
atcttcctgc	atgctcaagc	atcaggaaga	atcacagtct	ctaccaaaaag	aagccaacaa	1680
actgtaatcc	cgaatatcgg	atctagaccc	agaataagga	atatccccag	cagaataagc	1740
atctattgga	caatagtaaa	accgggagac	atacttttga	ttaacagcac	agggaatcta	1800
attgctccta	ggggttactt	caaaatacga	agtgggaaaa	gctcaataat	gagatcagat	1860
gcaccatttg	gcaaatgcaa	ttctgaatgc	atcactccaa	atggaagcat	tcccaatgac	1920
aaaccatttc	aaaatgtaaa	caggatcaca	tatggggcct	gtcccagata	tgtaagcaa	1980
aacactctga	aattggcaac	agggatgcga	aatgtaccag	agaaacaaac	tagaggcata	2040
tttggcgcaa	tcgcgggttt	catagaaaat	ggttgggagg	gaatggtgga	tggttggtac	2100
ggtttcaggc	atcaaaattc	tgagggaata	ggacaagcag	cagatctcaa	aagcactcaa	2160
gcagcaatca	atcaaatcaa	tgggaagctg	aataggttga	tcgggaaaac	caacgagaaa	2220
ttccatcaga	ttgaaaaaga	gttctcagaa	gtagaaggga	gaatccagga	cctcgagaaa	2280
tatgttgagg	acactaaaat	agatctctgg	tcatacaacg	cggagcttct	tggtgccctg	2340
gagaaccaac	atacaattga	tctaactgac	tcagaaatga	acaaactgtt	tgaaagaaca	2400
aagaagcaac	tgagggaaaa	tgctgaggat	atgggcaatg	gttgtttcaa	aatataccac	2460
aaatgtgaca	atgcctgcat	aggatcaatc	agaaatggaa	cttatgacca	tgatgtatac	2520
agagatgaag	cattaacaa	ccggttccag	atcaaaggcg	ttgagctgaa	gtcaggatac	2580
aaagattgga	tactatggat	ttcctttgcc	atatcatgtt	ttttgctttg	tggttgctttg	2640

ttgggggttca tcatgtgggc ctgccaaaaa ggcaacatta ggtgcaacat ttgcatttga	2700
gagctctaag ttaaaatgct tcttcgtctc ctatttataa tatgggttgt tattgttaat	2760
tttgttcttg tagaagagct taattaatcg ttgttggtat gaaatactat ttgtatgaga	2820
tgaactggtg taatgtaatt catttacata agtggagtca gaatcagaat gtttcctcca	2880
taactaacta gacatgaaga cctgccgcgt acaattgtct tatatttgaa caactaaaat	2940
tgaacatctt ttgccacaac ttataagtgt gttaatatag ctcaaatata tgggtcaagtt	3000
caatagatta ataatggaaa tatcagttat cgaaattcat taacaatcaa cttaacgtta	3060
ttaactacta attttatatc atcccctttg ataaatgata gtaca	3105

<210> 71

<211> 3117

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> H7 de A/Equino/Praga/56 (H7N7)

<400> 71

agaggtaccc	cgggctggta	tatttatatg	ttgtcaaata	actcaaaaac	cataaaagtt	60
taagtttagca	agtgtgtaca	tttttacttg	aacaaaaata	ttcacctact	actgttataa	120
atcattatta	aacattagag	taaagaaata	tggatgataa	gaacaagagt	agtgatat	180
tgacaacaat	tttgttgcaa	catttgagaa	aattttgttg	ttctctcttt	tcattgggtca	240
aaaacaatag	agagagaaaa	aggaagaggg	agaataaaaa	cataatgtga	gtatgagaga	300
gaaagttgta	caaaagttgt	acaaaaatag	ttgtacaaat	atcattgagg	aatttgacaa	360
aagctacaca	aataagggtt	aattgctgta	aataaataag	gatgacgcat	tagagagatg	420
taccattaga	gaatttttgg	caagtcatta	aaaagaaaga	ataaattatt	tttaaaatta	480
aaagttgagt	catttgatta	aacatgtgat	tatttaatga	attgatgaaa	gagttggatt	540
aaagttgtat	tagtaattag	aatttggtgt	caaatttaat	ttgacatttg	atcttttcct	600
atatattgcc	ccatagagtc	agttaactca	tttttatatt	tcatagatca	aataagagaa	660
ataacggtat	attaatccct	ccaaaaaaa	aaaacggtat	atttactaaa	aatcctaagc	720
cacgtaggag	gataacagga	tccccgtagg	aggataacat	ccaatccaac	caatcacaac	780
aatcctgatg	agataaccca	ctttaagccc	acgcatctgt	ggcacatcta	cattatctaa	840
atcacacatt	cttcacaca	tctgagccac	acaaaaacca	atccacatct	ttatcaccca	900
ttctataaaa	aatcacactt	tgtgagtcta	cactttgatt	cccttcaaac	acatacaaag	960
agaagagact	aattaattaa	ttaatcatct	tgagagaaaa	tgaacactca	aattctaata	1020
ttagccactt	cggcattctt	ctatgtacgt	gcagataaaa	tctgcctagg	acatcatgct	1080
gtgtctaattg	gaaccaaagt	agacaccctt	actgaaaaag	gaatagaagt	tgtcaatgca	1140
acagaaacag	ttgaacaaac	aaacatccct	aagatctgct	caaaaggaaa	acagactggt	1200

gaccttggtc aatgtggatt actagggacc gttattggtc ctccccaatg tgaccaattt	1260
cttgagttct ctgctaattt aatagttgaa agaaggggaag gtaatgacat ttgttatcca	1320
ggcaaatttg acaatgaaga aacattgaga aaaataactca gaaaatccgg aggaattaaa	1380
aaggagaata tgggattcac atataccgga gtgagaacca atggagagac tagcgcatgt	1440
agaaggtcaa gatcttcctt ttatgcagag atgaaatggc ttctatccag cacagacaat	1500
gggacatttc cacaaatgac aaagtctac aagaacacta agaaggtacc agctctgata	1560
atctggggaa tccaccactc aggatcaact actgaacaga ctagattata tggaaagtggg	1620
aataaattga taacagtttg gagttccaaa taccaacaat cttttgtccc aaatcctgga	1680
ccaagaccgc aaatgaatgg tcaatcagga agaattgact ttcactggct gatgctagat	1740
cccaatgata ctgtcacttt cagttttaat ggggccttta tagcacctga ccgcgccagt	1800
tttctaagag gtaaatctct aggaatccaa agtgatgcac aacttgacaa taattgtgaa	1860
ggtgaatgct atcatattgg aggtactata attagcaact tgccctttca aaacattaat	1920
agtagggcaa tcggaaaatg cccagatac gtgaagcaga agagcttaat gctagcaaca	1980
ggaatgaaaa atgttcctga agctcctgca cataaacaac taactcatca catgcgcaaa	2040
aaaagagggt tatttgggtc aatagcagga ttcatgaaa atgggtggga aggattaata	2100
gacggatggt atggatataa gcatcagaat gcacaaggag aagggactgc tgcagactac	2160
aaaagtacac aatctgctat caaccaaata accggaaaat tgaacagact aatagaaaaa	2220
accaaccagc aattcgaact aatagataat gagttcaatg aaatagaaaa acaaattggc	2280
aatgttatta actggactag agattctatc atcgaagtat ggtcatataa tgcagagttc	2340
ctcgtagcag tggagaatca acacactatt gatttaactg actcagaaat gaacaaaacta	2400
tatgaaaagg taagaagaca actgagagaa aatgctgagg aagatggtaa tggctgtttt	2460
gaaatattcc accaatgtga caatgattgc atggccagca ttagaaacaa cacatatgac	2520
cataaaaaat acagaaaaga ggcaatacaa aacagaatcc agattgacgc agtaaagttg	2580
agcagtgggt acaaagatat aatactttgg tttagcttcg gggcatcatg tttcttattt	2640
cttgccattg caatgggtct tgttttcata tgtataaaaa atggaaacat gcggtgcact	2700
atttgtatat aagagctcta agttaaaatg cttcttcgtc tcctatttat aatatggttt	2760
gttattgtta attttgttct tgtagaagag cttaattaat cgttggtgtt atgaaatact	2820
atttgtatga gatgaactgg tgtaatgtaa ttcatthaca taagtggagt cagaatcaga	2880
atgtttcctc cataactaac tagacatgaa gacctgccgc gtacaattgt cttatatattg	2940
aacaactaaa attgaacatc ttttgccaca actttataag tggttaatat agctcaaata	3000
tatggtcaag ttcaatagat taataatgga aatatcagtt atcgaaattc attaacaatc	3060
aacttaacgt tattaactac taattttata tcatcccctt tgataaatga tagtaca	3117

<210> 72

<211> 3162

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> HA de B/Malasia/2506/2004

<400> 72

agaggtaccc	cgggctggta	tatttatatg	ttgtcaaata	actcaaaaac	cataaaagtt	60
taagttagca	agtgtgtaca	tttttacttg	aacaaaaata	ttcacctact	actgttataa	120
atcattatta	aacattagag	taaagaaata	tggatgataa	gaacaagagt	agtgatattt	180
tgacaacaat	tttgttgcaa	catttgagaa	aattttgttg	ttctctcttt	tcattgggtca	240
aaaacaatag	agagagaaaa	aggaagaggg	agaataaaaa	cataatgtga	gtatgagaga	300
gaaagttgta	caaaagttgt	acaaaaatag	ttgtacaaat	atcattgagg	aatttgacaa	360
aagctacaca	aataagggtt	aattgctgta	aataaataag	gatgacgcat	tagagagatg	420
taccattaga	gaatttttgg	caagtcatta	aaaagaaaga	ataaattatt	tttaaaatta	480
aaagttgagt	catttgatta	aacatgtgat	tatttaatga	attgatgaaa	gagttggatt	540
aaagttgtat	tagtaattag	aatttggtgt	caaatttaat	ttgacatttg	atcttttcct	600
atatattgcc	ccatagagtc	agttaactca	tttttatatt	tcatagatca	aataagagaa	660
ataacggtat	attaatccct	ccaaaaaaa	aaaacggtat	atttactaaa	aatctaaagc	720
cacgtaggag	gataacagga	tccccgtagg	aggataacat	ccaatccaac	caatcacaac	780
aatcctgatg	agataaccca	ctttaagccc	acgcatctgt	ggcacatcta	cattatctaa	840
atcacacatt	cttcacaca	tctgagccac	acaaaaacca	atccacatct	ttatcaccca	900
ttctataaaa	aatcacactt	tgtgagtcta	cactttgatt	cccttcaaac	acatacaaag	960
agaagagact	aattaattaa	ttaatcatct	tgagagaaaa	tgaaggcaat	aattgtacta	1020
ctcatggtag	taacatccaa	tgcagatcga	atctgcactg	ggataacatc	gtcaaactca	1080
ccacatgttg	tcaaaactgc	tactcaaggg	gaggtcaatg	tgactggtgt	aataccactg	1140
acaacaacac	ccaccaaatac	tcattttgca	aatctcaaag	gaacagaaac	cagagggaaa	1200
ctatgcccac	aatgcctcaa	ctgcacagat	ctggacgtgg	ccttgggcag	acaaaatgc	1260
acggggaaca	taccctcggc	aagagtttca	atactccatg	aagtcagacc	tgttacatct	1320
gggtgctttc	ctataatgca	cgacagaaca	aaaattagac	agctgcctaa	acttctcaga	1380
ggatacgaac	atatcagggt	atcaactcat	aacgttatca	atgcagaaaa	tgcaccagga	1440
ggaccctaca	aaattggaac	ctcaggggtct	tgccctaacg	ttaccaatgg	aaacggattt	1500
ttcgcaacaa	tggtctgggc	cgtcccaaaa	aacgacaaca	acaaaacagc	aacaaattca	1560
ttaacaatag	aagtaccata	catttggtaca	gaaggagaag	accaaattac	cgtttggggg	1620
ttccactctg	ataacgaaac	ccaaatggca	aagctctatg	gggactcaaa	gccccagaag	1680

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

<210> 73

<211> 3159

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 525 177 T3

<223> HA de B/Florida/4/2006

<400> 73

agaggtaccc	cgggctggta	tatttatatg	ttgtcaaata	actcaaaaac	cataaaagtt	60
taagttagca	agtgtgtaca	tttttacttg	aacaaaaata	ttcacctact	actgttataa	120

atcattatta	aacattagag	taaagaaata	tggatgataa	gaacaagagt	agtgatattt	180
tgacaacaat	tttgttgcaa	catttgagaa	aattttgttg	ttctctcttt	tcattggtca	240
aaaacaatag	agagagaaaa	aggaagaggg	agaataaaaa	cataatgtga	gtatgagaga	300
gaaagttgta	caaaagttgt	accaaaatag	ttgtacaaat	atcattgagg	aatttgacaa	360
aagctacaca	aataaggggt	aattgctgta	aataaataag	gatgacgcat	tagagagatg	420
taccattaga	gaatTTTTTg	caagtcatta	aaaagaaaga	ataaattatt	tttaaaatta	480
aaagttgagt	catttgatta	aacatgtgat	tatttaatga	attgatgaaa	gagttggatt	540
aaagttgtat	tagtaattag	aatttggtgt	caaatttaat	ttgacatttg	atcttttctt	600
atatattgcc	ccatagagtc	agttaactca	tttttatatt	tcatagatca	aataagagaa	660
ataacggtat	attaatccct	ccaaaaaaa	aaaacggtat	atttactaaa	aaatctaagc	720
cacgtaggag	gataacagga	tccccgtagg	aggataacat	ccaatccaac	caatcacaa	780
aatcctgatg	agataaccca	ctttaagccc	acgcatctgt	ggcacatcta	cattatctaa	840
atcacacatt	cttcacaca	tctgagccac	acaaaaacca	atccacatct	ttatcaccca	900
ttctataaaa	aatcacactt	tgtgagtcta	cactttgatt	cccttcaa	acatacaaag	960
agaagagact	aattaattaa	ttaatcatct	tgagagaaaa	tgaaggcaat	aattgtacta	1020
ctcatggtag	taacatccaa	tgcagatcga	atctgcactg	gaataacatc	ttcaaactca	1080
cctcatgtgg	tcaaaacagc	cactcaaggg	gaggtcaatg	tgactggtgt	gataccacta	1140
acaacaacac	caacaaaatc	ttatTTTtgc	aatctcaaag	gaacaaggac	cagagggaaa	1200
ctatgccag	actgtctcaa	ctgcacagat	ctggatgtgg	ctttgggcag	accaatgtgt	1260
gtggggacca	caccttcggc	gaaggcttca	atactccacg	aagtcaaacc	tgttacatcc	1320
gggtgctttc	ctataatgca	cgacagaaca	aaaatcaggc	aactacccaa	tcttctcaga	1380
ggatatgaaa	atatcaggct	atcaacccaa	aacgtcatcg	atgcggaaaa	ggcaccagga	1440
ggacctaca	gacttggaac	ctcaggatct	tgccctaacg	ctaccagtaa	gagcggattt	1500
ttcgcaacaa	tggcttgggc	tgtcccaaag	gacaacaaca	aaaatgcaac	gaaccacta	1560
acagtagaag	taccatacat	ttgtacagaa	ggggaagacc	aatcactgt	ttgggggttc	1620
cattcagata	acaaaaccca	aatgaagaac	ctctatggag	actcaa	aatcc tcaaaaagt	1680
acctcatctg	ctaattggagt	aaccacacac	tatgtttctc	agattggcag	cttcccagat	1740
caaacagaag	acggaggact	accacaaagc	ggcaggattg	ttgttgatta	catgatgcaa	1800
aaacctggga	aaacaggaac	aattgtctac	caaagaggtg	ttttgttgcc	tcaaaaggtg	1860
tggtgcgcga	gtggcaggag	caaagtaata	aaaggtcct	tgcctttaat	tggtgaagca	1920
gattgccttc	atgaaaaata	cggtggatta	aacaaaagca	agccttacta	cacaggagaa	1980
catgcaaaag	ccataggaaa	ttgccaata	tgggtgaaaa	cacctttgaa	gctcgccaat	2040
ggaaccaa	atagacctcc	tgcaaaacta	ttaaaggaaa	gggttttctt	cggagctatt	2100

gctgggtttcc tagaaggagg atgggaagga atgattgcag gctggcacgg atacacatct 2160
cacggagcac atggagtggc agtggcgggc gaccttaaga gtacgcaaga agctataaac 2220
aagataacaa aaaatctcaa ttctttgagt gagctagaag taaagaatct tcaaagacta 2280
agtggtgcca tggatgaact ccacaacgaa atactcgagc tggatgagaa agtggatgat 2340
ctcagagctg acactataag ctcgcaaata gaacttgcag tcttgctttc caacgaagga 2400
ataataaaca gtgaagatga gcatctattg gcacttgaga gaaaactaaa gaaaatgctg 2460
gggccctctg ctgtagagat aggaaatgga tgcttcgaaa ccaaacacaa gtgcaaccag 2520
acctgcttag acaggatagc tgctggcacc tttaatgcag gagaattttc tctccccact 2580
tttgattcac tgaacattac tgctgcatct ttaaattgat atggattgga taaccatact 2640
atactgctct attactcaac tgctgcttct agtttggctg taacattgat gctagctatt 2700
tttattgttt atatggtctc cagagacaac gtttcattgct ccatctgtct ataagagctc 2760
taagttaaaa tgcttcttcg tctcctatct ataatatggt ttgttattgt taattttgtt 2820
cttgtagaag agcttaatta atcggtgttg ttatgaaata ctatttgtat gagatgaact 2880
gggtgtaatgt aattcattta cataagtgga gtcagaatca gaatgtttcc tccataacta 2940
actagacatg aagacctgcc gcgtacaatt gtcttatatt tgaacaacta aaattgaaca 3000
tcttttgcca caactttata agtgggttaat atagctcaaa tatatgggtca agttcaatag 3060
attaataatg gaaatatcag ttatcgaaat tcattaacaa tcaacttaac gttattaact 3120
actaatttta tatcatcccc ttgataaat gatagtaca 3159

<210> 74

<211> 565

<212> PRT

5 <213> Virus de la influenza

<220>

<221> característica nueva

<222> (3)..(3)

<223> Xaa puede ser Ala o Val

10 <220>

<221> característica nueva

<222> (52)..(52)

<223> Xaa puede ser Asp o Asn

- <220>
- <221> característica nueva
- <222> (90)..(90)
- <223> Xaa puede ser Lys o Arg
- 5 <220>
- <221> característica nueva
- <222> (99)..(99)
- <223> Xaa puede ser Lys o Thr
- <220>
- 10 <221> característica nueva
- <222> (111)..(111)
- <223> Xaa puede ser Tyr o His
- <220>
- <221> característica nueva
- 15 <222> (145)..(145)
- <223> Xaa puede ser Val o Thr
- <220>
- <221> característica nueva
- <222> (157)..(157)
- 20 <223> Xaa puede ser Glu Lys
- <220>
- <221> característica nueva
- <222> (162)..(162)
- <223> Xaa puede ser Arg o Lys
- 25 <220>
- <221> característica nueva
- <222> (182)..(182)
- <223> Xaa puede ser Val o Ala
- <220>
- 30 <221> característica nueva
- <222> (203)..(203)
- <223> Xaa puede ser Asp o Asn
- <220>

- <221> característica nueva
<222> (205)..(205)
<223> Xaa puede ser Arg o Lys
<220>
- 5 <221> característica nueva
<222> (210)..(210)
<223> Xaa puede ser Thr o Lys
<220>
- 10 <221> característica nueva
<222> (225)..(225)
<223> Xaa puede ser Arg o Lys
<220>
- <221> característica nueva
<222> (268)..(268)
- 15 <223> Xaa puede ser Trp o Arg
<220>
- <221> característica nueva
<222> (283)..(283)
<223> Xaa puede ser Thr o Asn
- 20 <220>
- <221> característica nueva
<222> (290)..(290)
<223> Xaa puede ser Glu o Gly
<220>
- 25 <221> característica nueva
<222> (432)..(432)
<223> Xaa puede ser Ile o Leu
<220>
- <221> característica nueva
- 30 <222> (489)..(489)
<223> Xaa puede ser Asn o Asp
<400> 74

Met	Lys	Xaa	Lys	Leu	Leu	Val	Leu	Leu	Cys	Thr	Phe	Thr	Ala	Thr	Tyr	1	5	10	15
Ala	Asp	Thr	Ile	Cys	Ile	Gly	Tyr	His	Ala	Asn	Asn	Ser	Thr	Asp	Thr	20	25	30	
Val	Asp	Thr	Val	Leu	Glu	Lys	Asn	Val	Thr	Val	Thr	His	Ser	Val	Asn	35	40	45	
Leu	Leu	Glu	Xaa	Ser	His	Asn	Gly	Lys	Leu	Cys	Leu	Leu	Lys	Gly	Ile	50	55	60	
Ala	Pro	Leu	Gln	Leu	Gly	Asn	Cys	Ser	Val	Ala	Gly	Trp	Ile	Leu	Gly	65	70	75	80
Asn	Pro	Glu	Cys	Glu	Leu	Leu	Ile	Ser	Xaa	Glu	Ser	Trp	Ser	Tyr	Ile	85	90	95	
Val	Glu	Xaa	Pro	Asn	Pro	Glu	Asn	Gly	Thr	Cys	Tyr	Pro	Gly	Xaa	Phe	100	105	110	
Ala	Asp	Tyr	Glu	Glu	Leu	Arg	Glu	Gln	Leu	Ser	Ser	Val	Ser	Ser	Phe	115	120	125	
Glu	Arg	Phe	Glu	Ile	Phe	Pro	Lys	Glu	Ser	Ser	Trp	Pro	Asn	His	Thr	130	135	140	
Xaa	Thr	Gly	Val	Ser	Ala	Ser	Cys	Ser	His	Asn	Gly	Xaa	Ser	Ser	Phe	145	150	155	160
Tyr	Xaa	Asn	Leu	Leu	Trp	Leu	Thr	Gly	Lys	Asn	Gly	Leu	Tyr	Pro	Asn	165	170	175	
Leu	Ser	Lys	Ser	Tyr	Xaa	Asn	Asn	Lys	Glu	Lys	Glu	Val	Leu	Val	Leu	180	185	190	
Trp	Gly	Val	His	His	Pro	Pro	Asn	Ile	Gly	Xaa	Gln	Xaa	Ala	Leu	Tyr	195	200	205	
His	Xaa	Glu	Asn	Ala	Tyr	Val	Ser	Val	Val	Ser	Ser	His	Tyr	Ser	Arg	210	215	220	
Xaa	Phe	Thr	Pro	Glu	Ile	Ala	Lys	Arg	Pro	Lys	Val	Arg	Asp	Gln	Glu	225	230	235	240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Cys Arg Ile Cys Ile
565

<210> 75

<211> 565

<212> PRT

5 <213> Virus de la influenza

<400> 75

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

Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Gly Lys Asn Gly Leu Tyr Pro Asn
 165 170 175
 Leu Ser Lys Ser Tyr Val Asn Asn Lys Glu Lys Glu Val Leu Val Leu
 180 185 190
 Trp Gly Val His His Pro Pro Asn Ile Gly Asn Gln Arg Ala Leu Tyr
 195 200 205
 His Thr Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser His Tyr Ser Arg
 210 215 220
 Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Lys Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln Glu
 225 230 235 240
 Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr Ile
 245 250 255
 Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Phe Ala
 260 265 270
 Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr Ser Asn Ala Pro Met
 275 280 285
 Asp Glu Cys Asp Ala Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn Ser
 290 295 300
 Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys Pro
 305 310 315 320
 Lys Tyr Val Arg Ser Ala Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn
 325 330 335
 Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe
 340 345 350
 Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His
 355 360 365
 His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr
 370 375 380
 Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu
 385 390 395 400
 Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys Leu
 405 410 415

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Cys Arg Ile Cys Ile
565

<210> 76

<211> 252

<212> PRT

5 <213> Virus de la influenza

<400> 76

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

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

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

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

Thr Leu Thr Val Pro Ser Glu Arg Gly Leu Gln Arg Arg Arg Phe Val

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

<210> 77

<211> 24

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> pBinPlus.2613c

<400> 77

aggaaggggaa gaaagcgaaa ggag 24

<210> 78
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Mut-ATG115.r
 <400> 78
 gtgccgaagc acgatctgac aacgttgaag atcgctcacg caagaaagac aagaga 56
 <210> 79
 10 <211> 52
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Mut-ATG161.c
 15 <400> 79
 gttgtcagat cgtgcttcgg caccagtaca acgtttctt tcactgaagc ga 52
 <210> 80
 <211> 25
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> LC-C5-1.110r
 <400> 80
 tctcctggag tcacagacag ggtgg 25
 25 <210> 81
 <211> 2065
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Casete de expresión número 828
 <400> 81

ttaattaaga attcgagctc caccgcggaa acctcctcgg attccattgc ccagctatct	60
gtcactttat tgagaagata gtggaaaagg aagggtggctc ctacaaatgc catcattgcg	120
ataaaggaaa ggccatcggt gaagatgcct ctgccgacag tggteccaaa gatggacccc	180
caccacgag gagcatcggt gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca aagcaagtgg	240
attgatgtga tatctccact gacgtaaggg atgacgcaca atcccactat ccttcgcaag	300
acccttcctc tatataagga agttcatttc atttgagag gtattaaaat cttaataggt	360
tttgataaaa gcgaacgtgg ggaaacccga accaaacctt cttctaaact ctctctcatc	420
tctcttaaag caaacttctc tcttgtcttt cttgcgtgag cgatcttcaa cgttgtcaga	480
tcgtgcttcg gcaccagtac aacgttttct ttcactgaag cgaaatcaaa gatctctttg	540
tggacacgta gtgcggcgcc attaaataac gtgtacttgt cctattcttg tcggtgtggt	600
cttgggaaaa gaaagcttgc tggaggctgc tgttcagccc catacattac ttgttacgat	660
tctgctgact ttcggcgggt gcaatatctc tacttctgct tgacgaggta ttgttgctg	720
tacttcttct ttcttcttct tgctgattgg ttctataaga aatctagtat tttctttgaa	780

acagagtttt cccgtggttt tcgaacttgg agaaagattg ttaagcttct gtatattctg 840
 cccaaatttg tcgggcccat ggttttcaca cctcagatac ttggacttat gcttttttgg 900
 atttcagcct ccagaggtga tattgtgcta actcagtctc cagccaccct gtctgtgact 960
 ccaggagata gtgtcagtct ttcttgcagg gccagccaaa gtattagcaa caacctacac 1020
 tggtttcaac aaaaatcgca tgagtctcca aggcttctca tcaagtatgc ttcccagtcc 1080
 atatctggga tcccctccag gttcagtggc agtggatctg ggacagattt cactctcagt 1140
 atcaacagtg tgaagactga agattttgga atgtttttct gtcaacagag taacagctgg 1200
 cctctcacgt tcggtgatgg gacaaagctg gagctgaaac gggctgatgc tgcaccaact 1260
 gtatccatct tcccaccatc cagtgagcag ttaacatctg gaggtgcctc agtcgtgtgc 1320
 ttcttgaaca acttctaccc caaagacatc aatgtcaagt ggaagattga tggcagtga 1380
 cgacaaaatg gcgtcctgaa cagttggact gatcaggaca gcaaagacag cacctacagc 1440
 atgagcagca ccctcacgtt gaccaaggac gagtatgaac gacataacag ctatacctgt 1500
 gaggccactc acaagacatc aacttcaccc attgtcaaga gcttcaacag gaatgagtgt 1560
 tagaggccta ttttcttttag tttgaattta ctgttattcg gtgtgcattt ctatgtttgg 1620
 tgagcggttt tctgtgctca gagtgtgttt attttatgta atttaatttc tttgtgagct 1680
 cctgttttagc aggtcgtccc ttcagcaagg acacaaaaag attttaattt tattaaaaaa 1740
 aaaaaaaaaa aagaccggga attcgatatc aagcttatcg acctgcagat cgttcaaaca 1800
 tttggcaata aagtttctta agattgaatc ctgttgccgg tcttgcgatg attatcatat 1860
 aatttctggt gaattacgtt aagcatgtaa taattaacat gtaatgcatg acgttattta 1920
 tgagatgggt ttttatgatt agagtccgc aattatacat ttaatacgcg atagaaaaca 1980
 aaatatagcg cgcaaactag gataaattat cgcgcgcggt gtcacttatg ttactagatt 2040
 ctagagtctc aagcttcggc gcgcc 2065

<210> 82

<211> 48

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> SpPDI-HA(Ind).c

<400> 82

gttcctctc agatcttcgc tgatcagatt tgcatgggt accatgca 48

<210> 83

<211> 3218

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Constructo número 663, de HindIII

<400> 83

aagcttgcta gcggcctcaa tggccctgca ggtcgactct agaggtaccc cgggctggta	60
tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt taagtttagca agtgtgtaca	120
tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa atcattatta aacattagag	180
taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt tgacaacaat tttgttgcaa	240
catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattgggtca aaaacaatag agagagaaaa	300
aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga gaaagttgta caaaagttgt	360
acaaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa aagctacaca aataagggtt	420
aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg taccattaga gaatttttgg	480
caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta aaagttgagt catttgatta	540
aacatgtgat tatttaatga attgatgaaa gagttggatt aaagttgtat tagtaattag	600
aatttgggtg caaatttaat ttgacatttg atcttttctt atatattgcc ccatagagtc	660
agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa ataacgggtat attaatccct	720
ccaaaaaaaa aaaacgggtat atttactaaa aaatctaagc cacgtaggag gataacagga	780
tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacac aatcctgatg agataaccca	840
ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa atcacacatt cttccacaca	900
tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca ttctataaaa aatcacactt	960
tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag agaagagact aattaattaa	1020
ttaatcatct tgagagaaaa tggcgaaaaa cgttgcgatt ttcggcttat tgttttctct	1080
tcttgtgttg gttccttctc agatcttcgc tgatcagatt tgcattgggt accatgcaaa	1140
caattcaaca gagcagggtg acacaatcat ggaaaagaac gttactgtta cacatgcca	1200
agacatactg gaaaagacac acaacgggaa gctctgcgat ctagatggag tgaagcctct	1260
aattttaaga gattgtagtg tagctggatg gctcctcggg aaccaatgt gtgacgaatt	1320
catcaatgta ccggaatggt cttacatagt ggagaaggcc aatccaacca atgacctctg	1380
ttaccaggg agtttcaacg actatgaaga actgaaacac ctattgagca gaataaacca	1440
ttttgagaaa attcaaata tccccaaaag ttcttgggtc gatcatgaag cctcatcagg	1500
agttagctca gcatgtccat acctgggaag tccctccttt tttagaaatg tggatatggct	1560
tatcaaaaag aacagtacat acccaacaat aaagaaaagc tacaataata ccaaccaaga	1620
ggatcttttg gtactgtggg gaattcacca tcctaataat gcggcagagc agacaaggct	1680
atatcaaaac ccaaccacct atatttccat tgggacatca aactaaacc agagattggt	1740
acaaaaaata gctactagat ccaaagtaaa cgggcaaagt ggaaggatgg agttcttctg	1800
gacaatttta aaacctaatg atgcaatcaa cttcgagagt aatggaaatt tcattgctcc	1860
agaatatgca tacaaaattg tcaagaaagg ggactcagca attatgaaaa gtgaattgga	1920

atatggtaac tgcaacacca agtgtcaaac tccaatgggg gcgataaact ctagtatgcc 1980
 attccacaac atacaccctc tcaccatcgg ggaatgcccc aaatatgtga aatcaaacag 2040
 attagtcctt gcaacagggc tcagaaatag ccctcaaaga gagagcagaa gaaaaaagag 2100
 aggactatth ggagctatag caggthttat agagggagga tggcagggaa tggtagatgg 2160
 ttggtagtggg taccaccata gcaatgagca ggggagtggg tacgctgcag acaaagaatc 2220
 cactcaaaag gcaatagatg gagtaccaa taagggtcaac tcaatcattg acaaaatgaa 2280
 cactcagtht gagggcgttg gaagggaatt taataactta gaaaggagaa tagagaatth 2340
 aaacaagaag atggaagacg ggtthtctaga tgtctggact tataatgccg aactthctgg 2400
 tctcatggaa aatgagagaa ctctagactt tcatgactca aatgttaaga acctctacga 2460
 caaggtccga ctacagctta gggataatgc aaaggagctg ggtaacggtt gthtcgagth 2520
 ctatcacaaa tgtgataatg aatgtatgga aagtataaga aacggaacgt acaactatcc 2580
 gcagtattca gaagaagcaa gattaaaaag agaggaaata agtggggtaa aattggaatc 2640
 aataggaact taccaaatac tgtcaattht ttcaacagtg gcgagthccc tagcactggc 2700
 aatcatgatg gctgggtctat cthttatggat gtgctccaat ggatcgthac aatgcagaat 2760
 ttgcattthaa gagctctaag ttaaaatgct tcttcgtctc ctattthataa tatggththt 2820
 tattgttaat thtgtthctg tagaagagct taattaatcg ttgttgtht gaaatactat 2880
 ttgtatgaga tgaactgggtg taatgtaatt catttacata agtggagtca gaatcagaat 2940
 gthtcctcca taactaacta gacatgaaga cctgccgcgt acaattgtct tatattthgaa 3000
 caactaaaat tgaacatctt ttgccacaac thtataagt gthaatatag ctcaaatata 3060
 tgggtcaagth caatagatta ataatggaaa tatcagtht cgaaattcat taacaatcaa 3120
 cthaacgtta ttaactacta atthttatatc atccccthtg ataaatgata gtacaccaat 3180
 taggaaggag catgctcgag gcctggctgg ccgaatth 3218

<210> 84

<211> 49

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> SpPDI-H1B.c

<400> 84

ttctcagatc ttgctgaca caatatgtat aggctacat gctaacaac

49

<210> 85
<211> 47
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
5 <220>
<223> SacI-H1B.r
<400> 85
cttagagctc ttagatgcat attctacact gtaaagaccc attggaa 47
<210> 86
10 <211> 3206
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Constructo número 787, de HindIII
15 <400> 86

aagcttgcta gcggcctcaa tggccctgca ggtcgactct agaggtagcc cgggctggta	60
tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt taagtttagca agtgtgtaca	120
tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgtttataa atcattatta aacattagag	180
taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt tgacaacaat tttgttgcaa	240
catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattgggtca aaaacaatag agagagaaaa	300
aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga gaaagttgta caaaagttgt	360
acaaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa aagctacaca aataagggtt	420
aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg taccattaga gaatttttgg	480
caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta aaagttgagt catttgatta	540
aacatgtgat tatttaatga attgatgaaa gagttggatt aaagttgtat tagtaattag	600
aatttggtgt caaatttaat ttgacatttg atcttttcct atatattgcc ccatagagtc	660
agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa ataacggtat attaaccct	720
caaaaaaaaa aaaacggtat atttactaaa aaatctaagc cacgtaggag gataacagga	780
tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacac aatcctgatg agataacca	840
ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa atcacacatt cttccacaca	900
tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca ttctataaaa aatcacactt	960
tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag agaagagact aattaattaa	1020
ttaatcatct tgagagaaaa tggcgaaaaa cgttgcgatt ttcggcttat tgttttctct	1080
tcttgtgttg gttccttctc agatcttcgc tgacacaata tgtataggct accatgctaa	1140
caactcgacc gacactgttg acacagtact tgaaaagaat gtgacagtga cacactctgt	1200
caacctgctt gagaacagtc acaatggaaa actatgtcta ttaaaaggaa tagccccact	1260
acaattgggt aattgcagcg ttgccgggtg gatcttagga aaccagaat gcgaattact	1320
gatttccaag gagtcatggt cctacattgt agaaaaacca aatcctgaga atggaacatg	1380
ttaccaggg catttcgctg actatgagga actgaggag caattgagtt cagtatcttc	1440
atttgagagg ttcgaaatat tccccaaaga aagctcatgg cccaaccaca ccgtaaccgg	1500
agtgtcagca tcatgctccc ataatgggga aagcagtttt tacagaaatt tgctatggct	1560

gacggggaag aatgggtttgt acccaaacct gagcaagtcc tatgcaaaca acaaagaaaa	1620
agaagtcctt gtactatggg gtgttcatca cccgccaaac ataggtgacc aaaaggccct	1680
ctatcataca gaaaatgctt atgtctctgt agtgtcttca cattatagca gaaaattcac	1740
cccagaaata gccaaaagac ccaaagtaag agatcaagaa ggaagaatca attactactg	1800
gactctgctt gaacccgggg atacaataat atttgaggca aatggaaatc taatagcgcc	1860
aagatatgct ttcgcactga gtagaggctt tggatcagga atcatcaact caaatgcacc	1920
aatggataaa tgtgatgcga agtgccaaac acctcaggga gctataaaca gcagtcttcc	1980
tttccagaac gtacacccag tcacaatagg agagtgtcca aagtatgtca ggagtgcaaa	2040
attaaggatg gttacaggac taaggaacat cccatccatt caatccagag gtttggttgg	2100
agccattgcc ggtttcattg aaggggggtg gactggaatg gtagatgggtt ggtatggtta	2160
tcatcatcag aatgagcaag gatctggcta tgctgcagat caaaaaagca cacaaaatgc	2220
cattaatggg attacaaaca aggtcaattc tgtaattgag aaaatgaaca ctcaattcac	2280
agcagtgggc aaagagttca acaaattgga aagaaggatg gaaaacttga ataaaaagt	2340
tgatgatggg tttatagaca tttggacata taatgcagaa ctgttggttc tactggaaaa	2400
tgaaaggact ttggatttcc atgactccaa tgtgaagaat ctgtatgaga aagtaaaaag	2460
ccagttaaag aataatgcta aagaaatagg aaatgggtgt tttgagttct atcacaagtg	2520
taacgatgaa tgcatggaga gtgtaaagaa tggaaacttat gactatccaa aatattccga	2580
agaatcaaag ttaaacaggg agaaaattga tggagtgaat ttggaatcaa tgggagtcta	2640
tcagattctg gcgatctact caacagtcgc cagttctctg gttcttttgg tctccctggg	2700
ggcaatcagc ttctggatgt gttccaatgg gtctttacag tgtagaatat gcatctaaga	2760
gctctaagtt aaaatgcttc ttcgtctcct atttataata tggtttggtt ttgttaattt	2820
tgttcttgta gaagagctta attaatcgtt gttgttatga aatactattt gtatgagatg	2880
aactggtgta atgtaattca tttacataag tggagtcaga atcagaatgt ttcctccata	2940
actaactaga catgaagacc tgccgcgtac aattgtctta tatttgaaca actaaaattg	3000
aacatctttt gccacaactt tataagtggg taatatagct caaatatatg gtcaagttca	3060
atagattaat aatggaaata tcagttatcg aaattcatta acaatcaact taacgttatt	3120
aactactaat tttatatcat cccctttgat aaatgatagt acaccaatta ggaaggagca	3180
tgctcgaggc ctggctggcc gaattc	3206

<210> 87

<211> 45

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> H3B-SpPDI.r

5 <400> 87

tgtcatttcc gggaagtttt tgagcgaaga tctgagaagg aacca 45

<210> 88

<211> 45

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> SpPDI-H3B.c

<400> 88

tctcagatct tcgctcaaaa acttcccgga aatgacaaca gcacg 45

15 <210> 89

<211> 23

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> H3(A-Bri).982r

<400> 89

ttgcttaaca tatctgggac agg 23

<210> 90

<211> 3212

25 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Constructo número 790, de HindIII

<400> 90

aagcttgcta gcggcctcaa tggccctgca ggtcgactct agaggtaccc cgggctggta	60
tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt taagttagca agtgtgtaca	120
tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa atcattatta aacattagag	180
taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt tgacaacaat tttgttgcaa	240
catttgagaa aattttggtg ttctctcttt tcattgggtca aaaacaatag agagagaaaa	300
aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga gaaagttgta caaaagttgt	360
accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa aagctacaca aataagggtt	420
aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg taccattaga gaatttttgg	480
caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta aaagttgagt catttgatta	540
aacatgtgat tatttaatga attgatgaaa gagttggatt aaagttgtat tagtaattag	600
aatttggtgt caaatttaat ttgacatttg atcttttcct atatattgcc ccatagagtc	660
agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa ataacggtat attaatccct	720
ccaaaaaaaa aaaacggtat atttactaaa aaatctaagc cacgtaggag gataacagga	780
tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacaac aatcctgatg agataaccca	840

ctttaagccc	acgcatctgt	ggcacatcta	cattatctaa	atcacacatt	cttccacaca	900
tctgagccac	acaaaaacca	atccacatct	ttatcaccca	ttctataaaa	aatcacactt	960
tgtgagtcta	cactttgatt	cccttcaaac	acatacaaag	agaagagact	aattaattaa	1020
ttaatcatct	tgagagaaaa	tggcgaaaaa	cgttgcgatt	ttcggcttat	tgttttctct	1080
tcttgtgttg	gttccttctc	agatcttcgc	tcaaaaactt	cccggaaatg	acaacagcac	1140
ggcaacgctg	tgcccttggc	accatgcagt	accaaacgga	acgatagtga	aaacaatcac	1200
gaatgaccaa	attgaagtta	ctaattgctac	tgagctgggt	cagagttcct	caacaggtga	1260
aatatgcgac	agtcctcatc	agatccttga	tggagaaaaa	tgcacactaa	tagatgctct	1320
attgggagac	cctcagtgtg	atggcttcca	aaataagaaa	tgggaccttt	ttgttgaacg	1380
cagcaaagcc	tacagcaact	gttaccctta	tgatgtgccg	gattatgcct	cccttaggtc	1440
actagttgcc	tcatccggca	cactggagtt	taacaatgaa	agtttcaatt	ggactggagt	1500
cactcaaaac	ggaacaagct	ctgcttgcac	aaggagatct	aataacagtt	tcttttagtag	1560
attgaattgg	ttgaccact	taaaattcaa	ataccagca	ttgaacgtga	ctatgccaaa	1620
caatgaaaaa	ttgacaaat	tgtacatttg	gggggttcac	caccgggta	cggacaatga	1680
ccaaatcttc	ctgtatgctc	aagcatcagg	aagaatcaca	gtctctacca	aaagaagcca	1740
acaaactgta	atcccgaata	tcggatctag	accagagta	aggaatatcc	ccagcagaat	1800
aagcatctat	tggacaatag	taaaaccggg	agacatactt	ttgattaaca	gcacagggaa	1860
tctaattgct	cctaggggtt	acttcaaaat	acgaagtggg	aaaagctcaa	taatgagatc	1920
agatgcaccc	attggcaaat	gcaattctga	atgcatcact	ccaaacggaa	gcattcccaa	1980
tgacaaacca	ttccaaaatg	taaacaggat	cacatacggg	gcctgtccca	gatatgttaa	2040
gcaaaacact	ctgaaattgg	caacagggat	gcgaaatgta	ccagagaaac	aaactagagg	2100
catatttggc	gcaatcgcg	gtttcataga	aatgggttg	gagggaatgg	tggatggttg	2160
gtatggtttc	aggcatcaaa	attctgaggg	aataggacaa	gcagcagatc	tcaaaagcac	2220
tcaagcagca	atcgatcaaa	tcaatgggaa	gctgaatagg	ttgatcggga	aaaccaacga	2280
gaaattccat	cagattgaaa	aagagttctc	agaagtcgaa	gggagaatcc	aggaccttga	2340
gaaatatggt	gaggacacca	aaatagatct	ctggtcatac	aacgcggagc	ttcttgttgc	2400
cctggagaac	caacatacaa	ttgatctaac	tgactcagaa	atgaacaaac	tgtttgaaaa	2460
aacaaagaag	caactgaggg	aaaatgctga	ggatatgggc	aatggttgtt	tcaaaatata	2520
ccacaaatgt	gacaatgcct	gcataggatc	aatcagaaat	ggaacttatg	accacgatgt	2580
atacagagat	gaagcattaa	acaaccgggt	ccagatcaag	ggcgttgagc	tgaagtcagg	2640
atacaaagat	tggatactat	ggatttcctt	tgccatatca	tgttttttgc	tttgtgttgc	2700
tttgttgggg	ttcatcatgt	gggcctgcc	aaaaggcaac	attaggtgca	acatttgcat	2760
ttgagagctc	taagttaaaa	tgcttcttcg	tctcctatct	ataatatggt	ttgttattgt	2820

taattttgtt cttgtagaag agcttaatta atcgttgttg ttatgaaata ctatttgtat 2880
gagatgaact ggtgtaatgt aattcattta cataagtgga gtcagaatca gaatgtttcc 2940
tccataacta actagacatg aagacctgcc gcgtacaatt gtcttatatt tgaacaacta 3000
aaattgaaca tcttttgcca caactttata agtgggttaat atagctcaaa tatatgggtca 3060
agttcaatag attaataatg gaaatatcag ttatcgaaat tcattaacaa tcaacttaac 3120
gttattaact actaatttta tatcatcccc ttgataaat gatagtacac caattaggaa 3180
ggagcatgct cgaggcctgg ctggccgaat tc 3212

<210> 91

<211> 50

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> HBF-SpPDI.r

<400> 91

gttattccag tgcagattcg atcagcgaag atctgagaag gaaccaacac 50

10 <210> 92

<211> 50

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> SpPDI-HBF.c

<400> 92

cagatctcg ctgatcgaat ctgcactgga ataacatctt caaactcacc 50

<210> 93

<211> 28

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Plaster80r

<400> 93

25 caaatagtat ttcataacaa caacgatt 28

<210> 94

<211> 3269

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Constructo número 798, de HindIII

<400> 94

aagcttgcta gcggcctcaa tggccctgca ggtcgactct agaggtaccc cgggctggta 60

tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt taagtttagca agtgtgtaca 120

tttttacttg	aacaaaaata	ttcacctact	actgttataa	atcattatta	aacattagag	180
taaagaaata	tgatgataa	gaacaagagt	agtgatattt	tgacaacaat	tttgttgcaa	240
catttgagaa	aattttgttg	ttctctcttt	tcattggtca	aaaacaatag	agagagaaaa	300
aggaagaggg	agaataaaaa	cataatgtga	gtatgagaga	gaaagttgta	caaaagttgt	360
acaaaaatag	ttgtacaaat	atcattgagg	aatttgacaa	aagctacaca	aataagggtt	420
aattgctgta	aataaataag	gatgacgcat	tagagagatg	taccattaga	gaatttttgg	480
caagtcatta	aaaagaaaga	ataaattatt	tttaaaatta	aaagttgagt	catttgatta	540
aacatgtgat	tatttaaatga	attgatgaaa	gagttggatt	aaagttgtat	tagtaattag	600
aatttggtgt	caaatttaat	ttgacatttg	atcttttcct	atatattgcc	ccatagagtc	660
agttaactca	tttttatatt	tcatagatca	aataagagaa	ataacggtat	attaatccct	720
ccaaaaaaaa	aaaacggtat	atttactaaa	aatcctaagc	cacgtaggag	gataacagga	780
tccccgtagg	aggataacat	ccaatccaac	caatcacaac	aatcctgatg	agataaccca	840
ctttaagccc	acgcatctgt	ggcacatcta	cattatctaa	atcacacatt	cttccacaca	900
tctgagccac	acaaaaacca	atccacatct	ttatcaccca	ttctataaaa	aatcacactt	960
tgtgagtcta	cactttgatt	cccttcaaac	acatacaaag	agaagagact	aattaattaa	1020
ttaatcatct	tgagagaaaa	tggcgaaaaa	cgttgcgatt	ttcggcttat	tgttttctct	1080
tcttgtgttg	gttccttctc	agatcttcgc	tgatcgaatc	tgactggaa	taacatcttc	1140
aaactcacct	catgtggtca	aaacagccac	tcaaggggag	gtcaatgtga	ctggtgtgat	1200
accactaaca	acaacaccaa	caaaatctta	ttttgcaa	ctcaaaggaa	caaggaccag	1260
agggaaacta	tgcccagact	gtctcaactg	cacagatctg	gatgtggctt	tgggcagacc	1320
aatgtgtgtg	gggaccacac	cttcggcgaa	ggcttcaata	ctccacgaag	tcaaacctgt	1380
tacatccggg	tgctttccta	taatgcacga	cagaacaaaa	atcaggcaac	tacccaatct	1440
tctcagagga	tatgaaaata	tcaggctatc	aaccacaaa	gtcatcgatg	cggaaaaggc	1500
accaggagga	ccctacagac	ttggaacctc	aggatcttgc	cctaacgcta	ccagtaagag	1560
cggatttttc	gcaacaatgg	cttgggctgt	cccaaaggac	aacaacaaaa	atgcaacgaa	1620
cccactaaca	gtagaagtac	catacatctg	tacagaaggg	gaagaccaa	tcactgtttg	1680
ggggttccat	tcagataaca	aaacccaaat	gaagaacctc	tatggagact	caaactctca	1740
aaagttcacc	tcactctgta	atggagtaac	cacacactat	gtttctcaga	ttggcagctt	1800
cccagatcaa	acagaagacg	gaggactacc	acaaagcggc	aggattgttg	ttgattacat	1860
gatgcaaaaa	cctgggaaaa	caggaacaat	tgtctaccaa	agaggtgttt	tgttgacctca	1920
aaaggtgtgg	tgcgcgagtg	gcaggagcaa	agtaataaaa	gggtccttgc	ctttaattgg	1980
tgaagcagat	tgcttcatg	aaaaatacgg	tggattaaac	aaaagcaagc	cttactacac	2040
aggagaacat	gcaaaagcca	taggaaattg	cccaatatgg	gtgaaaacac	ctttgaagct	2100

cgccaatgga accaaatata gacctcctgc aaaactatta aaggaaaggg gtttcttcgg 2160
agctattgct ggtttcctag aaggaggatg ggaaggaatg attgcaggct ggcacggata 2220
cacatctcac ggagcacatg gagtggcagt ggcggcggac cttaaagagta cgcaagaagc 2280
tataaacaag ataacaaaaa atctcaattc tttgagttag ctagaagtaa agaattctca 2340
aagactaagt ggtgccatgg atgaactcca caacgaaata ctcgagctgg atgagaaagt 2400
ggatgatctc agagctgaca ctataagctc gcaaatagaa cttgcagtct tgctttccaa 2460
cgaaggaata ataaacagtg aagatgagca tctattggca cttgagagaa aactaaagaa 2520
aatgctgggt ccctctgctg tagagatagg aatggatgc ttcgaaacca aacacaagtg 2580
caaccagacc tgcttagaca ggatagctgc tggcaccttt aatgcaggag aattttctct 2640
ccccactttt gattcactga acattactgc tgcattctta aatgatgatg gattggataa 2700
ccatactata ctgctctatt actcaactgc tgcttctagt ttggctgtaa cattgatgct 2760
agctatTTTT attgtttata tggctctcag agacaacggt tcatgctcca tctgtctata 2820
agagctctaa gttaaaatgc ttcttcgtct cctatttata atatggtttg ttattgttaa 2880
ttttgttctt gtagaagagc ttaattaatc gttgttggtt tgaaatacta tttgtatgag 2940
atgaactggg gtaatgtaat tcattttacat aagtggagtc agaatacagaa tgtttcctcc 3000
ataactaact agacatgaag acctgccgcg tacaattgtc ttatatttga acaactaaaa 3060
ttgaacatct tttgccacaa ctttataagt ggttaataata gctcaaatat atggtcaagt 3120
tcaatagatt aataatggaa atatcagtta tcgaaattca ttaacaatca acttaacggt 3180
attaactact aattttatat catccccctt gataaatgat agtacaccaa ttaggaagga 3240
gcatgctcga ggcctggctg gccgaattc 3269

<210> 95

<211> 45

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Apal-SpPDI.c

<400> 95

ttgtcgggcc catggcgaaa aacgttgcca tttcggctt attgt

45

10 <210> 96

<211> 42

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Stul-H1(A-NC).r

<400> 96

5 aaaataggcc ttagatgca tattctacac tgcaaagacc ca 42

<210> 97

<211> 3079

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> Constructo número 580, de PacI

<400> 97

ttaattaaga attcgagctc caccgcggaa acctcctcgg attccattgc ccagctatct	60
gtcactttat tgagaagata gtggaaaagg aaggtggctc ctacaaatgc catcattgcg	120
ataaaggaaa ggccatcggt gaagatgcct ctgccgacag tgggtcccaa gatggacccc	180
caccacgag gagcatcggt gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca aagcaagtgg	240
attgatgtga tatctccact gacgtaaggg atgacgcaca atcccactat ccttcgcaag	300
acccttcctc tatataagga agttcatttc atttggagag gtattaaaat cttaataggt	360
tttgataaaa gcgaacgtgg ggaaacccga accaaacctt cttctaaact ctctctcatc	420
tctcttaaag caaacttctc tcttgtcttt cttgcgtgag cgatcttcaa cgttgtcaga	480
tcgtgcttcg gcaccagtac aacgttttct ttcactgaag cgaaatcaaa gatctctttg	540
tggacacgta gtgcggcgcc attaaataac gtgtacttgt cctattcttg tcggtgtggt	600
cttgggaaaa gaaagcttgc tggaggctgc tgttcagccc catacattac ttgttacgat	660
tctgctgact ttcggcgggt gcaatatctc tacttctgct tgacgaggta ttgttgctg	720
tacttcttct ttcttcttct tgctgattgg ttctataaga aatctagtat tttctttgaa	780
acagagtttt ccggtggttt tcgaacttgg agaaagattg ttaagcttct gtatattctg	840
cccaaatttg tcgggcccat ggcgaaaaac gttgcgattt tcggcttatt gttttctctt	900
cttgtgttgg ttcttctca gatcttcgct gacacaatat gtataggcta ccatgccaac	960
aactcaaccg acactgttga cacagtactt gagaagaatg tgacagtgac acactctgtc	1020
aacctacttg aggacagtca caatggaaaa ctatgtctac taaaaggaat agccccacta	1080
caattgggta attgcagcgt tgccggatgg atcttaggaa acccagaatg cgaattactg	1140
atttccaagg aatcatggct ctacattgta gaaacaccaa atcctgagaa tggaacatgt	1200
taccaggggt atttcgccga ctatgaggaa ctgagggagc aattgagttc agtatcttca	1260
tttgagagat tcgaaatatt ccccaaagaa agctcatggc ccaaccacac cgtaaccgga	1320
gtatcagcat catgctccca taatgggaaa agcagttttt acagaaattt gctatggctg	1380
acggggaaga atggtttgta cccaaacctg agcaagtcct atgtaaaca caaagagaaa	1440
gaagtccttg tactatgggg tgttcatcac ccgcctaaca tagggaacca aagggcactc	1500
tatcatacag aaaatgctta tgtctctgta gtgtcttcac attatagcag aagattcacc	1560
ccagaaatag ccaaaagacc caaagtaaga gatcaggaag gaagaatcaa ctactactgg	1620
actctgctgg aacctgggga tacaataata tttagggcaa atggaaatct aatagcgcca	1680

```

tggtatgctt ttgcactgag tagaggcttt ggatcaggaa tcatcacctc aaatgcacca 1740
atggatgaat gtgatgcgaa gtgtcaaaca cctcaggagag ctataaacag cagtcttcct 1800
ttccagaatg tacacccagt cacaatagga gagtgtccaa agtatgtcag gagtgcacaaa 1860
ttaaggatgg ttacaggact aaggaacatc ccatccattc aatccagagg tttgttttga 1920
gccattgccg gtttcattga aggggggtgg actggaatgg tagatgggtg gtatgggttat 1980
catcatcaga atgagcaagg atctggctat gctgcagatc aaaaaagtac acaaaatgcc 2040
attaacggga ttacaaacaa ggtcaattct gtaattgaga aaatgaacac tcaattcaca 2100
gctgtgggca aagagttcaa caaattggaa agaaggatgg aaaacttaaa taaaaaagtt 2160
gatgatgggt ttctagacat ttggacatat aatgcagaat tgttggttct actggaaaat 2220
gaaaggactt tggatttcca tgactccaat gtgaagaatc tgtatgagaa agtaaaaagc 2280
caattaaaga ataatgccaa agaaatagga aacgggtggt ttgagttcta tcacaagtgt 2340
aacaatgaat gcatggagag tgtgaaaaat ggtacctatg actatccaaa atattccgaa 2400
gaatcaaagt taaacaggga gaaaattgat ggagtgaat tggaatcaat gggagtatac 2460
cagattctgg cgatctactc aactgtcgcc agttccctgg ttcttttgggt ctccctgggg 2520
gcaatcagct tctggatgtg ttccaatggg tctttgcagt gtagaatatg catctaaagg 2580
cctattttct ttagtttgaa tttactgtta ttcggtgtgc atttctatgt ttggtgagcg 2640
gttttctgtg ctcagagtgt gtttatttta tgtaatttaa tttctttgtg agctcctggt 2700
tagcaggctc tcccttcagc aaggacacaa aaagatttta attttattaa aaaaaaaaaa 2760
aaaaaagacc gggaattcga tatcaagctt atcgacctgc agatcggtca aacatttggc 2820
aataaagttt cttaagattg aatcctgttg ccggtcttgc gatgattatc atataatttc 2880
tgttgaatta cgттаagcat gтаааааа асатgтаатg catgacgtta tttatgagat 2940
gggtttttat gattagagtc ccgcaattat acatttaata cgcgatagaa aacaaaatat 3000
agcgcgcaaa ctaggataaa ttatcgcgcg cggtgtcatc tatgttacta gattctagag 3060
tctcaagctt cggcgcgcc 3079

```

<210> 98

<211> 39

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Apal-H5 (A-Indo).1c

<400> 98

tgtcggggccc atggagaaaa tagtgcttct tcttgcaat 39

<210> 99

<211> 37

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> H5 (A-Indo)-StuI.1707r

<400> 99

10 aaataggcct taaatgcaa attctgcatt gtaacga 37

<210> 100

<211> 3067

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Constructo número 685, de PacI

<400> 100

ttaattaaga attcgagctc caccgcggaa acctcctcgg attccattgc ccagctatct	60
gtcactttat tgagaagata gtggaaaagg aaggtggctc ctacaaatgc catcattgcg	120
ataaaggaaa ggccatcgtt gaagatgcct ctgccgacag tgggtcccaa gatggacccc	180
caccacgag gagcatcgtg gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca aagcaagtgg	240
attgatgtga tatctccact gacgtaaggg atgacgcaca atcccactat ccttcgcaag	300
acccttcctc tatataagga agttcatttc atttggagag gtattaaaat cttaataggt	360
tttgataaaa gcgaacgtgg ggaaacccga accaaacctt cttctaaact ctctctcatc	420
tctcttaaag caaacttctc tcttgtcttt cttgogtgag cgatcttcaa cgttgtcaga	480
tcgtgcttcg gcaccagtac aacgttttct ttcactgaag cgaaatcaaa gatctctttg	540
tggacacgta gtgcggcgcc attaaataac gtgtacttgt cctattcttg tcggtgtggt	600
cttgggaaaa gaaagcttgc tggaggctgc tgttcagccc catacattac ttgttacgat	660
tctgctgact ttcggcgggg gcaatatctc tacttctgct tgacgaggta ttgttgacctg	720
tacttcttctc ttcttcttct tgctgattgg ttctataaga aatctagtat tttctttgaa	780
acagagtttt cccgtgggtt tcgaacttgg agaaagattg ttaagcttct gtatattctg	840
cccaaatttg tcgggcccat ggagaaaata gtgcttcttc ttgcaatagt cagtcttggt	900
aaaagtgatc agatttgcat tggttaccat gcaaacaatt caacagagca ggttgacaca	960
atcatggaaa agaacgttac tgttacacat gcccaagaca tactggaaaa gacacacaac	1020
gggaagctct gcgatctaga tggagtgaag cctctaattt taagagattg tagtgtagct	1080
ggatggctcc tcgggaaccc aatgtgtgac gaattcatca atgtaccgga atggtcttac	1140
atagtggaga aggccaatcc aaccaatgac ctctgttacc cagggagttt caacgactat	1200
gaagaactga aacacctatt gagcagaata aaccattttg agaaaattca aatcatcccc	1260
aaaagttctt ggtccgatca tgaagcctca tcaggagtta gctcagcatg tccataacctg	1320
ggaagtccct ccttttttag aaatgtggta tggcttatca aaaagaacag tacataccca	1380
acaataaaga aaagctacaa taataccaac caagaggatc ttttggtact gtggggaatt	1440

caccatccta atgatgcggc agagcagaca aggctatatc aaaacccaac cacctatatt 1500
 tccattggga catcaacact aaaccagaga ttggtaccaa aaatagctac tagatccaaa 1560
 gtaaaccgggc aaagtggaag gatggagttc ttctggacaa ttttaaaacc taatgatgca 1620
 atcaacttcg agagtaatgg aaatttcatt gctccagaat atgcatacaa aattgtcaag 1680
 aaaggggact cagcaattat gaaaagtga ttggaatatg gtaactgcaa caccaagtgt 1740
 caaactccaa tgggggcat aaactctagt atgccattcc acaacatata ccctctcacc 1800
 atcggggaat gcccacaaata tgtgaaatca aacagattag tccttgcaac agggctcaga 1860
 aatagccctc aaagagagag cagaagaaaa aagagaggac tatttgagc tatagcaggt 1920
 tttatagagg gaggatggca gggaaatgta gatggttggt atgggtacca ccatagcaat 1980
 gagcagggga gtgggtacgc tgcagacaaa gaatccactc aaaaggcaat agatggagtc 2040
 accaataagg tcaactcaat cattgacaaa atgaacactc agtttgaggc cgttggagg 2100
 gaatttaata acttagaaag gagaatagag aatttaaaca agaagatgga agacgggttt 2160
 ctagatgtct ggacttataa tgccgaactt ctggttctca tggaaaatga gagaactcta 2220
 gactttcatg actcaaagt taagaacctc tacgacaagg tccgactaca gcttagggat 2280
 aatgcaaagg agctgggtaa cggttgtttc gagttctatc acaaagtga taatgaatgt 2340
 atggaaagta taagaaacgg aacgtacaac tatccgcagt attcagaaga agcaagatta 2400
 aaaagagagg aaataagtgg ggtaaaattg gaatcaatag gaacttacca aatactgtca 2460
 atttattcaa cagtggcgag ttccctagca ctggcaatca tgatggctgg tctatcttta 2520
 tggatgtgct ccaatggatc gttacaatgc agaatttgca tttaaaggcc tattttcttt 2580
 agtttgaatt tactgttatt cgggtgtgcat ttctatgttt ggtgagcgg tttctgtgct 2640
 cagagtgtgt ttattttatg taatttaatt tctttgtgag ctctgttta gcaggctcgc 2700
 ccttcagcaa ggacacaaaa agattttaat ttattataaa aaaaaaaaaa aaaagaccgg 2760
 gaattcgata tcaagcttat cgacctgcag atcgttcaaa catttgga taaagtttct 2820
 taagattgaa tcctgttgcc ggtcttgcca tgattatcat ataatttctg ttgaattacg 2880
 ttaagcatgt aataattaac atgtaatgca tgacgttatt tatgagatgg gtttttatga 2940
 ttagagtccc gcaattatac atttaatacg cgatagaaaa caaatatag cgcgcaaact 3000
 aggataaatt atcgcgcgcg gtgtcatcta tgttactaga ttctagagtc tcaagcttcg 3060
 gcgcgcc 3067

<210> 101

<211> 3091

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Constructo número 686, de Pacl

5 <400> 101

ttaattaaga attcgagctc caccgcggaa acctcctcgg attccattgc ccagctatct	60
gtcactttat tgagaagata gtggaaaagg aaggtggctc ctacaaatgc catcattgcg	120
ataaaggaaa ggccatcggt gaagatgcct ctgccgacag tgggtccaaa gatggacccc	180
caccacagag gagcatcggt gaaaaagaag acgttccaac cacgtottca aagcaagtgg	240
attgatgtga tatctccact gacgtaaggg atgacgcaca atcccactat ccttcgcaag	300
acccttcctc tatataagga agttcatttc atttggagag gtattaaaat cttaataggt	360
tttgataaaa gcgaacgtgg ggaaacccga accaaacctt cttctaaact ctctctcatc	420
tctcttaaag caaacttctc tcttgtcttt cttgcgtgag cgatcttcaa cgttgtcaga	480
tcgtgcttcg gcaccagtac aacgttttct ttcactgaag cgaaatcaaa gatctctttg	540
tggacacgta gtgcggcgcc attaaataac gtgtacttgt cctattcttg tcggtgtggt	600
cttgggaaaa gaaagcttgc tggaggctgc tgttcagccc catacattac ttgttacgat	660
tctgctgact ttcggcgggt gcaatatctc tacttctgct tgacgaggta ttgttgctg	720
tacttcttctc ttcttcttct tgctgattgg ttctataaga aatctagtat tttctttgaa	780
acagagtttt ccggtggttt tcgaacttgg agaaagattg ttaagcttct gtatattctg	840
cccaaatttg tcggggcccat ggcgaaaaac gttgcgattt tcggcttatt gttttctctt	900
cttgtgttgg ttcttctca gatcttcgct gatcagattt gcattggtta ccatgcaaac	960
aattcaacag agcaggttga cacaatcatg gaaaagaacg ttactgttac acatgcccaa	1020
gacatactgg aaaagacaca caacgggaag ctctgcgac tagatggagt gaagcctcta	1080
attttaagag attgtagtgt agctggatgg ctctcggga acccaatgtg tgacgaattc	1140
atcaatgtac cggaatggtc ttacatagtg gagaaggcca atccaaccaa tgacctctgt	1200
taccagggga gtttcaacga ctatgaagaa ctgaaacacc tattgagcag aataaaccat	1260
tttgagaaaa ttcaaatcat ccccaaaagt tcttgggtccg atcatgaagc ctcatcagga	1320
gttagctcag catgtccata cctgggaagt ccctcctttt ttagaaatgt ggtatggctt	1380
atcaaaaaga acagtacata cccaacaata aagaaaagct acaataatac caaccaagag	1440
gatcttttgg tactgtgggg aattcaccat cctaattgat cggcagagca gacaaggcta	1500
tatcaaaacc caaccacctt tatttccatt gggacatcaa cactaaacca gagattggta	1560
ccaaaaatag ctactagatc caaagtaaac gggcaaagtg gaaggatgga gttcttctgg	1620
acaattttta aacctaatga tgcaatcaac ttcgagagta atggaaattt cattgctcca	1680
gaatatgcat acaaaattgt caagaaaggg gactcagcaa ttatgaaaag tgaattggaa	1740
tatggtaact gcaacaccaa gtgtcaaact ccaatggggg cgataaactc tagtatgcca	1800
ttccacaaca tacacctctc caccatcggg gaatgcccc aatatgtgaa atcaaacaga	1860
ttagtccttg caacagggtc cagaaatagc cctcaaagag agagcagaag aaaaaagaga	1920

ggactatattg gagctatagc aggtttttata gagggaggat ggcagggaat ggtagatggt 1980
 tggatatgggt accaccatag caatgagcag gggagtgggt acgctgcaga caaagaatcc 2040
 actcaaaagg caatagatgg agtcaccaat aagggtcaact caatcattga caaaatgaac 2100
 actcagtttg aggccgttgg aagggaattt aataacttag aaaggagaat agagaattta 2160
 aacaagaaga tggaagacgg gtttctagat gtctggactt ataatgccga acttctgggt 2220
 ctcatggaaa atgagagaac tctagacttt catgactcaa atgttaagaa cctctacgac 2280
 aaggtccgac tacagcttag ggataatgca aaggagctgg gtaacgggtg tttcgagtgc 2340
 tatcacaaat gtgataatga atgtatggaa agtataagaa acggaacgta caactatccg 2400
 cagtattcag aagaagcaag attaaaaaga gaggaataa gtggggtaaa attggaatca 2460
 ataggaactt accaaatact gtcaatttat tcaacagtgg cgagttccct agcactggca 2520
 atcatgatgg ctggtctatc tttatggatg tgctccaatg gatcggtaca atgcagaatt 2580
 tgcatttaaa ggcctatttt ctttagtttg aatttactgt tattcggtgt gcatttctat 2640
 gtttggtgag cggttttctg tgctcagagt gtgtttatth tatgtaattt aatttctttg 2700
 tgagctcctg ttttagcagggt cgtcccttca gcaaggacac aaaaagattt taattttatt 2760
 aaaaaaaaaa aaaaaaaga ccgggaattc gatatcaagc ttatcgacct gcagatcggt 2820
 caaacatttg gcaataaagt ttcttaagat tgaatcctgt tgccggtctt gcgatgatta 2880
 tcatataatt tctgttgaat tacgttaagc atgtaataat taacatgtaa tgcgatgacgt 2940
 tatttatgag atgggttttt atgattagag tcccgcgaatt atacatttaa tacgcgatag 3000
 aaaacaaaat atagcgcgca aactaggata aattatcgcg cgcggtgtca tctatgttac 3060
 tagattctag agtctcaagc ttcggcgcgc c 3091

<210> 102

<211> 45

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Apal-H1B.c

<400> 102

tgctgggccc atgaaagtaa aactactggt cctgttatgc acatt 45

10 <210> 103

<211> 46

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Stul-H2B.r

<400> 103

5 aaataggcct ttagatgcat attctacact gtaaagaccc attgga 46

<210> 104

<211> 3058

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> Constructo 732, de PacI

<400> 104

ttaattaaga attcgagctc caccgcggaa acctcctcgg attccattgc ccagctatct	60
gtcactttat tgagaagata gtggaaaagg aaggtggctc ctacaaatgc catcattgcg	120
ataaaggaaa ggccatcggt gaagatgcct ctgccgacag tgggtcccaa gatggacccc	180
caccacgag gagcatcggt gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca aagcaagtgg	240
attgatgtga tatctccact gacgtaaggg atgacgcaca atcccactat ccttcgcaag	300
acccttcctc tatataagga agttcatttc atttgagag gtattaaaat cttaataggt	360
tttgataaaa gcgaacgtgg ggaaacccga accaaacctt cttctaaact ctctctcatc	420
tctcttaaag caaacttctc tcttgtcttt cttgcgtgag cgatcttcaa cgttgtcaga	480
tcgtgcttcg gcaccagtac aacgttttct ttcactgaag cgaaatcaaa gatctctttg	540
tggacacgta gtgcggcgcc attaaataac gtgtacttgt cctattcttg tcggtgtggt	600
cttgggaaaa gaaagcttgc tggaggctgc tgttcagccc catacattac ttgttacgat	660
tctgctgact ttcggcggtt gcaatatctc tacttctgct tgacgaggta ttgttgccctg	720
tacttcttct ttcttcttct tgctgattgg ttctataaga aatctagtat tttctttgaa	780
acagagtttt cccgtgggtt tcgaacttgg agaaagattg ttaagcttct gtatattctg	840
cccaaatttg tcgggcccat gaaagtaaaa ctactggtcc tgttatgcac atttacagct	900
acatatgcag acacaatatg tataggctac catgctaaca actcgaccga cactgttgac	960
acagtacttg aaaagaatgt gacagtgaca cactctgtca acctgcttga gaacagtcac	1020
aatggaaaac tatgtctatt aaaaggaata gcccactac aattgggtaa ttgcagcggt	1080
gccgggtgga tcttaggaaa ccagaaatgc gaattactga tttccaagga gtcattggtcc	1140
tacattgtag aaaaaccaa tcctgagaat ggaacatgtt acccagggca tttcgctgac	1200
tatgaggaac tgagggagca attgagttca gtatcttcat ttgagagggt cgaaatattc	1260
cccaaagaaa gctcatggcc caaccacacc gtaaccggag tgtcagcatc atgctcccat	1320
aatggggaaa gcagttttta cagaaatttg ctatggctga cggggaagaa tggtttgtac	1380
ccaaacctga gcaagtccta tgcaaacaac aaagaaaaag aagtccttgt actatggggt	1440
gttcatcacc cgccaaacat aggtgaccaa aaggccctct atcatacaga aaatgcttat	1500
gtctctgtag tgtcttcaca ttatagcaga aaattcaccc cagaaatagc caaaagaccc	1560
aaagtaagag atcaagaagg aagaatcaat tactactgga ctctgcttga acccggggat	1620
acaataatat ttgaggcaaa tggaaatcta atagcgccaa gatatgcttt cgactgagt	1680

agaggctttg gatcaggaat catcaactca aatgcaccaa tggataaatg tgatgcgaag 1740
 tgccaaacac ctgagggagc tataaacagc agtcttcctt tccagaacgt acaccagtc 1800
 acaataggag agtgtccaaa gtatgtcagg agtgcaaaat taaggatggt tacaggacta 1860
 aggaacatcc catccattca atccagaggt ttgtttggag ccattgccgg tttcattgaa 1920
 ggggggtgga ctggaatggt agatggttgg tatggttatc atcatcagaa tgagcaagga 1980
 tctggctatg ctgcagatca aaaaagcaca caaatgcc a ttaatgggat tacaacaag 2040
 gtcaattctg taattgagaa aatgaacact caattcacag cagtgggcaa agagttcaac 2100
 aaattggaaa gaaggatgga aaacttgaat aaaaaagttg atgatgggtt tatagacatt 2160
 tggacatata atgcagaact gttggttcta ctggaaaatg aaaggacttt ggatttccat 2220
 gactccaatg tgaagaatct gtatgagaaa gtaaaaagcc agttaagaa taatgctaaa 2280
 gaaataggaa atgggtgttt tgagttctat cacaagtgt a c gatgaatg catggagagt 2340
 gtaaagaatg gaacttatga ctatccaaaa tattccgaag aatcaaagtt aaacaggag 2400
 aaaattgatg gagtgaaatt ggaatcaatg ggagtctatc agattctggc gatctactca 2460
 acagtcgcca gttctctggt tcttttggtc tccctggggg caatcagctt ctggatgtgt 2520
 tccaatgggt ctttacagtg tagaatatgc atctaaagc ctattttctt tagtttgaat 2580
 ttactgttat tgggtgtgca tttctatgtt tgggtgagcgg ttttctgtgc tcagagtgtg 2640
 tttattttat gtaatttaat ttctttgtga gctcctgttt agcaggtcgt cccttcagca 2700
 aggacacaaa aagattttta ttttattaaa aaaaaaaaaa aaaaagaccg ggaattcgat 2760
 atcaagctta tcgacctgca gatcgttcaa acatttgcca ataaagtttc ttaagattga 2820
 atcctgttgc cgggtcttgcg atgattatca tataatttct gttgaattac gttaagcatg 2880
 taataattaa catgtaatgc atgacgttat ttatgagatg ggtttttatg attagagtcc 2940
 cgcaattata catttaatac gcgatagaaa acaaaatata gcgcgcaaac taggataaat 3000
 tatcgcgcg c ggtgtcatct atgttactag attctagagt ctcaagcttc ggcgcgcc 3058

<210> 105

<211> 3079

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Constructo número 733, de Pacl

<400> 105

ttaattaaga attcgagctc caccgcggaa acctcctcgg attccattgc ccagctatct	60
gtcactttat tgagaagata gtggaaaagg aaggtggctc ctacaaatgc catcattgcg	120
ataaaggaaa ggccatcggt gaagatgcct ctgccgacag tggccccaaa gatggacccc	180
caccacgag gagcatcgtg gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca aagcaagtgg	240

attgatgtga tatctccact gacgtaaggg atgacgcaca atcccactat ccttcgcaag 300
 acccttcctc tatataagga agttcatttc atttgagagag gtattaaaat cttaataggt 360
 tttgataaaa gcgaacgtgg ggaaaccoga accaaacctt cttctaaaact ctctctcatc 420
 tctcttaaag caaacttctc tcttgtcttt cttgcgtgag cgatcttcaa cgttgtcaga 480
 tcgtgcttcg gcaccagtac aacgttttct ttcactgaag cgaaatcaaa gatctctttg 540
 tggacacgta gtgcggcgcc attaaataac gtgtacttgt cctattcttg tcggtgtggg 600
 cttgggaaaa gaaagcttgc tggaggctgc tgttcagccc catacattac ttgttacgat 660
 tctgctgact ttcggcgggg gcaatatctc tacttctgct tgacgaggta ttgttgccctg 720
 tacttctttc ttcttcttct tgctgattgg ttctataaga aatctagtat tttctttgaa 780
 acagagtttt cccgtgggtt tcgaacttgg agaaagattg ttaagcttct gtatattctg 840
 cccaaatttg tcgggcccac ggcgaaaaac gttgcgattt tcggcttatt gttttctctt 900
 cttgtgttgg ttcttctca gatcttcgct gacacaatat gtataggcta ccatgctaac 960
 aactcgaccg aactgttga cacagtactt gaaaagaatg tgacagtgc acactctgtc 1020
 aacctgcttg agaacagtca caatggaaaa ctatgtctat taaaaggaat agccccacta 1080
 caattgggta attgcagcgt tgccgggtgg atcttaggaa acccagaatg cgaattactg 1140
 atttccaagg agtcatggtc ctacattgta gaaaaaccaa atcctgagaa tggaacatgt 1200
 taccagggc atttcgctga ctatgaggaa ctgagggagc aattgagttc agtatcttca 1260
 tttgagaggt tcgaaatatt ccccaaagaa agctcatggc ccaaccacac cgtaaccgga 1320
 gtgtcagcat catgctccca taatggggaa agcagttttt acagaaattt gctatggctg 1380
 acggggaaga atggtttgta cccaaacctg agcaagtcct atgcaaaca caaagaaaaa 1440
 gaagtccttg tactatgggg tggtcatcac ccgcaaaca taggtgacca aaaggccctc 1500
 tatcatacag aaaatgctta tgtctctgta gtgtcttcac attatagcag aaaattcacc 1560
 ccagaaatag ccaaaagacc caaagtaaga gatcaagaag gaagaatcaa ttactactgg 1620
 actctgcttg aaccgggga tacaataata tttgaggcaa atggaaatct aatagcgcca 1680
 agatatgctt tcgcactgag tagaggcttt ggatcaggaa tcatcaactc aaatgcacca 1740
 atggataaat gtgatgcgaa gtgccaaaca cctcaggag ctataaacag cagtcttcct 1800
 ttccagaacg tacaccagc cacaatagga gagtgtccaa agtatgtcag gagtgcacaa 1860
 ttaaggatgg ttacaggact aaggaacatc ccatccattc aatccagagg tttgtttgga 1920
 gccattgccg gtttcattga aggggggtgg actggaatgg tagatggttg gtatggttat 1980
 catcatcaga atgagcaagg atctggctat gctgcagatc aaaaaagcac acaaaatgcc 2040
 attaattgga ttacaaacaa ggtcaattct gtaattgaga aaatgaacac tcaattcaca 2100
 gcagtgggca aagagttcaa caaattggaa agaaggatgg aaaacttgaa taaaaagtt 2160
 gatgatgggt ttatagacat ttggacatat aatgcagaac tgttggttct actggaaaat 2220

gaaaggactt tggatttcca tgactccaat gtgaagaatc tgtatgagaa agtaaaaagc 2280
cagttaaaga ataatgctaa agaaatagga aatgggtgtt ttgagttcta tcacaagtgt 2340
aacgatgaat gcatggagag tgtaaagaat ggaacttatg actatccaaa atattccgaa 2400
gaatcaaagt taaacaggga gaaaattgat ggagtgaat tggaatcaat gggagtctat 2460
cagattctgg cgatctactc aacagtcgcc agttctctgg ttcttttggg ctccctgggg 2520
gcaatcagct tctggatgtg ttccaatggg tctttacagt gtagaatatg catctaaagg 2580
cctattttct ttagtttgaa ttactgtta ttcgggtgtgc atttctatgt ttgggtgagcg 2640
gttttctgtg ctccagagtgt gtttatttta tgtaatttaa tttctttgtg agctcctggt 2700
tagcaggtcg tcccttcagc aaggacacaa aaagatttta attttattaa aaaaaaaaaa 2760
aaaaaagacc gggaattcga tatcaagctt atcgacctgc agatcggttca aacatttggc 2820
aataaagttt cttaagattg aatcctgttg ccggtcttgc gatgattatc atataatttc 2880
tgttgaatta cgttaagcat gtaataatta acatgtaatg catgacgtta tttatgagat 2940
gggtttttat gattagagtc ccgcaattat acatttaata cgcgatagaa aacaaaatat 3000
agcgcgcaaa ctaggataaa ttatcgcgcg cggtgtcatc tatgttacta gattctagag 3060
tctcaagctt cggcgcgcc 3079

<210> 106

<211> 48

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Apal-H3B.c

<400> 106

ttgtcgggcc catgaagact atcattgctt tgagctacat tctatgtc 48

10 <210> 107

<211> 44

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Stul-H3B.r

<400> 107

aaaataggcc tcaaatgca aatgttgac ctaatgttc cttt

44

<210> 108

<211> 3061

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Constructo número 735, de Pacl

<400> 108

ttaattaaga attcgagctc caccgcggaa acctcctcgg attccattgc ccagctatct	60
gtcactttat tgagaagata gtggaaaagg aagggtggctc ctacaaatgc catcattgcg	120
ataaaggaaa ggccatcgtt gaagatgcct ctgccgacag tgggtcccaa gatggacccc	180
caccacagag gagcatcgtg gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca aagcaagtgg	240
attgatgtga tatctccact gacgtaaggg atgacgcaca atcccactat ccttcgcaag	300
acccttcctc tatataagga agttcatttc atttgagag gtattaaaat cttaataggt	360
tttgataaaa gcgaacgtgg ggaaacccga accaaacctt cttctaaact ctctctcatc	420
tctcttaaag caaacttctc tcttgtcttt cttgcgtgag cgatcttcaa cgttgtcaga	480
tcgtgcttcg gcaccagtac aacgttttct ttcactgaag cgaaatcaaa gatctctttg	540
tggacacgta gtgcggcgcc attaaataac gtgtacttgt cctattcttg tcggtgtggt	600
cttgggaaaa gaaagcttgc tggaggctgc tgttcagccc catacattac ttgttacgat	660
tctgctgact ttcggcggtt gcaatatctc tacttctgct tgacgaggta ttgttgcctg	720
tacttctttc ttcttcttct tgctgattgg ttctataaga aatctagtat tttctttgaa	780
acagagtttt cccgtggttt tcgaacttgg agaaagattg ttaagcttct gtatattctg	840
cccaaatttg tcgggcccat gaagactatc attgctttga gctacattct atgtctgggt	900
ttcactcaaa aacttcccgg aaatgacaac agcacggcaa cgctgtgcct tgggcaccat	960
gcagtaccaa acggaacgat agtgaaaaca atcacgaatg accaaattga agttactaat	1020
gctactgagc tgggtcagag ttccctcaaca ggtgaaatat gcgacagtcc tcatcagatc	1080
cttgatggag aaaactgcac actaatagat gctctattgg gagaccctca gtgtgatggc	1140
ttccaaaata agaaatggga cctttttgtt gaacgcagca aagcctacag caactgttac	1200
ccttatgatg tgccggatta tgcctccctt aggtcactag ttgcctcatc cggcacactg	1260
gagtttaaca atgaaagttt caattggact ggagtcactc aaaacggaac aagctctgct	1320
tgcataagga gatctaataa cagtttcttt agtagattga attggttgac ccacttaaaa	1380
ttcaaatacc cagcattgaa cgtgactatg ccaaacaatg aaaaatttga caaattgtac	1440
atttgggggg ttcaccaccc gggtacggac aatgaccaa tcttcctgta tgctcaagca	1500
tcaggaagaa tcacagtctc taccaaaaga agccaacaaa ctgtaatccc gaatatcgga	1560
tctagaccca gagtaaggaa tatccccagc agaataagca tctattggac aatagtaaaa	1620
cggggagaca tacttttgat taacagcaca gggaatctaa ttgctcctag gggttacttc	1680
aaaatacgaa gtgggaaaag ctcaataatg agatcagatg caccatttg caaatgcaat	1740
tctgaatgca tactccaaa cggaagcatt cccaatgaca aaccattcca aaatgtaaac	1800
aggatcacat acggggcctg tcccagatat gttaagcaaa acactctgaa attggcaaca	1860
gggatgcgaa atgtaccaga gaaacaaact agaggcatat ttggcgcaat cgcgggtttc	1920
atagaaaatg gttgggaggg aatggtggat ggttgggatg gtttcaggca tcaaaattct	1980

gaggggaatag gacaagcagc agatctcaaa agcactcaag cagcaatcga tcaaatcaat	2040
gggaagctga ataggttgat cgggaaaacc aacgagaaat tccatcagat tgaaaaagag	2100
ttctcagaag tcgaaggag aatccaggac cttgagaaat atgttgagga caccaaaata	2160
gatctctggt catacaacgc ggagcttctt gttgccctgg agaaccaaca tacaattgat	2220
ctaactgact cagaaatgaa caaactgttt gaaaaaacaaga agagcaact gagggaaaat	2280
gctgaggata tgggcaatgg ttgtttcaaa atataccaca aatgtgacaa tgcctgcata	2340
ggatcaatca gaaatggaac ttatgaccac gatgtatata gagatgaagc attaaacaac	2400
cggttccaga tcaagggcgt tgagctgaag tcaggatata aagattggat actatggatt	2460
tcctttgccca tatcatgttt tttgctttgt gttgctttgt tggggttcat catgtgggcc	2520
tgccaaaaag gcaacattag gtgcaacatt tgcatttgaa ggcctatattt ctttagtttg	2580
aatttactgt tattcgggtgt gcattttctat gtttggtgag cggttttctg tgctcagagt	2640
gtgtttattt tatgtaattt aattttctttg tgagctcctg tttagcaggt cgtcccttca	2700
gcaaggacac aaaaagattt taattttatt aaaaaaaaaa aaaaaaaga ccgggaattc	2760
gatatcaagc ttatcgacct gcagatcggt caaacatttg gcaataaagt ttcttaagat	2820
tgaatcctgt tgccggtctt gcgatgatta tcatataatt tctgttgaat tacgttaagc	2880
atgtaataat taacatgtaa tgcgatgacgt tatttatgag atgggttttt atgattagag	2940
tcccgcaatt atacatttaa tacgcgatag aaaacaaaat atagcgcgca aactaggata	3000
aattatcgcg cgcggtgtca tctatgttac tagattctag agtctcaagc ttcggcgcgc	3060
c	3061

<210> 109

<211> 3085

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Constructo número 736, de PacI

<400> 109

ttaattaaga attcgagctc cacgcggaac acctcctcgg attccattgc ccagctatct	60
gtcactttat tgagaagata gtggaaaagg aaggaggctc ctacaaatgc catcattgcg	120
ataaaggaaa ggccatcgtt gaagatgcct ctgccgacag tggccccaaa gatggacccc	180
caccacgag gagcatcgtg gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca aagcaagtgg	240
attgatgtga tatctccact gacgtaaggg atgacgcaca atcccactat ccttcgcaag	300
acccttcctc tatataagga agttcatttc atttggagag gtattaaaat cttaataggt	360
tttgataaaa gcgaacgtgg ggaaacccga accaaacctt cttctaaact ctctctcatc	420
tctcttaaag caaacttctc tcttgtcttt cttgcgtgag cgatcttcaa cgttgtcaga	480

togtgcttcg	gcaccagtac	aacgttttct	ttcactgaag	cgaaatcaaa	gatctctttg	540
tggacacgta	gtgcggcgcc	attaaataac	gtgtacttgt	cctattcttg	tcggtgtggt	600
cttgggaaaa	gaaagcttgc	tggaggctgc	tgttcagccc	catacattac	ttgttacgat	660
tctgctgact	ttcggcgggg	gcaatatctc	tacttctgct	tgacgaggta	ttgttgccctg	720
tacttctttc	ttcttcttct	tgttgattgg	ttctataaga	aatctagtat	tttctttgaa	780
acagagtttt	cccgtggttt	tcgaacttgg	agaaagattg	ttaagcttct	gtatattctg	840
cccaaatttg	tcgggcccac	ggcgaaaaac	gttgcgattt	tcggcttatt	gttttctctt	900
cttgtgttgg	ttccttctca	gatcttcgct	caaaaacttc	ccggaaatga	caacagcacg	960
gcaacgctgt	gccttgggca	ccatgcagta	ccaaacggaa	cgatagtga	aacaatcacg	1020
aatgaccaa	ttgaagttac	taatgctact	gagctgggtc	agagttcctc	aacaggtgaa	1080
atatgcgaca	gtcctcatca	gatccttgat	ggagaaaact	gcacactaat	agatgctcta	1140
ttgggagacc	ctcagtgtga	tggcttccaa	aataagaaat	gggacctttt	tgttgaacgc	1200
agcaaagcct	acagcaactg	ttacccttat	gatgtgccgg	attatgcctc	ccttaggtca	1260
ctagttgcct	catccggcac	actggagttt	aacaatgaaa	gtttcaattg	gactggagtc	1320
actcaaaacg	gaacaagctc	tgcttgcata	aggagatcta	ataacagttt	ctttagtaga	1380
ttgaattggg	tgaccactt	aaaattcaaa	taccagcat	tgaacgtgac	tatgccaaac	1440
aatgaaaaat	ttgacaaatt	gtacatttgg	ggggttcacc	accgggtac	ggacaatgac	1500
caaactcttc	tgtatgctca	agcatcagga	agaatcacag	tctctaccaa	agaagccaa	1560
caaactgtaa	tcccgaatat	cggatctaga	cccagagtaa	ggaatatccc	cagcagaata	1620
agcatctatt	ggacaatagt	aaaaccggga	gacatacttt	tgattaacag	cacagggaat	1680
ctaattgctc	ctaggggtta	cttcaaaata	cgaagtggga	aaagctcaat	aatgagatca	1740
gatgcacca	ttggcaaagt	caattctgaa	tgcactctc	caaacggaag	cattcccaat	1800
gacaaaccat	tccaaatgt	aaacaggatc	acatacgggg	cctgtcccag	atatgttaag	1860
caaaacactc	tgaaattggc	aacagggatg	cgaaatgtac	cagagaaaca	aactagaggc	1920
atatttggcg	caatcgcggg	tttcatagaa	aatggttggg	agggaatggt	ggatggttgg	1980
tatggtttca	ggcatcaaaa	ttctgaggga	ataggacaag	cagcagatct	caaaagcact	2040
caagcagcaa	tcgatcaaat	caatgggaag	ctgaataggt	tgatcgggaa	aaccaacgag	2100
aaattccatc	agattgaaaa	agagttctca	gaagtcgaag	ggagaatcca	ggaccttgag	2160
aaatatgttg	aggacaccaa	aatagatctc	tggtcataca	acgcggagct	tcttgttgcc	2220
ctggagaacc	aacatacaat	tgatctaact	gactcagaaa	tgaacaaact	gtttgaaaaa	2280
acaaagaagc	aactgaggga	aatgctgag	gatatgggca	atggttgttt	caaaatatac	2340
cacaaatgtg	acaatgcctg	cataggatca	atcagaaatg	gaacttatga	ccacgatgta	2400
tacagagatg	aagcattaaa	caaccggttc	cagatcaagg	gcgttgagct	gaagtcagga	2460

tacaaagatt ggatactatg gatttccttt gccatatcat gttttttgct ttgtgttgct 2520
 ttgttgggggt tcatcatgtg ggcccgccaa aaaggcaaca ttaggtgcaa catttgcaatt 2580
 tgaaggccta ttttcttttag tttgaattta ctgttattcg gtgtgcattt ctatgtttgg 2640
 tgagcgggtt tctgtgctca gagtgtgttt attttatgta atttaatttc tttgtgagct 2700
 cctgttttagc aggtcgtccc ttcagcaagg acacaaaaag attttaattt tattaaaaaa 2760
 aaaaaaaaaa aagaccggga attcgatatc aagcttatcg acctgcagat cgttcaaaca 2820
 tttggcaata aagtttctta agattgaatc ctgttgccgg tcttgcgatg attatcatat 2880
 aatttctggt gaattacgtt aagcatgtaa taattaacat gtaatgcatg acgttattta 2940
 tgagatgggt ttttatgatt agagtccgc aattatacat ttaatacgcg atagaaaaca 3000
 aaatatagcg cgcaaactag gataaattat cgcgcgcggt gtcacttatg ttactagatt 3060
 ctagagtctc aagcttcggc gcgcc 3085

<210> 110

<211> 46

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Apl-HBF.c

<400> 110

ttgtcgggcc catgaaggca ataattgtac tactcatggt agtaac 46

10 <210> 111

<211> 46

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Stul-HBF.r

<400> 111

aaaataggcc ttatagaca gatggagcat gaaacgttgt ctctgg 46

<210> 112

<211> 3115

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Constructo número 738, de PacI

<400> 112

ttaattaaga attcgagctc caccgcggaa acctcctcgg attccattgc ccagctatct	60
gtcactttat tgagaagata gtggaaaagg aaggtggctc ctacaaatgc catcattgcg	120
ataaaggaaa ggccatcgtt gaagatgcct ctgccgacag tggccccaaa gatggacccc	180
caccacgag gagcatcgtg gaaaaagaag acgtccaac cacgtcttca aagcaagtgg	240

attgatgtga	tatctccact	gacgtaaggg	atgacgcaca	atcccactat	ccttcgcaag	300
acccttcctc	tatataagga	agttcatttc	atttgagag	gtattaaaat	cttaataggt	360
tttgataaaa	gcgaacgtgg	ggaaaccoga	accaaaccct	cttctaaact	ctctctcatc	420
tctcttaaag	caaacttctc	tcttgtcttt	cttgcgtag	cgatcttcaa	cgttgtcaga	480
tcgtgcttcg	gcaccagtac	aacgttttct	ttcactgaag	cgaaatcaaa	gatctctttg	540
tggacacgta	gtgcggcgcc	attaaataac	gtgtacttgt	cctattcttg	tcggtgtggt	600
cttgggaaaa	gaaagcttgc	tggaggctgc	tgttcagccc	catacattac	ttgttacgat	660
tctgctgact	ttcggcggg	gcaatatctc	tacttctgct	tgacgaggta	ttgttgcctg	720
tacttctttc	ttcttcttct	tgttgattgg	ttctataaga	aatctagtat	tttctttgaa	780
acagagtttt	cccgtgggtt	tcgaacttgg	agaaagattg	ttaagcttct	gtatattctg	840
cccaaatttg	tcgggcccat	gaaggcaata	attgtactac	tcattgtagt	aacatccaat	900
gcagatcgaa	tctgcactgg	aataacatct	tcaaactcac	ctcatgtggt	caaaacagcc	960
actcaagggg	aggtcaatgt	gactggtgtg	ataccactaa	caacaacacc	aacaaaatct	1020
tattttgcaa	atctcaaagg	aacaaggacc	agagggaaac	tatgcccaga	ctgtctcaac	1080
tgcacagatc	tggatgtggc	tttgggcaga	ccaatgtgtg	tggggaccac	accttcggcg	1140
aaggcttcaa	tactccacga	agtcaaacct	gttacatccg	ggtgctttcc	tataatgcac	1200
gacagaacaa	aatcaggca	actacccaat	cttctcagag	gatatgaaaa	tatcaggcta	1260
tcaacccaaa	acgtcatcga	tgcggaaaag	gcaccaggag	gaccctacag	acttggaaac	1320
tcaggatctt	gccctaacgc	taccagtaag	agcggatttt	tcgcaacaat	ggcttgggct	1380
gtcccaaagg	acaacaacaa	aatgcaacg	aaccactaa	cagtagaagt	accatacatt	1440
tgtacagaag	gggaagacca	aatcactgtt	tgggggttcc	attcagataa	caaaacccaa	1500
atgaagaacc	tctatggaga	ctcaaactct	caaaagttca	cctcatctgc	taatggagta	1560
accacacact	atgtttctca	gattggcagc	ttcccagatc	aaacagaaga	cggaggacta	1620
ccacaaagcg	gcaggattgt	tgttgattac	atgatgcaaa	aacctgggaa	aacaggaaca	1680
attgtctacc	aaagaggtgt	tttgttgctt	caaaaggtgt	ggtgcgcgag	tggcaggagc	1740
aaagtaataa	aagggtcctt	gcctttaatt	ggtgaagcag	attgccttca	tgaaaaatac	1800
ggtggattaa	acaaaagcaa	gccttactac	acaggagaac	atgcaaaagc	cataggaaat	1860
tgccaatat	gggtgaaaac	acctttgaag	ctcgccaatg	gaaccaaata	tagacctcct	1920
gcaaaactat	taaaggaaag	gggtttcttc	ggagctattg	ctggtttcct	agaaggagga	1980
tgggaaggaa	tgattgcagg	ctggcacgga	tacacatctc	acggagcaca	tggagtggca	2040
gtggcgccgg	accttaagag	tacgcaagaa	gctataaaca	agataacaaa	aaatctcaat	2100
tctttgagt	agctagaagt	aaagaatctt	caaagactaa	gtggtgccat	ggatgaactc	2160
cacaacgaaa	tactcgagct	ggatgagaaa	gtggatgatc	tcagagctga	cactataagc	2220

tcgcaaataag aacttgcagt cttgctttcc aacgaaggaa taataaacag tgaagatgag	2280
catctattgg cacttgagag aaaactaaag aaaatgctgg gtccctctgc tgtagagata	2340
ggaaatggat gcttcgaaac caaacacaag tgcaaccaga cctgcttaga caggatagct	2400
gctggcacct ttaatgcagg agaattttct ctccccactt ttgattcact gaacattact	2460
gctgcatctt taaatgatga tggattggat aaccatacta tactgctcta ttactcaact	2520
gctgcttcta gtttggtgtt aacattgatg ctagctatct ttattgttta tatgggtctcc	2580
agagacaacg tttcatgctc catctgtcta taaaggccta ttttcttttag tttgaattta	2640
ctgttattcg gtgtgcattt ctatgtttgg tgagcgggtt tctgtgctca gagtgtgttt	2700
attttatgta atttaatttc tttgtgagct cctgttttagc aggtcgtccc ttcagcaagg	2760
acacaaaaag attttaattt tattaaaaaa aaaaaaaaaa aagaccggga attcgatatc	2820
aagcttatcg acctgcagat cgttcaaaca tttggcaata aagtttctta agattgaatc	2880
ctgttgccgg tcttgcgatg attatcatat aatttctggt gaattacgtt aagcatgtaa	2940
taattaacat gtaatgcatg acgttattta tgagatgggt ttttatgatt agagtcccgc	3000
aattatacat ttaatacgcg atagaaaaca aaatatagcg cgcaaactag gataaattat	3060
cgcgcgcggt gtcacttatg ttactagatt ctagagtctc aagcttcggc gcgcc	3115

<210> 113

<211> 3142

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Constructo número 739, de PacI

<400> 113

ttaattaaga attcgagctc caccgcggaa acctcctcgg attccattgc ccagctatct	60
gtcactttat tgagaagata gtggaaaagg aaggtggctc ctacaaatgc catcattgcg	120
ataaaggaaa ggccatcggt gaagatgcct ctgccgacag tgggcccaaa gatggacccc	180
caccacgag gagcatcggt gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca aagcaagtgg	240
attgatgtga tatctccact gacgtaaggg atgacgcaca atcccactat ccttcgcaag	300
acccttcctc tatataagga agttcatttc atttggagag gtattaaaat cttaataggt	360
tttgataaaa gcgaacgtgg ggaaacccga accaaacctt cttctaaact ctctctcatc	420
tctcttaaag caaacttctc tcttgtcttt cttgcgtgag cgatcttcaa cgttgtcaga	480
tcgtgcttcg gcaccagtac aacgttttct ttcactgaag cgaaatcaaa gatctctttg	540
tggacacgta gtgcggcgcc attaaataac gtgtacttgt cctattcttg tcggtgtggt	600
cttgggaaaa gaaagcttgc tggaggctgc tgttcagccc catacattac ttgttacgat	660
tctgctgact ttcggcgggt gcaatatctc tacttctgct tgacgaggta ttgttgctg	720

tacttctttc	ttcttcttct	tgttgattgg	ttctataaga	aatctagtat	tttctttgaa	780
acagagtttt	cccgtggttt	tcgaacttgg	agaaagattg	ttaagcttct	gtatattctg	840
cccaaatttg	tcgggcccac	ggcgaaaaac	gttgcgattt	tcggcttatt	gttttctctt	900
cttgtgttgg	ttccttctca	gatcttcgct	gatcgaatct	gcactggaat	aacatcttca	960
aactcacctc	atgtggtcaa	aacagccact	caaggggagg	tcaatgtgac	tggtgtgata	1020
ccactaacia	caacaccaac	aaaatcttat	tttgcaaata	tcaaaggaac	aaggaccaga	1080
gggaaactat	gccagactg	tctcaactgc	acagatctgg	atgtggcttt	gggcagacca	1140
atgtgtgtgg	ggaccacacc	ttcggcgagg	gcttcaatac	tccacgaagt	caaacctgtt	1200
acatccgggt	gctttcctat	aatgcacgac	agaacaaaaa	tcaggcaact	acccaatctt	1260
ctcagaggat	atgaaaatat	caggctatca	acccaaaacg	tcacgatgac	ggaaaaggca	1320
ccaggaggac	cctacagact	tggaacctca	ggatcttgcc	ctaacgctac	cagtaagagc	1380
ggatttttctg	caacaatggc	ttgggctgtc	ccaaaggaca	acaacaaaaa	tgcaacgaac	1440
ccactaacag	tagaagtacc	atacatttgt	acagaagggg	aagaccaaata	cactgtttgg	1500
gggttccatt	cagataacia	aacccaaatg	aagaacctct	atggagactc	aaatcctcaa	1560
aagttcacct	catctgctaa	tggagtaacc	acacactatg	tttctcagat	tggcagcttc	1620
ccagatcaaa	cagaagacgg	aggactacca	caaagcggca	ggattgttgt	tgattacatg	1680
atgcaaaaaac	ctgggaaaac	aggaacaatt	gtctacaaaa	gaggtgtttt	gttgcctcaa	1740
aaggtgtggt	gcgcgagtgg	caggagcaaa	gtaataaaaag	ggtccttgcc	tttaattggt	1800
gaagcagatt	gccttcatga	aaaatacggg	ggattaaaca	aaagcaagcc	ttactacaca	1860
ggagaacatg	caaaagccat	aggaaattgc	ccaatatggg	tgaaaacacc	tttgaagctc	1920
gccaatggaa	ccaaatatag	acctcctgca	aaactattaa	aggaaagggg	tttcttcgga	1980
gctattgctg	gtttcctaga	aggaggatgg	gaaggaatga	ttgcaggctg	gcacggatac	2040
acatctcacg	gagcacatgg	agtggcagtg	gcggcggacc	ttaagagtac	gcaagaagct	2100
ataaacaaga	taacaaaaaa	tctcaattct	ttgagtggagc	tagaagtaaa	gaatcttcaa	2160
agactaagtg	gtgccatgga	tgaactccac	aacgaaatac	tcgagctgga	tgagaaagtg	2220
gatgatctca	gagctgacac	tataagctcg	caaatagaac	ttgcagtctt	gctttccaac	2280
gaaggaataa	taaacagtga	agatgagcat	ctattggcac	ttgagagaaa	actaaagaaa	2340
atgctgggtc	cctctgctgt	agagatagga	aatggatgct	tcgaaaccaa	acacaagtgc	2400
aaccagacct	gcttagacag	gatagctgct	ggcaccttta	atgcaggaga	attttctctc	2460
cccaactttg	attcactgaa	cattactgct	gcactcttaa	atgatgatgg	attggataac	2520
catactatac	tgctctatta	ctcaactgct	gcttctagtt	tggtgtgtaac	attgatgcta	2580
gctattttta	ttgtttatat	ggtctccaga	gacaacgttt	catgctccat	ctgtctataa	2640
aggcctatct	tctttagttt	gaatttactg	ttattcggtg	tcgatttcta	tgtttggtga	2700

```

gcgggttttct gtgctcagag tgtgttttatt ttatgtaatt taatttcctt gtgagctcct 2760
gttttagcagg tcgtcccttc agcaaggaca caaaaagatt ttaattttat taaaaaaaaa 2820
aaaaaaaaag accgggaatt cgatatcaag cttatcgacc tgcagatcgt tcaaacattt 2880
ggcaataaag tttcttaaga ttgaatcctg ttgccggtct tgcgatgatt atcatataat 2940
ttctgttgaa ttacgttaag catgtaataa ttaacatgta atgcatgacg ttatttatga 3000
gatgggtttt tatgattaga gtcccgcaat tatacattta atacgcgata gaaaacaaaa 3060
tatagcgcg c aaactaggat aaattatcgc gcgcggtgtc atctatgtta ctagattcta 3120
gagtctcaag cttcggcgcg cc 3142

```

<210> 114

<211> 1272

<212> ADN

5 <213> Medicago sativa

<400> 114

atgtttgggc gcggaaccaac aaggaagagt gataacacca aatattacga tattottggt 60
gtttcaaaaa gtgctagtga agatgaaatc aagaaagcct atagaaaggc agcgatgaag 120
aaccatccag ataagggtgg ggatcctgag aagttcaagg agttgggcca agcatatgaa 180
gtgttgagcg atcctgaaaa gaaagaactg tatgatcaat atggtgaaga tgcccttaaa 240
gaaggaatgg ggggaggcgc aggaagctca tttcataatc cgtttgatat tttcgaatca 300
ttttttggtg caggcttttg tgggtggtggt ccttcacgcg caagaagaca gaagcaagga 360
gaagatgtgg tgcattctat aaaggtttcc ttggaggatg tgtataacgg cactacaaag 420
aagctatcac tttctaggaa tgcaactgtgc tcaaaatgta aagggaagg ttcaaaaagt 480
ggaactgctg gaagggtgtt tggatgccag ggcacaggta tgaagattac cagaaggcaa 540
attggactgg gcatgattca acaaagcaa cacgtctgtc ctgactgcaa aggaacaggc 600
gaggtcatta gtgagagaga tagatgccct caatgcaagg gaaacaagat tactcaagaa 660
aagaagggtgc tggagggtgca tgtggaaaag gggatgcagc agggtcacaa gattgtattc 720
gaaggacaag ctgatgaagc tcctgatata atcacaggag acatagtttt tgtcttgcaa 780
gtaaagggac atccgaagtt tgggaggag cgtgatgacc tccacattga acacaatttg 840
agcttaactg aggtctctctg tggcttccag tttaatgtca cacatcttga tggaaggcaa 900
ctattggtca aatcgaaccc cggcgaagtc atcaagccag gtcaacataa agctataaat 960
gatgagggaa tgccacaaca tggtaggccg ttcattgaagg gacgcctata catcaagttt 1020
agtgttgatt tcccggattc gggttttctt tccccaagcc aaagcctgga attagaaaag 1080
atattacctc aaaagacaag caagaacttg tcccaaaagg aggtagatga ttgtgaggag 1140
accaccctgc atgatgtcaa tattgcagag gagatgagtc gaaagaagca acaataccgt 1200
gaggcatatg atgacgatga tgatgaagat gatgagcact cgcagcctcg ggtgcaatgc 1260

gctcaacagt ag 1272

<210> 115

<211> 20

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Hsp-40Luz.1c

<400> 115

10 atgtttgggc gcggaaccaac 20

<210> 116

<211> 31
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Hsp40Luz-Sacl.1272r
 <400> 116
 agctgagctc ctactgttga gcgcattgca c 31
 <210> 117
 <211> 36
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Hsp40Luz-Plasto.r
 <400> 117
 15 gttggtccgc gcccaaacat ttctctcaa gatgat 36
 <210> 118
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Hsp70Ara.1c
 <400> 118
 atgtcgggta aaggagaagg a 21
 <210> 119
 25 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Hsp70Ara-Sacl.1956r
 30 <400> 119
 agctgagctc ttagtcgacc tctcgtatct tag 33
 <210> 120
 <211> 37

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Hsp70Ara-Plasto.r

5 <400> 120

tccttctcct ttacccgaca ttttctctca agatgat 37

<210> 121

<211> 4402

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Constructo número R850, de HindIII

<400> 121

aagcttgcat gcctgcaggt cgactctaga ggatccccgg gctgggtctgt acattcatct	60
tgccgccttt gcattcactt ggccacaaag agtagagaga aggaagagaa gagcccagac	120
ttcaagaagc gaccttgcaa gtgcactcga gggtcagaaa ctgtatatca tatctatgtg	180
agagaaaggg gaacatttga gatggagtcc atttacttga ggtatactta ttattttgat	240
caataaattt gtatacttct tatttagatc aataaatttg tcattaagct ataatccaaa	300
ataaattacg atcaaatacg caaatgttag ccagtacttg tgttaaactt gatggcatct	360
cttggtttct ttggcaatca catgcctaag aaataaatag tatcatatga ttgtgtttgg	420
tcagacttca gagtcagatg actctgtttg gataaacagc ttaattaagc gcttatagaa	480
tatcatatga ttgtgtttgg tcagacttca gagcatctct tggtttctct ggcaatcata	540
tgcctaagaa ataaatagta tcatatgatt gtgtttggtc agacttcaga gtcagatgac	600
cctgtttggg taaacagctt aattaagtgc ttatagaata agcgcttatc atataagtgc	660
ttttgtacag ttattttctat gaaagtagaa gaaatagtca tattgtttta atataagcta	720
tcctggagag cttgtggaaa taaccagaaa agaacttatg gacacgtcat gagctgttta	780
cataagatct ccctaacagt ctcaaaagtg tttatgccag tagataaatt caaataagtc	840
aatctaaaca gaccctaaat ccattatggg acctatcatt ttagcttatt ccatctttat	900
taagaatgtc atgagataac ataatagata cacattatct tgacacaaat gggcagatct	960
agcaatttaa ctctggagtc cttcaagact gctgttctta cgaagttcac gtccttgaat	1020
catgttcctg tatggaagcc tgaaagacct caaattctaa aagggtggcga taaattgaag	1080
gtttacaaaa tataccctgc gggcttgaca cagaggcaag ctctttatac cttccagttc	1140
aacggggatg ttgatttcag aagtcacttg gagagcaatc cttgtgccaa gtttgaagta	1200
atTTTTgtgt agcatatgtt gagctaccta caatttacat gatcacctag cattagctct	1260
ttcacttaac tgagagaatg aagttttagg aatgagtatg accatggagt cggcatggct	1320
ttgtaatgcc taccctactt tggccaactc atcggggatt tacattcaga aaatatacat	1380

gacttcaacc atacttaaac ccctttttgt aagataactg aatgttcata tttaatgttg 1440
 ggttgtagtg tttttacttg attatatcca gacagttaca agttggacaa caagattgtg 1500
 ggtctgtact gttattttatt tttttttttt ttagcagaaa caccttatct tttgtttcgt 1560
 ttgaatgtag aatgaaaata aaagaaagaa aatataacat catcggccgc gcttgtctaa 1620
 tttcgggcag ttaggatcct ctccggtcac cggaaagttt cagtagaaga aacaaaacac 1680
 cgtgactaaa atgatactat ttttttattt attgtgtttt tcttttttct accggaactt 1740
 tttagaacgg atcccaactc gttccggggc cgctacaact gaaacaaaag aagatatttt 1800
 ctctctcttc agaaatgtaa gttttccttt acagataccc attcaccatt tgattcagat 1860
 gtggtgacta gagataaagc atactaattt gactcttgga aaccataaa gtttatgtta 1920
 tccgtgttct ggaccaatcc acttgggggc ataacctgtg tctatgtgtg gtttggtttc 1980
 cattctgatt tatgcgccga cttgtaattt aaaatctagg aggggcagac attgaacaat 2040
 cccaatattt taataactta tgcaagattt tttttattaa tgagatgatg tgtttgtgac 2100
 tgagattgag tcatacattt cactaagaaa tggttccaag taccaaacta tcatgaccca 2160
 gttgcaaaca tgacgttcgg gagtggtcac tttgatagtt caatttcac tttggcttctt 2220
 attcctttta taattcta tcttcttctg taaactattt catgtattat ttttctttaa 2280
 aatttacatg tcattttatt tgctcacta actcaatttt gcatataaca atgataagt 2340
 atattttgac tcacaaaatt tacatcaa ttcgacatcg tttattatgt tcattggatg 2400
 attaacaaat ataacaaact ttgcaactaa ttaaccacca actgaatata attaactata 2460
 actgtgaaag tagttaactc atttttatat ttcatagatc aaataagaga aataacggta 2520
 tattaatccc tccaaaaaaa aaaaacggta tttttactaa aaaatctaag ccacgtagga 2580
 ggataacagg atccccgtag gaggataaca tccaatccaa ccaatcacao caatcctgat 2640
 gagataaccc actttaagcc cagcgcctg tggcacatct acattatcta aatcacacat 2700
 tcttcacac atctgagcca cacaaaaacc aatccacatc tttatcacc attctataaa 2760
 aatcacact ttgtgagct acactttgat tcccttcaaa cacatacaaa gagaagagac 2820
 taattaatta attaatactc ttgagagaaa atgtttgggc gcggaccaac aaggaagagt 2880
 gataacacca aatattacga tattcttggg gtttcaaaaa gtgctagtga agatgaaatc 2940
 aagaaagcct atagaaaggc agcgatgaag aaccatccag ataagggtgg ggatcctgag 3000
 aagttcaagg agttgggcca agcatatgaa gtgttgagcg atcctgaaaa gaaagaactg 3060
 tatgatcaat atggtgaaga tgcccttaaa gaaggaatgg ggggagggc aggaagctca 3120
 tttcataatc cgtttgatat tttcgaatca ttttttgggt caggctttgg tgggtgggtg 3180
 ccttcacgcg caagaagaca gaagcaagga gaagatgtgg tgcattctat aaaggtttcc 3240
 ttggaggatg tgtataacgg cactacaaag aagctatcac tttctaggaa tgcactgtgc 3300

tcaaaatgta aagggaagg ttcaaaaagt ggaactgctg gaagggtgtt tggatgccag	3360
ggcacaggta tgaagattac cagaaggcaa attggactgg gcatgattca acaaatgcaa	3420
cacgtctgtc ctgactgcaa aggaacaggc gaggtcatta gtgagagaga tagatgccct	3480
caatgcaagg gaaacaagat tactcaagaa aagaagggtgc tggagggtgca tgtggaaaag	3540
gggatgcagc agggtcacaa gattgtattc gaaggacaag ctgatgaagc tcctgatata	3600
atcacaggag acatagtttt tgtcttgcaa gtaaaggagac atccgaagtt tcggaggagg	3660
cgtgatgacc tccacattga acacaatttg agcttaactg aggctctctg tggcttccag	3720
tttaatgtca cacatcttga tggaaggcaa ctattgggtca aatcgaaccc cggcgaagtc	3780
atcaagccag gtcaacataa agctataaat gatgaggga tgccacaaca tggtaggccg	3840
ttcatgaagg gacgcctata catcaagttt agtggttgatt tcccggattc gggttttctt	3900
tccccaagcc aaagcctgga attagaaaag atattacctc aaaagacaag caagaacttg	3960
tcccaaaagg aggtagatga ttgtgaggag accaccctgc atgatgtcaa tattgcagag	4020
gagatgagtc gaaagaagca acaataccgt gaggcataatg atgacgatga tgatgaagat	4080
gatgagcact cgcagcctcg ggtgcaatgc gctcaacagt aggagctcag ctccaatttc	4140
cccgatcggt caaacatttg gcaataaagt ttcttaagat tgaatcctgt tgccggtctt	4200
gcgatgatta tcatataatt tctgttgaat tacgttaagc atgtaataat taacatgtaa	4260
tgcatgacgt tatttatgag atgggttttt atgattagag tcccgcaatt atacatttaa	4320
tacgcgatag aaaacaaaat atagcgcgca aactaggata aattatcgcg cgcggtgtca	4380
tctatgttac tagatcgaat tc	4402

<210> 122

<211> 5086

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Constructo número R860, de HindIII

<400> 122

aagcttgc	atgcctgc	aggtcg	actctaga	ggatcccc	gggctgt	ctgt	acattcat	ct	60
tgccgcct	ttgcattc	acttg	ggccacaa	agagagaga	aggaagaga	gagcccag	ac		120
ttcaagaag	caccttg	caagtgc	actcga	gggtcagaa	ctgtatat	catcatgt	g		180
agagaaagg	gaacattt	gatggagt	ccatttact	tga	ggatatact	tatttttg	at		240
caataaatt	tgtatact	tcttatt	tagatc	aataaatt	gttcatta	agctata	atccaaa		300
ataaattac	atcaaata	tgcattg	tagccagt	acttg	tgttaaact	tgatggcat	ct		360
cttggttt	cttttg	caatcat	gcctaag	aaataaat	agatatcat	gatgtgtt	tg		420
tcagacttc	agatcag	atgctgt	tttgata	aacagc	ttaattaag	cgttataga	a		480
tatcatat	gatgtgtt	tggtcag	acttc	gagcatct	cttggttt	ctctgg	caatcata		540

tgccctaagaa ataaatagta tcatatgatt gtgtttggtc agacttcaga gtcagatgac	600
cctgtttggg taaacagctt aattaagtgc ttatagaata agcgcttatc atataagtgc	660
ttttgtacag ttatttctat gaaagtagaa gaaatagtca tattgtttta atataagcta	720
tcctggagag cttgtggaaa taaccagaaa agaacttatg gacacgtcat gagctgttta	780
cataagatct ccctaacagt ctcaaaagtg tttatgccag tagataaatt caaataagtc	840
aatctaaaca gaccctaaat ccattatggg acctatcatt ttagcttatt ccatctttat	900
taagaatgtc atgagataac ataatgataa cacattattt tgacacaaat gggcagatct	960
agcaatttaa ctctggagtc cttcaagact gctgttctta cgaagttcac gtccctgaat	1020
catgttcctg tatggaagcc tgaaagacct caaattctaa aagggtggcga taaattgaag	1080
gtttacaaaa tataccctgc gggcttgaca cagaggcaag ctctttatac cttccagttc	1140
aacgggggatg ttgatttcag aagtcacttg gagagcaatc cttgtgccaa gtttgaagta	1200
atTTTTgtgt agcatatgtt gagctacctt caatttacat gatcacctag cattagctct	1260
ttcacttaac tgagagaatg aagttttagg aatgagtatg accatggagt cggcatggct	1320
ttgtaatgcc taccctactt tggccaactc atcggggatt tacattcaga aaatatacat	1380
gacttcaacc atacttaaac ccctttttgt aagataactg aatgttcata tttaatgttg	1440
ggttgtagtg tttttacttg attatatcca gacagttaca agttggacaa caagattgtg	1500
ggtctgtact gttatttatt tatttttttt ttagcagaaa caccttatct tttgtttcgt	1560
ttgaatgtag aatgaaaata aaagaaagaa aatataacat catcggccgc gcttgtctaa	1620
tttcgggcag ttaggatcct ctccggtcac cggaaagttt cagtagaaga aacaaaacac	1680
cgtgactaaa atgatactat tattttatTT attgtgtttt tcttttttct accggaactt	1740
tttagaacgg atcccaactc gttccggggc cgctacaact gaaacaaaag aagatatTTT	1800
ctctctcttc agaaatgtaa gttttccttt acagataccc attcaccatt tgattcagat	1860
gtggtgacta gagataaagc atactaattt gactcttgga aaccataaa gtttatgtta	1920
tccgtgttct ggaccaatcc acttgggggc ataacctgtg tctatgtgtg gtttggtttc	1980
cattctgatt tatgcggcga cttgtaattt aaaatctagg aggggcagac attgaacaat	2040
cccaatatTT taataactta tgcaagattt tttttattaa tgagatgatg tgtttgtgac	2100
tgagattgag tcatacattt cactaagaaa tggttccaag taccaaacta tcatgaccca	2160
gttgcaaaca tgacgttcgg gagtggtcac tttgatagtt caatttcac tttggcttctt	2220
attcctttta taattctaT tcttcttTgtg taaactatTT catgtattat ttttctttaa	2280
aatttacatg tcatttattt tgccctacta actcaatttt gcatataaca atgataagtg	2340
atattttgac tcacaaaatt tacatcaaT ttcgacatcg tttattatgt tcattggatg	2400
attaacaaat ataacaaact ttgcaactaa ttaaccacca actgaatata attaaactata	2460

actgtgaaag tagttaactc atttttatat ttcataagatc aaataagaga aataacggta 2520
 tattaatccc tccaaaaaaa aaaaacggta tatttactaa aaaatctaag ccacgtagga 2580
 ggataacagg atccccgtag gaggataaca tccaatccaa ccaatcacia caatcctgat 2640
 gagataaccc actttaagcc cacgcatctg tggcacatct acattatcta aatcacacat 2700
 tottccacac atctgagcca cacaaaaacc aatccacatc tttatcacc attctataaa 2760
 aatcacact ttgtgagtct acactttgat tcccttcaaa cacatacaaa gagaagagac 2820
 taattaatta attaatcatc ttgagagaaa atgtcgggta aaggagaagg accagctatc 2880
 ggtatcgatc ttggtaccac ttactcttgc gtcggagtat ggcaacacga ccgtgttgag 2940
 atcattgcta atgatcaagg aaacagaacc acgccatctt acgttgcttt caccgactcc 3000
 gagaggttga tcggtgacgc agctaagaat caggtcgcca tgaaccccg taaacaccgtt 3060
 ttcgacgcta agaggttgat cggtcgtcgt ttctctgaca gctctgttca gagtgacatg 3120
 aaattgtggc cattcaagat tcaagccgga cctgccgata agccaatgat ctacgtcgaa 3180
 tacaaggggtg aagagaaaga gtctgcagct gaggagattt cttccatggt tcttattaag 3240
 atgcgtgaga ttgctgaggc ttaccttggg gtcacaatca agaacgccgt tgttaccgtt 3300
 ccagcttact tcaacgactc tcagcgtcag gctacaaagg atgctggtgt catcgctggt 3360
 ttgaacgtta tgcgaatcat caacgagcct acagccgccg ctattgccta cggtcttgac 3420
 aaaaaggcta ccagcgttgg agagaagaat gttcttatct tcgatcttgg tgggtggcact 3480
 tttgatgtct ctcttcttac cattgaagag ggtatctttg aggtgaaggc aactgctggt 3540
 gacacccatc ttggtgggga agattttgac aacagaatgg ttaaccactt tgtccaagag 3600
 ttcaagagga agagtaagaa ggatatcacc ggtaacccaa gagctcttag gaggttgaga 3660
 acttctctgt agagagcgaa gaggactctt tcttccactg ctacagaccac catcgagatt 3720
 gactctctat acgagggtat cgacttctac tccaccatca cccgtgctag atttgaggag 3780
 ctcaacatgg atctcttcag gaagtgtatg gagccagttg agaagtgtct tcgtgatgct 3840
 aagatggaca agagcactgt tcatgatgtt gtccttggtg gtggttctac ccgtatccct 3900
 aaggttcagc aattgctcca ggacttcttc aacggcaaag agctttgcaa gtctattaac 3960
 cctgatgagg ctgttgccca cggtgctgct gtccaggag ctattctcag cggtgaagga 4020
 aacgagaagg ttcaagatct tctattgctc gatgtcactc ctctctccct tggtttgga 4080
 actgccggtg gtgtcatgac cactttgatc ccaaggaaca caaccatccc aaccaagaag 4140
 gaacaagtct tctccaccta ctacagacaac caaccgggtg tgttgatcca ggtgtacgaa 4200
 ggagagagag ccagaaccaa ggacaacaac cttcttggtg aatttgagct ctccggaatt 4260
 cctccagctc ctcggtggtg cccccagatc acagtctgct ttgacattga tgccaatggt 4320
 atcctcaatg tctctgctga ggacaagacc accggacaga agaacaagat caccatcacc 4380
 aatgacaagg gtcgtctctc caaggatgag attgagaaga tggttcaaga ggctgagaag 4440

tacaagtccg aagacgagga gcacaagaag aaggttgaag ccaagaacgc tctcgagaac	4500
tacgcttaca acatgaggaa caccatccaa gacgagaaga ttggtgagaa gctcccggct	4560
gcagacaaga agaagatcga ggattctatt gagcaggcga ttcaatggct cgagggtaac	4620
cagttggctg aggctgatga gttcgaagac aagatgaagg aattggagag catctgcaac	4680
ccaatcattg ccaagatgta ccaaggagct ggtggtgaag ccggtggtcc aggtgcctct	4740
ggtatggacg atgatgctcc ccctgcttca ggcggtgctg gacctaagat cgaggaggtc	4800
gactaagagc tcagctcgaa tttccccgat cgttcaaaca tttggcaata aagtttctta	4860
agattgaatc ctggtgccgg tcttgcgatg attatcatat aatttctggt gaattacggt	4920
aagcatgtaa taattaacat gtaatgcatg acgttattta tgagatgggt ttttatgatt	4980
agagtcccg c aattatacat ttaatacgcg atagaaaaca aaatatagcg cgcaaactag	5040
gataaattat cgcgcgcggt gtcacttatg ttactagatc gaattc	5086

<210> 123

<211> 9493

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Constructo número R870, de HindIII

<400> 123

aagcttgcat gcctgcaggt cgactctaga ggatccccgg gctgggtctgt acattcatct	60
tgccgccttt gcattcactt ggccacaaag agtagagaga aggaagagaa gagcccagac	120
ttcaagaagc gaccttgcaa gtgcactcga gggtcagaaa ctgtatatca tatctatgtg	180
agagaaaggg gaacatttga gatggagtcc atttacttga ggtataactta ttattttgat	240
caataaattt gtatacttct tatttagatc aataaatttg tcattaagct ataatccaaa	300
ataaattacg atcaaatacg caaatgttag ccagtacttg tgttaaactt gatggcatct	360
cttggtttct ttggcaatca catgcctaag aaataaatag tatcatatga ttgtgtttgg	420
tcagacttca gagtcagatg actctgtttg gataaacagc ttaattaagc gcttatagaa	480
tatcatatga ttgtgtttgg tcagacttca gagcatctct tggtttctct ggcaatcata	540
tgcctaagaa ataaatagta tcatatgatt gtgtttggtc agacttcaga gtcagatgac	600
cctgtttggg taaacagctt aattaagtgc ttatagaata agcgcttata atataagtgc	660
ttttgtacag ttatttctat gaaagtagaa gaaatagtca tattgtttta atataagcta	720
tcctggagag cttgtggaaa taaccagaaa agaacttatg gacacgtcat gagctgttta	780
cataagatct ccctaacagt ctcaaaagtg tttatgccag tagataaatt caaataagtc	840
aatctaaaca gaccctaaat ccattatggt acctatcatt ttagcttatt ccatctttat	900
taagaatgtc atgagataac ataatagataa cacattatth tgacacaaat gggcagatct	960

agcaatttaa	ctctggagtc	cttcaagact	gctgttctta	cgaagttcac	gtccctgaat	1020
catgttcctg	tatggaagcc	tgaaagacct	caaattctaa	aaggtggcga	taaattgaag	1080
gtttacaaaa	tataccctgc	gggcttgaca	cagaggcaag	ctctttatac	cttccagttc	1140
aacgggggatg	ttgatttcag	aagtcacttg	gagagcaatc	cttgtgccaa	gtttgaagta	1200
atTTTTgtgt	agcatatgtt	gagctaccta	caattttacat	gatcacctag	cattagctct	1260
ttcacttaac	tgagagaatg	aagtttttagg	aatgagtatg	accatggagt	cggcatggct	1320
ttgtaatgcc	taccctactt	tggccaactc	atcgggggatt	tacattcaga	aaatatacat	1380
gacttcaacc	atacttaaac	ccctttttgt	aagataactg	aatgttcata	tttaatgttg	1440
ggttgtagtg	tttttacttg	attatatcca	gacagttaca	agttggacaa	caagattgtg	1500
ggtctgtact	gttatttatt	tatttttttt	ttagcagaaa	caccttatct	tttgtttcgt	1560
ttgaatgtag	aatgaaaata	aaagaaagaa	aatataacat	catcgccgc	gcttgtctaa	1620
tttcgggcag	ttaggatcct	ctccggtcac	cggaaagttt	cagtagaaga	aacaaaacac	1680
cgtgactaaa	atgatactat	tatttttatt	attgtgtttt	tcttttttct	accggaactt	1740
tttagaacgg	atcccaactc	gttccggggc	cgctacaact	gaaacaaaag	aagatatttt	1800
ctctctcttc	agaaatgtaa	gttttccttt	acagataccc	attcaccatt	tgattcagat	1860
gtggtgacta	gagataaagc	atactaattt	gactcttgga	aaccataaaa	gtttatgtta	1920
tccgtgttct	ggaccaatcc	acttgggggc	ataacctgtg	tctatgtgtg	gtttggtttc	1980
cattctgatt	tatgcggcga	cttgtaattt	aaaatctagg	aggggcagac	attgaacaat	2040
cccaatattt	taataactta	tgcaagattt	tttttattaa	tgagatgatg	tgtttgtgac	2100
tgagattgag	tcatacatTT	cactaagaaa	tggttccaag	taccaaacta	tcatagacca	2160
gttgcaaaaca	tgacgttcgg	gagtgggtcac	tttgatagtt	caatttcac	ttggcttctt	2220
attcctttta	taattctaatt	tcttcttgtg	taaactattt	catgtattat	ttttctttta	2280
aattttacatg	tcattttattt	tgctcacta	actcaatttt	gcatataaca	atgataagtg	2340
atattttgac	tcacaaaatt	tacatcaaat	ttcgacatcg	tttattatgt	tcattggatg	2400
attaacaaat	ataacaaact	ttgcaactaa	ttaaccacca	actgaatata	attaactata	2460
actgtgaaag	tagttaactc	atTTTTatat	ttcatagatc	aaataagaga	aataacggta	2520
tattaatccc	tccaaaaaaa	aaaaacggta	tattttactaa	aaaatctaag	ccacgtagga	2580
ggataacagg	atccccgtag	gaggataaca	tccaatccaa	ccaatcacia	caatcctgat	2640
gagataaccc	actttaagcc	cacgcatctg	tggcacatct	acattatcta	aatcacacat	2700
tcttccacac	atctgagcca	cacaaaaacc	aatccacatc	tttatcacc	attctataaa	2760
aatcacact	ttgtgagtct	acactttgat	tcccttcaaa	cacatacaaa	gagaagagac	2820
taattaatta	attaatcatc	ttgagagaaa	atgtcgggta	aaggagaagg	accagctatc	2880
ggtatcgatc	ttggtaccac	ttactcttgc	gtcggagtat	ggcaacacga	ccgtgttgag	2940

atcattgcta	atgatcaagg	aaacagaacc	acgccatott	acgttgcttt	caccgactcc	3000
gagaggttga	tcggtgacgc	agctaagaat	caggtcgcca	tgaaccccggt	taacaccggt	3060
ttcgacgcta	agaggttgat	cggtcgtcgt	ttctctgaca	gctctgttca	gagtgcacatg	3120
aaattgtggc	cattcaagat	tcaagccgga	cctgccgata	agccaatgat	ctacgtcgaa	3180
tacaaggggtg	aagagaaaga	gttcgcagct	gaggagattt	cttccatggt	tcttattaag	3240
atgcgtgaga	ttgctgaggc	ttacottggt	gtcacaatca	agaacgccgt	tgttaccggt	3300
ccagcttact	tcaacgactc	tcagcgtcag	gctacaaagg	atgctgggtgt	catcgctggt	3360
ttgaacgtta	tgcgaatcat	caacgagcct	acagccgccg	ctattgccta	cggctcttgac	3420
aaaaaggcta	ccagcgttgg	agagaagaat	gttctttatct	tcgatcttgg	tgggtggcact	3480
tttgatgtct	ctcttcttac	cattgaagag	ggtatctttg	aggtgaaggc	aactgctggt	3540
gacacccatc	ttggtgggga	agattttgac	aacagaatgg	ttaaccactt	tgtccaagag	3600
ttcaagagga	agagtaagaa	ggatatcacc	ggtaacccaa	gagctcttag	gagggtgaga	3660
acttcctgtg	agagagcgaa	gaggactctt	tcttccactg	ctcagaccac	catcgagatt	3720
gactctctat	acgaggggtat	cgacttctac	tccaccatca	cccgtgctag	atttgaggag	3780
ctcaacatgg	atctcttcag	gaagtgtatg	gagccagttg	agaagtgtct	tcgtgatgct	3840
aagatggaca	agagcactgt	tcgatgatgtt	gtccttggtg	gtggttctac	ccgtatccct	3900
aaggttcagc	aattgctcca	ggacttcttc	aacggcaaag	agctttgcaa	gtctattaac	3960
cctgatgagg	ctgttgcta	cgggtgctgct	gtccagggag	ctattctcag	cgggtgaagga	4020
aacgagaagg	ttcaagatct	tctattgctc	gatgtcactc	ctctctccct	tggtttgga	4080
actgccggtg	gtgtcatgac	cactttgatc	ccaaggaaca	caaccatccc	aaccaagaag	4140
gaacaagtct	tctccacctt	ctcagacaac	caaccgggtg	tgttgatcca	ggtgtacgaa	4200
ggagagagag	ccagaaccaa	ggacaacaac	cttcttggtt	aatttgagct	ctccggaatt	4260
cctccagctc	ctcgtgggtgt	ccccagatc	acagtctgct	ttgacattga	tgccaatggt	4320
atcctcaatg	tctctgctga	ggacaagacc	accggacaga	agaacaagat	caccatcacc	4380
aatgacaagg	gtcgtctctc	caaggatgag	attgagaaga	tggttcaaga	ggctgagaag	4440
tacaagtccg	aagacgagga	gcacaagaag	aaggttgaag	ccaagaacgc	tctcgagaa	4500
tacgcttaca	acatgaggaa	caccatccaa	gacgagaaga	ttggtgagaa	gtccccggct	4560
gcagacaaga	agaagatcga	ggattctatt	gagcaggcga	ttcaatggct	cgagggtaac	4620
cagttggctg	aggctgatga	gttcgaagac	aagatgaagg	aattggagag	catctgcaac	4680
ccaatcattg	ccaagatgta	ccaaggagct	ggtgggtgaag	ccggtgggtcc	aggtgcctct	4740
ggtatggacg	atgatgctcc	ccctgcttca	ggcgggtgctg	gacctaaagat	cgaggagggtc	4800
gactaagagc	tcagctcgaa	tttccccgat	cgttcaaaca	tttggcaata	aagtttctta	4860

agattgaatc	ctgttgccgg	tcttgcatg	attatcatat	aatttctgtt	gaattacggt	4920
aagcatgtaa	taattaacat	gtaatgcatg	acgttattta	tgagatgggt	ttttatgatt	4980
agagtcccg	aattatacat	ttaatacgcg	atagaaaaca	aaatatagcg	cgcaaactag	5040
gataaattat	cgcgcgcggt	gtcatctatg	ttactagatc	gaattcgtaa	tcatggtcac	5100
agctgtttcc	tgtgtgaaat	tgttatccgg	ggctggctctg	tacattcatc	ttgccgcctt	5160
tgcattcact	tggccacaaa	gagtagagag	aaggaagaga	agagcccaga	cttcaagaag	5220
cgaccttgca	agtgcactcg	agggtcagaa	actgtatatc	atatctatgt	gagagaaagg	5280
ggaacatttg	agatggagtc	catttacttg	aggtatactt	attattttga	tcaataaatt	5340
tgtatacttc	ttatttagat	caataaattt	gtcattaagc	tataatccaa	aataaattac	5400
gatcaaatat	gcaaatgtta	gccagtactt	gtgttaaact	tgatggcatc	tcttggtttc	5460
tttggcaatc	acatgcctaa	gaaataaata	gtatcatatg	attgtgtttg	gtcagacttc	5520
agagtcagat	gactctgttt	ggataaacag	cttaattaag	cgcttataga	atatcatatg	5580
attgtgtttg	gtcagacttc	agagcatctc	ttggtttctc	tggcaatcat	atgcctaaga	5640
aataaatagt	atcatatgat	tgtgtttggt	cagacttcag	agtcagatga	ccctgtttgg	5700
gtaaacagct	taattaagtg	cttatagaat	aagcgcttat	catataagtg	cttttgtaca	5760
gttattttcta	tgaaagtaga	agaaatagtc	atattgtttt	aatataagct	atcctggaga	5820
gcttgtggaa	ataaccagaa	agaacttat	ggacacgtca	tgagctgttt	acataagatc	5880
tccctaacag	tctcaaaagt	gtttatgcc	gtagataaat	tcaaataagt	caatctaaac	5940
agaccctaaa	tccattatgg	tacctatcat	tttagcttat	tccatcttta	ttaagaatgt	6000
catgagataa	cataatgata	acacattatt	ttgacacaaa	tgggcagatc	tagcaattta	6060
actctggagt	ccttcaagac	tgtgtttctt	acgaagtcca	cgtccctgaa	tcatgttcct	6120
gtatggaagc	ctgaaagacc	tcaaattcta	aaagggtggc	ataaattgaa	ggtttacaaa	6180
atataccctg	cgggcttgac	acagaggcaa	gctctttata	ccttccagtt	caacggggat	6240
gttgatttca	gaagtcactt	ggagagcaat	ccttgtgcc	agtttgaagt	aatttttgtg	6300
tagcatatgt	tgagctacct	acaatttaca	tgatcaccta	gcattagctc	tttcaactta	6360
ctgagagaat	gaagttttag	gaatgagtat	gaccatggag	tccgcatggc	tttgtaatgc	6420
ctaccctact	ttggccaact	catcggggat	ttacattcag	aaaatataca	tgacttcaac	6480
cataacttaa	cccctttttg	taagataact	gaatgttcac	atttaatgtt	gggttgtagt	6540
gtttttactt	gattatatcc	agacagttac	aagttggaca	acaagattgt	gggtctgtac	6600
tgttatttat	ttattttttt	tttagcagaa	acaccttatc	ttttgtttcg	tttgaatgta	6660
gaatgaaaat	aaaagaaaga	aaatataaca	tcatcggccg	cgcttgtcta	atttcgggca	6720
gttaggatcc	tctccggtca	ccggaaagtt	tcagtagaag	aaacaaaaca	ccgtgactaa	6780
aatgatacta	ttatttttatt	tattgtgttt	ttcttttttc	taccggaact	ttttagaacg	6840

gatcccaact cgttccgggg ccgctacaac tgaacaaaa gaagatattt tctctctctt 6900
cagaaatgta agtttttcctt tacagatacc cattcaccat ttgattcaga tgtggtgact 6960
agagataaag cataactaatt tgactcttgg aaacccataa agtttatgtt atccgtgttc 7020
tggaccaatc cacttggggg cataacctgt gtctatgtgt ggtttggtt ccattctgat 7080
ttatgcggcg acttgtaatt taaaatctag gaggggcaga cattgaacaa tcccaatatt 7140
ttaataactt atgcaagatt ttttttatta atgagatgat gtgtttgtga ctgagattga 7200
gtcatacatt tctaagaa atggttccaa gtaccaaact atcatgacc agttgcaaac 7260
atgacgttcg ggagtggca ctttgatagt tcaatttcat cttggcttct tattcctttt 7320
ataattctaa ttcttcttgt gtaaaactatt tcatgtatta tttttcttta aaatttacat 7380
gtcattttatt ttgcctcact aactcaattt tgcatataac aatgataagt gatattttga 7440
ctcacaaaat ttacatcaaa tttagacatc gtttattatg ttcatggat gattaacaaa 7500
tataacaaac ttgcaacta attaaccacc aactgaatat aattaactat aactgtgaaa 7560
gtagttaact cttttttata ttcatagat caaataagag aaataacggt atattaatcc 7620
ctccaaaaaa aaaaaacggt atatttacta aaaaatctaa gccacgtagg aggataacag 7680
gatccccgta ggaggataac atccaatcca accaatcaca acaatcctga tgagataacc 7740
cactttaagc ccacgcatct gtggcacatc tacattatct aaatcacaca ttcttcacac 7800
catctgagcc acacaaaaac caatccacat ctttatcacc cattctataa aaaatcacac 7860
tttgtgagtc tacactttga ttcccttcaa acacatacaa agagaagaga ctaattaatt 7920
aattaatcat cttgagagaa aatgtttggg cgcggaccaa caaggaagag tgataacacc 7980
aaatattacg atattcttgg tgtttcaaaa agtgctagtg aagatgaaat caagaaagcc 8040
tatagaaagg cagcgatgaa gaaccatcca gataagggtg gggatcctga gaagttcaag 8100
gagttgggcc aagcatatga agtggtgagc gatcctgaaa agaaagaact gtatgatcaa 8160
tatggtgaag atgcccttaa agaaggaatg gggggaggcg caggaagctc atttcataat 8220
ccgtttgata ttttogaatc attttttggg gcaggctttg gtggtggtgg tccttcacgc 8280
gcaagaagac agaagcaagg agaagatgtg gtgcattcta taaaggtttc cttggaggat 8340
gtgtataacg gcactacaaa gaagctatca ctttctagga atgcactgtg ctcaaaatgt 8400
aaagggaaag gttcaaaaag tggaactgct ggaagggtgt ttggatgcca gggcacaggt 8460
atgaagatta ccagaaggca aattggactg ggcattgattc aacaaatgca acacgtctgt 8520
cctgactgca aaggaacagg cgaggctatt agtgagagag atagatgcc tcaatgcaag 8580
ggaaacaaga ttactcaaga aaagaaggtg ctggaggtgc atgtggaaaa ggggatgcag 8640
cagggtcaca agattgtatt cgaaggacaa gctgatgaag ctctgatac aatcacagga 8700
gacatagttt ttgtcttgca agtaaggga catccgaagt ttcggaggga gcgtgatgac 8760

ctccacattg aacacaattt gagcttaact gaggtctctt gtggcttcca gtttaatgtc 8820
acacatcttg atggaaggca actattggtc aaatcgaacc ccggcgaagt catcaagcca 8880
ggtcaacata aagctataaa tgatgaggga atgccacaac atggtaggcc gttcatgaag 8940
ggacgcctat acatcaagtt tagtgttgat ttcccggatt cgggttttct tcccccaagc 9000
caaagcctgg aattagaaaa gatattacct caaaagacaa gcaagaactt gtcccaaaag 9060
gaggtagatg attgtgagga gaccaccctg catgatgtca atattgcaga ggagatgagt 9120
cgaaagaagc aacaataaccg tgaggcatat gatgacgatg atgatgaaga tgatgagcac 9180
tcgcagcctc ggggtgcaatg cgctcaacag taggagctca gctcgaattt ccccgatcgt 9240
tcaaacattt ggcaataaag tttcttaaga ttgaatcctg ttgccgggtct tgcgatgatt 9300
atcatataat ttctgttgaa ttacgttaag catgtaataa ttaacatgta atgcatgacg 9360
ttatttatga gatgggtttt tatgattaga gtcccgcaat tatacattta atacgcgata 9420
gaaaacaaaa tatagcgcgc aaactaggat aaattatcgc gcgcgggtgtc atctatgtta 9480
ctagatcgaa ttc 9493

<210> 124

<211> 34

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> supP19-plasto.r

<400> 124

cctgtatag ctggtccat tttctcaa gatg 34

10 <210> 125

<211> 20

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> supP19-1c

<400> 125

atggaacgag ctatacaagg 20

<210> 126

<211> 32

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> SupP19-SacI.r

<400> 126

5 agtcgagctc ttactcgctt tcttttcga ag 32

<210> 127

<211> 3462

<212> ADN

<213> Artificial

10 <220>

<223> A/California/04/09 (casete número 560)

<400> 127

gtcaacatgg tggagcacga cacacttgtc tactccaaaa atatcaaaga tacagtctca	60
gaagacccaaa gggcaattga gacttttcaa caaagggtaa tatccggaaa cctcctcgga	120
ttccattgcc cagctatctg tcactttatt gtgaagatag tggaaaagga aggtggctcc	180
tacaaatgcc atcattgcga taaaggaaag gccatcgttg aagatgcctc tgccgacagt	240
ggccccaaag atggaccccc acccacgagg agcatcgttg aaaaagaaga cgttccaacc	300
acgtcttcaa agcaagtgga ttgatgtgat aacatgggtg agcacgacac acttgtctac	360
tccaaaaata tcaaagatac agtctcagaa gaccaaaggg caattgagac ttttcaacaa	420
agggtaatat ccggaaacct cctcggattc cattgcccag ctatctgtca ctttattgtg	480
aagatagtgg aaaaggaagg tggctcctac aaatgccatc attgcgataa aggaaaggcc	540
atcgttgaag atgcctctgc cgacagtggc cccaaagatg gacccccacc cacgaggagc	600
atcgtggaaa aagaagacgt tccaaccacg tcttcaaagc aagtggattg atgtgatatc	660
tccactgacg taagggatga cgcacaatcc cactatcctt cgcaagaccc ttcctctata	720
taaggaagtt catttcattt ggagaggat taaaatctta atagggtttg ataaaagcga	780
acgtggggaa acccgaacca aaccttcttc taaactctct ctcatctctc ttaaagcaaa	840
cttctctctt gtctttcttg cgtgagcgat cttcaacggt gtcagatcgt gcttcggcac	900
cagtacaacg ttttctttca ctgaagcgaa atcaaagatc tctttgtgga cacgtagtgc	960
ggcgccatta aataacgtgt acttgctcta ttcttgtcgg tgtggctctg ggaaaagaaa	1020
gcttgctgga ggctgctgtt cagccccata cattacttgt tacgattctg ctgactttcg	1080
gcgggtgcaa tatctctact tctgcttgac gaggtattgt tgcctgtact tctttcttct	1140
tcttcttgct gattggttct ataagaaatc tagtattttc tttgaaacag agttttcccg	1200
tggttttcga acttgagaaa agattgttaa gcttctgtat attctgcca aatttgctcg	1260
gcccattggcg aaaaacgttg cgattttcgg cttattgttt tctcttcttg tgttggttcc	1320
ttctcagatc ttcgctgaca cattatgtat aggttatcat gcgaacaatt caacagacac	1380
tgtagacaca gtactagaaa agaattgtaac agtaacacac tctgttaacc ttctagaaga	1440
caagcataac gggaaactat gcaaactaag aggggtagcc ccattgcatt tgggtaaatg	1500
taacattgct ggctggatcc tgggaaatcc agagtgtgaa tcactctcca cagcaagctc	1560
atggtcctac attgtggaaa cacctagttc agacaatgga acgtgttacc caggagattt	1620
catcgattat gaggagctaa gagagcaatt aagctcagtg tcatcatttg aaagggttga	1680
gatattcccc aagacaagtt catggcccaa tcatgactcg aacaaagggt taacggcagc	1740

atgtcctcat	gctggagcaa	aaagcttcta	caaaaattta	atatggctag	ttaaaaaagg	1800
aaattcatac	ccaaagctca	gcaaatccta	cattaatgat	aaagggaaaag	aagtcctcgt	1860
gctatggggc	attcaccatc	catctactag	tgctgaccaa	caaagtctct	atcagaatgc	1920
agatacatat	gtttttgtgg	ggatcatcaag	atacagcaag	aagttcaagc	cggaaatagc	1980
aataagaccc	aaagtgaggg	atcaagaagg	gagaatgaac	tattactgga	cactagtaga	2040
gccgggagac	aaaataacat	tcgaagcaac	tggaatcta	gtggtaccga	gatatgcatt	2100
cgcaatggaa	agaaatgctg	gatctgggtat	tatcatttca	gatacaccag	tccacgattg	2160
caatacaact	tgtcaaacac	ccaaggggtgc	tataaacacc	agcctcccat	ttcagaatat	2220
acatccgatc	acaattggaa	aatgtccaaa	atatgtaaaa	agcacaaaat	tgagactggc	2280
cacaggattg	aggaatatcc	cgtctattca	atctagagga	ctatttgggg	ccattgccgg	2340
tttcattgaa	gggggggtgga	cagggatggt	agatggatgg	tacggttatc	accatcaaaa	2400
tgagcagggg	tcaggatatg	cagccgacct	gaagagcaca	cagaatgcca	ttgacgagat	2460
tactaacaaa	gtaaattctg	ttattgaaaa	gatgaataca	cagttcacag	cagtaggtaa	2520
agagttcaac	cacctggaaa	aaagaataga	gaatttaaata	aaaaaagttg	atgatgggtt	2580
cctggacatt	tggaacttaca	atgccgaact	gttggttcta	ttggaaaatg	aaagaacttt	2640
ggactaccac	gattcaaatg	tgaagaactt	atatgaaaag	gtaagaagcc	agctaaaaaa	2700
caatgccaaag	gaaattggaa	acggctgctt	tgaattttac	cacaaatgcg	ataacacgtg	2760
catggaaagt	gtcaaaaatg	ggacttatga	ctacccaaaa	tactcagagg	aagcaaaatt	2820
aaacagagaa	gaaatagatg	gggtaaagct	ggaatcaaca	aggatttacc	agattttggc	2880
gatctattca	actgtcgcca	gttcattggt	actggtagtc	tccctggggg	caatcagttt	2940
ctggatgtgc	tctaattgggt	ctctacagtg	tagaatatgt	atttaaaggc	ctattttctt	3000
tagtttgaat	ttactgttat	tcggtgtgca	tttctatggt	tggtgagcgg	ttttctgtgc	3060
tcagagtgtg	tttattttat	gtaatttaata	ttctttgtga	gctcctgttt	agcaggtcgt	3120
cccttcagca	aggacacaaa	aagattttta	ttttattaaa	aaaaaaaaaa	aaaaagaccg	3180
ggaattcgat	atcaagctta	tcgacctgca	gatcgttcaa	acatttgcca	ataaagtttc	3240
ttaagattga	atcctgttgc	cggctcttgcg	atgattatca	tataatttct	gttgaattac	3300
gttaagcatg	taataattaa	catgtaatgc	atgacgttat	ttatgagatg	ggtttttatg	3360
attagagtcc	cgcaattata	catttaatac	gcgatagaaa	acaaaatata	gcgcgcaaac	3420
taggataaat	tatcgcgcg	ggtgtcatct	atgttactag	at		3462

<210> 128

<211> 573

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> A/California/04/09

<400> 128

Met	Ala	Lys	Asn	Val	Ala	Ile	Phe	Gly	Leu	Leu	Phe	Ser	Leu	Leu	Val	1	5	10	15
Leu	Val	Pro	Ser	Gln	Ile	Phe	Ala	Asp	Thr	Leu	Cys	Ile	Gly	Tyr	His	20	25	30	
Ala	Asn	Asn	Ser	Thr	Asp	Thr	Val	Asp	Thr	Val	Leu	Glu	Lys	Asn	Val	35	40	45	
Thr	Val	Thr	His	Ser	Val	Asn	Leu	Leu	Glu	Asp	Lys	His	Asn	Gly	Lys	50	55	60	
Leu	Cys	Lys	Leu	Arg	Gly	Val	Ala	Pro	Leu	His	Leu	Gly	Lys	Cys	Asn	65	70	75	80
Ile	Ala	Gly	Trp	Ile	Leu	Gly	Asn	Pro	Glu	Cys	Glu	Ser	Leu	Ser	Thr	85	90	95	
Ala	Ser	Ser	Trp	Ser	Tyr	Ile	Val	Glu	Thr	Pro	Ser	Ser	Asp	Asn	Gly	100	105	110	
Thr	Cys	Tyr	Pro	Gly	Asp	Phe	Ile	Asp	Tyr	Glu	Glu	Leu	Arg	Glu	Gln	115	120	125	
Leu	Ser	Ser	Val	Ser	Ser	Phe	Glu	Arg	Phe	Glu	Ile	Phe	Pro	Lys	Thr	130	135	140	
Ser	Ser	Trp	Pro	Asn	His	Asp	Ser	Asn	Lys	Gly	Val	Thr	Ala	Ala	Cys	145	150	155	160
Pro	His	Ala	Gly	Ala	Lys	Ser	Phe	Tyr	Lys	Asn	Leu	Ile	Trp	Leu	Val	165	170	175	
Lys	Lys	Gly	Asn	Ser	Tyr	Pro	Lys	Leu	Ser	Lys	Ser	Tyr	Ile	Asn	Asp	180	185	190	
Lys	Gly	Lys	Glu	Val	Leu	Val	Leu	Trp	Gly	Ile	His	His	Pro	Ser	Thr	195	200	205	
Ser	Ala	Asp	Gln	Gln	Ser	Leu	Tyr	Gln	Asn	Ala	Asp	Thr	Tyr	Val	Phe	210	215	220	
Val	Gly	Ser	Ser	Arg	Tyr	Ser	Lys	Lys	Phe	Lys	Pro	Glu	Ile	Ala	Ile	225	230	235	240
Arg	Pro	Lys	Val	Arg	Asp	Gln	Glu	Gly	Arg	Met	Asn	Tyr	Tyr	Trp	Thr	245	250	255	260

					245					250					255	
Leu	Val	Glu	Pro	Gly	Asp	Lys	Ile	Thr	Phe	Glu	Ala	Thr	Gly	Asn	Leu	
			260					265					270			
Val	Val	Pro	Arg	Tyr	Ala	Phe	Ala	Met	Glu	Arg	Asn	Ala	Gly	Ser	Gly	
		275					280					285				
Ile	Ile	Ile	Ser	Asp	Thr	Pro	Val	His	Asp	Cys	Asn	Thr	Thr	Cys	Gln	
	290					295					300					
Thr	Pro	Lys	Gly	Ala	Ile	Asn	Thr	Ser	Leu	Pro	Phe	Gln	Asn	Ile	His	
305					310					315					320	
Pro	Ile	Thr	Ile	Gly	Lys	Cys	Pro	Lys	Tyr	Val	Lys	Ser	Thr	Lys	Leu	
				325					330					335		
Arg	Leu	Ala	Thr	Gly	Leu	Arg	Asn	Ile	Pro	Ser	Ile	Gln	Ser	Arg	Gly	
			340					345					350			
Leu	Phe	Gly	Ala	Ile	Ala	Gly	Phe	Ile	Glu	Gly	Gly	Trp	Thr	Gly	Met	
		355					360					365				
Val	Asp	Gly	Trp	Tyr	Gly	Tyr	His	His	Gln	Asn	Glu	Gln	Gly	Ser	Gly	
	370					375					380					
Tyr	Ala	Ala	Asp	Leu	Lys	Ser	Thr	Gln	Asn	Ala	Ile	Asp	Glu	Ile	Thr	
385					390					395					400	
Asn	Lys	Val	Asn	Ser	Val	Ile	Glu	Lys	Met	Asn	Thr	Gln	Phe	Thr	Ala	
				405					410					415		
Val	Gly	Lys	Glu	Phe	Asn	His	Leu	Glu	Lys	Arg	Ile	Glu	Asn	Leu	Asn	
			420					425					430			
Lys	Lys	Val	Asp	Asp	Gly	Phe	Leu	Asp	Ile	Trp	Thr	Tyr	Asn	Ala	Glu	
		435					440					445				
Leu	Leu	Val	Leu	Leu	Glu	Asn	Glu	Arg	Thr	Leu	Asp	Tyr	His	Asp	Ser	
	450					455					460					
Asn	Val	Lys	Asn	Leu	Tyr	Glu	Lys	Val	Arg	Ser	Gln	Leu	Lys	Asn	Asn	
465					470					475					480	
Ala	Lys	Glu	Ile	Gly	Asn	Gly	Cys	Phe	Glu	Phe	Tyr	His	Lys	Cys	Asp	
				485					490					495		
Asn	Thr	Cys	Met	Glu	Ser	Val	Lys	Asn	Gly	Thr	Tyr	Asp	Tyr	Pro	Lys	
			500					505					510			

Tyr Ser Glu Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly Val Lys
515 520 525

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

Ala Ser Ser Leu Val Leu Val Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp
545 550 555 560

Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
565 570

<210> 129

<211> 747

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> promotor 2X35S

<400> 129

gtcaacatgg tggagcacga cacacttgtc tactccaaaa atatcaaaga tacagtctca 60
gaagaccaaa gggcaattga gacttttcaa caaagggtaa tatccggaaa cctcctcgga 120
ttccattgcc cagctatctg tcactttatt gtgaagatag tggaaaagga aggtggctcc 180
tacaaatgcc atcattgcga taaaggaaag gccatcgttg aagatgcctc tgccgacagt 240
gggcccaaag atggaccccc acccacgagg agcatcgttg aaaaagaaga cgttccaacc 300
acgtcttcaa agcaagtgga ttgatgtgat aacatgggtg agcacgacac acttgtctac 360
tccaaaaata tcaaagatac agtctcagaa gaccaaaggg caattgagac ttttcaacaa 420
agggtaatat ccggaaacct cctcggattc cattgcccag ctatctgtca ctttattgtg 480
aagatagtgg aaaaggaagg tggtcctac aaatgccatc attgcgataa aggaaaggcc 540
atcgttgaag atgcctctgc cgacagtggc cccaaagatg gacccccacc cagaggagc 600
atcgtggaaa aagaagacgt tccaaccacg tcttcaaagc aagtggattg atgtgatatc 660
tccactgacg taagggatga cgcacaatcc cactatcctt cgcaagaccc ttcctctata 720
10 taaggaagtt catttcattt ggagagg 747

<210> 130
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> cebador PacI-MCS-2X35S.c
 <400> 130
 aattgttaat taagtcgaca agcttgcacg cctgcaggtc aac 43
 <210> 131
 10 <211> 48
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> cebador CPMV 5'UTR-2X35S.r
 15 <400> 131
 tcaaaaccta ttaagatttt aatacctctc caaatgaaat gaacttcc 48
 <210> 132
 <211> 49
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> cebador 2X35S-CPMV 5'UTR.c
 <400> 132
 ttggagagggt attaaaaatct taatagggtt tgataaaagc gaacgtggg 49
 25 <210> 133
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> cebador ApaI-M prot.r
 <400> 133
 tctccatggg cccgacaaat ttgggcagaa tatacagaag ctta 44
 <210> 134

<211> 3505

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> casete de expresión número 972

<400> 134

ttaattaagt cgacaagctt gcatgcctgc aggtcaacat ggtggagcac gacacacttg	60
tctactccaa aaatatcaaa gatacagtct cagaagacca aagggcaatt gagacttttc	120
aacaaaggggt aatatccgga aacctcctcg gattccattg cccagctatc tgtcacttta	180
ttgtgaagat agtggaaaag gaaggtggct cctacaaatg ccatcattgc gataaaggaa	240
aggccatcgt tgaagatgcc tctgccgaca gtggtcccaa agatggaccc ccacccacga	300
ggagcatcgt ggaaaaagaa gacgttccaa ccacgtcttc aaagcaagtg gattgatgtg	360
ataacatgggt ggagcacgac acacttgtct actccaaaaa tatcaaagat acagtctcag	420
aagaccaaag ggcaattgag acttttcaac aaagggtaat atccggaaac ctcctcggat	480
tccattgccc agctatctgt cactttattg tgaagatagt ggaaaaggaa ggtggctcct	540
acaaatgcca tcattgcgat aaaggaaagg ccatcgttga agatgcctct gccgacagtg	600

gtcccaaaga tggaccccca cccacgagga gcatcgtgga aaaagaagac gttccaacca 660
 cgtcttcaaa gcaagtggat tgatgtgata tctccactga cgttaagggat gacgcacaat 720
 cccactatcc ttcgcaagac ccttcctcta tataaggaag ttcatttcat ttggagaggt 780
 attaaaatct taataggttt tgataaaagc gaacgtgggg aaaccogaac caaaccttct 840
 tctaaactct ctctcatctc tcttaaagca aacttctctc ttgtcttctc tgcgtgagcg 900
 atcttcaacg ttgtcagatc gtgcttcggc accagtacaa cgttttcttt cactgaagcg 960
 aaatcaaaga tctctttgtg gacacgtagt gcggcgccat taaataacgt gtacttgtcc 1020
 tattcttgtc ggtgtggtct tgggaaaaga aagcttgctg gaggtgctg ttcagcccca 1080
 tacattactt gttacgattc tgctgacttt cggcggtgctc aatatctcta cttctgcttg 1140
 acgaggtatt gttgcctgta cttctttctt cttcttcttg ctgattgggt ctataagaaa 1200
 tctagtattt tctttgaaac agagttttcc cgtgggtttc gaacttggag aaagattggt 1260
 aagcttctgt atattctgcc caaatttgtc gggcccatgg agaaaatagt gcttcttctt 1320
 gcaatagtca gtcttgtaa aagtgatcag atttgattg gttaccatgc aaacaattca 1380
 acagagcagg ttgacacaat catggaaaag aacgttactg ttacacatgc ccaagacata 1440
 ctggaaaaga cacacaacgg gaagctctgc gatctagatg gagtgaagcc tctaatttta 1500
 agagattgta gtgtagctgg atggctctc gggaacccaa tgtgtgacga attcatcaat 1560
 gtaccggaat ggtcttacat agtggagaag gccaatccaa ccaatgacct ctgttaccga 1620
 gggagtttca acgactatga agaactgaaa cacctattga gcagaataaa ccattttgag 1680
 aaaattcaaa tcatcccaa aagttcttgg tccgatcatg aagcctcatc aggagttagc 1740
 tcagcatgtc catacctggg aagtcctcc ttttttagaa atgtggtatg gcttatcaaa 1800
 aagaacagta catacccaac aataaagaaa agctacaata ataccaacca agaggatctt 1860
 ttggtactgt ggggaattca ccatccta atgatggcag agcagacaag gctatatcaa 1920
 aaccaacca cctatatttc cattgggaca tcaacactaa accagagatt ggtaccaaaa 1980
 atagctacta gatccaaagt aaacgggcaa agtggaggga tggagttctt ctggacaatt 2040
 ttaaaacctt atgatgcaat caacttcgag agtaatggaa atttcattgc tccagaatat 2100
 gcatacaaaa ttgtcaagaa aggggactca gcaattatga aaagtgaatt ggaatatggt 2160
 aactgcaaca ccaagtgtca aactccaatg ggggcgataa actctagtat gccattccac 2220
 aacatacacc ctctcaccat cggggaatgc cccaaatatg tgaaatcaaa cagattagtc 2280
 cttgcaacag ggctcagaaa tagccctcaa agagagagca gaagaaaaaa gagaggacta 2340
 tttggagcta tagcaggttt tatagagggg ggtggcagg gaatggtaga tggttggtat 2400
 gggtagcacc atagcaatga gcaggggagt gggtagctg cagacaaaga atccactcaa 2460
 aaggcaatag atggagtcac caataaggtc aactcaatca ttgacaaaat gaacactcag 2520

```

tttgaggccg ttggaaggga atttaataac ttagaaagga gaatagagaa tttaaacaag 2580
aagatggaag acgggtttct agatgtctgg acttataatg ccgaacttct ggttctcatg 2640
gaaaatgaga gaactctaga ctttcatgac tcaaagtta agaacctcta cgacaaggtc 2700
cgactacagc ttagggataa tgcaaaggag ctgggtaacg gttgtttcga gttctatcac 2760
aatgtgata atgaatgtat ggaaagtata agaaacggaa cgtacaacta tccgcagtat 2820
tcagaagaag caagattaaa aagagaggaa ataagtggg taaaattgga atcaatagga 2880
acttaccaa tactgtcaat ttattcaaca gtggcgagtt ccctagcact ggcaatcatg 2940
atggctggtc tatctttatg gatgtgctcc aatggatcgt tacaatgcag aatttgcatt 3000
taaaggccta ttttctttag ttggaattta ctgttattcg gtgtgcattt ctatgtttgg 3060
tgagcggttt tctgtgctca gagtgtgttt attttatgta atttaatttc tttgtgagct 3120
cctgttttagc aggtcgtccc ttcagcaagg acacaaaaag attttaattt tattaaaaaa 3180
aaaaaaaaa aagaccggga attcgatatc aagcttatcg acctgcagat cgttcaaaca 3240
tttggcaata aagtttctta agattgaatc ctggtgccgg tcttgcgatg attatcatat 3300
aatttctggt gaattacgtt aagcatgtaa taattaacat gtaatgcag acgttattta 3360
tgagatgggt ttttatgatt agagtcccg aattatacat ttaatacgcg atagaaaaca 3420
aaatatagcg cgcaaactag gataaattat cgcgcgcggt gtcacttatg ttactagatt 3480
ctagagtctc aagcttcggc gcgcc 3505

```

<210> 135

<211> 1701

<212> ADN

5 <213> Virus de la influenza

<400> 135

atgaaggcaa tactagtagt tctgctatat acatttgcaa ccgcaaatgc agacacatta	60
tgtataggtt atcatgcgaa caattcaaca gacactgtag acacagtact agaaaagaat	120
gtaacagtaa cacactctgt taaccttcta gaagacaagc ataacgggaa actatgcaaa	180
ctaagagggg tagccccatt gcatttgggt aaatgtaaca ttgctggctg gatcctggga	240
aatccagagt gtgaatcact ctccacagca agctcatggt cctacattgt ggaaacacct	300
agttcagaca atggaacgtg ttaccagga gatttcatcg attatgagga gctaagagag	360
caattgagct cagtgtcatc atttgaaagg tttgagatat tccccaagac aagttcatgg	420
cccaatcatg actcgaacaa aggtgtaacg gcagcatgtc ctcatgctgg agcaaaaagc	480
ttctacaaaa atttaatatg gctagttaaa aaaggaaatt catacccaa gctcagcaaa	540
tcctacatta atgataaagg gaaagaagtc ctcgtgctat ggggcattca ccatccatct	600
actagtgtg accaaciaag tctctatcag aatgcagata catatgtttt tgtgggggtca	660
tcaagatata gcaagaagtt caagccggaa atagcaataa gacccaaagt gagggatcaa	720
gaaggagaa tgaactatta ctggacacta gtagagccgg gagacaaaat aacattcgaa	780
gcaactggaa atctagtggg accgagatat gcattcgcaa tggaaagaaa tgctggatct	840
ggtattatca tttcagatac accagtccac gattgcaata caacttgtca aacacccaag	900
ggtgctataa acaccagcct cccatttcag aatatacatc cgatcacaaat tggaaaatgt	960
ccaaaatatg taaaaagcac aaaattgaga ctggccacag gattgaggaa tatcccgtct	1020
attcaatcta gaggcctatt tggggccatt gccggtttca ttgaaggggg gtggacaggg	1080
atggtagatg gatggtacgg ttatcaccat caaaatgagc aggggtcagg atatgcagcc	1140
gacctgaaga gcacacagaa tgccattgac gagattacta acaaagtaaa ttctgttatt	1200
gaaaagatga atacacagtt cacagcagta ggtaaagagt tcaaccacct ggaaaaaaga	1260
atagagaatt taaataaaaa agttgatgat ggtttcctgg acatttggac ttacaatgcc	1320
gaactgttgg ttctattgga aaatgaaaga actttggact accacgattc aaatgtgaag	1380
aacttatatg aaaaggtgag aagccagcta aaaaacaatg ccaaggaaat tggaaacggc	1440
tgctttgaat ttaccacaa atgcgataac acgtgcatgg aaagtgtcaa aaatgggact	1500
tatgactacc caaaatactc agaggaagca aaattaaaca gagaagaaat agatggggta	1560
aagctggaat caacaaggat ttaccagatt ttggcgatct attcaactgt cgccagttca	1620
ttggtactgg tagtctccct gggggcaatc agtttctgga tgtgctctaa tgggtctcta	1680
cagtgtagaa tatgtattta a	1701

<210> 136

<211> 2056

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> para ser sintetizado que contiene H1 A/California/4/2009

<400> 136

atgctaatat cacgtagtgc ggcgccatta aataacgtgt acttgtccta ttcttgtcgg	60
tgtggtcttg ggaaaagaaa gcttgctgga ggctgctgtt cagccccata cattacttgt	120
tacgattctg ctgactttcg gcgggtgcaa tatctctact tctgcttgac gaggtattgt	180
tgcctgtact tctttcttct tcttcttgct gattggttct ataagaaatc tagtattttc	240
tttgaaacag agttttcccg tggttttcga acttgagaaa agattgttaa gcttctgtat	300
attctgcca aatttgtcgg gcccatggcg aaaaacgttg cgattttcgg cttattgttt	360
tctcttcttg tgttggttcc ttctcagatc ttcgctgaca cattatgtat aggttatcat	420
gcgaacaatt caacagacac tgtagacaca gtactagaaa agaattgtaac agtaacacac	480
tctgttaacc ttctagaaga caagcataac gggaaactat gcaaactaag aggggtagcc	540
ccattgcatt tgggtaaatg taacattgct ggctggatcc tgggaaatcc agagtgtgaa	600
tcactctcca cagcaagctc atggtcctac attgtggaaa cacctagttc agacaatgga	660

acgtgttacc caggagattt catcgattat gaggagctaa gagagcaatt aagctcagtg	720
tcatcatttg aaagggttga gatattcccc aagacaagtt catggcccaa tcatgactcg	780
aacaaaggtg taacggcagc atgtcctcat gctggagcaa aaagcttcta caaaaattta	840
atatggctag ttaaaaaagg aaattcatac ccaaagctca gcaaataccta cattaatgat	900
aaagggaag aagtcctcgt gctatggggc attcaccatc catctactag tgctgaccaa	960
caaagtctct atcagaatgc agatacatat gtttttgtgg ggtcatcaag atacagcaag	1020
aagttcaagc cggaaatagc aataagaccc aaagtgaggg atcaagaagg gagaatgaac	1080
tattactgga cactagtaga gccgggagac aaaataacat tcgaagcaac tggaaatcta	1140
gtggtaccga gatatgcatt cgcaatggaa agaaatgctg gatctggtat tatcatttca	1200
gatacaccag tccacgattg caatacaact tgtcaaacac ccaaggggtgc tataaacacc	1260
agcctcccat ttcagaatat acatccgatc acaattggaa aatgtccaaa atatgtaaaa	1320
agcacaaaat tgagactggc cacaggattg aggaatatcc cgtctattca atctagagga	1380
ctatttgggg ccattgccgg tttcattgaa ggggggtgga cagggatggt agatggatgg	1440
tacggttatc accatcaaaa tgagcagggg tcaggatatg cagccgacct gaagagcaca	1500
cagaatgcca ttgacgagat tactaacaac gttaaattctg ttattgaaaa gatgaatata	1560
cagttcacag cagtaggtaa agagttcaac cacctggaaa aaagaataga gaattttaat	1620
aaaaaagttg atgatggttt cctggacatt tggacttaca atgccgaact gttgggttcta	1680
ttggaaaatg aaagaacttt ggactaccac gattcaaatg tgaagaactt atatgaaaag	1740
gtaagaagcc agctaaaaaa caatgccaa gaaattggaa acggctgctt tgaattttac	1800
cacaaatgcg ataacacgtg catggaaagt gtcaaaaatg ggacttatga ctacccaaaa	1860
tactcagagg aagcaaaatt aaacagagaa gaaatagatg gggtaaagct ggaatcaaca	1920
aggatttacc agattttggc gatctattca actgtcgcca gttcattggt actggtagtc	1980
tccctggggg caatcagttt ctggatgtgc tctaattgggt ctctacagtg tagaatatgt	2040
atttaaaggc ctaata	2056

<210> 137

<211> 714

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> fragmento sintetizado 1

<400> 137

atgctaatat	cacgtagtgc	ggcgccatta	aataacgtgt	acttgtccta	ttcttgtcgg	60
tgtggctcttg	ggaaaagaaa	gcttgctgga	ggctgctggt	cagccccata	cattacttgt	120
tacgattctg	ctgactttcg	gcggggtgcaa	tatctctact	tctgcttgac	gaggtattgt	180
tgcctgtact	tctttcttct	tcttcttgct	gattggttct	ataagaaatc	tagtattttc	240
tttgaaacag	agttttcccg	tggttttcga	acttgagaaa	agattgttaa	gcttctgtat	300
attctgcccc	aatttgtcgg	gcccattggc	aaaaacgttg	cgattttcgg	cttattgttt	360
tctcttcttg	tggtgggtcc	ttctcagatc	ttcgctgaca	cattatgtat	aggttatcat	420
gcgaacaatt	caacagacac	tgtagacaca	gtactagaaa	agaatgtaac	agtaacacac	480
tctgttaacc	ttctagaaga	caagcataac	gggaaactat	gcaaactaag	aggggtagcc	540
ccattgcatt	tgggtaaatg	taacattgct	ggctggatcc	tgggaaatcc	agagtgtgaa	600
tcactctcca	cagcaagctc	atggtcctac	attgtggaaa	cacctagttc	agacaatgga	660
acgtgttacc	caggagattt	catcgattat	gaggagctaa	gagagcaatt	aagc	714

5 <210> 138

<211> 849

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> fragmento sintetizado 2

<400> 138

tggaacacc tagttcagac aatggaacgt gttacccagg agatttcacg gattatgagg	60
agctaagaga gcaattaagc tcagtgtcat catttgaaag gtttgagata ttccccaaga	120
caagttcatg gcccaatcat gactcgaaca aaggtgtaac ggcagcatgt cctcatgctg	180
gagcaaaaag cttctacaaa aatttaatat ggctagttaa aaaaggaaat tcatacccaa	240
agctcagcaa atcctacatt aatgataaag ggaaagaagt cctcgtgcta tggggcattc	300
accatccatc tactagtgtc gaccaacaaa gtctctatca gaatgcagat acatatgttt	360
ttgtgggggc atcaagatac agcaagaagt tcaagccgga aatagcaata agacccaaag	420
tgagggatca agaagggaga atgaactatt actggacact agtagagccg ggagacaaaa	480
taacattcga agcaactgga aatctagtgg taccgagata tgcattcgca atggaaagaa	540
atgctggatc tgggtattatc atttcagata caccagtcca cgattgcaat acaacttgtc	600
aaacacccaa ggggtgctata aacaccagcc tcccatttca gaatatacat ccgatcacia	660
ttggaaaatg tccaaaatat gtaaaaagca caaaattgag actggccaca ggattgagga	720
atatcccgtc tattcaatct agaggactat ttggggccat tgccgggttc attgaagggg	780
ggtggacagg gatggtagat ggatgggtacg gttatcacca tcaaaatgag caggggtcag	840
gatatgcag	849

<210> 139

<211> 651

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> fragmento sintetizado 3

<400> 139

ttgaaggggg gtggacaggg atggtagatg gatgggtacgg ttatcaccat caaaatgagc 60
 aggggtcagg atatgcagcc gacctgaaga gcacacagaa tgccattgac gagattacta 120
 acaaagtaaa ttctgttatt gaaaagatga atacacagtt cacagcagta ggtaaagagt 180
 tcaaccacct ggaaaaaaga atagagaatt taaataaaaa agttgatgat ggtttcctgg 240
 acatttggac ttacaatgcc gaactgttgg ttctattgga aaatgaaaga actttggact 300
 accacgattc aaatgtgaag aacttatatg aaaaggtaag aagccagcta aaaaacaatg 360
 ccaaggaaat tggaaacggc tgctttgaat ttaccacaa atgcgataac acgtgcatgg 420
 aaagtgtcaa aaatgggact tatgactacc caaaatactc agaggaagca aaattaaaca 480
 gagaagaaat agatggggta aagctggaat caacaaggat ttaccagatt ttggcgatct 540
 attcaactgt cgccagttca ttggtactgg tagtctccct gggggcaatc agtttctgga 600
 tgtgctctaa tgggtctcta cagtgtagaa tatgtattta aaggcctaata a 651

<210> 140

<211> 48

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> cebador DrIII-MProt#2.c

<400> 140

atgctaatat cacgtagtgc ggcgccatta aataacgtgt acttgtcc 48

10 <210> 141

<211> 42

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> cebador H1 Cal.390r

<400> 141

gcttaattgc tctcttagct cctcataatc gatgaaatct cc 42

<210> 142

<211> 42

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> cebador H1 Cal.310c
 <400> 142
 tggaaacacc tagttcagac aatggaacgt gttaccagg ag 42
 <210> 143
 5 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> cebador H1 Cal.1159r
 10 <400> 143
 ctgcatatcc tgaccctgc tcattttgat ggtgataacc gt 42
 <210> 144
 <211> 42
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> cebador H1 Cal.1081c
 <400> 144
 ttgaaggggg gtggacaggg atggtagatg gatggtacgg tt 42
 20 <210> 145
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 25 <223> cebador Stul-H1 Cal.r
 <400> 145
 tattaggcct ttaaatacat attctacact gtagagaccc attag 45
 <210> 146
 <211> 3520
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> casete de expresión número 560

<400> 146

ttaattaagt cgacaagctt gcatgcctgc aggtcaacat ggtggagcac gacacacttg	60
tctactccaa aaatatcaaa gatacagtct cagaagacca aagggaatt gagacttttc	120
aacaaagggg aatatccgga aacctcctcg gattccattg cccagctatc tgtcacttta	180
ttgtgaagat agtggaagag gaaggtggct cctacaaatg ccatcattgc gataaaggaa	240
aggccatcgt tgaagatgcc tctgccgaca gtgggtccaa agatggaccc ccacccacga	300
ggagcatcgt ggaaaaagaa gacgttccaa ccacgtcttc aaagcaagtg gattgatgtg	360
ataacatggg ggagcacgac acacttgtct actccaaaaa tatcaaagat acagtctcag	420
aagaccaaag ggcaattgag acttttcaac aaagggtaat atccggaaac ctccctcgat	480
tccattgccc agctatctgt cactttattg tgaagatagt ggaaaaggaa ggtggctcct	540
acaaatgcca tcattgcat aaaggaaagg ccatcggtga agatgcctct gccgacagtg	600
gtcccaaaga tggaccccca cccacgagga gcatcgtgga aaaagaagac gttccaacca	660
cgtcttcaaa gcaagtggat tgatgtgata tctccactga cgtaagggat gacgcacaat	720

cccactatcc	ttcgcaagac	ccttcctcta	tataaggaag	ttcatttcat	ttggagaggt	780
attaaaatct	taataggttt	tgataaaagc	gaacgtgggg	aaacccgaac	caaaccttct	840
tctaaactct	ctctcatctc	tcttaaagca	aacttctctc	ttgtctttct	tgcgtagagcg	900
atcttcaacg	ttgtcagatc	gtgcttcggc	accagtacaa	cgttttcttt	cactgaagcg	960
aaatcaaaga	tctctttgtg	gacacgtagt	gcggcgccat	taaataacgt	gtacttgtcc	1020
tattcttgtc	ggtgtggtct	tgggaaaaga	aagcttgctg	gaggctgctg	ttcagcccca	1080
tacattactt	gttacgattc	tgctgacttt	cggcggtgct	aatatctcta	cttctgcttg	1140
acgaggtatt	gttgccctgta	cttctttctt	cttcttcttg	ctgattggtt	ctataagaaa	1200
tctagtattt	tctttgaaac	agagttttcc	cgtggttttc	gaacttggag	aaagattgtt	1260
aagcttctgt	atattctgcc	caaatttgtc	gggcccatgg	cgaaaaacgt	tgcgattttc	1320
ggcttattgt	tttctcttct	tgtgttggtt	ccttctcaga	tcttcgctga	cacattatgt	1380
ataggttatt	atgcgaacaa	ttcaacagac	actgtagaca	cagtactaga	aaagaatgta	1440
acagtaacac	actctgttaa	ccttctagaa	gacaagcata	acgggaaact	atgcaaacta	1500
agaggggtag	ccccattgca	tttgggtaaa	tgtaacattg	ctggctggat	cctgggaaat	1560
ccagagtgtg	aatcactctc	cacagcaagc	tcatggtcct	acattgtgga	aacacctagt	1620
tcagacaatg	gaacgtgtta	cccaggagat	ttcatcgatt	atgaggagct	aagagagcaa	1680
ttaagctcag	tgtcatcatt	tgaaagggtt	gagatattcc	ccaagacaag	ttcatggccc	1740
aatcatgact	cgaacaaagg	tgtaacggca	gcatgtcctc	atgctggagc	aaaaagcttc	1800
tacaaaaatt	taatatggct	agttaaaaaa	ggaaattcat	acccaaagct	cagcaaatcc	1860
tacattaatg	ataaagggaa	agaagtcctc	gtgctatggg	gcattcacca	tccatctact	1920
agtgtgacc	aacaaagtct	ctatcagaat	gcagatacat	atgtttttgt	ggggtcatca	1980
agatacagca	agaagttcaa	gccggaaata	gcaataagac	ccaaagtgag	ggatcaagaa	2040
gggagaatga	actattactg	gacactagta	gagccgggag	acaaaataac	attcgaagca	2100
actggaaatc	tagtgggtacc	gagatatgca	ttcgcaatgg	aaagaaatgc	tggatctggt	2160
attatcattt	cagatacacc	agtccacgat	tgcaatacaa	cttgtcaaac	acccaaggggt	2220
gctataaaca	ccagcctccc	atttcagaat	atacatccga	tcacaattgg	aaaatgtcca	2280
aaatatgtaa	aaagcacaaa	attgagactg	gccacaggat	tgaggaatat	cccgctctatt	2340
caatctagag	gactatttgg	ggccattgcc	ggtttcattg	aaggggggtg	gacagggatg	2400
gtagatggat	ggtacggtta	tcaccatcaa	aatgagcagg	ggtcaggata	tgcagccgac	2460
ctgaagagca	cacagaatgc	cattgacgag	attactaaca	aagtaaattc	tgttattgaa	2520
aagatgaata	cacagttcac	agcagtaggt	aaagagttca	accacctgga	aaaaagaata	2580
gagaatttaa	ataaaaaagt	tgatgatggg	ttcctggaca	tttggactta	caatgccgaa	2640

ctgttggttc tattggaaaa tgaaagaact ttggactacc acgattcaaa tgtgaagaac 2700
 ttatatgaaa aggtaagaag ccagctaaaa aacaatgcc aaggaaattgg aaacggctgc 2760
 tttgaatttt accacaaatg cgataaacacg tgcattgaaa gtgtcaaaaa tgggacttat 2820
 gactacccaa aatactcaga ggaagcaaaa ttaaacagag aagaaataga tggggtaaag 2880
 ctggaatcaa caaggattta ccagattttg gcgactctatt caactgtcgc cagttcattg 2940
 gtactggtag tctccctggg ggcaatcagt ttctggatgt gctctaattgg gtctctacag 3000
 tgtagaatat gtattttaag gcctattttc tttagtttga atttactgtt attcgggtgtg 3060
 catttctatg tttggtgagc ggttttctgt gctcagagtg tgtttatttt atgtaattta 3120
 atttctttgt gagctcctgt ttagcaggtc gtcccttcag caaggacaca aaaagatttt 3180
 aattttatta aaaaaaaaaa aaaaaaagac cggaattcg atatcaagct tatcgacctg 3240
 cagatcgttc aaacatttgg caataaagtt tcttaagatt gaatcctgtt gccgggtcttg 3300
 cgatgattat catataattt ctgttgaatt acgttaagca tgtaataatt aacatgtaat 3360
 gcatgacgtt atttatgaga tgggttttta tgattagagt cccgcaatta tacatttaat 3420
 acgcgataga aaacaaaata tagcgcgcaa actaggataa attatcgcgc gcggtgtcat 3480
 ctatgttact agatctctag agtctcaagc ttggcgcgcc 3520

Referencias:

- Aymard, H. M., M. T. Coleman, W. R. Dowdle, W. G. Laver, G. C. Schild, and R. G. Webster. 1973. Influenza virus neuraminidase-inhibition test procedures. *Bull. W.H.O.* 48: 199-202
- 5 Bollag, D.M., Rozycki, M.D., and Edelstein, S.J. (1996) Protein methods (2nd edition). Wiley-Liss, New York, USA.
- Bligh, E.G., & Dyer, W.J. *Can. J. Med. Sci.* 37, 911-917 (1959).
- Chen, B.J., Leser, G.P., Morita, E., and Lamb R.A. (2007) Influenza virus hemagglutinin and neuraminidase, but not the matrix protein, are required for assembly and budding of plasmid-derived virus-like particles. *J. Virol.* 81, 7111-7123.
- 10 Chen Z, Aspelund A, Jin H. 2008 Stabilizing the glycosylation pattern of influenza B hemagglutinin following adaptation to growth in Huevos. *Vaccine* vol 26 p 361-371.
- Crawford, J. , Wilkinson, B. , Vosnesensky, A. , Smith, G. , Garcia, M. , Stone, H. , and Perdue, M. L. (1999). Baculovirus-derived hemagglutinin vaccines protect against lethal influenza infections by avian H5 and H7 subtypes. *Vaccine* 17,2265-2274.
- 15 Darveau, A., Pelletier, A. & Perreault, J. PCR-mediated synthesis of chimeric molecules. *Methods Neurosc.* 26, 77-85 (1995).
- Grgacic EVL, Anderson DA. Virus-like particles: passport to immune recognition. *Methods* 2006; 40: 60-65.
- Gillim-Ross, L., and Subbarao, K. (2006) Emerging respiratory viruses: challenges and vaccine strategies. *Clin. Microbiol. Rev.* 19, 614-636.
- 20 Gomez-Puertas, P., Mena, I., Castillo, M., Vivo, A., Perez-Pastrana, E. and Portela, A. (1999) Efficient formation of influenza virus-like particles: dependence on the expression level of viral proteins. *J. Gen. Virol.* 80, 1635-1645.
- Gomez-Puertas, P., Albo, C., Perez-Pastrana, E., Vivo, A., and Portela, A. (2000) Influenza Virus protein is the major

- driving force in virus budding. *J Virol.* 74, 11538-11547.
- Hamilton, A., Voinnet, O., Chappell, L. & Baulcombe, D. Two classes of short interfering RNA in RNA silencing. *EMBO J.* 21, 4671-4679 (2002).
- 5 Höfgen, R. & Willmitzer, L. Storage of competent cells for *Agrobacterium* transformation. *Nucleic Acid Res.* 16, 9877 (1988).
- Harbury PB, Zhang T, Kim PS, Alber T. (1993) A switch between two-, three-, and four-stranded coiled coils in GCN4 leucine zipper mutants. *Science*; 262: 1401-1407).
- Horimoto T., Kawaoka Y. Strategies for developing vaccines against h5N1 influenza A viruses. *Trends in Mol. Med.* 2006; 12(11):506-514.
- 10 Huang Z, Elkin G, Maloney BJ, Beuhner N, Arntzen CJ, Thanavala Y, Mason HS. Virus-like particle expression and assembly in plants: hepatitis B and Norwalk viruses. *Vaccine.* 2005 Mar 7;23(15):1851-8.
- Johansson, B. E. (1999). Immunization with influenza A virus hemagglutinin and neuraminidase produced in recombinant baculovirus results in a balanced and broadened immune response superior to conventional vaccine. *Vaccine* 17, 2073-2080.
- 15 Latham, T. , and Galarza, J. M. (2001). Formation of wild-type and chimeric influenza virus-like particles following simultaneous expression of only four structural proteins. *J. Virol.* 75,6154-6165.
- Lefebvre, B. et al. *Plant Physiol.* 144, 402-418 (2007).
- Leutwiler LS et al 1986. *Nucleic Acid Sresearch* 14910): 4051-64.
- 20 Liu, L & Lomonosoff, G.P. Agroinfection as a rapid method for propagating Cowpea mosaic virus-based constructs. *J. Virol. Methods* 105, 343-348 (2002).
- Macala, L.J., Yo, R.K. & Ando, S. *J Lipid Res.* 24, 1243-1250 (1983).
- Mattanovich, D., Rüker, F., da Câmara Machado, A., Laimer, M., Regner, F., Steinkellner, H., Himmeler, G., and Katinger, H. (1989) Efficient transformation of *Agrobacterium* spp. By electroporation. *Nucl. Ac. Res.* 17, 6747.
- 25 Mena, I., Vivo, A., Perez, E., and Portela, A. (1996) Rescue of synthetic chloramphenicol acetyltransferase RNA into influenza virus-like particles obtained from recombinant plasmids. *J. Virol.* 70, 5016-5024.
- Mongrand S, Morel J, Laroche J, Claverol S, Carde JP, Hartmann MA et al.. Lipid rafts in higher plant cells. *The Journal of Biological Chemistry* 2004; 279(35): 36277-36286.
- Neumann, G., Watanabe, T., and Kawaoka, Y. (2000) Plasmid-driven formation of virus-like particles. *J. Virol.* 74, 547-551.
- 30 Nayak DP, Reichl U. (2004) Neuraminidase activity assays for monitoring MDCK cell culture derived influenza virus. *J Virol Methods* 122(1): 9 - 15.
- Olsen, C. W. , McGregor, M. W. , Dybdahl-Sissoko, N. , Schram, B. R. , Nelson, K. M. , Lunn, D., Macklin, M. D., and Swain, W. F. (1997). Immunogenicity and efficacy of baculovirus-expressed and DNA-based equine influenza virus hemagglutinin vaccines in mice. *Vaccine* 15, 1149-1156.
- 35 Quan FS, Huang C, Compans RW, Kang SM. Virus-like particle vaccine induces protective immunity against homologous and heterologous strains of influenza virus. *Journal of Virology* 2007; 81(7): 3514 - 3524.
- Rowe, T. et al. 1999. Detection of antibody to avian influenza A (h5N1) virus in human serum by using a cmbiation of serologic assays. *J. Clin Microbiol* 37(4): 937-43.
- 40 Saint-Jore-Dupas C et al. 2007. From planta to pharma with glycosylation in the toolbox. *Trends in Biotechnology* 25(7): 317 - 23.
- Sambrook J, and Russell DW. *Molecular cloning: a laboratory manual.* Cold Spring Harbor, N.Y. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
- Stockhaus J et al 1987. Analysis of cis-active sequences involved in the leaf-specific expression of a potato gene in

transgenic plants. Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.S. 84(22): 7943 - 7947.

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

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

Tsuji M., Cell. Mol. Life Sci., 63 (2006); 1889-1898.

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

10 Kendal, AP, Pereira MS, Skehel J. Concepts and procedures for laboratory-based influenza surveillance. Atlanta: CDC; 1982. p.B17-B35 WHO. Manual on animal influenza diagnosis and surveillance. Department of communicable disease surveillance and response. World Health Organisation Global Influenza Program. 2002.

Skehel JJ and Wildy DC Ann Rev Biochem 2000 69:531-69.

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

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

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una hemaglutinina de la influenza (HA) que tiene al menos 80% de identidad de secuencia con (HA) del tipo A/California/04/09, en donde la secuencia de nucleótidos comprende un elemento regulador que es operativo en una planta, comprendiendo el elemento regulador un virus del mosaico de caupí (CPMV)-HT.
2. El ácido nucleico de la reivindicación 1, en el que la HA comprende un péptido señal nativo o no nativo y/o opcionalmente en donde el péptido señal no nativo es un péptido señal de la proteína disulfuro isomerasa.
- 10 3. Un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una hemaglutinina de la influenza (HA) que tiene al menos el 80% de identidad de secuencia con (HA) del tipo A/California/04/09, en donde el HA comprende un péptido señal de proteína disulfuro isomerasa, operativamente enlazado a una región reguladora activa en una planta.
4. El ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 3, en donde la secuencia de hemaglutinina de la influenza se selecciona a partir de la SEQ ID NO: 127 y 135.
- 15 5. Un método de producción de partículas similares al virus de la influenza (VLP) en una planta que comprende:
 - a) introducir el ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 - 5 en la planta, o porción de la planta, y
 - b) incubar la planta o porción de la planta bajo condiciones que permitan la expresión del ácido nucleico, produciendo de este modo las VLP.
6. El método de la reivindicación 5, que comprende además las etapas de
 - c) cosechar la planta, y
 - 20 d) purificar las VLP, en donde las VLP están en un intervalo de tamaño de 80 - 300 nm.
7. El método de cualquiera de las reivindicaciones 5 - 6, en donde en la etapa de introducción (etapa a), se introduce el ácido nucleico en la planta en una forma transitoria o se introduce el ácido nucleico en la planta de forma tal que sea estable.
- 25 8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 5 - 7, en donde en la etapa de introducción (etapa a), se introduce un segundo ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una o más de una proteínas chaperonas en la planta, en donde las una o más proteínas chaperonas se seleccionan preferiblemente del grupo que consiste de Hsp40 y Hsp70.
9. Un método de producción de partículas similares al virus de la influenza (VLP) en una planta que comprende:
 - a) proporcionar una planta, o una porción de una planta, que comprende el ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 - 4, y
 - 30 b) incubar la planta o porción de la planta bajo condiciones que permitan la expresión del ácido nucleico, produciendo de este modo las VLP.
10. Una planta que comprende el ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 - 4.
- 35 11. La planta de la reivindicación 10, que comprende además un segundo ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una o más de una proteínas chaperonas operativamente enlazadas a una región reguladora activa en la planta, en donde las una o más proteínas chaperonas se seleccionan preferiblemente del grupo que consiste de Hsp40 y Hsp70.
- 40 12. Una partícula similar a un virus (VLP) producida en una planta, comprendiendo la VLP una hemaglutinina del virus de la influenza (HA) codificada por el ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 - 4, y uno o más de un lípido derivado de una planta y/o opcionalmente teniendo N-glicanos o N-glicanos modificados específicos de la planta.
13. Una partícula similar a virus (VLP) producida por el método de una cualquiera de las reivindicaciones 5 - 9 y / o opcionalmente contando con N-glicanos, o N-glicanos modificados específicos de la planta.
- 45 14. Una composición que comprende una dosis eficaz de la VLP de una cualquiera de las reivindicaciones 12 - 13 para inducir una respuesta inmune, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15. Una vacuna que comprende una dosis eficaz de la VLP de una cualquiera de las reivindicaciones 12 - 13 para inducir una respuesta inmune.

16. La partícula similar a virus de cualquiera de las reivindicaciones 12 - 13, la composición de la reivindicación 14 o la vacuna de la reivindicación 15 para su uso en la inducción de inmunidad a una infección por virus de la influenza en un sujeto.

5

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATA
 AAAGTTTAAGTTAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTAC
 TACTGTTATAAATCATTATTAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAAC
 AAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGTGCAACATTTGAGAAAATTTTGT
 GTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAGAAAAAGGAAGAGGGAG
 AATAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAA
 ATAGTTGTACAAATATCATTTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTT
 AATTGCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAAT
 TTTTGGCAAGTCATTAAAAAGAAAGAATAAATTATTTTTAAAATTAAAAGTTGAG
 TCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAG
 TTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCCT
 ATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTCATAGATCAAATAA
 GAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAAGAAACGGTATATTTACTAAA
 AAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGGAGGATAACATCCA
 ATCCAACCAATCACACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGCATC
 TGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATTCTTCCACACATCTGAGCCACA
 CAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAG
 TCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAAT
 TAATCATCTTGAGAGAAAATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTT
TCTCTTCTTGTTGGTTCCTTCTCAGATCT

GAGCTCTAAGTTAAATGCTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTTATTG
 TTAATTTTGTTCTTGTAGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATT
 TGTATGAGATGAAGTGGTGTAAATGTAATTCATTTACATAAGTGGAGTCAGAATC
 AGAATGTTTCCTCCATAACTAACTAGACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTGTC
 TTATATTTGAACAACATAAATTGAACATCTTTTGCCACAACCTTTATAAGTGGTTA
 ATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTA
 TCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAACACTAATTTTATATCATCCC
 CTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 1A

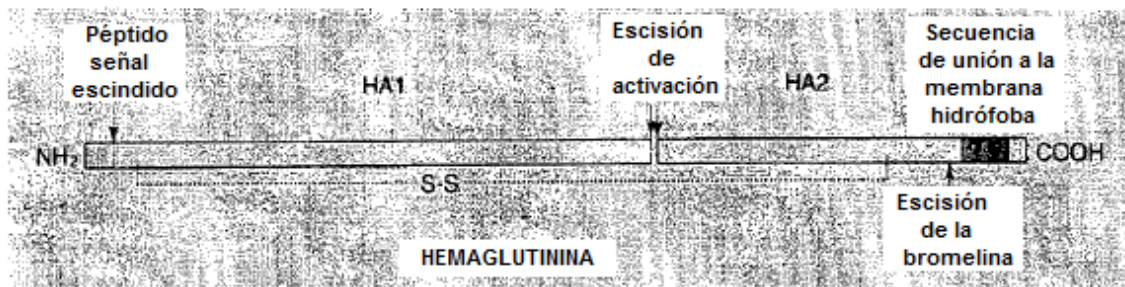


Fig. 1B

Fig. 2A

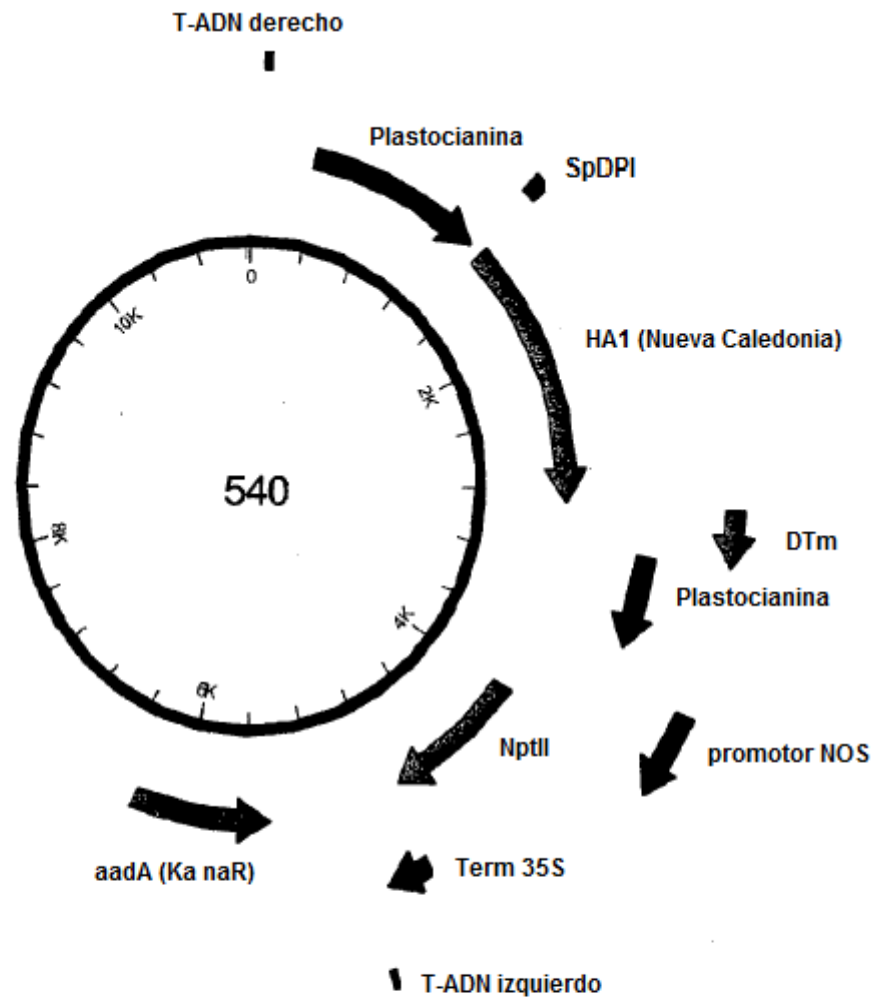


Fig. 2B

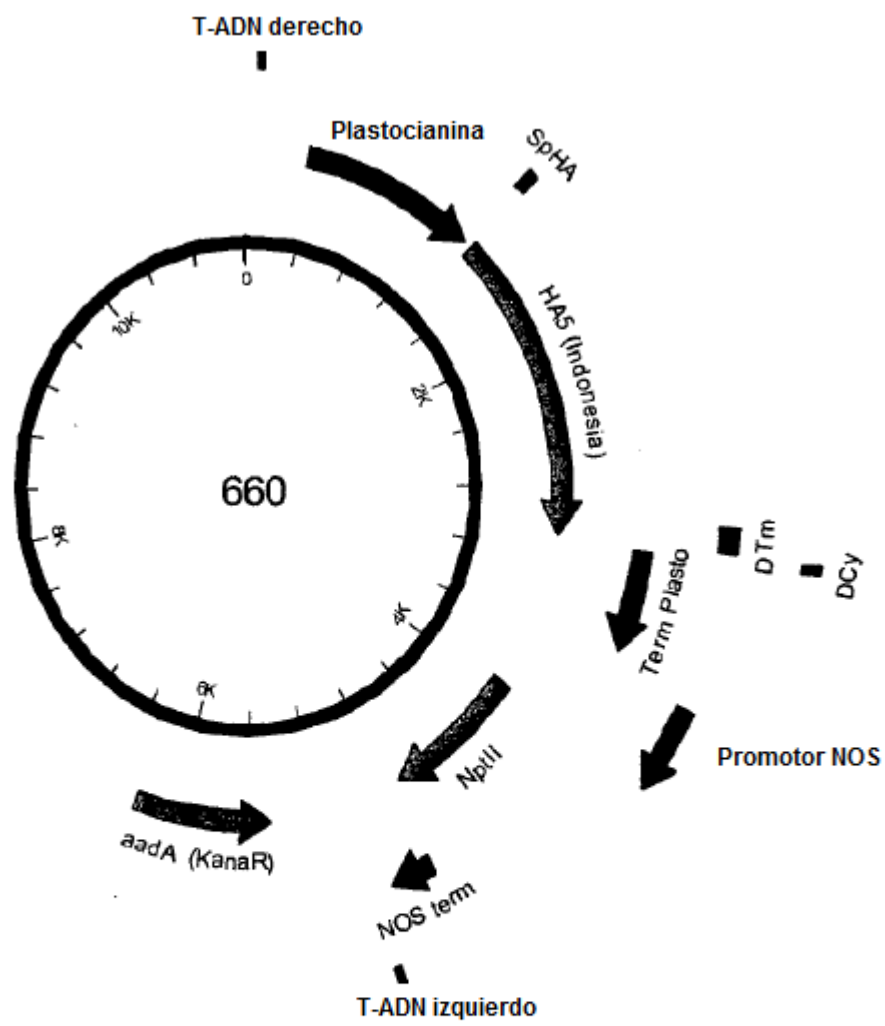


Fig. 3A

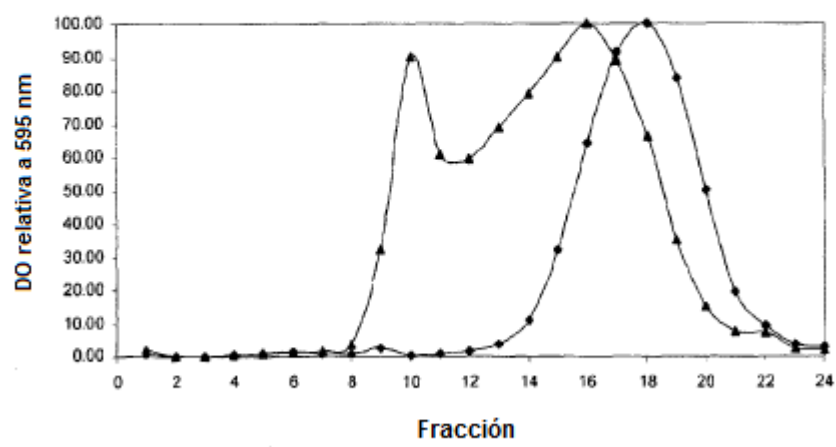


Fig. 3B

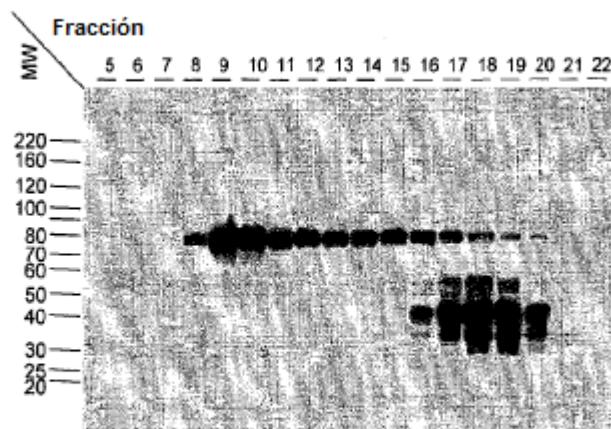


Fig. 3C

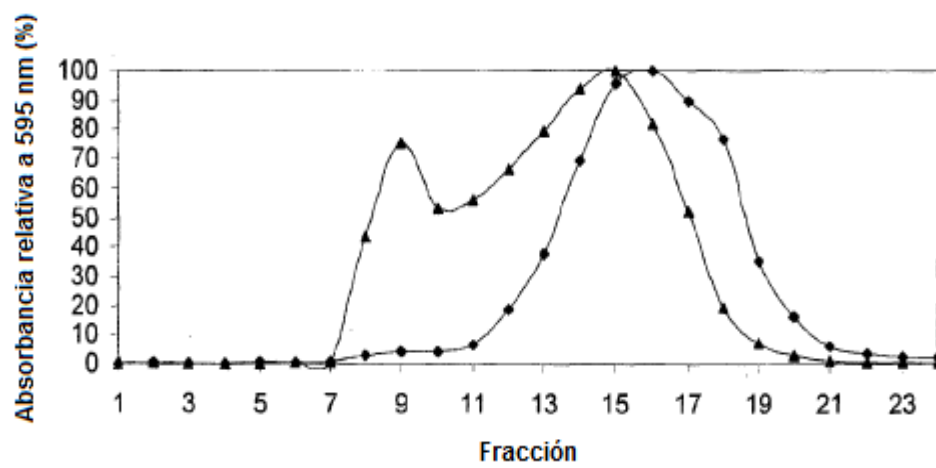


Fig. 3D

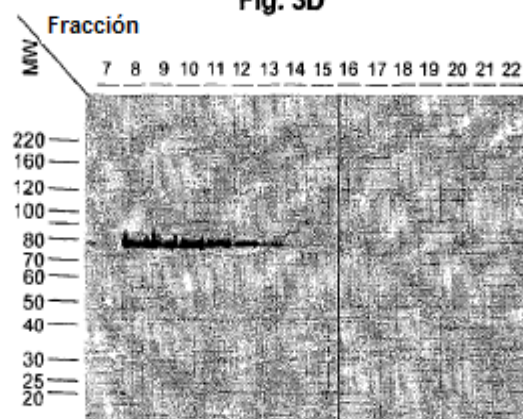


Fig. 4A

SEQ ID NO. 1

AGATCTTCCCTGACAGCAATATGTATAGGCTACCATGCCAACTCAACCGACACTGTTGACACAGTAC
 TTGAGAAGAAATGTGACAGTGACACACTCTGTCAACDCTACTTGAGGACAGTCACAAATGGAAAACTATGTCT
 ACTAAAAGGAATAGCCCCACTACAATTGGGTAATTGCAGCGTTGCCGGATGGATCTTAGGAAACCCAGA
 ATGCCAATTACTGATTTCCAAGGAATCATGGTCTTACATTGTAGAAACACCAATCCTGAGAATGGAAAG
 TGTACCCACGGGTATTTCCCGGACTATGAGGAAGTGAAGGAGCAATTGAATTCAATATCTTCATTTGAG
 AGATTGGAATATTTCCCAAAGAAAGCTCATGGGCCAACCACACCGTAACCGGAGTATCAGCATCATGC
 TCCDATAATGGGAAAAGCAGTTTTACAGAAATTTGCTATGGCTGAGGGGGGAAGAAATGGTTGTACCCA
 AACCTGAGCAAGTCTATGTAAACAAGCAAGAGAGAAAGAGTCTTGTACTATGGGGTGTTCATCACCGG
 CCTAACATAGGGAAACCAAGGGCACTCTATCATACAGAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATT
 ATAGCAGAAAGATTACCCAGAAATAGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAGGAAGGAAGAATCAACT
 ACTACTGGACTCTGCTGGAACTGGGGGATACAATAATATTTGAGGCAATGGAAATCTAATAGCGCCAT
 GGTATGCTTTTGCAGTGAAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCAGCTCAAAATGCACCAATGGATGAAT
 GTGATGGGAAGTGTCAAACACCTCAGGGAGCTATAAACAGCAGTCTTCTCTTCCAGAAATGTACACCCAG
 TCACAATAGGAGAGTGTCCAAAGTATGTCAGGAGTGCAAAATTAAGSATGGTTACAGGACTAAGGAACA
 TCCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGTGGAGCCATTGCCGGTTTCATTGAAGGGGGGTGGACTGGAA
 TGSTAGATGGGTGGTATGGTTATCATCATCAGAATGAGCAAGSATCTGCTATGCTGCAGATCAAAAAA
 GTACACAAAATGCCATTAAAGGGATTACAACAAGGTCAATTCTGTAAITGAGAAATGAACACTCAATT
 CACAGCTGTGGCAAGAGTTCAACAAATTTGGAAAGAAAGGATGGAAAATCTAAATAAAAAAGTTGATGAT
 GGGTTTCTAGACATTTGGACATATAATGCAGAAATTTGTTGGTTCTACTGGAAAATGAAGGACTTTGGATT
 TCCATCACTCCAAATGTGAGCAATCTGTATGAGAAAGTAAAAAGCCAATTAAGCAATTAATGCCAAAGAAAT
 AGGAAACGGGTGTTTTGAGTTCTATCACAAGTGAACAATGAATGCATGGAGAGTGTGAAAAATGGTAC
 GTATGACTATCCAAAATATTCGAAGAATCAAGTTAAACAGGGAGAAAATTTGATGGAGTGAATTTGGAA
 TCAATGGAGTATACATAAGAGCTCAGGCT

Fig. 4B

SEQ ID NO. 2

GGTACCTATGACTATCCAAAATATTCGAAGAATCAAAATTAACAGGGAGAAAATTTGATGGAGTGAAT
 TGAATCAATGGGAGTATACAGATTTCTGGCGATCTACTCAACTGTGGCCAGTTCCCTGGTTCTTTTGGT
 CTCCTGGGGGCAATCAGCTTCTGGATGTGTCCAAATGGGTCTTTGCAGTGTAGAAATATGCATCTAAGA
 GCTCAGGCT

Fig 5

HA0 de H1 (SEQ ID NO: 28)

AGATCTTCGCTGACACAATATGTATAGGCTACCATGCCAACAACTCAACCGACACTGTTGACA
 CAGTACTTGAGAAGAATGTGACAGTGACACACTCTGTCAACCTACTTGAGGACAGTCACAATG
 GAAAACCTATGTCTACTAAAAGGAATAGCCCCACTACAATTGGGTAATTGCAGCGTTGCCGGAT
 GGATCTTAGGAAACCCAGAATGCGAATTACTGATTTCCAAGGAATCATGGTCCTACATTGTAG
 AAACACCAAATCCTGAGAATGGAACATGTTACCCAGGGTATTTGCGCCGACTATGAGGAACTGA
 GGGAGCAATTGAGTTCAGTATCTTCATTTGAGAGATTGAAATATTCCCCAAAGAAAGCTCAT
 GGCCCAACCCACACCGTAACCGGAGTATCAGCATCATGCTCCCATATGGGAAAAGCAGTTTTT
 ACAGAAATTTGCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTTGTACCCAAACCTGAGCAAGTCCTATG
 TAAACAACAAAGAGAAAGAAGTCCTTGTACTATGGGGTGTTCATCACCCGCCTAACATAGGGA
 ACCAAAGGGCACTCTATCATACAGAAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATTATAGCAG
 AAGATTCACCCCAGAAATAGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAGGAAGGAAGAATCAACTA
 CTACTGGACTCTGCTGGAACCTGGGGATACAATAATTTGAGGCAAATGGAAATCTAATAGC
 GCCATGGTATGCTTTGCACTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCACCTCAAATGCACC
 AATGGATGAATGTGATGCGAAGTGTCAAACACCTCAGGGAGCTATAAACAGCAGTCTTCCTTT
 CCAGAATGTACACCCAGTCACAATAGGAGAGTGTCCAAAGTATGTCAGGAGTGCAAAATTAAG
 GATGGTTACAGGACTAAGGAACATCCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGGAGCCATTGC
 CGGTTTCATTGAAGGGGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGGTGGTATGGTTATCATCATCAGA
 ATGAGCAAGGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAAGTACACAAAATGCCATTAACGGGATTA
 CAAACAAGGTCAATTCTGTAATTGAGAAAATGAACACTCAATTCACAGCTGTGGGCAAAGAGT
 TCAACAAATTGGAAAGAAGGATGGAAAACCTAAATAAAAAAGTTGATGATGGGTTTCTAGACAT
 TTGGACATATAATGCAGAATTGTTGGTTCTACTGGAAAATGAAAGGACTTTGGATTTCCATGAC
 TCCAATGTGAAGAATCTGTATGAGAAAAGTAAAAAGCCAATTAAAGAATAATGCCAAAGAAATAG
 GAAACGGGTGTTTTGAGTTCTATCACAAGTGTAAACAATGAATGCATGGAGAGTGTGAAAAATG
GTACCTATGACTATCCAAAATATTCCGAAGAATCAAAGTTAAACAGGGAGAAAATTGATGGAG
 TGAAATTGGAATCAATGGGAGTATACAGATTCTGGCGATCTACTCAACTGTCGCCAGTTCCC
 TGGTTCTTTTGGTCTCCCTGGGGGCAATCAGCTTCTGGATGTGTTCCAATGGGTCTTGCAGT
 GTAGAATATGCATCTAAGAGCTCAGGCCT

Fig. 6

SEQ ID NO. 3

AAGCTTATGGAGAAAATAGTCTTCTTCTGCAATAGTCAGTCTTGTAAAGTBATCAGATTGCAATTGG
 TTACCATGCAAAATTTCAACAGAGCAGGTTGACACAATCATGGAAAAGAACGTTACTGTTACACATGOC
 CAAGACATACTGGAAAAGACACACACACGGGAAGCTCTGCGATCTAGATGGAGTGAAGGCTCTAATTTTA
 AGAGATTGTAGTGTAGCTGGATGGCTCCTCCTGGGAACCAATGTGTGACGAATTCATCAATGTACCGSAA
 TGGTCTTACATAGTGGAGAAAGGCCAATCCAAACCAATGACCTCTGTTACCCAGGGAGTTTCAACGAGTAT
 GAAGAACTGAACACCTATTGAGCAGAAATAACCAATTTTGAGAAAATTCAAATCATCCCCAAAAGTTCTTG
 GTCCGATCATGAAGCCTCATCAGGAGTTAGCTCAACATGTCCATACCTGGGAAGTCCCTCTTTTATGA
 AATGTGGTATGGCTTATCAAAAAGAACAGTACATACCAACAATAAGAAAAGCTACAATAATACCAACCA
 AGAGGATCTTTTGGTACTGTGGGGAATTCACCATCTAATGATGCCGACAGCAGACAAAGGCTATATCA
 AAACCCAACCACTATATTTCCATTGGGACATCAACACTAAACCAAGATTSBTACCAAAAATAGCTACT
 AGATCCAAAGTAAACGGGCAAGTGBAAGSATGBAGTTCTTCTGGACAATTTTAAACCTAATGATGCA
 TCAACTTCGAGAGTAAATGSAATTTTCAATTGCTCCAGAAATATGCATACAAAATGTCAAGAAAGGGGACTC
 AGCAATTATGAAAAGTGAATTGCAATATGCTAACTGCAACACCAAGTGTCAAACTCCAATGGGGGCGATA
 AACTCTAGTATGCCATTCCACACATACACCTCTCACCATCGGGGAATGCCCAAAATATGTGAATCAA
 ACAGATTAGTCTTGCACAGGGCTCAGAAATAGCCCTCAAAAGAGAGACAGAGAAAGAAAGAGAGGAC
 TATTTGGAGCTATAGCAGSTTTTATAGAGGGAGSATGGCAGGGGAATGGTAGATSGTTGGTATSGGTACC
 ACCATAGCAATGAGCAGGGGAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAAATCCACTCAAAAGGCAATAGATGA
 GTCACCAATAAGGTCAACTCAATCATTGACAAAATGAACACTCAGTTTGAAGCCGTTGGAAAGGGAATTA
 ATAACCTTAGAAAGGAGAAATAGAGAATTTAAACAAGAAAGATGGAAGACBGGTTTCTAGATGCTGGACTTA
 TAATGCCSAACTTCTGGTCTCATGGAAAATGAGAGAACTCTAGACTTTTCATGACTCAATGTTAAGAAC
 CTCTACGACAAGGTCCTGACTACAGCTTAGGGATAATGCAAGGAGCTGGGTAAAGGTTGTTTGGAGTTT
 TATCACAATGTGATAATGAATGTATGGAAAGTATAAGAAACGGAAAGTACAACCTATCCGCAGTATTCAG
 AAGAGCAAGATTAAAAAGAGAGGAATAAGTGKGTAAATTTGGAATCAATAGGAACCTTACCAATACT
 GTCAATTTATTCAACAGTGGCGAGTTCCCTAGCACTGGCAATCATGATGCTGGTCTATCTTTATGGATG
 TGCTCCAATGGATCGTTACAATGCAGAAATTTGCATTTAAGAGGCTC

Fig. 7A

SEQ ID NO. 4

5'-GTATTAGTAATTAGAATTTGCTGTC-3'

Fig. 7B

SEQ ID NO. 5

5'-GCAAGAAGAAGCACTATTTCTCCATTTCTCTCAAGATGATTA-3'

Fig. 7C

SEQ ID NO. 6

5'-TTAATCATCTTGAGAGAAAATGGAGAAAATAGTGCTTCTTCTTGC-3'

Fig. 7D

SEQ ID NO. 7

5'-ACTTTGAGCTCTTAAATGCAAATCTGCATTGTAACGA-3'

Fig. 8A

Secuencia del péptido HA1 (SEQ ID NO: 9)

**MKAKLLVLLCTFTATYADTICIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTHSVNLLLED SHNGKLC LLKGIAPLQ
LGNC SVAGWILGNPECELLISKESWSYIVETPNPENGTCPGYFADYEELREQLSSVSSFERFEIFPK
ESSWPNHTVTGVSASCSHNGKSSFYRNLLWLTGKNGLYPNLSKSYVNNKEKEVLVLWGVHHPNI
GNQRALYHTENAYVSVVSSHYSRRFTPEIAKRPKVRDQEGRINYYWTLLEPGDTIIFEANGNLIAPWY
AFALSRGFGSGIITSNAPMDECDACQTPQGAINSSLPFQNVHPVTIGECPKYVRS AKLRMVTGLRNI
PSIQSRGLFGAIAGFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGYAADQKSTQNAINGITNKVNSVIEKMN
TQFTAVGKEFNKLERRMENLNKKVDDGFLDIWTYNAELLVLENER TLDFHDSNVKNLYEKVKSQ LK
NNAKEIGNGCFEFYHKCNNECMESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMGVYQILAIYSTVA
SSLVLLVSLGAISFWMC SNGSLQCRICI***

Fig. 8B

Secuencia del péptido HA5 (SEQ ID NO: 10)

**MEKIVLLLAIVSLVKSDDQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVTHAQDILEKTHNGKLC DLDGVKPLILR
DCSVAGWLLGNPM CDEFIN VPEWSYIVEKANPTNDLCYPGSFNDYEELKHLLSRINHFEKIQIIPKSS
WSDHEASSGVSSACPYLGSPSFFRNWWLIKKNSTYPTIKKSYNNTNQEDLLVLWGIHHPNDAAEQ
TRL YQNPTTYISIGTSTLNQRLVPKIATR SKVNGQSGRMEFFWTILKPNDAINFESNGNFIAPEYAYKI
VKKGDSAIMKSELEYGNCNTKCQTPMGAINSSMPFHNIHPLTIGECPKYVKS NRLVLATGLRNSPQR
ESRRKKRGLFGAIAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQSGYAADKESTQKAIDGV TNKVNSIIDK
MNTQFEAVGREFN LERRIENLNKKMEDGFLDWTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRL
QLRDN AKELGNGCFEFYHKCDNECMESIRNGTYNYPQYSEEARLKREEISGVKLESIGTYQILSIYST
VASSLALAIMMAGLSLWMCSNGSLQCRICI***

FIG. 9

Subtipo H7 (SEQ ID NO: 11)

>BHB 940420 | gb: AF071776 | Símbolo : HA |Nombre : hemagglutina

precursor | Organismo: Virus A/pollo/Nueva York/1995 de la influenza A

Cromosoma : 4 | Subtipo : H7 | Huésped : Ave

```
GACAAAATATGTCTTGGGCACCATGCTGTGGCAAATGGAACAAAAGTGAACACATTAACAGAGAGGGGGA
TTGAAGTAGTGAACGCCACAGAGACGGTGGAACTGCGAATATCAAGAAAATATGTATTCAAGGGAAAAG
GCCAACAGATCTGGGACAATGTGGACTTCTAGGAACCTAATAGGACCTCCCCAATGTGATCAATTCCTG
GAGTTTTACTCTGATTTGATAATTGAGCGAAGAGAAGGAACCGATGTGTGCTATCCCGGTAAATTCACAA
ATGAAGAATCACTGAGGCAGATCCTTCGAGGGTCAGGAGGAATTGATAAGGAGTCAATGGGTTTCACCTA
TAGTGGAATAAGAACCAATGGAGCGACAAGTGCCTGCAAAAGATCAGGTTCTTCTTTCTATGCAGAGATG
AAGTGGTTGCTGTCGAATTCAGACAATGCGGCATTCCCTCAAATGACAAAGTCGTATAGAAATCCCAGAA
ACAAACCAGCTCTGATAATTTGGGGAGTTCATCACTCTGGATCGGTTAGCGAGCAGACCAAACTCTATGG
AAGTGGAAACAAGTTGATAACAGTAGGAAGCTCAAAATACCAGCAATCATTCACCCCAAGTCCGGGAGCA
CGGCCACAAGTGAATGGACAATCAGGGAGAATCGATTTTCACTGGCTACTCCTTGATCCCAATGACACAG
TGACCTTCACTTTCAATGGGGCATTATAGCCCTGACAGGGCAAGTTTCTTTAGAGGAGAATCACTAGG
AGTCCAGAGTGATGTTCTCTGGATTCTAGITGTGGAGGGGATTGCTTTCACAGTGGGGGTACGATAGTC
AGTTCCCTGCCATTCCAAAACATCAACCCTAGAAGTGTGGGGAGATGCCCTCGGTATGTCAAACAGACAA
GCCTCCTTTTGGCTACAGGAATGAGAAATGTTCCAGAGAATCCAAAGCCCAGAGGCCTTTTTGGAGCAAT
TGCTGGATTATAGAGAATGGATGGGAGGGTCTCATCGATGGATGGTATGGTTTCAGACATCAAAATGCA
CAAGGGGAAGGAAGTGCAGCTGACTACAAAAGCACCCAATCTGCAATAGATCAGATCACAGGCAAATTGA
ATCGTCTGATTGACAAAACAAATCAGCAGTTTGAAGCTGATAGACAATGAGTTCAATGAGATAGAACAACA
AATAGGAAATGTCATTAATTGGACACGAGACGCAATGACTGAGGTATGGTCGTATAATGCTGAGCTGTTG
GTGGCAATGGAAAATCAGCATACAATAGATCTTGCGGACTCAGAAATGAACAACTTTATGAGCGTGTCA
GAAAACAATAAGGGAGAATGCTGAAGAAGATGGAAGTGGATGTTTTGAGATATCCATAAGTGTGATGA
TCAGTGATGGAGAGCATAAGGAACAACACTTATGACCATACTCAATACAGAACAGAGTCATTGCAGAAT
AGAATACAGATAGACCCAGTGAATTTGAGTAGTGGATACAAAGACATAATCTTATGGTTTTAGCTTCGGGG
CATCATGTTTTCTTCTTAGCCGTTGTAATGGGATTGGTTTTTCATTTGCATAAAGAATGGAAACATGCG
GTGCACCATTTGTATATAA
```

Fig. 10A

Subtipo H2 (SEQ ID NO: 12)

>gi|408516|gb|L11132.1|FLADE88HA gen de la hemaglutinina (HA) del virus de la influenza A (A/gaviota arenquera/DE/677/88 (H2N8)), cds completa

```

AGCAAAAGCAGGGGTTATACCATAGACAACCAAGGCAAGACAATGGCCATCATTTATCTAATTCTTCTG
TTCACAGCAGTGAGAGGGGACCAATATGCATTGGATACCATTCCAACAATTCACAGAAAAGGTTGACA
CAATCCTAGAGAGAAATGTCACTGTGACTCACGCTGAGGACATTCTTGAGAAGACTCACAATG3GAAGTT
ATGCAAACTAAATGGAATCCCTCCACTTGAATTAAGGGATTGCAGCATTGCCGGATGGCTCCTTGGAAT
CCAGAATGTGATATACTTCTAACTGTGCCAGAATGGTCATACATAATAGAAAAAGAAAATCCAAGGAACG
GCTTGTGCTACCCAGGCAGTTTCAATGATTATGAAGAATTGAAGCATCTTATCAGCAGCGTGACACATTT
TGAGAAAAGTAAAGATTCTGCCCAGAAATGAATGGACACAGCATACAACAACCTGGAGGTTACAGGCTTGC
GCAGACTATGGTGGTCCGTCAATTCTCCGGAACATGGTCTGGTTGACAAAGAAAGGGTCGAATTATCCAA
TTGCCAAAAGATCTTACAACAATACAAGTGGGGAAACAAATGCTGATCATTTGGGGGATACATCACCCCAA
TGATGAAAGTGAACAAAGAGCATTGTATCAGAATGTGGGGACCTATGTGTGAGTAGGAACATCAACACTG
AACAAAAGATCATCCCAGAAATAGCAACAAGACCTAAAGTGAATGGACAAGGAGGCAGAATGGAATTCT
CGTGGACTATCTTAGATATATGGGACACAATAAATTTTGAGAGTACTGGCAATCTAATTGCACCAGAATA
TGGTTTCAAAATATCCAAACGAGGTAGTTCAGGGATCATGAAAACAGAAGGAAAACCTGAAAACCTGCGAG
ACCAAGTGCCAAACTCCTTTGGGAGCAATAAATACAACATTACCCTTTCACAATATCCACCCACTGACCA
TTGGTGAGTGCCCCAAATATGTAAAATCGGAAAGATTAGTCTTAGCAACAGGACTAAGAAACGTCCCTCA
GATTGAGTCAAGGGGATTGTTTGGGGCAATAGCTGGTTTTATAGAGGGTGGATGGCAAGGAATGGTTGAT
GGTTGGTATGGGTATCATCACAGCAATGACCAGGGATCTGGGTATGCAGCAGACAAAGAATCCACTCAA
AGGCAATTGATGGAATCACCAACAAGGTAAATTTCTGTGATCGAAAAGATGAACACCCAATTCGGAGCTGT
TGGAAAAGAATTGAGTAACTTGGAGAGAAGACTGGAGAACTTGAATAAAAAGATGGAGGACGGATTTCTA
GATGTGTGGACATACAATGCCGAGCTCCTAGTTCTAATGGAAAATGAGAGGACACTTGACTTTTCATGATT
CTAATGTCAAGAATCTATATGATAAAGTCAGAATGCAACTGAGAGACAATGCAAAAAGAACTAGGGAATGG
ATGTTTTGAATTTTATCACAAATGTGATGATGAATGCATGAACAGTGTGAAGAATGGGACATATGATTAT
TCCAAGTATGAAGAGGAGTCTAAACTAAACAGGACTGAAATCAAAGGGGTAAATTGAGCAATATGGGGG
TTTATCAAATCCTTGCCATCTATGCTACAGTAGCAGGTTCCCTGTCACTGGCAATCATGATAGCTGGGAT
TTCTATATGGATGTGCTCCAACGGGTCTCTGCAATGCAGAATCTGCATATGATCATCAGTCATTTTGTA
TTAAAAACACCCTTGTTTCTACT

```

Fig. 10B

Subtipo H3 (SEQ ID NO: 13)

>BHB2107299|GB: EF473574 | Símbolo: HA | Nombre: hemagglutina| Organismo: Virus A/Texas/32/2003 de la Influenza A| Segmento: 4| Subtipo: H3| Huésped: Humano

CAAAACTTCCCGGAAATGACAACAGCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGGAA
CGATAGTGAAAACAATCACGAATGACCAAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTACAGAGTTCCTC
AACAGGTGGAATATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTTGATGGAGAAAAGTGCACACTAATAGATGCTCTA
TTGGGAGACCCTCAGTGTGATGGCTTCCAAAATAAGAAATGGGACCTTTTGTGTTGAACGCAGCAAAGCCT
ACAGCAACTGTTACCCTTATGATGTGCCGATTATGCCTCCCTTAGGTCACTAGTTGCCTCATCCGGCAC
ACTGGAGTTTAACAATGAAAGCTTCGATTGGACTGGAGTCACTCAGAATGGAACAAGCTCTGCTTGCAAA
AGGAGATCTAATAAAAGTTTCTTTAGTAGATTGAATTGGTTGACCCACTTAAAATACAAATACCCAGCAT
TGAACGTGACTATGCCAAACAATGAAAAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTTACCACCCGGGTAC
GGACAGTGACCAAATCAGCCTATATGCTCAAGCATCAGGAAGAATCACAGTCTCTACCAAAGAAGCCAA
CAAAGTGTAAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGGGTAAGGGATGTCTCCAGCCGAATAAGCATCTATT
GGACAATAGTAAACCGGGAGACATACTTTTGATTAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTCGGGGTTA
CTTCAAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAATTCCGAA
TGCATCACTCCAAATGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTTCAAAATGTAAACAGGATCACATATGGGG
CCTGTCCCAGATATGTTAAGCAAAACACTCTGAAATTGGCAACAGGGATGCGAAATGTACCAGAGAAACA
AACTAGAGGCATATTTGGCGCAATCGCGGGTTTCATAGAAAATGGTTGGGAGGGAATGGTGGACGGTTGG
TACGGTTTCAGGCATCAAATTTCTGAGGGCACAGGA

Fig. 10C

Subtipo H4 (SEQ ID NO: 14)

>BHB1050162| gb: DQ021859| Símbolo: HA| Nombre: hemaglutinina| Organismo: Virus A/Ánade real/MN/33/00 de la influenza A |Segmento: 4 |Subtipo: H4 |Huésped: Ave

```

ATGCTATCAATCACGATTCTGTTTCTGCTCATAGCAGAGGGTTCCCTCTCAGAATTACACAGGGAATCCCG
TGATATGCCTGGGACATCATGCCGTATCCAATGGGACAATGGTGAAAACCCTGACTGATGACCAAGTAGA
AGTTGTCACTGCCCAAGAATTAGTGGAATCGCAACATCTACCGGAGTTGTGTCCTAGCCCTTTAAGATTA
GTAGATGGACAAACTTGTGACATCGTCAATGGTGCCCTGGGGAGTCCAGGCTGTGATCACTTGAATGGTG
CAGAATGGGATGTCTTCATAGAACGACCCACTGCTGTGGACACTTGTATCCATTTGATGTGCCGGATTA
CCAGAGCCTACGGAGTATCCTAGCAAACAATGGGAAAATTTGAGTTTATTGCTGAGGAATTCGAATGGAAC
ACAGTCAAACAAAATGGGAAATCCGGAGCATGCAAAAAGAGCAAATGTGAATGACTTTTTCAACAGATTGA
ACTGGCTGACCAAATCTGATGGGAATGCATACCCACTTCAAAACCTGACAAAGGTTAACAACGGGGACTA
TGCAAGACTTTACATATGGGGAGTTCATCATCCTTCAACTGACACAGAACAAACCAACTTGTATAAGAAC
AACCCTGGGAGAGTAACTGTTTCCACCAAACAGTCAAACAAGTGTGGTACCAAACATTGGCAGTAGAC
CATGGGTAAGAGGCCAAAGCGGCAGGATTAGCTTCTATTGGACAATTCTGGAGCCAGGAGACCTCATAGT
CTTCAACACCATAGGGAATTTAATTGCTCCGAGAGGTCATTACAAGCTTAACAGTCAAAGAAGAGCACA
ATTCTGAATACTGCAATTCATAGGATCTTGTGTTAGTAAATGTCACACAGATAGGGGTTCAATCTCTA
CAACCAAACCTTTTCAGAACATCTCAAGAATATCAATTGGGGACTGTCCAAGTATGTCAAACAGGGATC
CTTGAAACTAGCTACAGGAATGAGGAATATCCCTGAGAAAGCAACCAGAGGCCTGTTTGGTGCAATTG

```


Fig. 10D

Subtipo H5 (SEQ ID NO: 15)

>BHB 950029 [gb: AF501235] Símbolo: HA| Nombre: hemagglutina| Organismo: Virus A/pato/Shangai/1/2000 de la influenza A |Segmento: 4 |Subtipo: H5 |Huésped: Ave

```

ATGGAGAAAATAGTGCTTCTTCTTGCAATAGTCAGTCTTGTTAAAAAGTGATCAGATTTGCATTGGTTACC
ATGCAAACTACTCGACAGAGCAGGTTGACACAATAATGGAAAAGAACGTTACTGTTACACATGCCCAAGA
CATACTGGAAAAGACACACAACGGGAACTCTGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTAATTTTGAGAGAT
TGTAAGTGTAGCTGGATGGCTCCTCGGAAACCCTATGTGTGACGAATTCATCAATGTGCCGGAATGGTCTT
ACATAGTGGAGAAGGCCAGTCCAGCCAATGACCTCTGTTACCCAGGGGATTTCACGACTATGAAGAACT
GAAACACCTATTGAGCAGAATAAACCACCTTTGAGAAAATTCAGATCATCCCCAAAAGTTCTTGGTCCAAT
CATGAAGCCTCATCAGGGGTGAGCGCAGCATGTCCATACCATGGGAAGCCCTCCTTTTTTCAGAAATGTGG
TATGGCTTATCAAAAAGAACAGTGCATACCCAACAATAAAGAGGAGCTACAATAATACCAACCAAGAAGA
TC'TTTTGTACTGTGGGGGATTACCATCCTAATGATGCGGCAGAGCAGACAAAGCTCTATCAAAACCCA
ACCACCTATATTTCCGTTGGAACATCAACACTAAACCAGAGATTGGTCCCAAAAATAGCTACTAGATCCA
AAGTAAACGGGCAAAGTGAAGAATGGAGTTCTTCTGGACAATTTTAAAGCCGAATGATGCCATAAATTT
CGAGAGTAATGGAATTTTATTGCTCCAGAATATGCATACAAAATTGTCAAGAAAGGGGACTCAGCAATT
ATGAAAAGTGAATTGGAATATGGTAACTGCAACACCAAGTGTCAAACCTCCAATGGGGGCGATAAACTCTA
GTATGCCATTCCACAACATACACCCTCTCACAATCGGGGAATGCCCCAAATATGTGAAATCAAACAGATT
AGTCCTTGCGACTGGACTCAGAAATACCCCTCAAAGAGATAGAAGAAGAAAAAGAGAGGACTATTTGGA
GCTATAGCAGGTTTTATAGAGGGAGGATGGCAAGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGGTACCACCATAGCA
ATGAGCAGGGGAGTGGATACGCTGCAGACAAAGAATCCACTCAAAGGCAATAGATGGAGTCACCAATAA
GGTCAACTCGATCATTGACAAAATGAACACTCAGTTTGAGGCCGTTGGAAGGGAATTTAATAACTTAGAA
AGGAGGATAGAAAATTTAAACAAGAAGATGGAAGACGGATTCTTAGATGTCTGGACTTATAATGCTGAAC
TTCTGGTTCTCATGAAAATGAGAGAACTCTAGACTTTTATGATTCAAATGTCAAGAACCTTTACAACAA
GGTCCGACTACAGCTTAGGGATAATGCAAAGGAGCTGGGTAATGGTTGTTTCGAGTTCTATCACAAATGT
GATAATGAATGTATGAAAAGTGTAAAAAACGGGACGTATGACTACCCGAGTATTCAGAAGAAGCAAGAC
TAAACAGAGAGGAAATAAGTGGAGTAAAATGGAATCAATGGGAACCTTACCAATACTGTCAATTTATTC
AACAGTGGCGAGTTCCCTAGCACTGGCAATCATGGTAGCTGGTCTATCTTTATGGATGTGCTCCAATGGG
TCGTTACAATGCAGAATTTGCATTTAA

```

Fig. 10E

Subtipo H6 (SEQ ID NO: 16)

>BHB 1049778 |gb: DQ021667| Símbolo: HA| Nombre: hemaglutinina| Organismo: Virus A/Ánade rabudo/TX/828189/02 de la influenza A |Segmento: 4 |Subtipo: H6 |Huésped: Ave

```

ATGATTGCAATCATTGTAATAGCGATACTGGCAGCAGCCGGAAAGTCAGACAAGATCTGCATTGGGTATC
ATGCCAACAAATTCACAACACAGGTGGATACGATACTTGAGAAGAATGTAACCGTCACACACTCAGTTGA
ATTGCTGGAGAATCAGAAGGAAGAAAGATTCTGCAAGATCTTGAACAAGGCCCTCTCGACCTAAAGGGA
TGCACCATAGAGGGTTGGATCTTGGGGAATCCCCAATGCGATCTGTTGCTTGGTGACCAAAGCTGGTCAT
ATATAGTGGAAAGACCTACTGCCCAAATGGGATATGCTACCCAGGAGCTTTGAATGAGGTAGAAGAAGT
GAAAGCATTTATCGGATCAGGAGAAAGGGTAGAGAGATTTGAGATGTTTCCCAAAGCACATGGGCAGGG
GTAGACACCAGCAGTGGGGTAACAAAAGCTTGTCTTATAATAGTGGTTCATCTTTCTACAGAAACCTCC
TATGGATAATAAAGACCAAGTCAGCAGCGTATCCAGTAATTAAGGGAACTTACAGCAACACTCGAAACCA
GCCAATCCTCTATTTCTGGGGTGTGCACCATCCTCTGACACCAATGAGCAAAATACTCTGTATGGCTCT
GGCGATCGGTATGTTAGGATGGGAACTGAGAGCATGAATTTTGCCAAGAGCCAGAAATTGCGGCAAGAC
CCGCTGTGAATGGCCAAAGAGGTCGAATTGATTATTACTGGTCTGTTTTAAACCAGGAGAAACCTTGAA
TGTGGAATCTAATGGAAATCTAATCGCTCCTTGGTATGCATACAAATTTGTCAACACAAATAATAAGGGA
GCCGCTTCAAGTCAAATTTACCAATCGAGAATTGCGATGCCACATGCCAGACTATTGCAGGAGTCCCTAA
GGACCAATAAAACATTTTCAAGATGTGAGCCCTCTGTGGATAGGAGAATGCCCAAGTATGTGAAAAGTGA
AAGTCTAAGGCTTGCTACTGGACTAAGAAATGTTCCACAGATTGAAACCAGAGG3CTTTTCGGAGCTATC
    
```

Fig. 10F

Subtipo H8 (SEQ ID NO: 17)

>gi | 221317 |dbj | D90304.1 | FLAHAH8N4 Virus (A/Turquia/Ontario/6118/68 (H8N4) de la influenza A)) gen para el precursor de hemagglutina, cds completo

```

ATGGAAAAATTCATCGCAATAGCAACCTTGGCGAGCACAAATGCATACGATAGGATATGCATTGGGTACC
AATCAAACAACCTCCACAGACACAGTGAACACTCTCATAGAACAGAATGTACCAGTCACCCAAACAATGGA
GCTCGTGGAAACAGAGAAACATCCCGCTTATTGTAACACTGATTTAGGTGCCCCATTGGAAGTGCAGAGAC
TGCAAGATTGAGGCAGTAATCTATGGGAACCCCAAGTGTGACATCCATCTGAAGGATCAAGGTTGGTCAT
ACATAGTGGAGAGGCCAGCGCACCAGAAGGGATGTGTTACCCTGGATCTGTGGAAAATCTAGAAGAACT
GAGGTTTGTCTTCTCCAGTGTGCATCTTACAAGAGAATAAGACTATTTGACTATTCCAGGTGGAATGTG
ACTAGATCTGGAACGAGTAAAGCATGCAATGCATCAACAGGTGGCCAATCCTTCTATAGGAGCATCAATT
GGTTGACCAAAAAGGAACAGACACTTATGACTTCAATGAAGGAGCTTATGTTAATAATGAAGATGGAGA
CATCATTTTCTTATGGGGGATCCATCATCCGCCGGACACAAAAGAGCAGACAACTATATAAAAATGCA
AACACTTTGAGTAGTGTTACTACTAACACTATAAACAGAAGCTTTCAACCAAATATTGGTCCCAGACCAT
TAGTAAGAGGACAGCAAGGGAGGATGGATTACTATTGGGGCATCTGAAAAGAGGGGAGACTCTGAAGAT
CAGGACCAACCGAAATTTAATCGCACCTGAATTTGGCTATCTGCTCAAAGGTGAAAGCTACGGCAGAATA
ATTCAAATGAGGATATACCCATCGGGAAGTGAACACAAAATGTCAAACATATGCGGGAGCAATCAATA
GCAGCAAACCCCTTTCAGAATGCAAGTAGGCATTACATGGGAGAATGTCCCAAATATGTGAAGAAGGCAAG
CTTGCGACTTGCAAGTTGGGCTTAGGAATACGCCCTTCTGTTGAACCCAGAGGACTGTTTGGAGCCATTGCT
GGTTTCATTGAAGGAGGATGGTCTGGAATGATTGATGGGTGGTATGGATTTTCATCACAGCAATTCAGAGG
GAACAGGAATGGCAGCTGACCAGAAATCAACACAPAGAAGCCATCGATAAGATCACCAATAAAGTCAACAA
TATAGTTGACAAGATGAACAGGGAGTTTGAAGTGTGAATCATGAGTTCTCTGAAGTTGAAAAAGAATA
AACATGATAAACGATAAAATAGATGACCAAATTAAGATCTTTGGGCTTACAATGCAGAGCTCCTTGTGC
TCTTAGAGAACCAGAAAACGCTAGACGAACATGATTCCAATGTCAAAAACCTTTTGGATGAAGTGAAAAG
GAGACTGTGAGCCAATGCAATAGATGCTGGGAACGGTTGCTTTGACATACTTCACAAATGCGACAATGAG
TGTATGGAACTATAAAGAACGGAACCTTACGATCATAAGGAATATGAAGAGGAGGCTAACTAGAAAGGA
GCAAGATAAATGGAGTAAACTAGAAGAGAACACCACTTACAAAATCTTAGCATTTACAGTACAGTGGC
GGCCAGTCTTTGCTTGGCAATCCTGATTGCTGGAGGTTAATCCTGGGCATGCAAATGGATCTTGTAGA
TGCATGTTCTGTATTTGA

```

Fig. 10G**Subtipo H9 (SEQ ID NO: 18)**

>BHB 954830 |gb: AM087218| Símbolo: HA| Nombre: hemaglutinina| Organismo: Virus A/pato
cuchara/Iran/G54/03 de la influenza A |Segmento: 4 |Subtipo: H9 |Huésped: Ave

```

ATGGAAACAGTATCACTAATGACTATACTACTAGTAGCAACAGCAAGCAATGCAGACAAAATCTGCATCG
CCCACCAGTCAACAACTCCACAGAACTGTGGACACGCTAACAGAAACCAATGTTCTGTGACACATGC
CAAAGAATTGCTCCACACAGAGCACAATGGAATGCTGTGTGCAACAAATCTGGGACATCCCCTAATCTTA
GACACGTGCACTATTGAAGGACTGATCTATGGTAACCTTCTTGCTGACTTGCTGTTGGGAGCAAGAGAAT
GGTCTTACATCGTCGAAAGGTCATCAGCTGTAAATGGAACGTGTTACCCTGGGAATGTAGAGAACCTAGA
GGAACTCAGGACACTTTTTAGTTCGCTAGTTCTACCGAAGAATCCAAATCTTCCCAGACACAATCTGG
AATGTGACTTACACTGGAACAAGCAAAGCATGTTTCAAGATTCTTCTACAGGAGTATGAGATGGCTGACTC
AAAAAAGCGGGTCTTACCCTGTTCAAGACGCTCAATACACAAATAATATGGGAAAGAGCATTTCTTTTCGT
GTGGGGCATACATCACCCACCCACTGAAGCTGCACAGACAAATTTGTACACAAGAACCGACACAACAACA
AGCGTGACAACAGAAGACTTAAATAGGATCTTCAAACCGATGGTAGGGCCAAGGCCCTTGTCAATGGTC
TGCAGGGAAGAATTAATTATTATTGGTCGGTACTAAAACCAGGCCAGACACTGCGAGTAAGATCCAATGG
GAATCTAATTGCTCCATGGTATGGACACATTCTTTTCGGGAGGGAGCCATGGAAGAATCCTGAAGACTGAT
TTAAAAAGTAGTAATTGCGTAGTGCAATGTGCACTGAAAAAGGCGGCTTAAACAGTACATTGCCGTTCC
ACAATATCAGTAAATATGCATTTGGAACTGTCCCAAATATGTTAGAGTTAAAAGTCTCAAACCTGGCAGT
AGGGTTGAGGAACGTGCCCTGCTAGATCAAGTAGAGGACTATTCGGAGCCATAGCTGCATTATAGAGGA
GGTTGGCCAGGACTAGTCGCTGGTTGGTATGGTTTCCAGCATTCAAATGATCAAGGGGTTGGTATTGCGG
CAGATAGGGATTCAACTCAAAGGCAATTGATAGAATAACAACCAAGGTGAATAATATAGTCGACAAAAT
GAACAAACARTATGAAATAATTGATCATGAATTCAGTGAGGTTGAACTAGGCTCAACATGATCAATAAT
AAGATTGATGACCAAATACAAGACATATGGGCATATAATGCAGAGTTGCTAGTACTACTTGAAAACCAGA
AAACACTCGATGAGCATGACGCAATGTGAAGA

```

Fig. 10H

Subtipo H10 (SEQ ID NO: 19)

>gi | 324365 | gb | M21647.1| FLAMS84HA Virus (A/pollo/Alemania/N/1949 (H10N7) de la influenza A) gen precursor de hemaglutinina, cds completo

```

AGCAAAAGCAGGGGTCACAATGTACAAAGTAGTAGTAATAATTGCGCTCCTTGGAGCAGTGAAAGGTCTT
GACAGAATCTGCCTAGGACACCATGCGGTTGCCAATGGAACCATTGTGAAGACCCTTACAAATGAACAAG
AGGAAGTGACCAATGCTACTGAGACGGTAGAGAGCACAAATTTGAATAAATTGTGTATGAAAGGAAGAAG
CTACAAGGACTTGGGCAATTGTCAACCCGGTAGGAATGTTGATAGGAACACCTGTTTGTGATCCGCCTTG
ACCGGGACCTGGGACACTCTCATTTGAGCGAGAGAATGCCATTGCCCACTGTTATCCAGGGGCAACCATAA
ATGAAGAAGCATTGAGGCAGAAAATAATGGAAAGTGGAGGAATCAGCAAGATGAGCACTGGCTTCACCTTA
TGGGTCTTCCATCACCTCAGCTGGGACCACTAAGGCATGCATGAGAAATGGAGGAGATAGTTTCTATGCA
GAGCTCAAATGGCTAGTGTCAAAGACAAAGGGACAAAATTTCCCTCAGACAACAAACACCTATCGGAATA
CGGACACAGCAGAACATCTCATAATATGGGGAATTCATCACCCCTCCAGCACACAGGAAAAGAATGACTT
ATACGGAACCTCAGTCACCTATCTATATCAGTTGAGAGTTCTACATATCAGAACAACCTTTGTTCCAGTTGTT
GGGGCAAGACCTCAGGTCAATGGACAAAGTGGGCGAATTGACTTTCACTGGACACTAGTACAGCCGGGTG
ACAACATAACCTTCTCAGACAATGGAGGTCTAATAGCACCAAGTCGAGTTAGCAAATTAACCTGGAAGGGA
TTTGGGAATCCAATCAGAAGCGTTGATAGACAACAGTTGTGAATCCAAATGCTTTTGGAGAGGGGGTTCT
ATAAATACAAAGCTCCCTTTTCAAAATCTGTCAACCCAGAACAGTAGGTCAATGCCCCAAATACGTAAATC
AGAGGAGTTTACTGCTTGCAACAGGGATGAGGAATGTGCCAGAAGTGGTGCAGGGAAGGGGTCTGTTTGG
TGCAATAGCAGGGTTTCATAGAAAACGGATGGGAAGGAATGGTAGACGGCTGGTATGGTTTTCAGACACCAA
AATGCCCAGGGCACAGGCCAAGCTGCTGATTACAAGAGTACTCAAGCAGCTATTGACCAAATCACAGGGA
AACTGAACAGGTTGATTGAGAAGACCAACACTGAGTTTGAAGTCAATAGAATCTGAATTCAGTGAGACTGA
GCATCAAATTGGTAACGTCAATTAATTGGACCAAAGATTCAATAACCGACATTTGGACTTACAACGCAGAG
CTATTAGTGGCAATGGAGAATCAGCACACAATTGACATGGCTGATTCAGAGATGCTAAATCTGTATGAAA
GGGTAAAGAAAGCAACTCAGACAGAATGCAGAAGAAGACGGAAAGGGATGTTTTGAGATATATCATACTTG
TGATGATTGCTGCATCGAGAGTATAAGGAACAATACTTATGACCATTACAATACAGAGAGGAGGCTCTT
CTGAATAGACTGAACATCAACCCAGTGAACTTTCTTCGGGGTACAAAGACATCATACTTTGTTTGTAGCT
TCGGGGAATCATGCTTTGTTCTTCTAGCCGTTGTTATGGGTCTTGTTTTCTTCTGCCTGAAAAATGGAAA
CATGCGATGCACAATCTGTATTTAGTTAAAAACACCTTGTTTCTACT

```

Fig. 10I

Subtipo H11 (SEQ ID NO: 20)

>gi | 221307 | dbj | D90306.1| FLAHAHA11N Virus (A/pato/Inghlaterra/56(H11N6) de la influenza A) gen precursor de hemaglutinina, cds completo

```

ATGGAGAAAACACTGCTATTTGCAGCTATTTTCCTTTGTGTGAAAGCAGATGAGATCTGTATCGGGTATT
TAAGCAACAACCTCGACAGACAAAGTTGACACAATAATTGAGAACAATGTCACGGTCACTAGCTCAGTGGA
ACTGGTTGAGACAGAACACACTGGATCATTCTGTTCAATCAATGGAAAACAACCAATAAGCCTTGGAGAT
TGTTTCATTTGCTGGATGGATATTAGGAAACCCCTATGTGTGATGAACTAATTGGAAAGACTTCATGGTCTT
ACATTGTGGAAAACCCAATCCAACAAATGGAATCTGTTACCCAGGAACCTTTAGAGAGTGAAGAAGAACT
AAGACTGAAATTCAGTGGAGTTTTAGAAATTAACAAATTCGAAGTATTCACATCAAATGGATGGGGTGCT
GTAAATTCAGGAGTAGGAGTAACCGCTGCATGCAAATTCGGGGGTTCTAATTCCTTTCTTTTCGAAACATGG
TATGGCTGATACACCAATCAGGAACATATCCTGTAATAAAGAGAACCTTTAACAACACCAAAGGGAGAGA
TGTAATGATTGTTTTGGGGAATTCATCATCCTGCTACACTGACAGAACATCAAGATCTGTATAAAAAGGAC
AGCTCCTATGTAGCAGTGGGTTTCAGAGACCTACAACAGAAGATTCACTCCAGAAATCAACACTAGGCCCA
GAGTCAATGGACAGGCCGGACGGATGACATTCCTACTGGAAGATAGTCAAACCAGGAGAATCAATAACATT
CGAATCTAATGGGGCGTTCCCTAGCTCCTAGATATGCTTTTGAGATTGTCTCTGTTGGAAATGGGAACTG
TTCAGGAGCGAACTGAACATTGAATCATGCTCTACCAAATGTCAAACAGAAATAGGAGGAATTAATACGA
ACAAAAGCTTCCACAATGTTACAGAAACACTATCGGGGATTGCCCAAGTATGTGAATGTCAAATCCTT
AAAGCTTGCAACAGGACCTAGAAATGTCCCAGCAATAGCATCGAGAGGCTTGTTTGGAGCAATAGCTGGA
TTCATAGAAGGGGGATGGCCTGGACTGATCAATGGATGGTATGGGTTCCAACACAGGGACGAAGAAGGAA
CAGGCATTGCAGCAGACAAGGAGTCAACTCAAAAGGCAATAGACCAGATAACATCCAAGGTAAATAACAT
CGTTGACAGGATGAATACAACTTTGAGTCTGTGCAACACGAATTCAGTGAAATAGAGGAAAGAATAAAT
CAATTATCAAAACACGTAGATGATTCTGTGGTTGACATCTGGTCATATAATGCACAGCTTCTCGTTTTAC
TTGAAAATGAGAAGACACTGGACCTCCATGACTCAAATGTCAGGAACCTCCATGAGAAAGTCAGAAGAAT
GCTAAAGGACAATGCCAAGATGAGGGGAACGGATGCTTCACCTTTTACCATAAGTGTGACAATAAATGC
ATTGAACGAGTTAGAAACGGAACATATGATCATAAAGAATTCGAGGAGGAATCAAAAATCAATCGCCAGG
AGATTGAAGGGGTGAACTAGATTCTAGTGGGAATGTGTATAAAATACTGTCAATTTACAGCTGCATTGC
AAGCAGTCTTGATTGGCAGCACTCATCATGGGGTTCATGTTTTGGGCATGCAGTAATGGATCATGTAGA
TGTACCATTTGCATTTAG

```

Fig. 10J

Subtipo H12 (SEQ ID NO: 21)

>gi | 221309 | dbj | D90307.1| FLAHAHA12N Virus (A/pato/Alberta/60/76(H12N5) de la influenza A) gen precursor de hemaglutinina, cds completo

```

ATGGAAAATTTCATCATTTTGAGTACTGTCTTGGCAGCAAGCTTTGCATATGACAAAATTTGCATTGGAT
ACCAAACAAACAACCTCGACTGAAACGGTAAACACACTAAGTGAACAAAACGTTCCGGTGACGCAGGTGGA
AGAACTTGTACATCGTGGGATTGATCCGATCCTGTGTGGAACGGAAGTAGGATCACCCTAGTGCTTGAT
GACTGTTTCATTAGAGGGTCTAATCCTAGGCAATCCCAAATGTGATCTTTATTTGAATGCCAGGGAATGGT
CATACATAGTAGAGAGGGCCAAAGAGATGGAAGGAGTTTGCTATCCAGGGTCAATTGAAAACCAGGAAGA
GCTAAGATCTCTGTTTTCTTCCATCAAAAAATATGAAAGAGTGAAGATGTTTGATTTACCAAATGGAAT
GTCACATACACTGGGACCAGCAAGGCCTGCAATAATACATCAAACCAAGGCTCATTCTATAGGAGCATGA
GATGGTTGACCTTAAAATCAGGACAATTTCCAGTCCAAACAGATGAGTACAAGAACCAGAGATTTCAGA
CATTGTATTACCTGGGCCATTACCAACCCACCAACATCTGATGAACAAGTAAAATTATACAAAAATCCT
GATACTCTCTCTTCAGTCACCACCGTAGAAATCAATAGGAGCTTCAAGCCTAATATAGGGCCAAGACCAC
TCGTGAGAGGACAACAAGGGAGAATGGATTACTACTGGGCTGTTCTTAAACCTGGACAAACAGTCAAAAT
ACAAACCAATGGTAATCTTATTGCACCTGAATATGGTCACTTAATCACAGGGAAATCACATGGCAGGATA
CTCAAGAATAATTTGCCCATGGGACAGTGTGTGACTGAATGTCAATTGAACGAGGGTGTAAATGAACACAA
GCAAACCTTTCCAGAACACTAGTAAGCACTATATTGGGAAATGCCCCAAATACATACCATCAGGGAGTTT
AAAATTGGCAATAGGGCTCAGGAATGTCCACAAGTTCAAGATCGGGGGCTCTTTGGAGCAATTGCAGGT
TTCATAGAAGGCGGATGGCCAGGGCTAGTGGCTGGTTGGTACGGATTTCAGCATCAAAATGCGGAGGGGA
CAGGCATAGCTGCAGACAGAGACAGCACCCAAAGGGCAATAGACAATATGCAAAACAACTCAACAATGT
CATCGACAAAATGAATAAACAATTTGAAGTGGTGAATCATGAGTTTTTCAGAAGTGGAAAGCAGAATAAAC
ATGATTAATTCAAAATTGATGATCAGATAACTGACATATGGGCATACAATGCTGAATTGCTTGTCTCTAT
TGGAAAATCAGAAGACATTAGATGAGCATGACGCTAATGTAAGGAATCTACATGATCGGGTCAGAAGAGT
CCTGAGGGAAAATGCAATTGACACAGGAGACGGCTGCTTTGAGATTTTACATAAATGTGACAACAATTGT
ATGGACACGATTAGAAACGGGACATACAATCACAAAGAGTATGAGGAAGAAAGCAAAATCGAACGACAGA
AAGTCAATGGTGTGAACTTGAGGAGAATTCTACATATAAAATCTGAGCATCTACAGCAGTGTTCCTC
AAGCTTAGTTCTACTGCTCATGATTATTGGGGGTTTCATTTTCGGGTGTCAAAATGGAAATGTTTCGTTGT
ACTTTCTGTATTTAA

```

Fig. 10K

Subtipo H13 (SEQ ID NO: 22)

>gi | 221311| dbj | D90308.1| FLAHAHA13N Virus (A/gaviota/Meryland/704/77(H13N6) de la influenza A) gen precursor de hemaglutinina, cds completo

```

ATGGCTCTAAATGTCATTGCAACTTTGACACTTATAAGTGTATGTGTACATGCAGACAGAATATGCGTGG
GGTATCTGAGCACCAATTCATCAGAAAGGGTCGACACGCTCCTTGAAAATGGGGTCCCAGTCACCAGCTC
CATTGATCTGATTGAGACAAACCACACAGGAACATACTGTTCTCTAAATGGAGTCAGTCCAGTGCATTTG
GGAGATTGCAGCTTTGAAGGATGGATTGTAGGAAACCCAGCCTGCACCAGCAACTTTGGGATCAGAGAGT
GGTCATACCTGATTGAGGACCCCGCGGCCCTCATGGGCTTTGCTACCCTGGAGAATTAAACAACAATGG
TGAACCTCAGACACTTGTTTCAGTGGAATCAGGTCATTTCAGTAGAACGGAATTGATCCCACCTACCTCCTGG
GGGGAAGTACTTGACGGTACAACATCTGCTTGAGAGATAACACGGGAACCAACAGCTTCTATCGAAATT
TAGTTTGGTTTATAAAGAAGAATACTAGATATCCAGTTATCAGTAAGACCTACAACAATACAACGGGAAG
GGATGTTTTAGTTTTATGGGGAATACATCACCCAGTGTCTGTGGATGAGACAAAGACTCTGTATGTCAAT
AGTGATCCATACACACTGGTTTTCCACCAAGTCTTGAGCGAGAAATATAAACTAGAAACGGGAGTCCGAC
CTGGCTATAATGGACAGAGGAGCTGGATGAAAATTTATTGGTCTTTGATACATCCAGGGGAGATGATTAC
TTTCGAGAGTAATGGTGGATTTTAGCCCCAAGATATGGGTACATAATTGAAGAATATGGAAAAGGAAGG
ATTTTCCAGAGTCGCATCAGAATGTCTAGGTGCAACACCAAGTGCCAGACTTCGGTTGGAGGGATAAACA
CAAAACAGAACGTTCCAAAACATCGATAAGAATGCTCTTGGTGACTGTCCCAAATACATAAAGTCTGGCCA
ACTCAAGCTAGCCACTGGACTCAGAAATGTGCCAGCTATATCGAATAGAGGATTGTTTCGGAGCAATTGCA
GGGTTTCATAGAAGGAGGCTGGCCAGGTTTAATCAATGGTTGGTACGGTTTTTCAGCATCAAARTGAACAGG
GAACAGGAATAGCTGCAGACAAAGAATCAACACAGAAAGCTATAGACCAGATAACAACCAAAATAAATAA
CATTATTGATAAAATGAATGGGAACATGATTCAATTAGGGGTGAATTCATCAAGTTGAGAAGCGTATA
AACATGCTTGCAGACAGAATAGATGATGCCGTGACGGACATTTGGTCATACAATGCCAAACTTCTTGAT
TGCTGGAAAATGATAAACTTTAGATATGCATGATGCTAATGTAAAGAATTTACATGAGCAAGTACGAAG
AGAATTGAAGGACAATGCAATTGACGAAGGAAATGGCTGTTTTGAACTCCTTCATAAATGCAATGACTCC
TGCATGGAAACTATAAGAAATGGAACGTATGACCACACTGAGTATGCAGAGGAGTCAAAGTTAAAGAGGC
AAGAAATCGATGGGATCAAACCTCAAATCAGAAGACAACGTTTACAAAGCATTATCAATATACAGTTGCAT
TGCAAGTAGTGTTGTACTAGTAGGACTCATACTCTCTTTCATCATGTGGGCCTGTAGTAGTGGGAATTGC
CGATTCAATGTTTGTATATAA

```


Fig. 10L

Subtipo H14 (SEQ ID NO: 23)

>gi | 324045| gb | M35997.1| FLAHA1424 A/ánade real/Gurjev/263/82 de la influenza A
gen de hemaglutinina subtipo H14

```

AGCAAAAGCAGGGGAAAATGATTGCACTCATATTGGTTGCACTGGCTCTGAGCCACACTGCTTATTCTCA
GATCACAAATGGGACAACAGGAAACCCCATATATGCTTGGGGCATCATGCAGTGGAAAACGGCACATCT
GTTAAACACTAACAGACAATCACGTAGAAGTTGTGTGCTAGCTAAAGAATTAGTTGAGACGAACCACACTG
ATGAACTGTGCCCCAAGCCCCTTGAAGCTTGTGACGGGCAAGACTGCCACCTCATCAATGGTGCATTGGG
GAGTCCAGGCTGTGACCGTTTGCAGGACACCACTTGGGATGTCTTCATTGAAAGGCCCCACTGCAGTAGAC
ACATGTTATCCATTGACGTCCCAGATTACCAGAGTCTCAGAAGCATCCTAGCAAGCAGTGGGAGTTTGG
AGTTCATCGCCGAACAATTACCTGGAATGGTGTCAAAGTTGACGGATCAAGCAGTGCCTTGTGAGGGG
CGGTGCAACAGCTTCTTCTCCCGACTAACTGGCTAACCAAAGCAACAAATGAAACTATGGACCTATT
AACGTCACTAAAGAAAATACGGGCTCTTATGTGAGGCTCTATCTCTGGGGAGTGCATACCCATCAAGCG
ATAATGAGCAAACGGATCTCTACAAGGTGGCAACAGGGAGAGTAACAGTATCTACCCGCTCGGACCAAAT
CAGTATTGTTCCCAATATAGGAAGTAGACCGAGGGTAAGGAATCAGAGCGGCAGGATAAGCATCTACTGG
ACCCTAGTAAACCCAGGGGACTCCATCATITTTCAACAGTATTGGGAATTTGATTGCACCAAGAGGCCACT
ACAAAATAAGCAAATCTACTAAGAGCACAGTGTCTAAAAGTGACAAAAGGATTGGGTGCATGCACAAGCCC
TTGCTTAACTGATAAAGGTTGATCCAAAGTGACAAACCTTTTCAGAAATGTATCAAGGATTGCTATAGGA
AACTGCCCCGAAATATGTAAAGCAAGGGTCCCTGATGTTAGCAACTGGAATGCGCAACATCCCTGGCAAAC
AGGCAAAGGGCTTATTTGGGGCAATTGCTGGATTCAATTGAAAATGGTTGGCAAGGCCTGATTGATGGGTG
GTATGGATTGAGGCACCAAATGCTGAAGGAACAGGAACTGCTGCAGACCTGAAGTCAACTCAGGCAGCC
ATTGATCAGATAAATGGCAAGCTGAACAGATTGATAGAGAAGACAAATGAAAATATCACCAAATAGAAA
AGGAATTCGAACAGGTGGAAGGAAGAATACAAGACCTTGAGAAGTACGTTGAGGACACTAAGATTGATTT
GTGGTCATACAATGCTGAATTGCTAGTAGCACTAGAGAATCAGCACACAATAGATGTCACAGACTCCGAA
ATGAACAAGCTTTTGAAGAGTAAGAAGGCAATTAAGAGAGAATGCAGAAGATCAAGGCAACGGTTGTT
TCGAGATATTCCATCAGTGTGACAACAATTGTATAGAAAGCATTAGAAACGGAACTTATGACCACAACAT
CTACAGGGATGAAGCCATCAACAATCGAATCAAAATAAATCCTGTCACCTTGACGATGGGGTACAAGGAC
ATAATCCTGTGGATTTCTTTCTCCATGTCATGCTTTGTCTTCGTGGCACTGATTCTGGGATTTGTTCTAT
GGGCTTGTCAAAACGGGAATATCCGATGCCAAATCTGTATATAAAGAAAAAACACCCTTGTTTCTACTC

```

Fig. 10M

Subtipo H15 (SEQ ID NO: 24)

>gi | 126068| gb | L43916.1| FLAHEMAC A/pato/Australia/341/83 de la influenza A
mARN de hemaglutinina, cds completo

```

AGCAAAAGCAGGGGATACAAAATGAACACTCAAATCATCGTCATTCTAGTCCTCGGACTGTGCGATGGTGA
GATCTGACAAGATTTGTCTCGGGCACCATGCCGTAGCAAAATGGGACAAAAGTCAACACACTAACTGAGAA
AGGAGTGGAAGTGGTCAATGCCACGGAGACAGTGGAGATTACAGGAATAAAATAAAGTGTGCACAAAAGGG
AAGAAAGCGGTGGACTTGGGATCTTGTGGAATACTGGGAACATCATTGGGCCTCCACAATGTGACTCTC
ATCTTAAATTCAAAGCTGATCTGATAATAGAAAGAAGAAATTCAAGTGACATCTGTTACCCAGGGAAATT
CACTAATGAGGAAGCACTGAGACAAATAATCAGAGAATCTGGTGGAATTGACAAAGAGCCAATGGGATTT
AGATATTCAGGAATAAAAAACAGACGGGGCAACCAGTGCGTGTAAGAGAACAGTGTCTCTTTCTACTCAG
AAATGAAATGGCTTTTATCCAGCAAGGCTAACCAGGTGTTCCCACTGAATCAGACATACAGGAACAA
CAGAAAAGAACCAGCCCTAATTGTTTGGGGAGTACATCATTCAAGTTCCTTGATGAGCAAAATAAGCTA
TATGGAGCTGGGAACAAGCTGATAACAGTAGGAAGCTCAAAATACCAACAATCGTTTTCCACCAAGTCCAG
GGGACAGGCCCAAAGTGAATGGTCAGGCCGGGAGGATCGACTTTCATTGGATGCTATTGGACCCAGGGGA
TACAGTCACTTTTACCTTCAATGGTGCATTATAGCCCCAGATAGAGCCACCTTTCTCCGCTCTAATGCC
CCATCGGGAGTTGAGTACAATGGGAAGTCACTGGGAATACAGAGTGATGCACAAATTGATGAATCATGTG
AAGGGGAATGCTTCTACAGTGGAGGGACAATAAACAGCCCTTTGCCATTTCAAAACATCGATAGTTGGGC
TGTCGGAAGGTGCCCCAGATATGTAAAGCAATCAAGCCTGCCGCTGGCCTTAGGAATGAAAAATGTACCA
GAGAAAATACATACTAGGGGACTGTTCCGGTGCAATTGCAGGATTCATCGAGAATGGATGGGAAGGACTCA
TTGATGGATGCTATGGATTTAGGCATCAAAATGCACAGGGGCAGGGAACAGCTGCTGACTACAAGAGTAC
TCAGGCTGCAATTGACCAGATAACAGGGAACTTAATAGATTAATTGAAAAAACCAACACACAGTTTGAA
CTCATAGACAATGAGTTCACTGAAGTGGAGCAGCAGATAGGCAATGTAATAAACTGGACAAGGGACTCCT
TGACTGAGATCTGGTCATACAATGCTGAACCTTAGTAGCAATGGAAAAATCAGCATACAATTGACCTTGC
AGATTCTGAAATGAACAACTCTATGAGAGAGTGAGAAGACAGCTAAGGGAGAATGCCGAGGAGGATGGA
ACTGGATGTTTTGAGATTTTCCACCGATGTGACGATCAATGTATGGAGAGCATAACGAAATAATACTTACA
ATCACACTGAATATCGACAGGAAGCCTTACAGAATAGGATAATGATCAATCCGGTAAAGCTTAGTGGTGG
GTACAAAGATGTGATACTATGGTTTAGCTTCGGGGCATCATGTGTAATGCTTCTAGCCATTGCTATGGGT
CTTATTTTCATGTGTGTGAAAAACGGGAATCTGCGGTGCACTATCTGTATATAATTATTTGAAAAACACC
CTTGTTTCTACT

```

Fig. 10N

Subtipo H16 (SEQ ID NO: 25)

>gi | 56425020| gb | AY684891.1|Virus (A/gaviota de cabeza negra/Suecia/5/99 (H16N3) de la influenza A) gen (HA) de hemaglutinina, cds completo

```

AGCAAAAGCAGGGGATATTGTCAAAACAACAGAATGGTGATCAAAGTGCTCTACTTTCTCATCGTATTGT
TAAGTAGGTATTTCGAAAGCAGACAAAATATGCATAGGATATCTAAGCAACAACGCCACAGACACAGTAGA
CACACTGACAGAGAACGGAGTTCCAGTGACCAGCTCAGTTGATCTCGTTGAAACAACCCACACAGGAACA
TACTGCTCACTGAATGGAATCAGCCCAATTTCATCTTGGTGACTGCAGCTTTGAGGGATGGATCGTAGGAA
ACCTTTCCTGTGCCACCAACATCAACATCAGAGAGTGGTCTGATCTAATTGAGGACCCCAATGCCCCCAA
CAAACCTCTGCTTCCCAGGAGAGTTAGATAATAATGGAGAATTACGACATCTCTTCAGCGGAGTGAACCTCT
TTTAGCAGAACAGAATTAATAAGTCCCAACAAATGGGGAGACATTCTGGATGGAGTCACCGCTTCTTGCC
GCGATAATGGGGCAAGCAGTTTTTACAGAAATTTGGTCTGGATAGTGAAGAATAAAAATGGAAAATACCC
TGTCATAAAGGGGGATTACAATAACACAACAGGCAGAGATGTTCTAGTACTCTGGGGCATTACCATCCG
GATACAGAAACAACAGCCATAAACTTGTACGCAAGCAAAAACCCCTACACATTAGTATCAACAAAGGAAT
GGAGCAAAAGATATGAACTAGAAATTGGCACCAGAATAGGTGATGGACAGAGAAGTTGGATGAACTATA
TTGGCACCTCATGCGCCCTGGAGAGAGGATAATGTTTGAAAGCAACGGGGGCCTTATAGCGCCAGATAC
GGATACATCATTTGAGAAGTACGGTACAGGACGAATTTTCCAAAGTGGAGTGAGAATGGCCAAATGCAACA
CAAAGTGTCAAACATCATTAGGTGGGATAAACACCAACAAAACCTTCCAAACATAGAGAGAAATGCTCT
TGGAGATTGCCCAAAGTACATAAAGTCTGGACAGCTGAAGCTTGCAACTGGGCTGAGAAATGTCCCATCC
GTTGGTGAAAGAGGTTTGTGTTGGTGCAATTGCAGGCTTCATAGAAGGAGG6TGGCCTGGGCTAATTAATG
GATGGTATGGTTTCCAGCATCAGAATGAACAGGGGACTGGCATTGCTGCAGACAAAGCCTCCACTCAGAA
AGCGATAGATGAAATAACAACAAAAATTAACAATATAATAGAGAAGATGAACGGAAACTATGATTCATA
AGAGGGGAATTCAATCAAGTAGAAAAGAGGATCAACATGCTCGCTGATCGAGTTGATGATGCAGTAACTG
ACATATGGTCGTACAATGCTAAACTTCTTGTAAGTCTGTTGAAAATGGGAGAACATTGGACTTACACGACGC
AAATGTCAGGAACCTACACGATCAGGTCAAGAGAATATTGAAAAGTAATGCTATTGATGAAGGAGATGGT
TGCTTCAATCTTCTTACAAATGTAATGACTCATGCATGGAACTATTAGAAATGGGACCTACAATCATG
AAGATTACAGGGGAAGTAATCACAACCTGAAAAGGCAGGAAATTGAGGGAATAAAATGAAGTCTGAAGACAA
TGTGTATAAAGTACTGTCGATTTATAGCTGCATTGCAAGCAGTATTGTGCTGGTAGGTCTCATACTTGCG
TTCATAATGTGGGCATGCAGCAATGGAAATTGCCGGTTAATGTTTGTATATAGTCGGAAAAAATACCTT
TGTTTCTACT

```

Fig. 100

Influenza B (SEQ ID NO: 26)

>gi | 325175| gb | K00423.1|FLBHAZO Influenza B/Lee/40, hemagglutinin (seg 4), segmento completo

```

AGCAGAAGCGTTGCATTTTCTAATATCCACAAAATGAAGGCAATAATTGTACTACTCATGGTAGTAACAT
CCAATGCAGATCGAATCTGCACTGGGATAACATCGTCAAACCTCACCTCATGTGGTTAAAACTGCCACTCA
AGGGGAAGTCAATGTGACTGGTGTGATACCACTAACAACAACACCTACCAAATCTCATTTTGCAAAATCTC
AAAGGAACACAGACCAGAGGAAAACTATGCCCAAACCTGTTTAACTGCACAGATCTGGACGTGGCCCTAG
GCAGACCAAAAATGCATGGGGAACACACCCTCCGCAAAAGTCTCAATACTCCATGAAGTCAAACCTGCTAC
ATCTGGATGCTTTTCTATAATGCACGACAGAAACAAAATCAGACAACTACCTAATCTTCTCAGAGGATAT
CAAAACATCAGGTTATCAACCAGTAATGTTATCAATACAGAGACGGCACCAGGAGGACCCTACAAGGTGG
GGACCTCAGGATCTTGCCCTAACGTTGCTAATGGGAACGGCTTCTTCAACACAATGGCTTGGGTATATCCC
AAAAGACAACAACAAGACAGCAATAAATCCAGTAACAGTAGAAGTACCATACATTTGTTTCAGAAAGGGGAA
GACCAAAATTACTGTTTGGGGGTTCCACTCTGATGACAAAACCCAAATGGAAAGACTCTATGGAGACTCAA
ATCCTCAAAGTTTCACTCATCTGCCAATGGAGTAACCACACATTATGTTTCTCAGATTGGTGGCTTCCC
AAATCAAACAGAAAGACGAAGGGCTAAAAACAAAGCGGCAGAAATTGTTGTTGATTACATGGTACAAAAACCT
GGAAAAACAGGAACAATTGTTTATCAAAGAGGCATTTTATTGCCTCAAAGAGTGTGGTGCAGCAAGTGGCA
GGAGCAAGGTAATAAAAAGGGTCCCTGCCTTTAATTGGTGAAGCAGATTGCCTCCACGAAAAGTACGGTGG
ATTAAATAAAAAGCAAGCCTTACTACACAGGAGAGCATGCAAAGGCCATAGGAAATTGCCCAATATGGGTG
AAAACACCCCTTGAAGCTGGCCAATGGAACCAAAATATAGACCGCCTGCAAAACTATTAAAGGAAAGAGGTT
TCTTCGGAGCTATTGCTGGTTTCTTGAAGGAGGATGGGAAGGAATGATTGCAGGTGGCACGGATACAC
ATCTCATGGAGCACATGGAGTGGCAGTGGCAGCAGACCTTAAGAGTACACAAGAAGCTATAAACAAAGATA
ACAAAAAATCTCAACTATTTAAGTGAGCTAGAAGTAAAAACCTTCAAAGACTAAGCGGAGCAATGAATG
AGCTTCAAGACGAAATACTCGAGCTAGACGAAAAAGTGGATGATCTAAGAGCTGATACAATAAGCTCACA
AATAGAGCTTGCAGTCTTGCTTTCCAACGAAGGGATAATAAACAGTGAAGATGAGCATCTCTTGGCACTT
GAAAGAAAACCTGAAGAAAATGCTTGGCCCCCTCTGCTGTAGAAAATAGGGAATGGGTGCTTTGAAACCAAAC
ACAAATGCAACCAGACTTGCCTAGACAGGATAGCTGCTGCCACCTTTAATGCAGGAGATTTTCTCTTCC
CACTTTTGATTCATTAAACATTACTGCTGCATCTTTAAATGATGATGGCTTGGATAATCATACTATACTG
CTCTACTACTCAACTGCTGCTTCTAGCTTGGCTGTAACATTAATGATAGCTATCTTCATTGTCTACATGG
TCTCCAGAGACAATGTTTCTTGTTCATCTGTCTGTGAGGGAGATTAAGCCCTGTGTTTTCTTTACTGT
AGTGCTCATTTGCTTGTCAACATTACAAAGAAACGTTATTGAAAAATGCTCTTGTTACTACT

```

Fig. 10P

Influenza C (SEQ ID NO: 27)

>gi | 325317| gb | M17B68.1|FLCHAJO Influenza C/Johannesburgo/66 (H16N3) ARN de hemaglutinina esterasa (seg 4), cds completo

```

AGCAGAAGCAGGGGGTTAATAATGTTTTCTCATTACTCTTGGTGTGGGCCTCACAGAGGCTGAAAAAA
TAAAGATATGCCTTCAAAAGCAAGTGAACAGTAGCTTCAGCCTACACAATGGCTTCGGAGGAAATTTGTA
TGCCACAGAAGAAAAAGAATGTTTGAGCTTGTTAAGCCCAAGCTGGAGCCTCTGTCTTGAATCAAAGT
ACATGGATTGGCTTTGGAGATTCAAGGACTGACAAAAGCAATTCAGCTTTTCTAGGTCTGCTGATGTTT
CAGCAAAACTGCTGATAAGTTTCGTTTTTTGTCTGGTGGATCCTTAATGTTGAGTATGTTTGGCCCACC
TGGGAAGGTAGACTACCTTTACCAAGGATGTGGAACATATAAGTTTTTTATGAAGGAGTTAACTGGAGT
CCACATGCTGCTATAAATTGTTACAGAAAAAATTGGACTGATATCAAATGAATTTCCAGAAAAACATTT
ATGAATTGGCTTCACAATCACATTGCATGAGCTTGGTGAATGCCTTGGACAAAACCTATTCCTTTACAAGT
GACTGCTGGGACTGCAGGAAATTGCAACACAGCTTCTTAAAAAATCCAGCATTGTACACACAAGAAGTC
AAGCCTTCAGAAAACAAATGTGGGAAAGAAAATCTTGCTTCTTCACACTTCCAACCAATTTGGAACCT
ATGAGTGCAAACTGCATCTTGTGGCTTCTTGCTATTTTCATCTATGATAGTAAAGAAGTGTACAATAAAAG
AGGATGTGACAACTACTTTCAAGTGATCTATGATTCATTTGGAAAAGTCGTTGGAGGACTAGATAACAGG
GTATCACCTTACACAGGGAATTCTGGAGACACCCCAACAATGCAATGTGACATGCTCCAGCTGAAACCTG
GAAGATATTCAGTAAGAAGCTCTCCAAGATTCCTTTTAATGCCTGAAAGAAGTTATTGCTTTGACATGAA
AGAAAAAGGACCAGTCACTGCTGTCCAATCCATTTGGGGAAAAGGCAGAGAATCTGACTATGCAGTGGAT
CAAGCTTGCTTGAGCACTCCAGGGTGCATGTTGATCCAAAAGCAAAAGCCATACATTGGAGAAGCTGATG
ATCACCATGGAGATCAAGAAATGAGGGAGTTGCTGTGAGGACTGGACTATGAAGCTAGATGCATATCACA
ATCAGGGTGGGTGAATGAAACCAGTCCTTTTACGGAGAAATACCTCCTTCCCTCCCAAATTTGGAAGATGC
CCTTTGGCTGCAAAGGAAGAATCCATTCCAAAAATCCCAGATGGCCTTCTAATTCCCACCAGTGGAACCG
ATACCACTGTAACCAAACCTAAGAGCAGAATTTTTGGAATCGATGACCTCATTATTGGTGTGCTCTTTGT
TGCAATCGTTGAAACAGGAATTGGAGGCTATCTGCTTGGAAGTAGAAAAGAATCAGGAGGAGGTGTGACA
AAAGAATCAGCTGAAAAAGGGTTTGAGAAAATTGGAAATGACATACAAATTTTAAATCTTCTATAAATA
TCGCAATAGAAAACTAAATGACAGAATTTCTCATGATGAGCAAGCCATCAGAGATCTAACCTTAGAAAT
TGAAAATGCAAGATCTGAAGCTTTATTGGGAGAATTGGGAATAATAAGAGCCTTATTGGTAGGAAATATA
AGCATAGGATTACAGGAATCTTTATGGGAACTAGCTTCAGAAATAACAAATAGAGCAGGAGATCTAGCAG
TTGAAGTCTCCCCAGGTTGCTGGATAATTGACAATAACATTTGTGATCAAAGCTGTCAAATTTTATTTT
CAAGTTCAACGAACTGCACCTGTTCCAACCATTCCCCCTCTTGACACAAAAATTGATCTGCAATCAGAT
CCTTTTTTACTGGGGAAGCAGCTTGGGCTTAGCAATAACTGCTACTATTTTCATTGGCAGCTTTGGTGATCT
CTGGGATCGCCATCTGCAGAACTAAATGATTGAGACAATTTTGAAAAATGGATAATGTGTTGGTCAATAT
TTTGTACAGTTTTATAAAAAACAAAAATCCCCTTGCTACTGCT

```

Fig. 10Q

SEQ ID NO: 29

5'-AGTTCCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTC-3'

Fig. 10 R

SEQ ID NO: 30

5'-AATAGGAGCTCCATTTTCTCTCAAGATGATTAATTAATTAATTAGTC-3

Fig. 10S

SEQ ID NO: 31

5'-AATAGGAGCTCGTAAATGCTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGG-3'

Fig. 10T

SEQ ID NO: 32

5'-
TTACGAATTCTCCTTCCTAATTGGTGTACTATCATTTATCAAAGGGGA-3'

Fig. 11

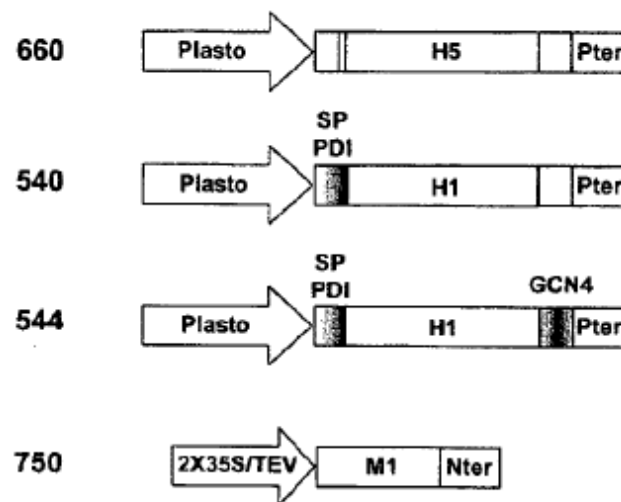
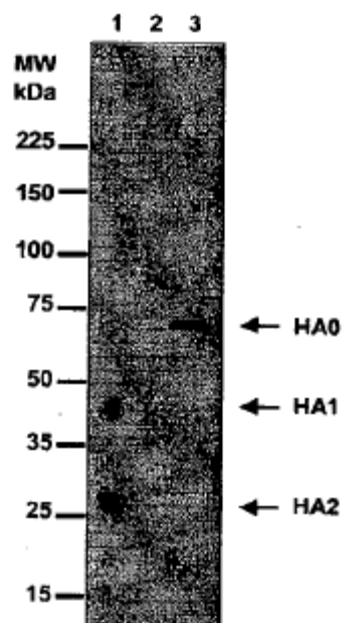


Fig. 12



- 1- H5 comercial (A/Vietnam/1203/2004) (750 ng)
- 2- Extracto de proteína de hoja de imitación (37,5 µg)
- 3- Extracto de proteína de hoja de una planta infiltrada con R660 (37,5 µg)

Fig. 13A

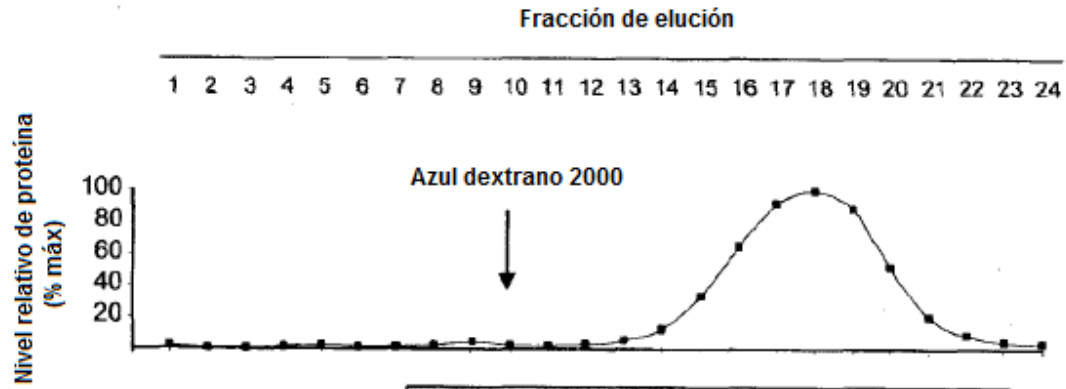


Fig. 13B

H5

Fig. 13C

H1

Fig. 13D

H1 soluble

Fig. 13E

Roseta H1

Fig. 13F

H1+M1

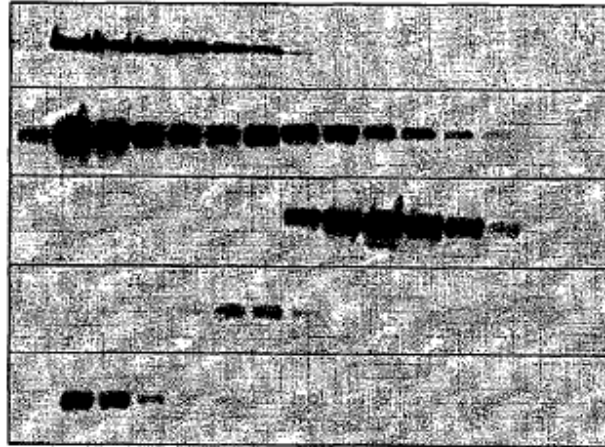


Fig.14A

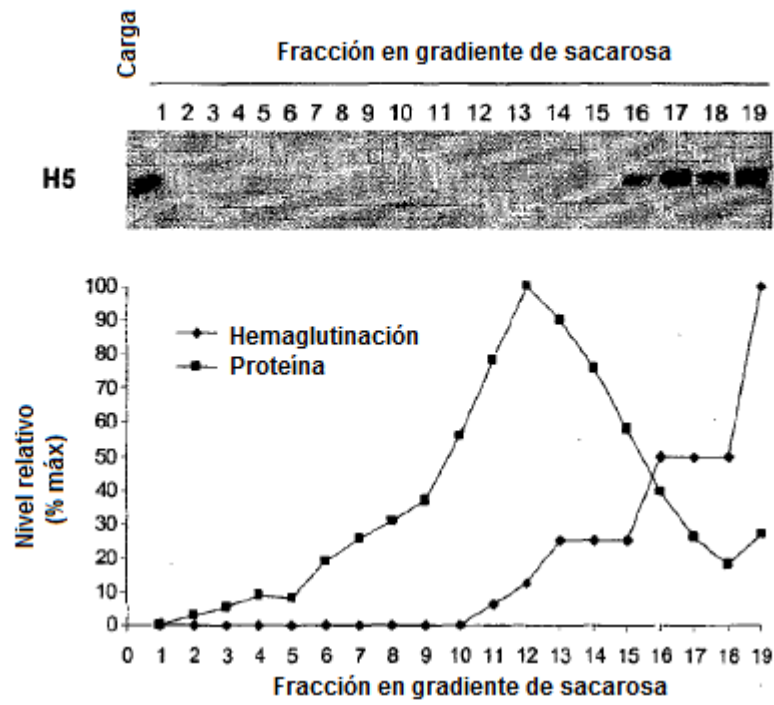


Fig. 14B

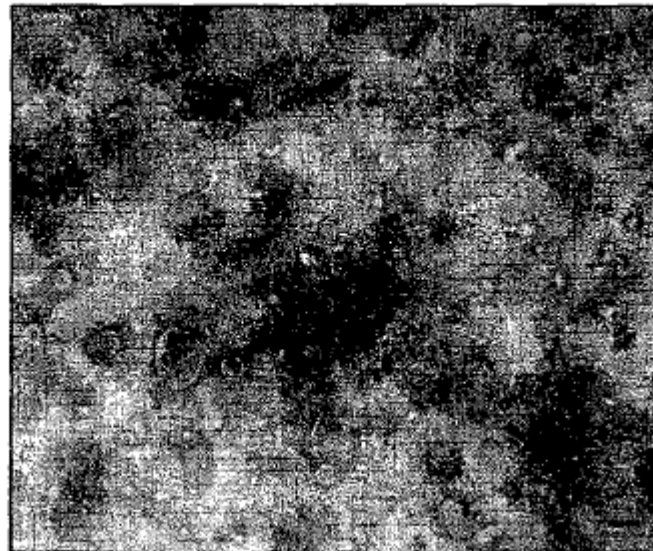


Fig. 15A

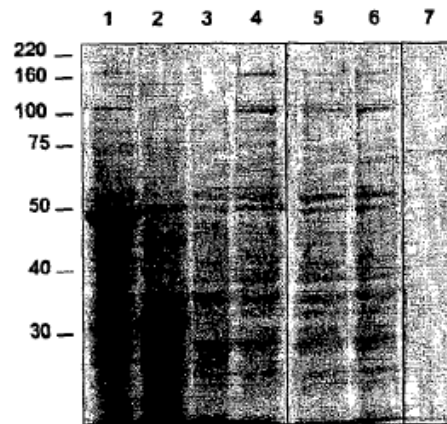


Fig. 15B



Fig. 15C



Fig. 15D

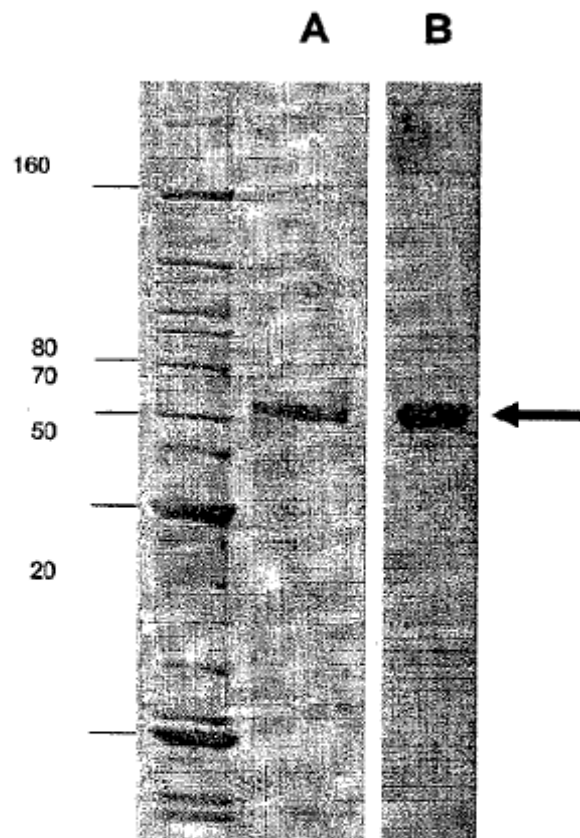


Fig. 16

SEQ ID NO: 33

ATGAAAGCAAACTACTGGTCCTGTTATGTACATTTACAGCTACATATGCAGA
 CACAATATGTATAGGCTACCATGCCAACAACCTCAACCGACACTGTTGACACAG
 TACTTGAGAAGAATGTGACAGTGACACACTCTGTCAACCTACTTGAGGACAGT
 CACAATGGAAAACCTATGTCTACTAAAAGGAATAGCCCCACTACAATTGGGTAA
 TTGCAGCGTTGCCGGATGGATCTTAGGAAACCCAGAATGCGAATTACTGATTT
 CCAAGGAATCATGGTCCTACATTGTAGAAACACCAAATCCTGAGAATGGAACA
 TGTTACCCAGGGTATTTGCCGACTATGAGGAACTGAGGGAGCAATTGAGTTC
 AGTATCTTCATTTGAGAGATTCGAAATATTTCCCAAAGAAAGCTCATGGCCCA
 ACCACACCGTAACCGGAGTATCAGCATCATGCTCCCATATGGGAAAAGCAGT
 TTTTACAGAAATTTGCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTTGTACCCAAACCT
 GAGCAAGTCCTATGTAAACAACAAAGAGAAAGAAGTCCTTGTACTATGGGGTG
 TTCATCACCCGCCTAACATAGGGAACCAAAGGGCCCTCTATCATACAGAAAAT
 GCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATTATAGCAGAAGATTCACCCCAGAAAT
 AGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAGGAAGGAAGAATCAACTACTACTGGA
 CTCTGCTGGAACCTGGGGATACAATAATATTTGAGGCAAATGGAAATCTAATA
 GCGCCATGGTATGCTTTTGCCTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCAC
 CTCAAATGCACCAATGGATGAATGTGATGCGAAGTGTCAAACACCTCAGGGAG
 CTATAAACAGCAGTCTTCCTTTCCAGAATGTACACCCAGTCACAATAGGAGAG
 TGTCCAAAGTATGTCAGGAGTGCAAAATTAAGGATGGTTACAGGACTAAGGAA
 CATCCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGGTTTGGAGCCATTGCCGGTTTCATTG
 AAGSGGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGGTGGTATGGTTATCATCATCAGAAT
 GAGCAAGGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAAGTACACAAAATGCCATTAA
 CGGGATTACAAACAAGGTGAATTCTGTAATTGAGAAAATGAACACTCAATTCA
 CAGCTGTGGGCAAAGAATTCAACAAATTGGAAAGAAGGATGGAAAACCTTAAAT
 AAAAAAGTTGATGATGGGTTTCTAGACATTTGGACATATAATGCAGAATTGTT
 GGTTCCTACTGGAAAATGAAAGGACTTTGGATTTCCATGACTCCAATGTGAAGA
 ATCTGTATGAGAAAGTAAAAAGCCAATTAAAGAATAATGCCAAAGAAATAGGA
 AACGGGTGTTTTGAATTCTATCACAAGTGTAACAATGAATGCATGGAGAGTGT
 GAAAAATGGAACCTATGACTATCCAAAATATTCGAAGAATCAAAGTTAAACA
 GGGAGAAAATTGATGGAGTGAAATTGGAATCAATGGGAGTCTATCAGATTCTG
 GCGATCTACTCAACTGTCGCCAGTTCCCTGGTTCTTTTGGTCTCCCTGGGGGC
 AATCAGCTTCTGGATGTGTTCCAATGGGTCTTTGCAGTGTAGAATATGCATCT
 GAGACCAGAATTTCA

Fig. 17

SEQ ID NO: 34

CCAAATCCTTAACATTCTTTCAACACCAACAATGGCGAAAAACGTTGCGATT
 TTCGGTTTATTGTTTTCTCTTCTTCTGTTGGTTCCTTCTC**AGATCT**TCGCTG
 AGGAATCATCAACTGACGCTAAGGAATTTGTTCTTACATTGGATAACACTAA
 TTTCCATGACACTGTTAAGAAGCACGATTTTCATCGTCGTTGAATTCTACGCA
 CCTTGGTGTGGACACTGTAAGAAGCTAGCCCCAGAGTATGAGAAGGCTGCTT
 CTATCTTGAGCACTCACGAGCCACCAGTTGTTTTGGCTAAAGTTGATGCCAA
 TGAGGAGCACAACAAAGACCTCGCATCGGAAAATGATGTTAAGGGATTCCCA
 ACCATTAAGATTTTTAGGAATGGTGGAAAGAACATTCAAGAATACAAAGGTC
 CCCGTGAAGCTGAAGGTATTGTTGAGTATTTGAAAAACAAAGTGGCCCTGC
 ATCCACAGAAATTAAATCTGCTGATGATGCGACCGCTTTTGTTGGTGACAAC
 AAAGTTGTTATTGTCGGAGTTTTCCCTAAATTTTCTGGTGAGGAGTACGATA
 ACTTCATTGCATTAGCAGAGAAGTTGCGTTCTGACTATGACTTTGCTCACAC
 TTTGAATGCCAAACACCTTCCAAAGGGAGACTCATCAGTGTCTGGGCCTGTG
 GTTAGGTTATTTAAGCCATTTGACGAGCTCTTTGTTGACTCAAAGGATTTCA
 ATGTAGAAGCTCTAGAGAAATTCATTGAAGAATCCAGTACCCCAATTGTGAC
 TGTCTTCAACAATGAGCCTAGCAATCACCCTTTTGTTGTCAAATTCTTTAAC
 TCTCCCAACGCAAAGGCTATGTTGTTTCATCAACTTTACTACCGAAGGTGCTG
 AATCTTTCAAACAAATAACCATGAAGTGGCTGAGCAATACAAACAACAGGG
 AGTTAGCTTTCTTGTTGGAGATGTTGAGTCTAGTCAAGGTGCCTTCCAGTAT
 TTTGGACTGAAGGAAGAACAAGTACCTCTAATTATTATTCAGCATAATGATG
 GCAAGAAGTTTTTCAAACCAATTTGGAACCTTGATCAACTCCCAACTTGTTT
 GAAGGCATACAAGGATGGCAAGGTTGAACCATTTGTCAAGTCTGAACCTATT
 CCTGAAACTAACAACGAGCCTGTTAAAGTGGTGGTTGGGCAAACCTTTGAGG
 ACGTTGTTTTCAAGTCTGGGAAGAATGTTTTGATAGAGTTTTATGCTCCTTG
 GTGTGGTCACTGCAAGCAGTTGGCTCCAATCTTGGATGAAGTTGCTGTCTCA
 TTCCAAAGCGATGCTGATGTTGTIATTGCAAAACTGGATGCAACTGCCAACG
 ATATCCCAACCGACACCTTTGATGTCCAAGGCTATCCAACCTTGTAACCTCAG
 GTCAGCAAGTGGAAAACATCACAATACGACGGTGGTAGGACAAAGGAAGAC
 ATCATAGAATTCATTGAAAAGAACAAGGATAAACTGGTGCTGCTCATCAAG
 AAGTAGAACAACCAAAAGCTGCTGCTCAGCCAGAAGCAGAACAACCAAAAGA
 TGAGCTTTGAAAAGTTCCGCTTGGAGGATATCGGCACACAGTCATCTGCGGG
 CTTTACAACCTTTTTGTATCTCAGAATCAGAAGTTAGGAAATCTTAGTGCCA
 ATCTATCTATTTTTGCGTTTCATTTTATCTTTTTGGTTTACTCTAATGTATT
 ACTGAATAATGTGAGTTTTTGGCGGAGTTTAGTACTGGAACTTTTGTTTCTGT
 AAAAAAAAAAAAA

Fig. 18

SEQ ID NO: 35

AGCGAAAGCAGGTAGATATTGAAAGATGAGTCTTCTAACCGAGGTCGAAACGTAC
 GTTCTCTCTATCATCCCGTCAGGCCCCCTCAAAGCCGAGATCGCACAGAGACTTG
 AAGATGTCTTTGCAGGGAAGAACACCGATCTTGAGGTTCTCATGGAATGGCTAAA
 GACAAGACCAATCCTGTCACCTCTGACTAAGGGGATTTTAGGATTTGTGTTACG
 CTCACCGTGCCAGTGAGCGAGGACTGCAGCGTAGACGCTTTGTCCAAAATGCCC
 TTAATGGGAACGGGGATCCAAATAACATGGACAAAGCAGTTAAACTGTATAGGAA
 GCTCAAGAGGGAGATAACATTCCATGGGGCCAAAGAAATCTCACTCAGTTATTCT
 GCTGGTGCACCTTGCCAGTTGTATGGGCCTCATATACAACAGGATGGGGGCTGTGA
 CCACTGAAGTGGCATTGCGCCTGGTATGTGCAACCTGTGAACAGATTGCTGACTC
 CCAGCATCGGTCTCATAGGCAAATGGTGACAACAACCAACCCACTAATCAGACAT
 GAGAACAGAATGGTTTTAGCCAGCACTACAGCTAAGGCTATGGAGCAAATGGCTG
 GATCGAGTGAGCAAGCAGCAGAGGCCATGGAGGTTGCTAGTCAGGCTAGGCCAAAT
 GGTGCAAGCGATGAGAACCATTGGGACTCATCCTAGCTCCAGTGCTGGTCTGAAA
 AATGATCTTCTTGAAAATTTGCAGGCCTATCAGAAACGAATGGGGGTGCAGATGC
 AACGGTTCAAGTGATCCTCTCGCTATTGCCGCAAATATCATTGGGATCTTGCACT
 TGATATTGTGGATTCTTGATCGTCTTTTTTTCAAATGCATTTACCGTCGCTTTAA
 ATACGGACTGAAAGGAGGGCCTTCTACGGAAGGAGTGCCAAAGTCTATGAGGGAA
 GAATATCGAAAGGAACAGCAGAGTGCTGTGGATGCTGACGATGGTCATTTTGTCA
 GCATAGAGCTGGAGTAAAAAACTACCTTGTTTCTACT

Fig. 19

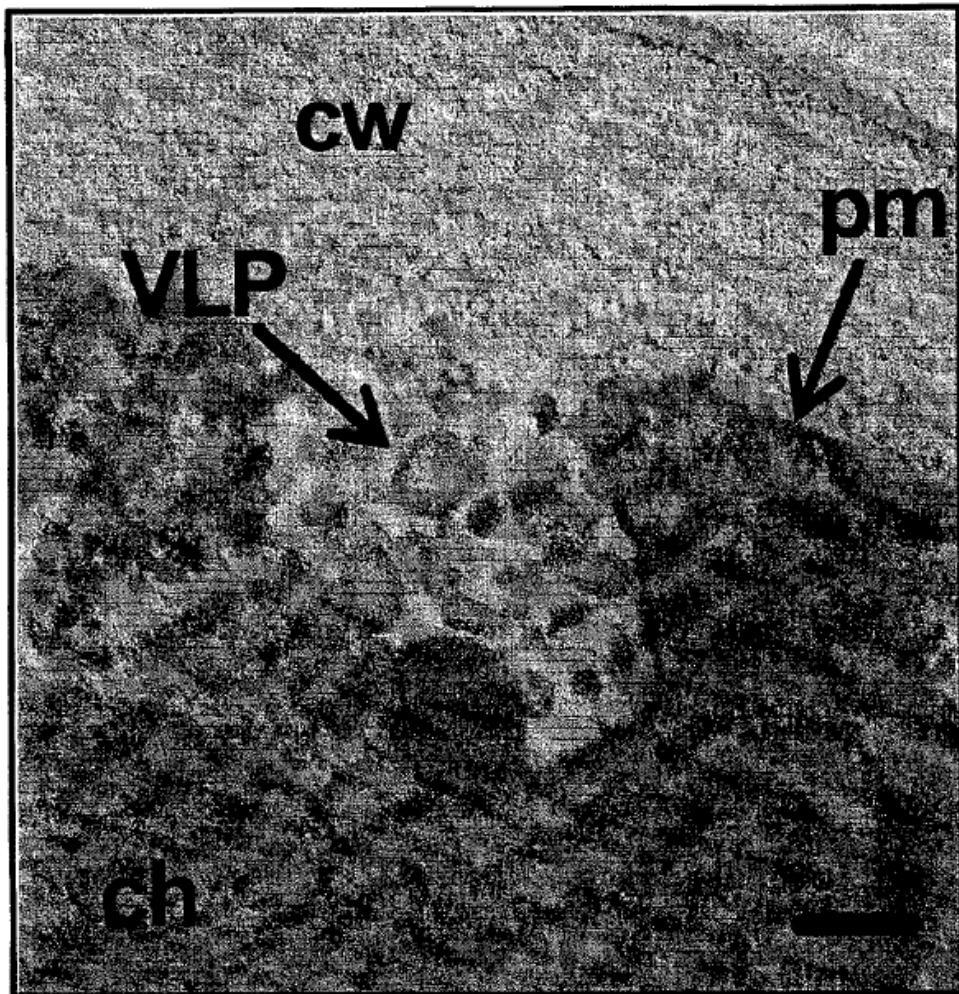


Fig. 20A

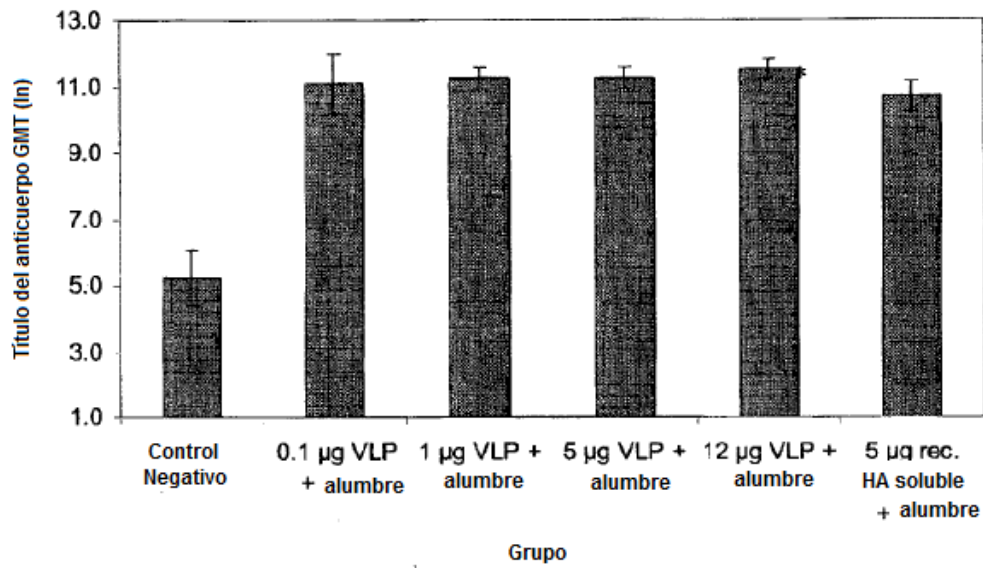


Fig. 20B

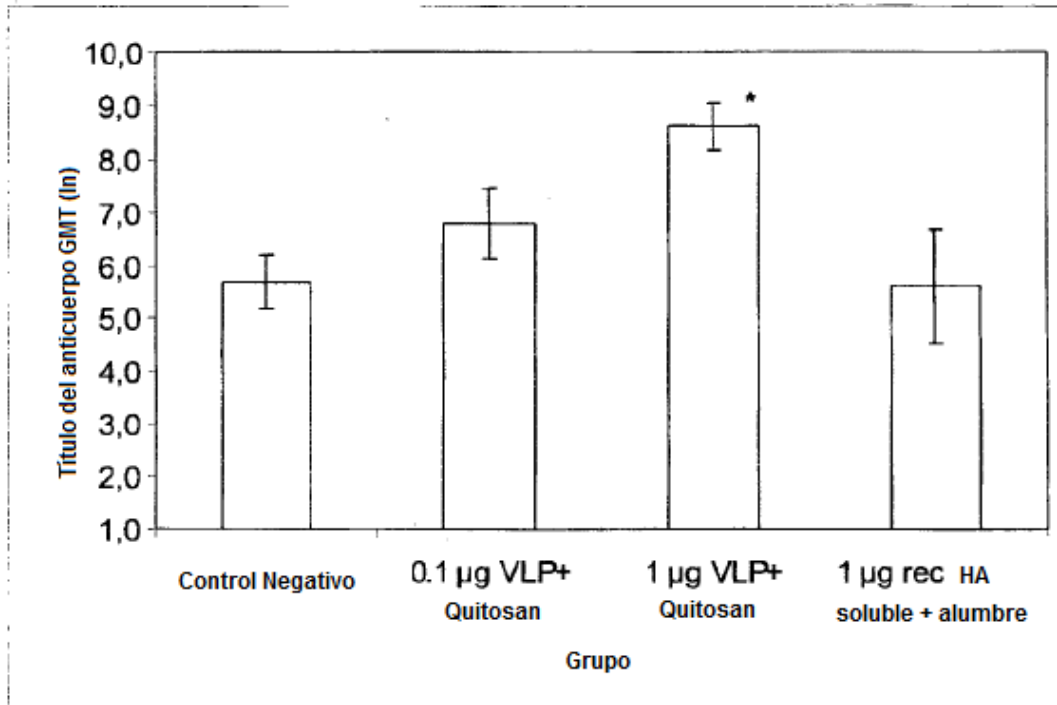


Fig. 21A

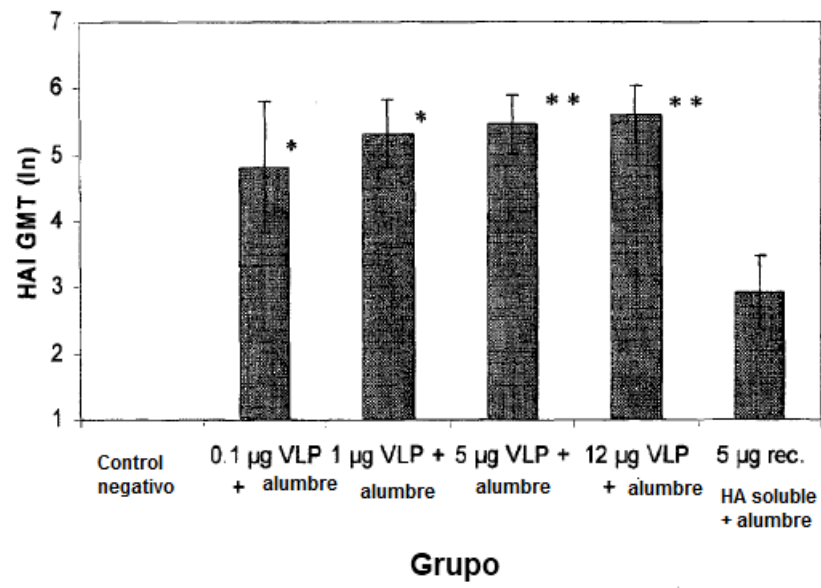


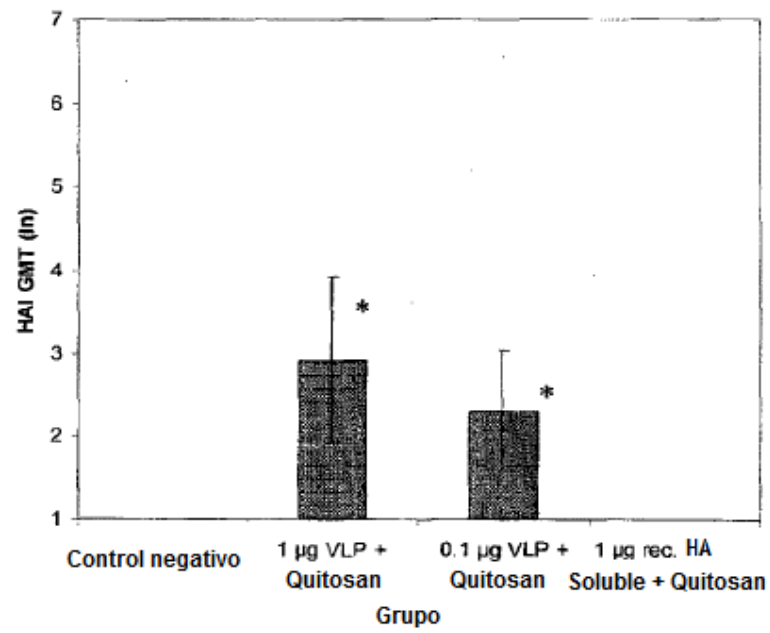
Fig. 21B

Fig. 22A

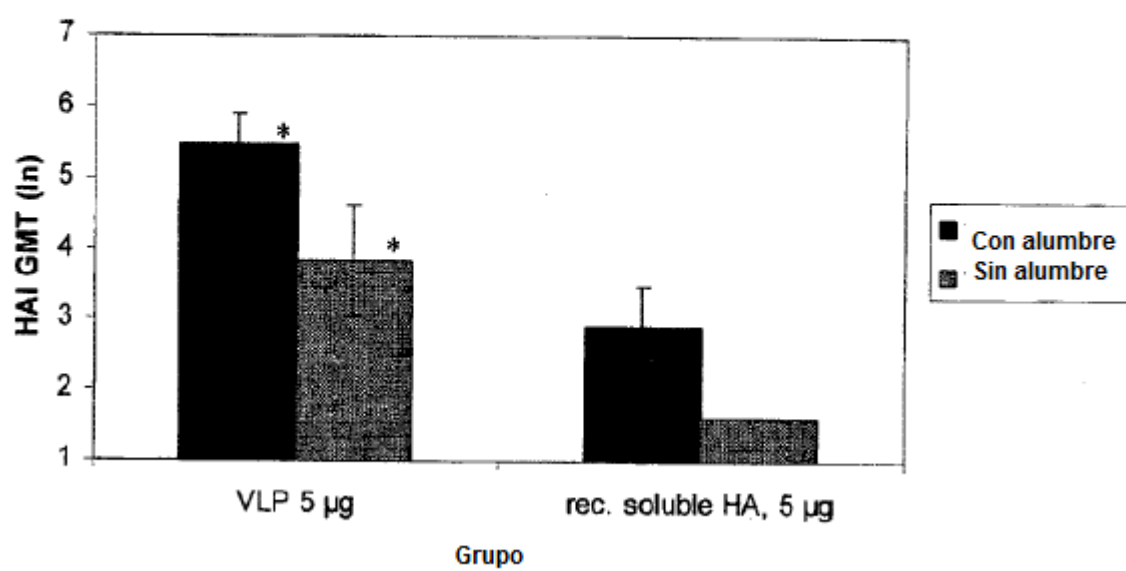


Fig. 22B

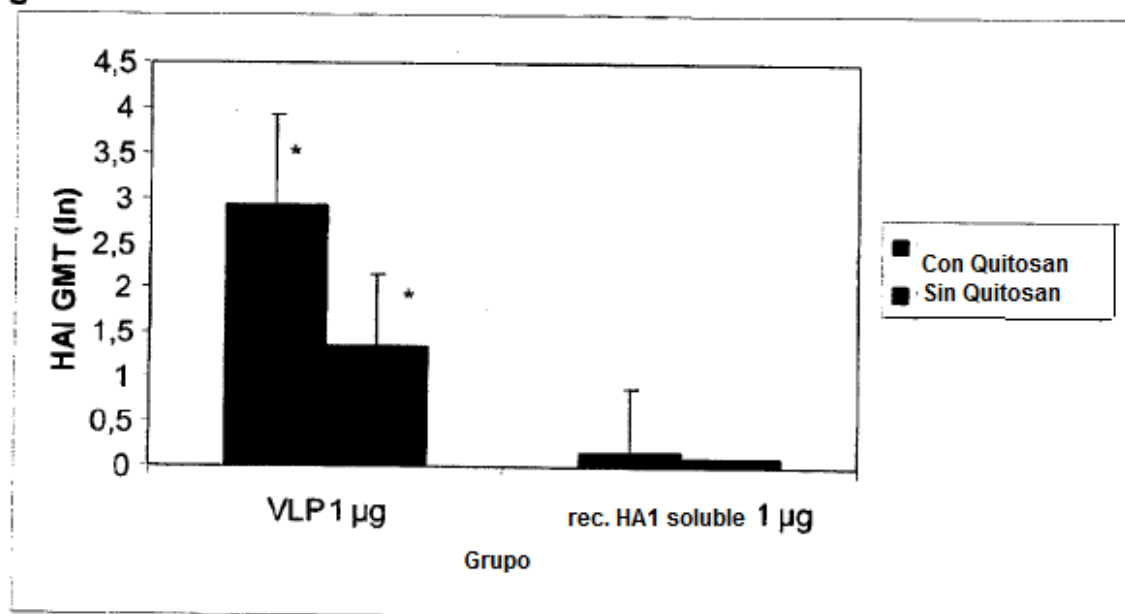


Fig. 23A

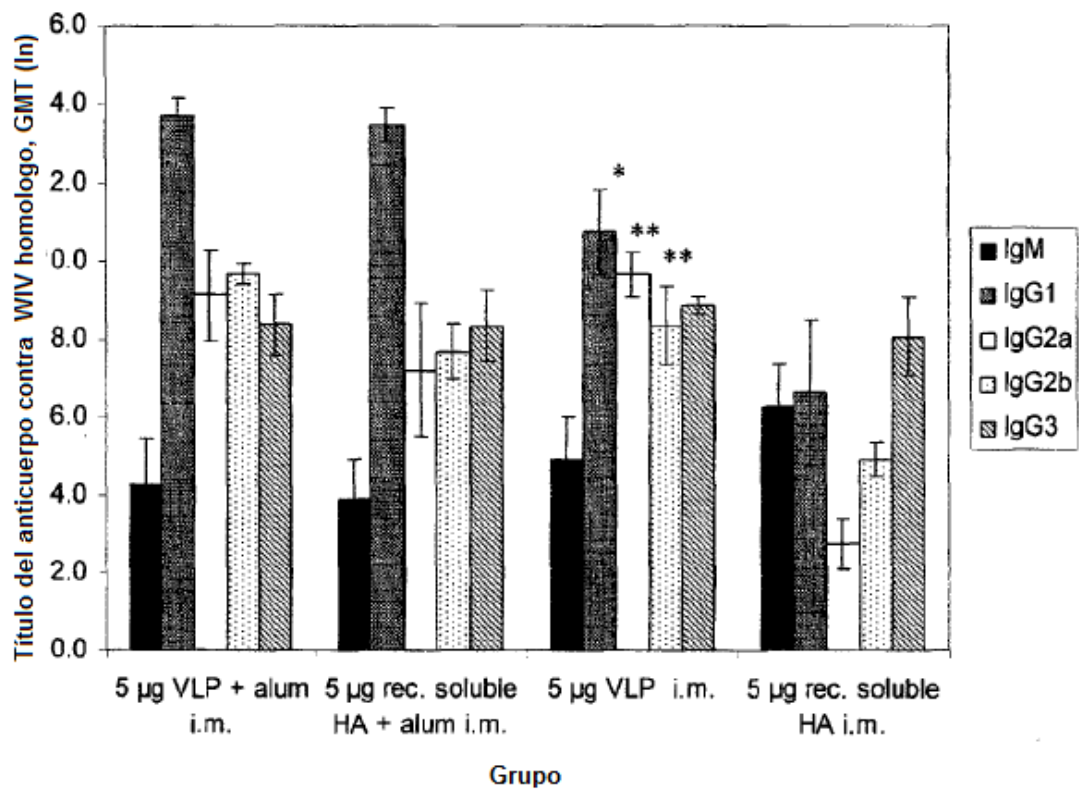


Fig. 23B

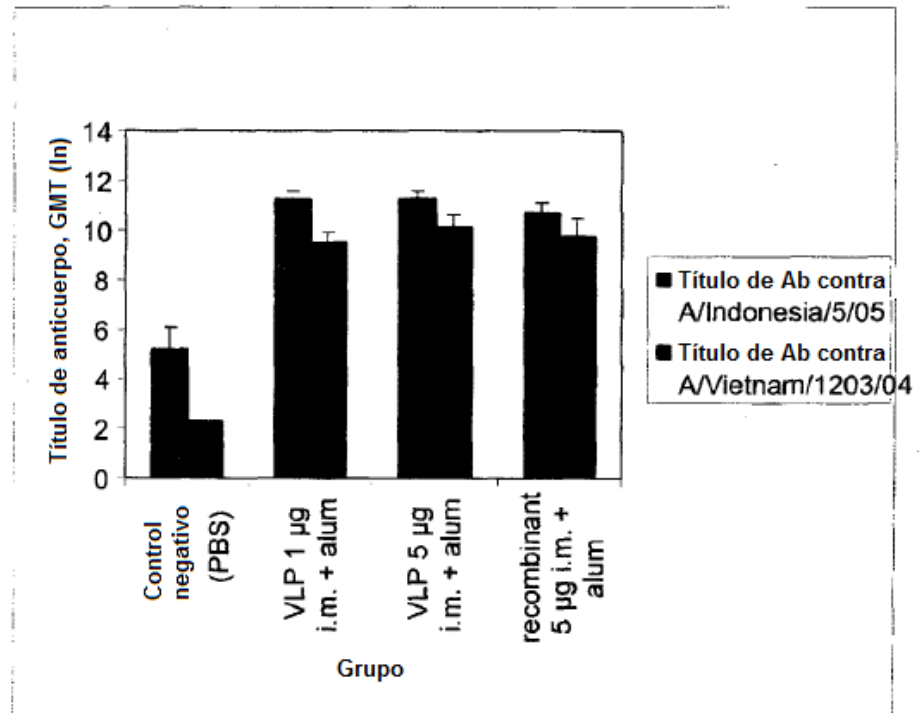
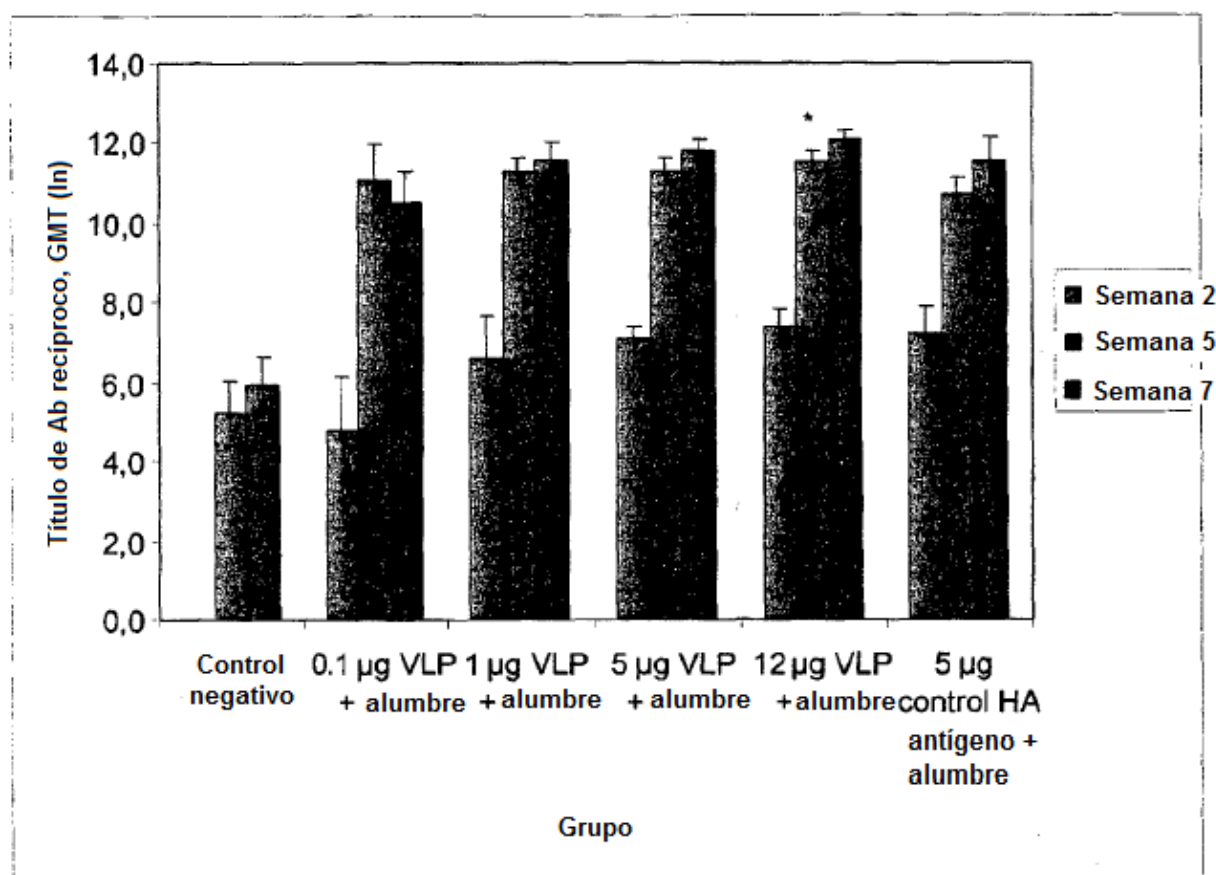


Fig. 24



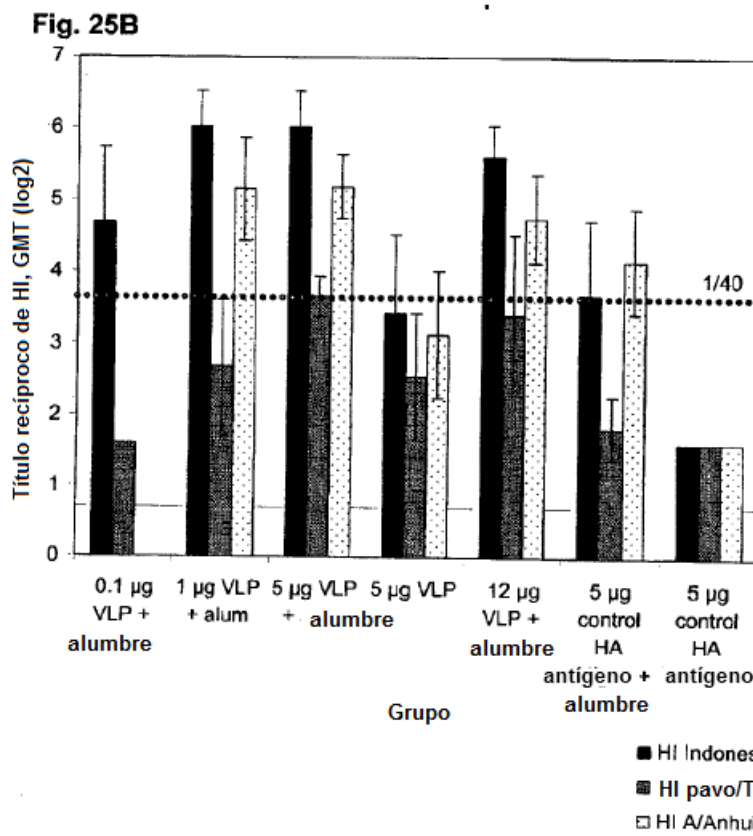
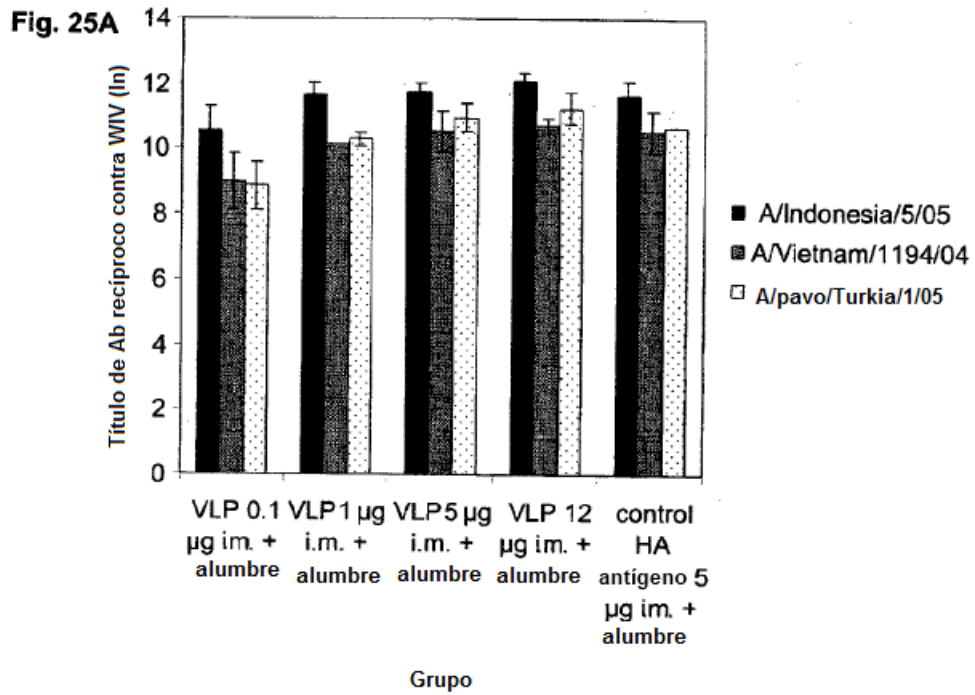


Fig. 26A

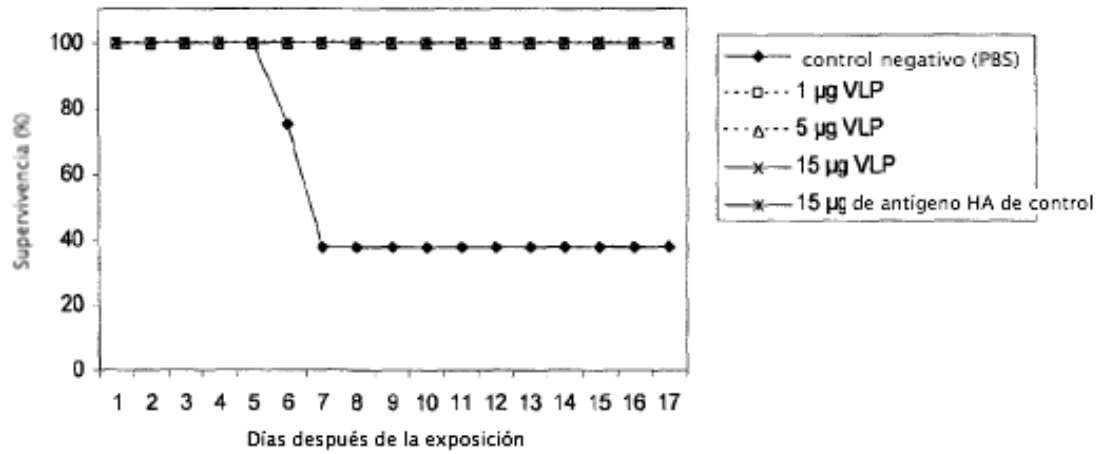


Fig. 26B

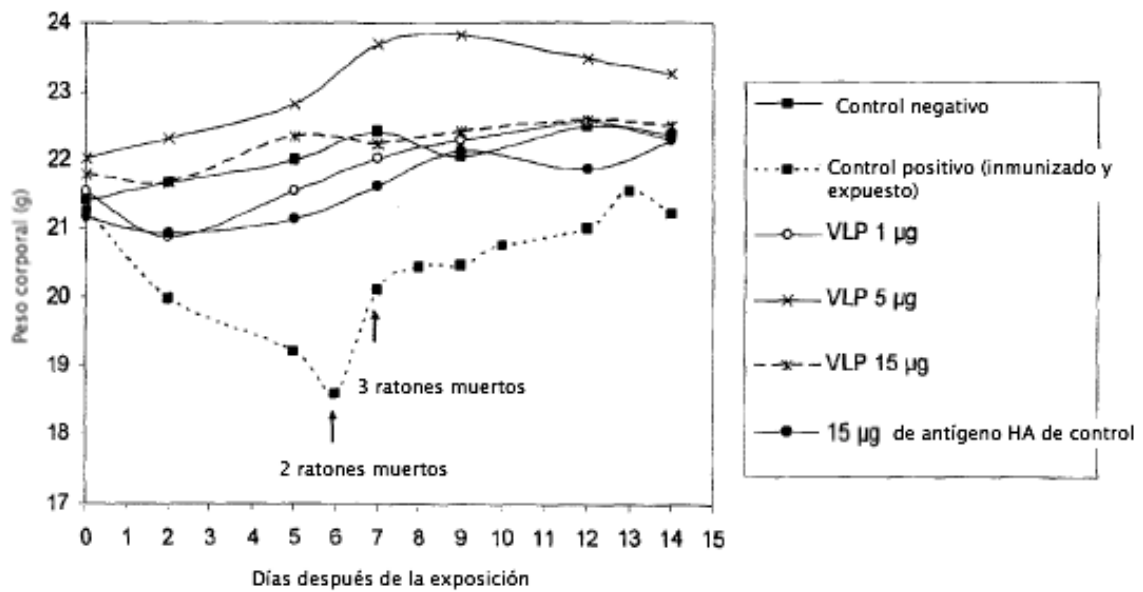


Fig. 27A

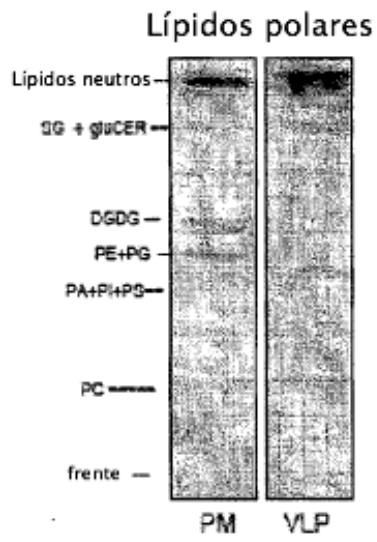


Fig. 27B

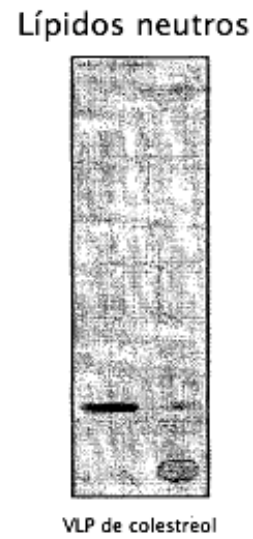


Fig. 27C

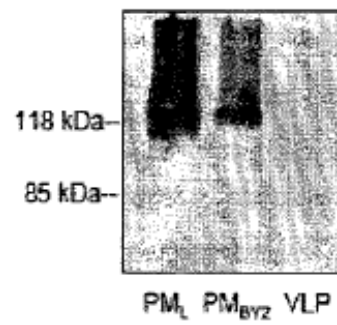


Fig. 28

SEQ ID NO: 36

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGA
 CTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAAGTAAACTACTGGTCC
 TGTTATGCACATTTACAGCTACATATGCAGACACAATATGTATAGGCTACCAT
 GCTAACAACTCGACCGACACTGTTGACACAGTACTTGAAAAGAATGTGACAG
 TGACACACTCTGTCAACCTGCTTGAGAACAGTCACAATGGAAAACATATGTCT
 ATTAAAAGGAATAGCCCCACTACAATTGGGTAATTGCAGCGTTGCCGGGTG
 GATCTTAGGAAACCCAGAATGCGAATTACTGATTTCCAAGGAGTCATGGTCC
 TACATTGTAGAAAAACCAAATCCTGAGAATGGAACATGTTACCCAGGGCATT
 TCGCTGACTATGAGGAACTGAGGGAGCAATTGAGTTCAGTATCTTCATTTGA
 GAGGTTTCGAAATATTCCCCAAAGAAAGCTCATGGCCCAACCACACCGTAACC
 GGAGTGTGAGCATCATGCTCCCATAAATGGGGAAAGCAGTTTTTACAGAAATT
 TGCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTTGTACCCAAACCTGAGCAAGTCCT
 ATGCAAACAACAAAGAAAAAGAAGTCCTTGTACTATGGGGTGTTTCATCACCC
 GCCAAACATAGGTGACCAAAAGGCCCTCTATCATACAGAAAATGCTTATGTC
 TCTGTAGTGTCTTCACATTATAGCAGAAAATTCACCCCAGAAAATAGCCAAAAG
 ACCCAAAGTAAGAGATCAAGAAGGAAGAATCAATTACTACTGGACTCTGCTT
 GAACCCGGGGATACAATAATTTGAGGGCAAATGGAAATCTAATAGCGCCAA
 GATATGCTTTCGCACTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCAACTCAA
 TGCACCAATGGATAAATGTGATGCGAAGTGCCAAACACCTCAGGGAGCTATA
 AACAGCAGTCTTCCTTTCCAGAACGTACACCCAGTCACAATAGGAGAGTGTC
 CAAAGTATGTCAGGAGTGCAAAATTAAGGATGGTTACAGGACTAAGGAACAT
 CCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGGTTGGAGCCATTGCCGGTTTCATTGAA
 GGGGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGTTATCATCATCAGAAT
 GAGCAAGGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAAGCACACAAAATGCCATTA
 ATGGGATTACAAACAAGGTCAATTCTGTAATTGAGAAAATGAACACTCAATTC
 ACAGCAGTGGGCAAAGAGTTCAACAAATTGGAAAGAAGGATGGAAAACCTTG
 AATAAAAAAGTTGATGATGGGTTTATAGACATTTGGACATATAATGCAGAACT
 GTTGGTTCTACTGGAAAATGAAAGGACTTTGGATTTCCATGACTCCAATGTG
 AAGAATCTGTATGAGAAAGTAAAAAGCCAGTTAAAGAATAATGCTAAAGAAAT
 AGGAAATGGGTGTTTTGAGTTCTATCACAAGTGTAACGATGAATGCATGGAG
 AGTGTAAGAATGGAACCTTATGACTATCCAAAATATTCCGAAGAATCAAAGTT
 AAACAGGGAGAAAATTGATGGAGTGAAATTGGAATCAATGGGAGTCTATCAG
 ATTCTGGCGATCTACTCAACAGTCGCCAGTTCTCTGGTTCTTTTGGTCTCCC
 TGGGGGCAATCAGCTTCTGGATGTGTTCCAATGGGTCTTTACAGTGTAGAAT
 ATGCATCTAAGAGCTC

Fig. 29

SEQ ID NO: 37

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACT
 AATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAAAGTAAACTACTGGTCCTGTTA
 TGCACATTTACAGCTACATATGCAGACACAATATGTATAGGCTACCATGCCAACA
 ACTCAACCGACACTGTTGACACAGTACTTGAGAAGAATGTGACAGTGACACACT
 CTGTCAACCTGCTTGAGGACAGTCACAATGGAAAATTATGTCTATTAAGGAAT
 AGCCCCACTACAATTGGGTAATTGCAGCGTTGCCGGATGGATCTTAGGAAACCC
 AGAATGCGAATTACTGATTTCCAGGGAATCATGGTCCTACATTGTAGAAAAACCA
 AATCCTGAGAATGGAACATGTTACCCAGGGCATTTCGCCGACTATGAGGAACTG
 AGGGAGCAATTGAGTTCAGTATCTTCATTTGAGAGATTGCGAAATATCCCCAAG
 AAAGCTCATGGCCCAACCAACCAACCGGAGTATCAGCATCATGCTCCATA
 ATGGGGAAAGCAGTTTTTACAAAAATTTGCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTT
 GTACCCAAACCTGAGCAAGTCCTATGCAAACAACAAAGAGAAAGAAGTCCTTGTA
 CTATGGGGTGTTTCATCACCCGCCTAACATAGGTGACCAAAGGGCTCTCTATCAT
 AAAGAAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATTATAGCAGAAAATTCACCCC
 AGAAATAGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAAGAAGGAAGAATCAACTACTAC
 TGGACTCTACTTGAACCCGGGGATACAATAATTTGAGGCAATGGAAATCTAA
 TAGCGCCAAGATATGCTTTCGCACTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCA
 ACTCAAATGCACCAATGGATGAATGTGATGCGAAGTGCCAAACACCTCAGGGAG
 CTATAAACAGCAGTCTTCCTTTCCAGAATGTACACCCTGTCACAATAGGAGAGTG
 TCCAAAGTATGTCAGGAGTGCAAAATTAAGGATGGTTACAGGACTAAGGAACAT
 CCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTTGTTTGGAGCCATTGCCGGTTTCATTGAAGG
 GGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGTTATCATCATCAGAATGAGCA
 AGGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAAGCACACAAAATGCCATTAATGGGATT
 ACAAACAAGGTCAATTCTGTAATTGAGAAAATGAACACTCAATTCACAGCTGTGG
 GCAAAGAGTTCAACAAATTGGAAAGAAGGATGGAAAACCTAAATAAAAAAGTTGA
 TGATGGGTTTATAGACATTTGGACATATAATGCAGAATTGTTGGTTCTACTGGAA
 AATGAAAGGACTTTGGATTTCCATGACTCCAATGTGAAGAATCTGTATGAGAAAG
 TAAAAAGCCAATTAAGAATAATGCCAAAGAAATAGGAAATGGGTGTTTTGAGTT
 CTATCATAAGTGTAACGATGAATGCATGGAGAGTGTAATAAATGGAAGTTATGAC
 TATCCAAAATATTCCGAAGAATCAAAGTTAAACAGGGAGAAAATTGATGGAGTGA
 AATTGGAATCAATGGGAGTCTATCAGATTCTGGCGATCTACTCAACAGTCGCCAG
 TTCTCTGGTTCTTTTGGTCTCCCTGGGGGCAATCAGCTTCTGGATGTGTTCCAAT
 GGGTCTTTGCAGTGTAGAATATGCATCTGAGAGCTC

Fig. 30

SEQ ID NO: 38

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGA
 CTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAGACTATCATTGCTTTGAG
 CTACATTCTATGTCTGGTTTTCACTCAAAAACCTCCCGGAAATGACAACAGCA
 CGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGGAACGATAGTGA
 AAACAATCACGAATGACCAAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTTCAG
 AGTTCCTCAACAGGTGAAATATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTTGATGGAG
 AAAACTGCACACTAATAGATGCTCTATTGGGAGACCCTCAGTGTGATGGCTT
 CCAAAATAAGAAATGGGACCTTTTTGTTGAACGCAGCAAAGCCTACAGCAACT
 GTTACCCTTATGATGTGCCGGATTATGCCTCCCTTAGGTCACTAGTTGCCTCA
 TCCGGCACACTGGAGTTTAACAATGAAAGTTTCAATTGGACTGGAGTCACTCA
 AAACGGAACAAGCTCTGCTTGCATAAGGAGATCTAATAACAGTTTCTTTAGTA
 GATTGAATTGGTTGACCCACTTAAAATTCAAATACCCAGCATTGAACGTGACT
 ATGCCAAACAATGAAAAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTTACCACCC
 GGGTACGGACAATGACCAAATCTTCCTGTATGCTCAAGCATCAGGAAGAATC
 ACAGTCTCTACCAAAGAAGCCAACAACTGTAATCCCGAATATCGGATCTAG
 ACCCAGAGTAAGGAATATCCCCAGCAGAATAAGCATCTATTGGACAATAGTAA
 AACCGGGAGACATACTTTTGATTAAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAG
 GGGTTACTTCAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCA
 CCCATTGGCAAATGCAATTCTGAATGCATCACTCCAAACGGAAGCATTCCCAA
 TGACAAACCATTCCAAAATGTAAACAGGATCACATACGGGGCCTGTCCCAGA
 TATGTTAAGCAAAACACTCTGAAATTGGCAACAGGGATGCGAAATGTACCAG
 AGAAACAAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATCGCGGGTTTCATAGAAAATGG
 TTGGGAGGGAATGGTGGATGGTTGGTATGGTTTCAGGCATCAAAATTCTGAG
 GGAATAGGACAAGCAGCAGATCTCAAAGCACTCAAGCAGCAATCGATCAAA
 TCAATGGGAAGCTGAATAGGTTGATCGGGAAAACCAACGAGAAATTCATCA
 GATTGAAAAAGAGTTCTCAGAAGTCGAAGGGAGAATCCAGGACCTTGAGAAA
 TATGTTGAGGACACCAAATAGATCTCTGGTCATACAACGCGGAGCTTCTTGT
 TGCCCTGGAGAACCAACATACAATTGATCTAACTGACTCAGAAATGAACAAAC
 TGTTTGAAAAACAAAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAA
 TGGTTGTTTCAAATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATAGGATCAATCA
 GAAATGGAACCTTATGACCACGATGTATACAGAGATGAAGCATTAAACAACCG
 GTTCCAGATCAAGGGCGTTGAGCTGAAGTCAGGATACAAAGATTGGATACTA
 TGGATTTCTTTGCCATATCATGTTTTTGTCTTGTGTTGCTTTGTTGGGGTTC
 ATCATGTGGGCCTGCCAAAAGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTTGAG
 AGCTC

Fig. 31

SEQ ID NO: 39

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAG
 ACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAGACTATCATTGCTTTG
 AGCTACATTCTATGTCTGGTTTTCACTCAAAAACCTCCCGGAAATGACAACA
 GCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGGAACGATA
 GTGAAAACAATCACGAATGACCAAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTG
 GTTCAGAGTTCCTCAACAGGTGGAATATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTT
 GATGGAGAAAACCTGCACACTAATAGATGCTCTATTGGGAGACCCTCAGTGT
 GATGGCTTCCAAAATAAGAAATGGGACCTTTTTGTTGAACGCAGCAAAGCC
 TACAGCAACTGTTACCCTTATGATGTGCCGGATTATGCCTCCCTTAGGTCA
 CTAGTTGCCTCATCCGGCACACTGGAGTTTAACGATGAAAGTTTCAATTGG
 ACTGGAGTCACTCAAAATGGAACAAGCTCTGCTTGCAAAGGAGATCTAAT
 AACAGTTTCTTTAGTAGATTGAATTGGTTGACCCACTTAAATCAAATACC
 CAGCATTGAACGTGACTATGCCAAACAATGAAAAATTTGACAAATTGTACAT
 TTGGGGGGTTTACCACCCGGGTACGGACAATGACCAAATCTTCCTGCATG
 CTCAAGCATCAGGAAGAATCACAGTCTCTACCAAAGAAGCCAACAACTG
 TAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGAATAAGGAATATCCCCAGCAGAA
 TAAGCATCTATTGGACAATAGTAAACCGGGAGACATACTTTTGATTAAACAG
 CACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGGGGTTACTTCAAAATACGAAGTGGGAA
 AAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAATTCTGAATG
 CATCACTCCAAATGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTTCAAAATGTAAAC
 AGGATCACATATGGGGCCTGTCCCAGATATGTAAAGCAAAACACTCTGAAA
 TTGGCAACAGGGATGCGAAATGTACCAGAGAAACAACTAGAGGCATATTT
 GGCGCAATCGCGGGTTTCATAGAAAATGGTTGGGAGGGAATGGTGGATGG
 TTGGTACGGTTTCAGGCATCAAAATTCTGAGGGAATAGGACAAGCAGCAGA
 TCTCAAAGCACTCAAGCAGCAATCAATCAATCAATGGGAAGCTGAATAG
 GTTGATCGGGAAAACCAACGAGAAATTCATCAGATTGAAAAAGAGTTCTC
 AGAAGTAGAAGGGAGAATCCAGGACCTCGAGAAATATGTTGAGGACACTAA
 AATAGATCTCTGGTCATACAACGCGGAGCTTCTTGTTGCCCTGGAGAACCA
 ACATACAATTGATCTAACTGACTCAGAAATGAACAACTGTTTGAAAGAACA
 AAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGGTTGTTTCAA
 ATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATAGGATCAATCAGAAATGGAACCT
 ATGACCATGATGTATACAGAGATGAAGCATTAAACAACCGGTTCCAGATCA
 AAGGCGTTGAGCTGAAGTCAGGATACAAAGATTGGATACTATGGATTTCCT
 TTGCCATATCATGTTTTTTGCTTTGTGTTGCTTTGTTGGGGTTTCATCATGTG
 GGCCTGCCAAAAGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTTGAGAGCTC

Fig. 32

SEQ ID NO: 40

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGA
 GACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAGGCAATAATTGTAC
 TACTCATGGTAGTAACATCCAATGCAGATCGAATCTGCACTGGGATAACAT
 CGTCAAACCTACCACATGTTGTCAAACCTGCTACTCAAGGGGAGGTCAAT
 GTGACTGGTGTAAATACCACTGACAACAACCCACCAAATCTCATTTTGCA
 AATCTCAAAGGAACAGAAACCAGAGGGAAACTATGCCCAAATGCCTCAA
 CTGCACAGATCTGGACGTGGCCTTGGGCAGACCAAAATGCACGGGGAAC
 ATACCTCGGCAAGAGTTTCAATACTCCATGAAGTCAGACCTGTTACATCT
 GGGTGCTTTCTATAATGCACGACAGAACAAAAATTAGACAGCTGCCTAAA
 CTTCTCAGAGGATACGAACATATCAGGTTATCAACTCATAACGTTATCAAT
 GCAGAAAATGCACCAGGAGGACCCTACAAAATTGGAACCTCAGGGTCTTG
 CCCTAACGTTACCAATGGAAACGGATTTTTCGCAACAATGGCTTGGGCCG
 TCCCAAAAAACGACAACAACAAACAGCAACAAATTCATTAACAATAGAAG
 TACCATACATTTGTACAGAAGGAGAAGACCAAATTACCGTTTGGGGGTTT
 CACTCTGATAACGAAACCCAAATGGCAAAGCTCTATGGGGACTCAAAGCC
 CCAGAAGTTCACCTCATCTGCCAACGGAGTGACCACACATTACGTTTCAC
 AGATTGGTGGCTTCCCAAATCAAACAGAAGACGGAGGACTACCACAAAGC
 GGTAGAATTGTTGTTGATTACATGGTGCAAAAATCTGGGAAACAGGAAC
 AATTACCTATCAAAGAGGTATTTTATTGCCTCAAAAAGTGTGGTGCGCAAG
 TGGCAGGAGCAAGGTAATAAAAGGATCGTTGCCTTTAATTGGAGAAGCAG
 ATTGCCTCCACGAAAAATACGGTGGATTAAACAAAAGCAAGCCTTACTACA
 CAGGGGAACATGCAAAGGCCATAGGAAATTGCCCAATATGGGTGAAAACA
 CCCTTGAAGCTGGCCAATGGAACCAAATATAGACCTCCTGCAAACTATTA
 AAGGAAAGGGGTTTCTTCGGAGCTATTGCTGGTTTCTTAGAAGGAGGATG
 GGAAGGAATGATTGCAGGTTGGCACGGATACACATCCCATGGGGCACAT
 GGAGTAGCGGTGGCAGCAGACCTTAAGAGCACTCAAGAGGCCATAAACA
 AGATAACAAAAAATCTCAACTCTTTGAGTGAGCTGGAAGTAAAGAATCTTC
 AAAGACTAAGCGGTGCCATGGATGAACTCCACAACGAAATACTAGAACTA
 GACGAGAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGATACAATAAGCTCACAAATAGA
 ACTCGCAGTCCTGCTTTCCAATGAAGGAATAATAAACAGTGAAGATGAGC
 ATCTCTTGGCGCTTGAAAGAAAGCTGAAGAAAATGCTGGGCCCTCTGCT
 GTAGAGATAGGGAATGGATGCTTTGAAACCAAACACAAGTGCAACCAGAC
 CTGTCTCGACAGAATAGCTGCTGGTACCTTTGATGCAGGAGAATTTTCTCT
 CCCCACTTTTGATTCACTGAATATTACTGCTGCATCTTTAAATGACGATGG
 ATTGGATAATCATACTATACTGCTTTACTACTCAACTGCTGCCTCCAGTTT
 GGCTGTAACATTGATGATAGCTATCTTTGTTGTTTATATGGTCTCCAGAGA
 CAATGTTTCTTGCTCCATCTGTCTATAAGAGCTC

Fig. 33

SEQ ID NO: 41

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAA
 GAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAGGCAATAATT
 GTACTACTCATGGTAGTAACATCCAATGCAGATCGAATCTGCACTGGAA
 TAACATCTTCAAACCTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCCACTCAAGGGGA
 GGTCAATGTGACTGGTGTGATACCACTAACAACAACACCAACAAAATCT
 TATTTTGCAAATCTCAAAGGAACAAGGACCAGAGGGAACTATGCCCA
 GACTGTCTCAACTGCACAGATCTGGATGTGGCTTTGGGCAGACCAATG
 TGTGTGGGGACCACACCTTCGGCGAAGGCTTCAATACTCCACGAAGTC
 AAACCTGTTACATCCGGGTGCTTTCCTATAATGCACGACAGAACAAAAA
 TCAGGCAACTACCCAATCTTCTCAGAGGATATGAAAATATCAGGCTATC
 AACCCAAAACGTCATCGATGCGGAAAAGGCACCAGGAGGACCCTACA
 GACTTGGAACCTCAGGATCTTGCCCTAACGCTACCAGTAAGAGCGGAT
 TTTTCGCAACAATGGCTTGGGCTGTCCCAAAGGACAACAACAAAATG
 CAACGAACCCACTAACAGTAGAAGTACCATACATTTGTACAGAAGGGG
 AAGACCAAATCACTGTTTGGGGGTTCCATTGAGATAACAAAACCCAAAT
 GAAGAACCTCTATGGAGACTCAAATCCTCAAAGTTCACCTCATCTGCT
 AATGGAGTAACCACACACTATGTTTCTCAGATTGGCAGCTTCCCAGATC
 AAACAGAAGACGGAGGACTACCACAAAGCGGCAGGATTGTTGTTGATT
 ACATGATGCAAAAACCTGGGAAAACAGGAACAATTGTCTACCAAAGAG
 GTGTTTTGTTGCCTCAAAGGTGTGGTGCAGGAGTGGCAGGAGCAAA
 GTAATAAAAGGGTCCTTGCCTTTAATTGGTGAAGCAGATTGCCTTCATG
 AAAAATACGGTGGATTAAACAAAAGCAAGCCTTACTACACAGGAGAACA
 TGCAAAAGCCATAGGAAATTGCCCAATATGGGTGAAAACACCTTTGAA
 GCTCGCCAATGGAACCAAATATAGACCTCCTGCAAACTATTAAAGGAA
 AGGGGTTTCTTCGGAGCTATTGCTGGTTTCCTAGAAGGAGGATGGGAA
 GGAATGATTGCAGGCTGGCACGGATACACATCTCACGGAGCACATGG
 AGTGGCAGTGGCGGCGGACCTTAAGAGTACGCAAGAAGCTATAAACAA
 GATAACAAAAAATCTCAATTCTTTGAGTGAGCTAGAAAGTAAAGAATCTT
 CAAAGACTAAGTGGTGCCATGGATGAACTCCACAACGAAATACTCGAG
 CTGGATGAGAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGACACTATAAGCTCGCAA
 ATAGAACTTGCACTCTTGCTTTCCAACGAAGGAATAATAAACAGTGAAG
 ATGAGCATCTATTGGCACTTGAGAGAAAATAAGAAAATGCTGGGTC
 CCTCTGCTGTAGAGATAGGAAATGGATGCTTCGAAACCAACACAAGT
 GCAACCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAG
 GAGAATTTTCTCTCCCACTTTTGATTCACTGAACATTACTGCTGCATCT
 TAAATGATGATGGATTGGATAACCACTATACTGCTCTATTACTCAAC
 TGCTGCTTCTAGTTTGGCTGTAACATTGATGCTAGCTATTTTATTGTTT
 ATATGGTCTCCAGAGACAACGTTTCATGCTCCATCTGTCTATAAGAGCT
C

Fig. 34

SEQ ID NO: 42

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAA
 GAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGCCATCATTTA
 TCTAATTCTCCTGTTACAGCAGTGAGAGGGGACCAAATATGCATTGG
 ATACCATGCCAATAATTCCACAGAGAAGGTCGACACAATTCTAGAGCG
 GAACGTCACTGTGACTCATGCCAAGGACATTCTTGAGAAGACCCATAA
 CGGAAAGTTATGCAAACAAACGGAATCCCTCCACTTGAAGTAGGGGA
 CTGTAGCATTGCCGGATGGCTCCTTGGAATCCAGAATGTGATAGGCT
 TCTAAGTGTGCCAGAATGGTCCTATATAATGGAGAAAGAAAACCCGAG
 AGACGGTTTGTGTTATCCAGGCAGCTTCAATGATTATGAAGAATTGAAA
 CATCTCCTCAGCAGCGTGAAACATTTGAGAAAGTAAAGATTCTGCCC
 AAAGATAGATGGACACAGCATAACAACACTGGAGGTTACGGGCCTG
 CGCGGTGTCTGGTAATCCATCATTCTTCAGGAACATGGTCTGGCTGAC
 AAAGAAAGAATCAAATTATCCGGTTGCCAAAGGATCGTACAACAATAC
 AAGCGGAGAACAATGCTAATAATTTGGGGGGTGCACCATCCCAATGA
 TGAGACAGAACAAAGAACATTGTACCAGAATGTGGGAACCTATGTTTC
 CGTAGGCACATCAACATTGAACAAAAGGTCAACCCACAGACATAGCAAC
 AAGGCCTAAAGTGAATGGACTAGGAAGTAGAATGGAGTTCTCTTGGAC
 CCTATTGGATATGTGGGACACCATAAATTTTGAGAGTACTGGTAATCTA
 ATTGCACCAGAGTATGGATTCAAATATCGAAAAGAGGTAGTTTCAGGG
 ATCATGAAAACAGAAGGAACACTTGAGAACTGTGAGACCAAATGCCAA
 ACTCCTTTGGGAGCAATAAATACAACATTGCCTTTTCACAATGTCCACC
 CACTGACAATAGGTGAGTGCCCCAAATATGTAAAATCGGAGAAGTTGG
 TCTTAGCAACAGGACTAAGGAATGTTCCCCAGATTGAATCAAGAGGAT
 TGTTTGGGGCAATAGCTGGTTTTATAGAAGGAGGATGGCAAGGAATG
 GTTGATGGTTGGTATGGATACCATCACAGCAATGACCAGGGATCAGG
 GTATGCAGCAGACAAAGAATCCACTCAAAGGCATTTGATGGAATCAC
 CAACAAGGTAAATTCTGTGATTGAAAAGATGAACACCCAATTTGAAGCT
 GTTGGGAAAGAGTTCAGTAACTTAGAGAGAAGACTGGAGAACTTGAAC
 AAAAAGATGGAAGACGGGTTTCTAGATGTGTGGACATACAATGCTGAG
 CTTCTAGTTCTGATGGAAAATGAGAGGACACTTGACTTTCATGATTCTA
 ATGTCAAGAATCTGTATGATAAAGTCAGAATGCAGCTGAGAGACAACG
 TCAAAGAAGTGGAAATGGATGTTTTGAATTTATCACAATGTGATGA
 TGAATGCATGAATAGTGTGAAAAACGGGACGTATGATTATCCCAAGTA
 TGAAGAAGAGTCTAACTAAATAGAAATGAAATCAAAGGGGTAAAATTG
 AGCAGCATGGGGGTTTATCAAATCCTTGCCATTTATGCTACAGTAGCA
 GGTCTCTGTCACTGGCAATCATGATGGCTGGGATCTCTTCTGGATG
 TGCTCCAACGGGTCTCTGCAGTGCAGGATCTGCATATGAGAGCTC

Fig. 35

SEQ ID NO: 43

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAG
 AGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGAGAAAATAGTGCT
 TCTTCTTGCAATAGTCAGCCTTGTTAAAAGTGATCAGATTGTCATTGGTTA
 CCATGCAAACAACCTCGACAGAGCAGGTTGACACAATAATGGAAAAGAAC
 GTTACTGTTACACATGCCCAAGACATACTGGAAAAGACACACAACGGGA
 AGCTCTGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTGATTTTAAGAGATTGTAGT
 GTAGCTGGATGGCTCCTCGGAAACCCAATGTGTGACGAGTTCATCAATG
 TGCCGGAATGGTCTTACATAGTGGAGAAGGCCAACCCAGCCAATGACCT
 CTGTTACCCAGGGAATTTCAACGACTATGAAGAACTGAAACACCTATTGA
 GCAGAATAAACCATTTTGAGAAAATTGAGATCATCCCCAAAAGTTCTTGG
 TCCGATCATGAAGCCTCATCAGGGGTCAGCTCAGCATGTCCATACCAGG
 GAACGCCCTCCTTTTTCAGAAATGTGGTATGGCTTATCAAAAAGAACAAT
 ACATACCCAACAATAAAGAGAAGCTACAATAATACCAACCAGGAAGATCT
 TTTGATACTGTGGGGGATTTCATCATTCTAATGATGCGGCAGAGCAGACAA
 AGCTCTATCAAAACCCAACCACCTATATTTCCGTTGGGACATCAACACTA
 AACCAGAGATTGGTACCAAAAATAGCTACTAGATCCAAAGTAAACGGGCA
 AAGTGGAAGGATGGATTTCTTCTGGACAATTTTAAAACCGAATGATGCAA
 TCAACTTCGAGAGTAATGGAAATTTTATTGCTCCAGAATATGCATACAAA
 ATTGTCAAGAAAGGGGACTCAGCAATTGTTAAAAGTGAAGTGGAATATGG
 TAACTGCAATACAAAGTGTCAAACCTCCAATAGGGGCGATAAACTCTAGTA
 TGCCATTCCACAACATACACCCTCTCACCATCGGGGAATGCCCCAAATAT
 GTGAAATCAAACAAATTAGTCCTTGCGACTGGGCTCAGAAATAGTCCTCT
 AAGAGAAAGAAGAAGAAAAAGAGGACTATTTGGAGCTATAGCAGGGTTT
 ATAGAGGGAGGATGGCAGGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGGTACCAC
 CATAGCAATGAGCAGGGGAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAATCCACTC
 AAAAGGCAATAGATGGAGTCACCAATAAGGTCAACTCGATCATTGACAAA
 ATGAACACTCAGTTTGAGGCCGTTGGAAGGGAATTTAATACTTAGAAAG
 GAGAATAGAGAATTTAAACAAGAAAATGGAAGACGGATTCCTAGATGTCT
 GGACTTATAATGCTGAACTTCTGGTTCTCATGGAAAATGAGAGAACTCTA
 GACTTCCATGATTCAAATGTCAAGAACCTTTACGACAAGGTCCGACTACA
 GCTTAGGGATAATGCAAAGGAGCTGGGTAACGGTTGTTTCGAGTTCTAT
 CACAAATGTGATAATGAATGTATGGAAAGTGTAAAGAACGGAACGTATGA
 CTACCCGCAGTATTCAGAAGAAGCAAGATTAAAAAGAGAGGAAATAAGT
 GGAGTAAAATTGGAATCAATAGGAACTTACCAAATACTGTCAATTTATTCA
 ACAGTTGCGAGTTCTCTAGCACTGGCAATCATGGTGGCTGGTCTATCTTT
 GTGGATGTGCTCCAATGGGTGCTTACAATGCAGAATTTGCATTAAAGAGC
 TC

Fig. 36

SEQ ID NO: 44

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGA
 GACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGAGAAAATAGTGCTTC
 TTTTGGCAATAGTCAGTCTTGTTAAAAGTGATCAGATTTGCATTGGTTACCA
 TGCAACAACCTCGACAGAGCAGGTTGACACAATAATGGAAAAGAACGTTA
 CTGTTACACATGCCCAAGACATACTGGAAAAGACACACAATGGGAAGCTC
 TGGGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTAATTTTGAGAGATTGTAGTGTAGCT
 GGATGGCTCCTCGGAAACCCAATGTGTGACGAGTTCATCAATGTGCCGGA
 ATGGTCTTACATAGTGGAGAAGGCCAATCCAGTCAATGACCTCTGTTACC
 CAGGGGATTTCAATGACTATGAAGAATTGAAACACCTATTGAGCAGAATAA
 ACCATTTTGAGAAAATTCAGATCATCCCCAAAAGTTCTTGGTCCAGTCATG
 AAGCCTCATTGGGGGTCAGCTCAGCATGTCCATACCAGGGGAAAGTCCTCC
 TTTTTCAGAAATGTGGTATGGCTTATCAAAAAGAACAGTACATACCCAACA
 ATAAAGAGGAGCTACAATAATACCAACCAAGAAGATCTTTTGGTACTGTGG
 GGGATTCACCATCCTAATGATGCGGCAGAGCAGACAAAGCTCTATCAAAA
 CCAACCACTATATTTCCGTTGGGACATCTACACTAAACCAGAGATTGGT
 ACCAAGAATAGCTACTAGATCCAAAGTAAACGGGCAAAGTGGAAGGATGG
 AGTTCTTCTGGACAATTTTAAACCGAATGATGCAATCAACTTCGAGAGTA
 ATGGAAATTTCAATTGCTCCAGAATATGCATACAAAATTGTCAAGAAAGGGG
 ACTCAACAATTATGAAAAGTGAATTGGAATATGGTAACTGCAATACCAAGT
 GTCAAACTCCAATGGGGGCGATAAACTCTAGCATGCCATTCCACAATATAC
 ACCCTCTCACCATCGGGGAATGCCCAAATATGTGAAATCAAACAGATTA
 GTCCTTGCGACTGGGCTCAGAAATAGCCCTCAAAGAGAGAGAAGAAGAAA
 AAAGAGAGGATTATTTGGAGCTATAGCAGGTTTTATAGAGGGAGGATGGC
 AGGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGGTACCACCATAGCAACGAGCAGGG
 GAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAATCCACTCAAAGGCAATAGATGGAG
 TCACCAATAAGGTCAACTCGATTATTGACAAAATGAACACTCAGTTTGAGG
 CCGTTGGAAGGGAATTTAACAACCTTAGAAAGGAGAATAGAGAATTTAAACA
 AGAAGATGGAAGACGGGTTCTAGATGTCTGGACTTATAATGCTGAACTT
 CTAGTTCTCATGGAAAACGAGAGAACTCTAGACTTTTCATGACTCAAATGTC
 AAGAACCCTTTACGACAAGGTCCGACTACAGCTTAGGGATAATGCAAAGGA
 GCTGGGTAACGTTGTTTCGAGTTCTATCATAAATGTGATAATGAATGTAT
 GGAAAGTGTAAGAAACGGAACGTATGACTACCCGCAGTATTCAGAAGAAG
 CAAGACTAAAAAGAGAGGAAATAAGTGGAGTAAAATTGGAATCAATAGGA
 ATTTACCAAATATTGTCAATTTATTCTACAGTGGCCAGCTCCCTAGCACTG
 GCAATCATGGTAGCTGGTCTATCCTTATGGATGTGCTCCAATGGGTCGTT
 ACAATGCAGAATTTGCATTTAAGAGCTC

Fig. 37

SEQ ID NO: 45

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGA
 GACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGATTGCAATCATTGTAA
 TAGCAATACTGGCAGCAGCCGGAAGTCAGACAAGATCTGCATTGGGTAT
 CATGCCAACCAATTCAACAACACAGGTAGATACGATACTTGAGAAGAATGT
 GACTGTCACACACTCAATTGAATTGCTGGAAAATCAGAAGGAAGAAAGAT
 TCTGCAAGATATTGAACAAGGCCCTCTCGACTTAAGGGAATGTACCATA
 GAGGGTTGGATCTTGGGGAATCCCCAATGCGACCTATTGCTTGGTGATCA
 AAGCTGGTCATACATTGTGGAAAGACCTACTGCTCAAACGGGATCTGCT
 ACCCAGGAACCTTAAATGAGGTAGAAGAACTGAGGGCACTTATTGGATCA
 GGAGAAAGGGTAGAGAGATTTGAGATGTTTCCCCAAAGCACCTGGCAAG
 GAGTTGACACCAACAGTGGAACAACAAGATCCTGCCCTTATTCTACTGGT
 GCGTCTTTCTACAGAAACCTCCTATGGATAATAAAAACCAAGACAGCAGA
 ATATCCAGTAATTAAGGGAATTTACAACAACACTGGAACCCAGCCAATCCT
 CTATTTCTGGGGTGTGCATCATCCTCCTAACACCGACGAGCAAGATACTC
 TGTATGGCTCTGGTGATCGATACGTTAGAATGGGAACTGAAAGCATGAAT
 TTTGCCAAGAGTCCGGAATTTGCGGCAAGGCCTGCTGTGAATGGACAAA
 GAGGCAGAATTGATTATTATTGGTCGGTTTTAAACCAGGGGAAACCTTG
 AATGTGGAATCTAATGGAAATCTAATCGCCCCTTGGTATGCATACAAATTT
 GTCAACACAAATAGTAAAGGAGCCGTCTTCAGGTCAGATTTACCAATCGA
 GAACTGCGATGCCACATGCCAGACTATTGCAGGGGTTCTAAGGACCAATA
 AAACATTTTCAAGATGTGAGTCCCCTGTGGATAGGAGAATGTCCCAAATAC
 GTGAAAAGTGAAAGTCTGAGGCTTGCAACTGGACTAAGAAATGTTCCACA
 GATTGAAACTAGAGGACTCTTCGGAGCTATTGCAGGGTTTATTGAAGGAG
 GATGGACTGGGATGATAGATGGGTGGTATGGCTATCACCATGAAAATTCT
 CAAGGGTCAGGATATGCAGCAGACAGAGAAAGCACTCAAAGGCTGTAA
 ACAGAATTACAAATAAGGTCAATTCCATCATCAACAAAATGAACACACAAT
 TTGAAGCTGTCGATCACGAATTTTCAAATCTGGAGAGGAGAATTGACAAT
 CTGAACAAAAGAATGCAAGATGGATTTCTGGATGTTTGGACATACAATGC
 TGAAGTGTGGTTCTTCTTGAAAACGAAAGAACTAGACATGCATGACG
 CAAATGTGAAGAACCTACATGAAAAGGTCAAATCACAACTAAGGGACAAT
 GCTACGATCTTAGGGAATGGTTGCTTTGAATTTTGGCATAAGTGTGACAAT
 GAATGCATAGAGTCTGTCAAAAATGGTACATATGACTATCCCAAATACCAG
 ACTGAAAGCAAATTAACAGGCTAAAAATAGAATCAGTAAAGCTAGAGAAC
 CTTGGTGTGTATCAAATTTGCCATTTATAGTACGGTATCGAGCAGCCTA
 GTGTTGGTAGGGCTGATCATGGCAATGGGTCTTTGGATGTGTTCAAATGG
 TTCAATGCAGTGCAGGATATGTATATAAGAGCTC

Fig. 38

SEQ ID NO: 46

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGA
 GACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAACTCAAATTCTAA
 TATTAGCCACTTCGGCATTCTTCTATGTACGTGCAGATAAAATCTGCCTAG
 GACATCATGCTGTGTCTAATGGAACCAAAGTAGACACCCTTACTGAAAAA
 GGAATAGAAGTTGTCAATGCAACAGAAACAGTTGAACAAACAAACATCCC
 TAAGATCTGCTCAAAGGAAAACAGACTGTTGACCTTGGTCAATGTGGAT
 TACTAGGGACCGTTATTGGTCCTCCCAATGTGACCAATTTCTTGAGTTCT
 CTGCTAATTTAATAGTTGAAAGAAGGGAAGGTAATGACATTTGTTATCCAG
 GCAAATTTGACAATGAAGAAACATTGAGAAAAATACTCAGAAAATCCGGA
 GGAATTAAGGAGAATATGGGATTCACATATACCGGAGTGAGAACCAA
 TGGAGAGACTAGCGCATGTAGAAGGTCAAGATCTTCCTTTTATGCAGAGA
 TGAAATGGCTTCTATCCAGCACAGACAATGGGACATTTCCACAAATGACA
 AAGTCCTACAAGAACTAAGAAGGTACCAGCTCTGATAATCTGGGGAAT
 CCACCACTCAGGATCAACTACTGAACAGACTAGATTATATGGAAGTGGGA
 ATAAATTGATAACAGTTTGGAGTTCCAAATACCAACAATCTTTTGTCCAA
 ATCCTGGACCAAGACCGCAAATGAATGGTCAATCAGGAAGAATTGACTTT
 CACTGGCTGATGCTAGATCCCAATGATACTGTCACCTTCAGTTTAAATGGG
 GCCTTTATAGCACCTGACCGCGCCAGTTTCTAAGAGGTAAATCTCTAGG
 AATCCAAAGTGATGCACAACTTGACAATAATTGTGAAGGTGAATGCTATCA
 TATTGGAGGTACTATAATTAGCAACTTGCCCTTTCAAAACATTAATAGTAG
 GGCAATCGGAAAATGCCCCAGATACGTGAAGCAGAAGAGCTTAATGCTA
 GCAACAGGAATGAAAAATGTTCTGAAGCTCCTGCACATAAACAACTAAC
 TCATCACATGCGCAAAAAAAGAGGTTTATTTGGTGCAATAGCAGGATTCAT
 TGAAAATGGGTGGGAAGGATTAATAGACGGATGGTATGGATATAAGCATC
 AGAATGCACAAGGAGAAGGGACTGCTGCAGACTACAAAAGTACACAATCT
 GCTATCAACCAAATAACCGGAAAATTGAACAGACTAATAGAAAAACCAAC
 CAGCAATTCGAACTAATAGATAATGAGTTCAATGAAATAGAAAAACAAATT
 GGCAATGTTATTAAGTGGACTAGAGATTCTATCATCGAAGTATGGTCATAT
 AATGCAGAGTTCCTCGTAGCAGTGGAGAATCAACACACTATTGATTTAACT
 GACTCAGAAATGAACAACTATATGAAAAGGTAAGAAGACAACCTGAGAGA
 AAATGCTGAGGAAGATGGTAATGGCTGTTTTGAAATATTCCACCAATGTG
 ACAATGATTGCATGGCCAGCATTAGAAACAACACATATGACCATAAAAAAT
 ACAGAAAAGAGGCAATACAAAACAGAATCCAGATTGACGCAGTAAAGTTG
 AGCAGTGGTTACAAAGATATAATACTTTGGTTTAGCTTCGGGGCATCATG
 TTTCTTATTTCTTGCCATTGCAATGGGTCTTGTTTTCATATGTATAAAAAAT
 GGAAACATGCGGTGCACTATTTGTATATAAGAGCTC

Fig. 39

SEQ ID NO: 47

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGA
 GACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGAAACAATATCACTAA
 TAACTATACTACTAGTAGTAACAGCAAGCAATGCAGATAAAATCTGCATCG
 GCCACCAGTCAACAACTCCACAGAACTGTGGACACGCTAACAGAAACC
 AATGTTCTGTGACACATGCCAAAGAATTGCTCCACACAGAGCATAATGGA
 ATGCTGTGTGCAACAAGCCTGGGACATCCCCTCATTCTAGACACATGCAC
 TATTGAAGGACTAGTCTATGGCAACCCTTCTTGACCTGCTGTTGGGAG
 GAAGAGAATGGTCCTACATCGTCGAAAGATCATCAGCTGTAAATGGAACG
 TGTTACCCTGGGAATGTAGAAAACCTAGAGGAACTCAGGACACTTTTTAGT
 TCCGCTAGTTCCTACCAAAGAATCCAAATCTTCCCAGACACAACCTGGAAT
 GTGACTTACACTGGAACAAGCAGAGCATGTTCAAGTTTATTCTACAGGAG
 TATGAGATGGCTGACTCAAAAGAGCGGTTTTTACCCTGTTCAAGACGCC
 AATACACAAATAACAGGGGAAAGAGCATTCTTTTCGTGTGGGGCATACAT
 CACCCACCCACCTATACCGAGCAAACAAATTTGTACATAAGAAACGACACA
 ACAACAAGCGTGACAACAGAAGATTTGAATAGGACCTTCAAACCAGTGATA
 GGGCCAAGGCCCTTGTCAATGGTCTGCAGGGAAGAATTGATTATTATTG
 GTCGGTACTAAAACCAGGCCAAACATTGCGAGTACGATCCAATGGGAATC
 TAATTGCTCCATGGTATGGACACGTTCTTTCAGGAGGGAGCCATGGAAGA
 ATCCTGAAGACTGATTTAAAAGGTGGTAATTGTGTAGTGCAATGTCAGACT
 GAAAAAGGTGGCTTAAACAGTACATTGCCATTCCACAATATCAGTAAATAT
 GCATTTGGAACCTGCCCAAATATGTAAGAGTTAATAGTCTCAAACCTGGCA
 GTCGGTCTGAGGAACGTGCCTGCTAGATCAAGTAGAGGACTATTTGGAGC
 CATAGCTGGATTCATAGAAGGAGGTTGGCCAGGACTAGTCGCTGGCTGG
 TATGGTTTCCAGCATTCAAATGATCAAGGGGTTGGTATGGCTGCAGATAG
 GGATTCAACTCAAAGGCAATTGATAAAATAACATCCAAGGTGAATAATAT
 AGTCGACAAGATGAACAAGCAATATGAAATAATTGATCATGAATTTAGTGA
 GGTTGAACTAGACTCAATATGATCAATAATAAGATTGATGACCAAATACA
 AGACGTATGGGCATATAATGCAGAATTGCTAGTACTACTTGAAAATCAAAA
 AACACTCGATGAGCATGATGCGAACGTGAACAATCTATATAACAAGGTGA
 AGAGGGCACTGGGCTCCAATGCTATGGAAGATGGGAAAGGCTGTTTCGA
 GCTATACCATAAATGTGATGATCAGTGCATGGAAACAATTCGGAACGGGA
 CCTATAATAGGAGAAAGTATAGAGAGGAATCAAGACTAGAAAGGCAGAAA
 ATAGAGGGGGTTAAGCTGGAATCTGAGGGAACCTACAAAATCCTCACCAT
 TTATTGACTGTCGCCTCATCTCTTGCTTGCAATGGGGTTTGCTGCCTT
 CCTGTTCTGGGCCATGTCCAATGGATCTTGCAGATGCAACATTTGTATATA
 AGAGCTC

Fig. 40A

SEQ ID NO: 48

MKVKLLVLLCTFTATYADTICIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTHSVNLLNSH
NGKLCLLKGIAPLQLGNCSVAGWILGNPECELLISKESWSYIVEKPNPENGTCY
PGHFADYEELREQLSSVSSFERFEIFPKESSWPNHVTGVSASCSHNGESSF
YRNLLWLTGKNGLYPNLSKSYANNKEKEVLVLWGVHHPNIGDQKALYHTEN
AYVSVVSSHYSRKFTPEIAKRPKVRDQEGRINYWTLLPEGDTIIFEANGNLIAP
RYAFALSRGFGSGIINSNAPMDKCDKACQTPQGAINSSLPFQNVHPVTIGEC
KYVRSACLRLMVTGLRNIPSIQSRGLFGAIAGFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNE
QSGGYAADQKSTQNAINGITNKVNSVIEKMNTQFTAVGKEFNKLERRMENLNK
KVDDGFIDIWTYNAELLVLENERLTDFHDSNVKNLYEKVKSQKLNNAKEIGNG
CFEFYHKCNDECMESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMGVYQILAI
YSTVASSLVLLVSLGAISFWMCNGLSLQCRICI

Fig. 40B

SEQ ID NO: 49

MKVKLLVLLCTFTATYADTICIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTHSVNLLNSH
NGKLCLLKGIAPLQLGNCSVAGWILGNPECELLISRESWSYIVEKPNPENGTCY
PGHFADYEELREQLSSVSSFERFEIFPKESSWPNHHTTGVSASCSHNGESSFY
KNLLWLTGKNGLYPNLSKSYANNKEKEVLVLWGVHHPNIGDQKALYHKENA
YVSVVSSHYSRKFTPEIAKRPKVRDQEGRINYWTLLPEGDTIIFEANGNLIAPR
YAFALSRGFGSGIINSNAPMDECDKACQTPQGAINSSLPFQNVHPVTIGEC
KYVRSACLRLMVTGLRNIPSIQSRGLFGAIAGFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQ
GSGGYAADQKSTQNAINGITNKVNSVIEKMNTQFTAVGKEFNKLERRMENLNK
VDDGFIDIWTYNAELLVLENERLTDFHDSNVKNLYEKVKSQKLNNAKEIGNG
FEFYHKCNDECMESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMGVYQILAIY
STVASSLVLLVSLGAISFWMCNGLSLQCRICI

Fig. 41A

SEQ ID NO: 50

MKTIIALSYILCLVFTQKLPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTITNDQIEVTN
ATELVQSSSTGEICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKKWDLFVE
RSKAYSNCYPYDVPDYASLRSLVASSGTLEFNNEFSNWTGVTQNGTSSA
CIRRSNNSFFSRLNWLTHLKFKYPALNVTMPNNEKFDKLYIWGVHHPGTD
NDQIFLYAQASGRITVSTKRSQQTVIPNIGSRPRVRNIPSRISYWTIVKPGDI
LLINSTGNLIAPRGYFKIRSGKSSIMRSDAPIGKCNSECITPNGSIPNDKPFQ
NVNRITYGACPRYVKQNTLKLATGMRNVPEKQTRGIFGAIAGFIENGWEG
MVDGWYGFRHQNSEGIGQAADLKSTQAAIDQINGKLNRLIGKTNEKFHQIE
KEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMKNLF
EKTKKQLRENAEDMGNGCFKIYHKCDNACIGSIRNGTYDHDVYRDEALNN
RFQIKGVELKSGYKDWILWISFAISCFLLCVALLGFIMWACQKGNIRCNICI

Fig. 41B

SEQ ID NO: 51

MKTIIALSYILCLVFTQKLPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTITNDQIEVTN
ATELVQSSSTGGICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKKWDLFVE
RSKAYSNCYPYDVPDYASLRSLVASSGTLEFNDESFNWTGVTQNGTSSA
CKRRSNNSFFSRLNWLTHLKFKYPALNVTMPNNEKFDKLYIWGVHHPGTD
NDQIFLHAQASGRITVSTKRSQQTVIPNIGSRPRIRNIPSRISYWTIVKPGDI
LLINSTGNLIAPRGYFKIRSGKSSIMRSDAPIGKCNSECITPNGSIPNDKPFQ
NVNRITYGACPRYVKQNTLKLATGMRNVPEKQTRGIFGAIAGFIENGWEG
MVDGWYGFRHQNSEGIGQAADLKSTQAAINQINGKLNRLIGKTNEKFHQIE
KEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMKNLF
ERTKKQLRENAEDMGNGCFKIYHKCDNACIGSIRNGTYDHDVYRDEALNN
RFQIKGVELKSGYKDWILWISFAISCFLLCVALLGFIMWACQKGNIRCNICI

Fig. 42A

SEQ ID NO: 52

MKAIIVLLMVVTSNADRICTGITSSNSPHVVKATQGEVNVTVGVIPLTTTPTKS
HFANLKGTETRGKLCPKCLNCTDLDVALGRPCKTGNIPSARVSILHEVRPVT
SGCFPIMHDRTKIRQLPKLLRGYEHIRLSTHNVINAENAPGGPYKIGTSGSCP
NVTNGNGFFATMAWAVPKNDNNKTATNSLTIEVPYICTEGEDQITVWGFHS
DNETQMAKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFPNQTEDGGLPQSGRI
VVDYMVQKSGKTGTITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKGSPLIGEADCLHE
KYGGLNKSHPYYTGEHAKAIGNCPIWVKTPKLANGTKYRPPAKLLKERGFF
GAIAGFLEGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNS
LSELEVKNLQRLSGAMDELHNEILELDEKVDDLADTSSQIELAVLLSNEGIIN
SEDEHLLALERKLKMLGPSAVEIGNGCFETKHKCNQTCLDRIAAGTFDAGE
FSLPTFDSLNTAASLNDDGLDNHTILLYSTAASSLAVTLMIAIFVVMVSRD
NVSCSICL

Fig. 42B

SEQ ID NO: 53

MKAIIVLLMVVTSNADRICTGITSSNSPHVVKATQGEVNVTVGVIPLTTTPTKS
YFANLKGTRTRGKLCPCDCLNCTDLDVALGRPMC VGTTPSAKASILHEVKPVT
SGCFPIMHDRTKIRQLPNLLRGYENIRLSTQNVIDAEKAPGGPYRLGTSGSC
PNATSKSGFFATMAWAVPKDNNKNATNPLTVEVPYICTEGEDQITVWGFHS
DNKTQMKNL YGDSNPQKFTSSANGVTTHYVSQIGSFDPQTEDGGLPQSGRI
VVDYMMQKPGKTGTIVYQRGVLLPQKVWCASGRSKVIKGSPLIGEADCLH
EKYGGLNKSHPYYTGEHAKAIGNCPIWVKTPKLANGTKYRPPAKLLKERGF
FGAIAGFLEGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLN
SLSELEVKNLQRLSGAMDELHNEILELDEKVDDLADTSSQIELAVLLSNEGII
NSEDEHLLALERKLKMLGPSAVEIGNGCFETKHKCNQTCLDRIAAGTFNAG
EFSLPTFDSLNTAASLNDDGLDNHTILLYSTAASSLAVTLMIAIFIVVMVSRD
NVSCSICL

Fig. 43A

SEQ ID NO: 54

MAIYLILLFTAVRGDQICIGYHANNSTEKVDILERNVTVTHAKDILEKTHNGKLC
KLNIGIPPELGDCSIAGWLLGNPECDRLLSVPEWSYIMEKENPRDGLCYPGSF
NDYEELKHLSSVKHFEKVILPKDRWTQHTTTGGSRAVSGNPSFFRNMV
WLTKKESNYPVAKGSYNNTSGEQMLIWGVHHPNDETEQRTLYQNVGTYVSV
GTSTLNKRSTPDIAIRPKVNLGSRMEFSWTLDMWDTINFESTGNLIAPEYGF
KISKRGSSGIMKTEGTLENCETKCQTPLGAINTTLPFHNHPLTIGECPKYVKSE
KLVLATGLRNVPQIESRGLFGAIAFGIEGGWQGMVDGWYGYHHSNDQGSYA
ADKESTQKAFDGITNKVNSVIEKMNTQFEAVGKEFSNLERRLENLNKKMEDGFL
DVWTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRMQLRDNVKELGNGCFEFY
HKCDDECMNSVKNGTYDYPKYEEESKLNREIKGVKLSSMGVYQILAIYATVAG
SLSLAIMMAGISFWMCSNGSLQCRICI

Fig. 43B

SEQ ID NO: 55

MEKIVLLLAIVSLVKSDQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVTHAQDILEKTHNGK
LCDLDGVKPLILRDCSVAGWLLGNPMCDEFINVPWSYIVEKANPANDLCYPG
NFNDYEELKHLISRINHFEKIQIIPKSSWSDHEASSGVSSACPYQGTPSFFRNVV
WLIKKNNTYPTIKRSYNNTNQEDLLILWGIHHSNDAAEQTKLYQNPTTYISVGTS
TLNQRLVPKIATRSKVNQSGRMDFFWTILKPNDAINFESNGNFIAPYAYKIVK
KGDSAIVKSEVEYGNCNTKCQTPIGAINSSMPFHNIHPLTIGECPKYVKSNNKLVL
ATGLRNSPLRERRRRKRGLFGAIAFGIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQGSYA
ADKESTQKAIDGVTNKVNSIIDKMNTQFEAVGREFNNLERRIENLNKKMEDGFL
DVWTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNKELGNGCFEFYH
KCDNECMESVRNGTYDYPQYSEEARLKREEISGVKLESIGTYQILSIYSTVASSL
ALAIMVAGLSLWMCSNGSLQCRICI

Fig. 44A

SEQ ID NO: 56

MEKIVLLFAIVSLVKSDQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVTTHAQDILEKTHNGKL
CDLDGVKPLILRDCSVAGWLLGNPMCDEFINVPEWSYIVEKANPVNDLCYPGDF
NDYEELKHLLSRINHFEEKIIPKSSWSSHEASLGVSACPYQGKSSFFRNVVWLI
KKNSTYPTIKRSYNNTNQEDLLVLWGIHHPNDAAEQTKLYQNPTTYISVGTSTLN
QRLVPRIATRSKVNGQSGRMEFFWTILKPNDAINFESNGNFIAPEYAYKIVKKGD
STIMKSELEYGNCNTKCQTPMGAINSSMPFHNIHPLTIGECPKYVKSRLVLATG
LRNSPQRERRRKRGFLGAIAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQSGGYAAD
KESTQKAIDGVTNKVNSIIDKMNTQFEAVGREFNNLERRIENLNKKMEDGFLDV
WTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNALGNGCFEFYHKC
DNECMESVRNGTYDYPQYSEEARLKREEISGVKLESIGIYQILSIYSTVASSLALAI
MVAGLSLWMCSNGSLQCRICI

Fig. 44B

SEQ ID NO: 57

MIAIIVAILAAAGKSDKICIGYHANNSTTQVDTILEKNVTVTTHSIELLENQKEERFCK
ILNKAPLDLRECTIEGWILGNPQCDLLLDQSWSYIVERPTAQNGICYPGTLNEV
EELRALIGSGERVERFEMFPQSTWQGVDNNSGTTRSCPYSTGASFYRNLLWIIK
TKTAEYPIVIGIYNNTGTQPILYFWGVHHPNTDEQDTLYGSGDRYVRMGTESM
NFAKSPEIAARPAVNGQRGRIDYYWSVLKPGETLNVESNGNLIAPWYAYKFVNT
NSKGAVFRSDLPIENCATCQTIAGVLRNTKTFQNVSPWIGECPKYVKSESLRL
ATGLRNVPQIETRGLFGAIAGFIEGGWTGMIDGWYGYHHENSQSGGYAADRES
TQKAVNRITNKVNSIINKMNTQFEAVDHEFSNLERRIDNLNKRMQDGFLDVWTY
NAELLVLENERLDMHDANVKNLHEKVKSQLRDNATILGNGCFEFWHKCDNEC
IESVKNGTYPKYQTESKLNRLKIESVKLENLGVYQILAIYSTVSSSLVLVGLIMA
MGLWMCSNGSMQCRICI

Fig. 45A

SEQ ID NO: 58

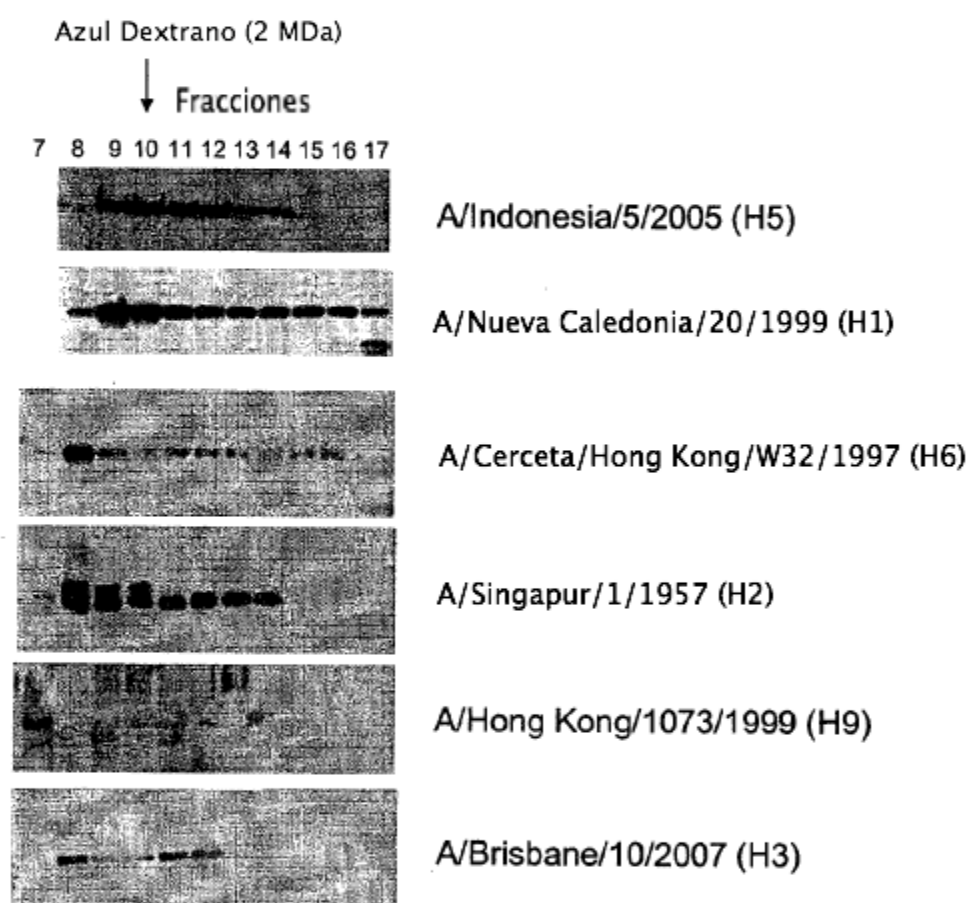
MNTQILILATS AFFYVRADKICLGHHAVSNGTKVDL TEKGIEVVNATETVEQT
NIPKICSKGKQTVDLGQCGLLGTVIGPPQCDQFLEFSANLIVERREGNDICYPG
KFDNEETLRKILRKSGGIKKENMGFTYTGVRTNGETSACRRSRSSFYAEMKW
LLSSTDNGTFPQMTKSYKNTKKVPALIIWGIHHSGSTTEQTRLYGSGNKLITV
WSSKYQQSFVPNPGPRPQMNGQSGRIDFHWLMLDPNDTVTFSFNGAFIAPD
RASFLRGKSLGIQSDAQLDNNCEGECYHIGGTIISNLPFQNINSRAIGKCPRYV
KQKSLMLATGMKNVPEAPAHKQLTHHMRKKRGLFGAIAGFIENGWEGIDG
WYGYKHQNAQGEGTAADYKSTQSAINQITGKLNRLIEKTNQGFELIDNEFNEI
EKQIGNVINWTRDSIIEVWSYNAEFLVAVENQHTIDLT DSEMKNLYEKVRRQL
RENAEEDGNGCFEIFHQCDNDCMASIRNNTYDHKKYRKEAIQNRIDAVKLS
SGYKDILWFSFGASCFLFLAIAMGLVFICIKNGNMRCTICI

Fig. 45B

SEQ ID NO: 59

METISLITILLVVTASNADKICIGHQSTNSTETVDTLTETNVPVTHAKELLHTEHN
GMLCATSLGHPLILDCTIEGLVYGNPSCDLLLGGREWSYIVERSSAVNGTCY
PGNVENLEELRTL FSSASSYQRIQIFPD TTWNVTYTGT SRACSGSFYRSMRW
LTQKSGFYVPVQDAQYTNNRGKSILFWWGIHHPPTYTEQTNLYIRNDTTT SVTT
EDLNRTFKPVIGPRPLVNGLQGRIDYYWSVLKPGQTLRVR SNGNLIAPWYGH
VLSGGSHGRILKTDLKGGNCVVQCQTEKGGLNSTLPFHNISKYAFGTCPKYV
RVNSLKLAVGLRNVPARSSRGLFGAIAGFIEGGWPGLVAGWYGFQHSNDQG
VGMAADRSTQKAIDKITSKVNIVDKMNKQYEIIDHEFSEVETRLNMINNKID
DQIQDVWAYNAELLVLENQKTLDEHDANVNNLYNKVKRALGSNAMEDGKG
CFELYHKCDDQCMETIRNGTYNRRKYREESRLERQKIEGVKLESEGTYKILT
YSTVASSLVLAMGFAAFLFWAMSNNGSCRCNICI

Fig.46



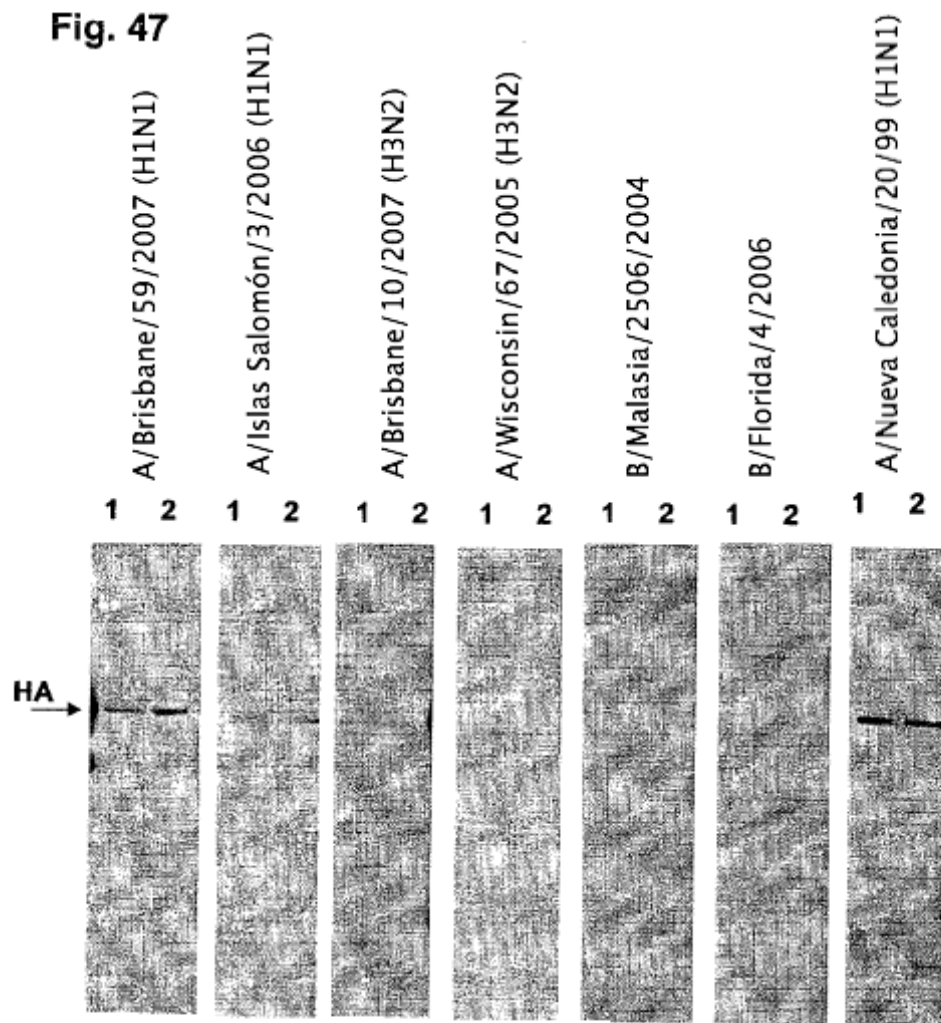


Fig. 48a

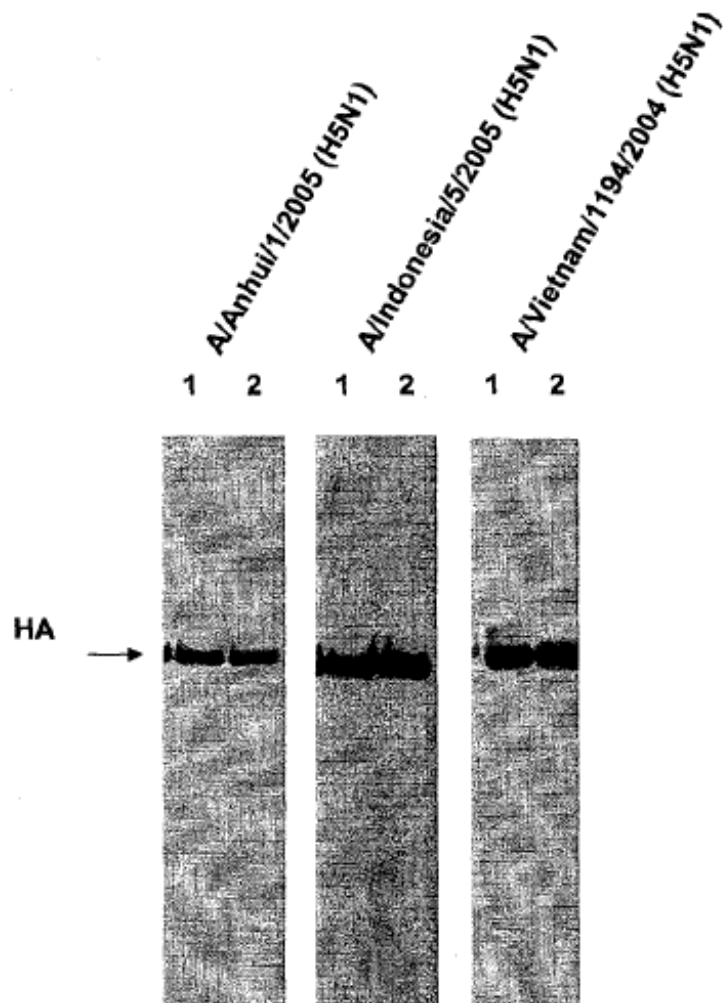


Fig. 48b

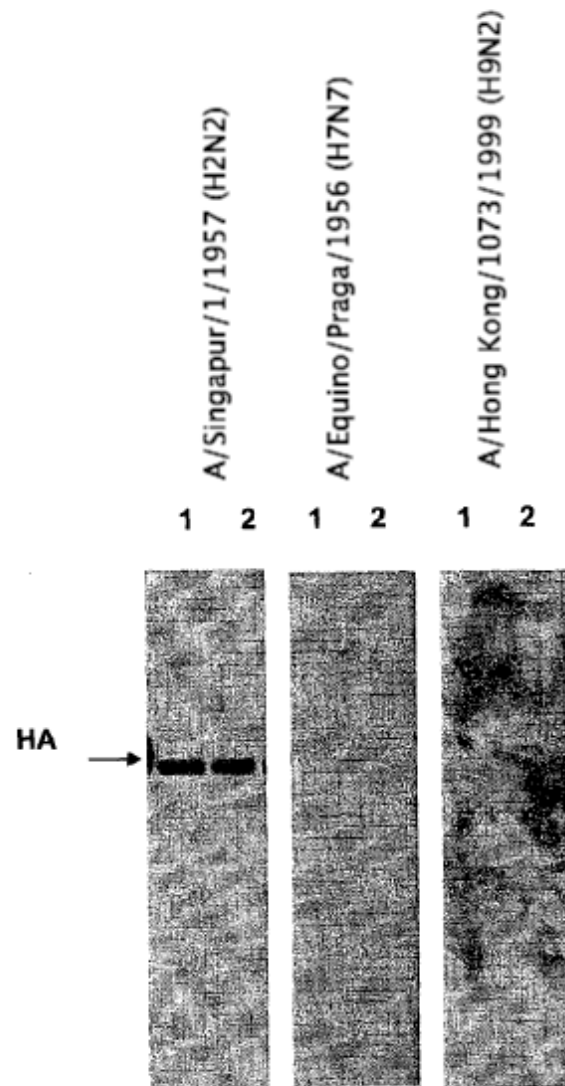


Fig. 49

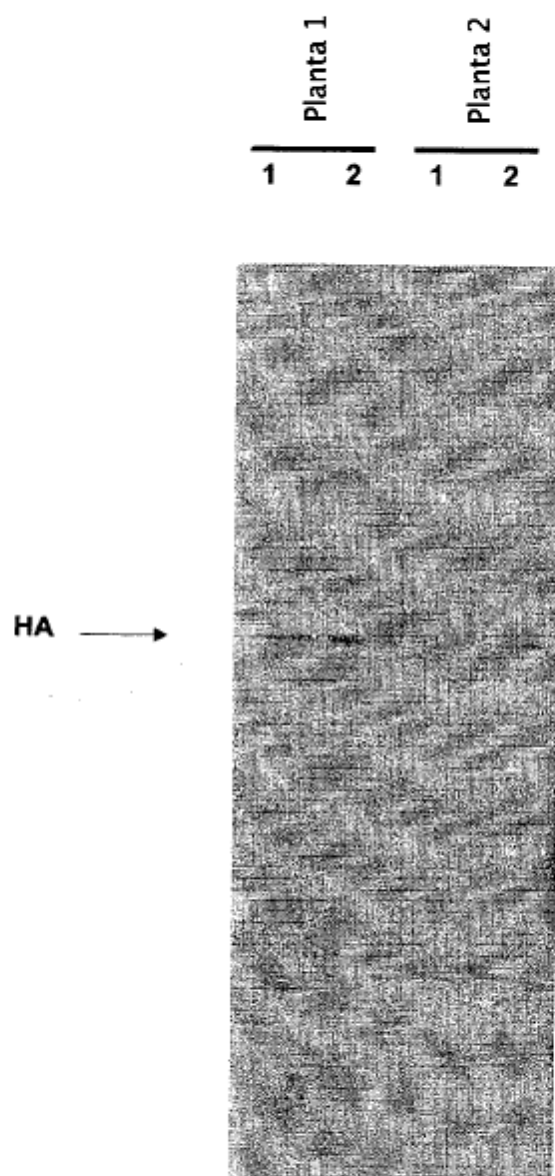


Fig. 50A

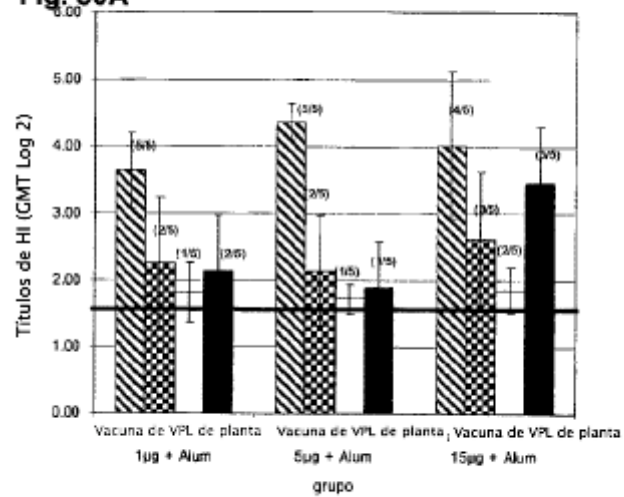


Fig. 50B

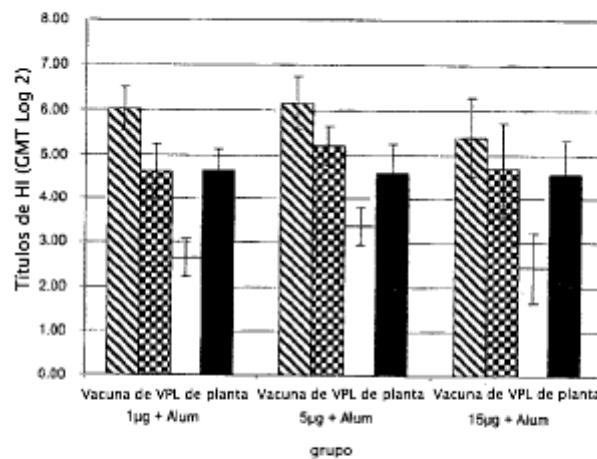


Fig. 51

SEQ ID NO: 60

H5 de A/Indonesia/5/2005 (Constructo # 660)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAAGTTTAAGTT
 AGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTTAAAC
 ATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGTGCA
 ACATTTGAGAAAAATTTGTTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAAGGAA
 GAGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAAATAG
 TTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTAATAAA
 TAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCATTAAGAAAGAAAGAAT
 AAATTATTTTTAAATTAAGAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAA
 GAGTTGGATTAAAGTTGATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTT
 CCTATATATTGCCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTCATAGATCAAATAAGAGAAATAA
 CGGTATATTAATCCCTCCAAAAAAGAGGATATTTACTAAAAATCTAAGCCACGTAGGAG
 GATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACACAATCCTGATGAGATA
 ACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATTCTCCACACAT
 CTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGT
 CTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGA
 GAGAAAATGGAGAAAATAGTGCTTCTTCTGCAATAGTCAGTCTTGTTAAAAGTGATCAGATTTGC
 ATTGGTTACCATGCAAACAATTCAACAGAGCAGGTTGACACAATCATGGAAAAAGAACGTTACTGT
 TACACATGCCAAGACATACTGGAAAAAGACACACAACGGGAAGCTCTGCGATCTAGATGGAGTG
 AAGCCTCTAATTTTAAGAGATTGTAGTGTAGCTGGATGGCTCCTCGGGAACCCAATGTGTGACGA
 ATTCATCAATGTACCGGAATGGTCTTACATAGTGGAGAAGGCCAATCCAACCAATGACCTCTGTT
 ACCCAGGGAGTTTCAACGACTATGAAGAAGTGAACACCTATTGAGCAGAATAAACCATTTTGAG
 AAAATTCAAATCATCCCCAAAGTTCTTGGTCCGATCATGAAGCCTCATCAGGAGTTAGCTCAGC
 ATGTCCATACCTGGGAAGTCCCTCCTTTTTAGAAATGTGGTATGGCTTATCAAAAAAGAACAGTA
 CATACCCAACAATAAGAAAAAGCTACAATAATACCAACCAAGAGGATCTTTTGGTACTGTGGGGA
 ATTCACCATCCTAATGATGCGGCAGAGCAGACAAGGCTATATCAAAACCCAACCATATATTTT
 CATTGGGACATCAACACTAAACCAGAGATTGGTACCAAAAATAGCTACTAGATCCAAAGTAAACG
 GGCAAAAGTGAAGGATGGAGTTCTTCTGGACAATTTTAAACCTAATGATGCAATCAACTTCGAG
 AGTAATGGAAATTTATTGCTCCAGAATATGCATACAAAATTGTCAAGAAAGGGGACTCAGCAATT
 ATGAAAAGTGAATTGGAATATGGTAACTGCAACACCAAGTGTCAAACTCCAATGGGGGCGATAAA
 CTCTAGTATGCCATTCCACAACATACACCCTCTCACCATCGGGGAATGCCCCAAATATGTGAAAT
 CAAACAGATTAGTCCTTGCAACAGGGCTCAGAAATAGCCCTCAAAGAGAGAGCAGAAGAAAAAA
 GAGAGGACTATTTGGAGCTATAGCAGTTTTATAGAGGGAGGATGGCAGGGAATGGTAGATGGT
 TGGTATGGGTACCACCATAGCAATGAGCAGGGGAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAATCCACTC
 AAAAGGCAATAGATGGAGTCACCAATAAGGTCAACTCAATCATTGACAAAATGAACACTCAGTTT
 GAGGCCGTTGGAAGGGAATTTAATAACTTAGAAAAGGAGAATAGAGAATTTAAACAAGAAGATGGA
 AGACGGGTTTCTAGATGTCTGGACTTATAATGCCGAACCTTCTGGTTCTCATGAAAAATGAGAGAA
 CTCTAGACTTTTCTGACTCAAATGTTAAGAACCTCTACGACAAGGTCCGACTACAGCTTAGGGAT
 AATGCAAAGGAGCTGGGTAAACGGTTGTTTCGAGTTCTATCACAAATGTGATAATGAATGTATGGA
 AAGTATAAGAAACGGAACGTACAACATCCGCAGTATTCAGAAGAAGCAAGATTAAAAAGAGAGG
 AAATAAGTGGGGTAAAATTGGAATCAATAGGAACCTTACCAATACTGTCAATTTATTCAACAGTGG
 CGAGTTCCCTAGCACTGGCAATCATGATGGCTGGTCTATCTTTATGGATGTGCTCCAATGGATCG
 TTACAATGCAGAAATTTGCATTTAAGAGCTCTAAGTTAAATGCTTCTTCGTCTCCTATTTATAATAT
 GGTTTGTTATTGTTAATTTTGTCTTGTAGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTAT
 TTGTATGAGATGAACTGGTGTAAATGTAATTCATTTACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCC
 TCCATAACTAAGTACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTTGAACAACTAAAATTG
 AACATCTTTTGCACAACCTTTATAAGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATT
 AATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAACACTAATTTTAT
 ATCATCCCTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 52

SEQ ID NO: 61

H1 de A/Nueva Caledonia/20/1999 (Constructo # 540)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAAGTTTAAGTT
 AGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTAAC
 ATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGTGCA
 ACATTTGAGAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAAGGAA
 GAGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAAATAG
 TTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTAAATAAA
 TAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCATTAAAAAGAAAGAA
 TAAATTATTTTTAAAATTAAGGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAA
 AGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTT
 TCCTATATATTGCCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTCATAGATCAAATAAGAGAAATA
 ACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAACCGGTATATTTACTAAAAAATCTAAGCCACGTAGGA
 GGATAACAGGATCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACACAATCCTGATGAGA
 TAACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATTCTCCACAC
 ATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGA
 GTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTT
 GAGAGAAAATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTT
 CTCAGATCTTCGCTGACACAATATGTATAGGCTACCATGCCAACAACTCAACCGACACTGTTGAC
 ACAGTACTTGAGAAGAATGTGACAGTGACACACTCTGTCAACCTACTTGAGGACAGTCACAATG
 GAAACTATGTCTACTAAAAGGAATAGCCCCACTACAATTGGGTAATTGCAGCGTTGCCGGATG
 GATCTTAGGAAACCCAGAATGCGAATTACTGATTTCCAAGGAATCATGGTCCTACATTGTAGAAA
 CACCAATCCTGAGAATGGAACATGTTACCCAGGGTATTTCCGCCACTATGAGGAACTGAGGGA
 GCAATTGAGTTCAGTATCTTCATTTGAGAGATTCGAAATATTTCCCAAGAAAGCTCATGGCCCA
 ACCACACCGTAACCGGAGTATCAGCATCATGCTCCATAATGGGAAAAGCAGTTTTTACAGAAAT
 TTGCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTTGTACCCAAACCTGAGCAAGTCCTATGTAAACAACA
 AAGAGAAAGAAGTCCTTGTACTATGGGGTGTTTCATCACCCGCCTAACATAGGGAACCAAGGGC
 ACTCTATCATACAGAAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATTATAGCAGAAGATTCACCCC
 AGAAATAGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAGGAAGGAAGAATCAACTACTACTGGACTCTG
 CTGGAACCTGGGGATACAATAATATTTGAGGCAAATGGAATCTAATAGCGCCATGGTATGCTTT
 TGCATGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCACCTCAAATGCACCAATGGATGAATGTGAT
 GCGAAGTGTCAAACACCTCAGGGAGCTATAAACAGCAGTCTTCCTTTCCAGAATGTACACCCAG
 TCACAATAGGAGAGTGTCCAAAGTATGTGAGGAGTGCAAAATTAAGGATGGTTACAGGACTAAG
 GAACATCCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGTTGGAGCCATTGCCGTTTCATTGAAGGGGGG
 TGGACTGGAATGGTAGATGGGTGGTATGGTTATCATCATCAGAATGAGCAAGGATCTGGCTATG
 CTGCAGATCAAAAAAGTACACAAAATGCCATTAACGGGATTACAAACAAGGTCAATTCTGTAATT
 GAGAAAATGAACACTCAATTCACAGCTGTGGGCAAGAGTTCAACAAATTGGAAAGAAGGATGG
 AAACTTAATAAAAAAGTTGATGATGGGTTTCTAGACATTTGGACATATAATGCAGAATTGTTGG
 TTCTACTGGAAAATGAAAGGACTTTGGATTTCCATGACTCCAATGTGAAGAATCTGTATGAGAAA
 GTAAAAAGCCAATTAAGAATAATGCCAAAGAAATAGGAAACGGGTGTTTTGAGTTCTATCACAA
 GTGTAACAATGAATGCATGGAGAGTGTGAAAAATGGTACCTATGACTATCCAAAATATTCCGAAG
 AATCAAAGTTAAACAGGGAGAAAATTGATGGAGTGAAATTGGAATCAATGGGAGTATACCAGATT
 CTGGCGATCTACTCAACTGTCGCCAGTTCCTGTTCTTTGGTCTCCCTGGGGGCAATCAGCT
 TCTGGATGTGTTCCAATGGGTCTTGCAGTGTAGAATATGCATCTAAGAGCTCTAAGTTAAAAATG
 CTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTGTCTTGTAGAAGAGCTTAATT
 AATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGTAATGTAATTCATTTACATAAG
 TGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCCTCCATAACTAAGTACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTG
 TCTTATATTTGAACAACTAAAATTGAACATCTTTTGCACAACTTTATAAGTGGTTAATATAGCTCA
 AATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCATTAACAATCAAC
 TTAACGTTATTAACCTACTAATTTTATATCATCCCTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 53

SEQ ID NO: 62

H1 de A/Brisbane/59/2007 (Constructo # 774)

CTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAGTTTAAGTTAGCAAGTGTGTACAT
 TTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTAACATTAGAGTAAAGAAAT
 ATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATTTTTGACAACAATTTTGTGCAACATTTGAGAAAATTTT
 GTTGTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAGAAAAGGAAGAGGGAGAATAAAAAACA
 TAATGTGAGTATGAGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGA
 GGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGA
 GAGATGTACCATTAGAGAATTTTGGCAAGTCATTA AAAAGAAAGAATAAATTATTTTAAAATTAA
 AAGTTGAGTCATTTGATTAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGT
 ATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCCATA
 GAGTCAGTTAACTCATTTTATATTTCATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCC
 AAAAAAAAAAACGGTATATTTACTAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTA
 GGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACG
 CATCTGTGGCACATCTACATTATCTAATCACACATTCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACC
 AATCCACATCTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTC
 AACACATACAAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAAGTAAACT
 ACTGGTCCTGTTATGCACATTTACAGCTACATATGCAGACACAATATGTATAGGCTACCATGCTAA
 CAACTCGACCGACACTGTTGACACAGTACTTGAAAAGAATGTGACAGTGACACACTCTGTCAACC
 TGCTTGAGAACAGTCACAATGGAAAATCTATGTCTATTAAAAGGAATAGCCCCACTACAATTGGGT
 AATTGCAGCGTTGCCGGGTGGATCTTAGGAAACCCAGAATGCCAATTACTGATTTCCAAGGAGTC
 ATGGTCCTACATTGTAGAAAAACCAATCCTGAGAATGGAACATGTTACCCAGGGCATTTGCTG
 ACTATGAGGAACTGAGGGAGCAATTGAGTTCAGTATCTTCATTTGAGAGGTTGCAATATTCCCC
 AAAGAAAGCTCATGGCCCAACCAACCCGTAACCGGAGTGTCAGCATCATGCTCCCATATGGGG
 AAAGCAGTTTTTACAGAAATTTGCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTTGACCCAAACCTGAGC
 AAGTCCTATGCAAACAACAAAGAAAAAGAGTCTTGTACTATGGGGTGTTTCATCACCCGCCAAA
 CATAGGTGACCAAAAGGCCCTCTATCATACAGAAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATTA
 TAGCAGAAAATTCACCCCAGAAATAGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAAGAAGGAAGAATCA
 ATTACTACTGGACTCTGCTTGAACCCGGGGATACAATAATTTGAGGCAAATGGAATCTAATAG
 CGCCAAGATATGCTTTCGCACTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCAACTCAAATGCACCA
 ATGGATAAATGTGATGCGAAGTGCCAAACACCTCAGGGAGCTATAAACAGCAGTCTTCCTTTCCA
 GAACGTACACCCAGTCACAATAGGAGAGTGTCCAAAGTATGTCAGGAGTGCAAAATTAAGGATG
 GTTACAGGACTAAGGAACATCCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGGAGCCATTGCCGGTTT
 CATTGAAGGGGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGTTATCATCATCAGAATGAGCAA
 GGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAAGCACACAAAATGCCATTAATGGGATTACAAACAAGGT
 CAATTCTGTAATTGAGAAAATGAACACTCAATTCACAGCAGTGGGCAAAGAGTTCAACAAATTGG
 AAAGAAGGATGGAAAACCTGAATAAAAAAGTTGATGATGGGTTTATAGACATTTGGACATATAATG
 CAGAACTGTTGGTTCTACTGGAAAATGAAAGGACTTTGGATTTCCATGACTCCAATGTGAAGAAT
 CTGTATGAGAAAGTAAAAAGCCAGTTAAAGAATAATGCTAAAGAAATAGGAAATGGGTGTTTTGAG
 TTCTATCACAAGTGTAAACGATGAATGCATGGAGAGTGTAAGAATGGAACCTTATGACTATCCAAAA
 TATCCGAAGAATCAAAGTTAAACAGGGAGAAAATTGATGGAGTGAAATTGGAATCAATGGGAGT
 CTATCAGATTCTGGCGATCTACTCAACAGTCGCCAGTTCTCTGGTTCTTTTGGTCTCCCTGGGGG
 CAATCAGCTTCTGGATGTGTTCCAATGGGTCTTACAGTGTAGAATATGCATCTAAGAGCTCTAA
 GTTAAATGCTTCTTCTGCTCTCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTGTCTTGTAGAAGA
 GCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGTAAATGTAATTCATT
 TACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAACTAGACATGAAGACCTGCCGCG
 TACAATTGTCTTATATTTGAACAATAAAATGAACATCTTTGCCACAACCTTTATAAGTGGTTAAT
 ATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCATTAA
 CAATCAACTTAACGTTATTAATACTACTAATTTTATATCATCCCTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 54

SEQ ID NO: 63

H1 de A/Islas Salomón/3/2006 (H1N1) (Constructo # 775)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAAATAACTCAAAAACCATAAAAGTTTA
AGTTAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCAT
TATTAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAAC
AATTTTGTTGCAACATTTGAGAAAATTTTGTTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAG
AGAGAGAAAAAGGAAGAGGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTAC
AAAAGTTGTACCAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATA
AGGGTTAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTT
TTGGCAAGTCATTA AAAAGAAAGAATAAATATTTTTAAAATTTAAAGTTGAGTCATTTGATTA
AACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAAT
TTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAA
CTCATTTTTATATTTCATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAA
AATCAACCGGTATATTTACTAAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGG
AGGATAACATCCAATCCAACCAATCACAACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCAC
GCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATTTCTTCCACACATCTGAGCCACACAA
AAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTG
ATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAA
TGAAAGTAAACTACTGGTCTGTATGCACATTTACAGCTACATATGCAGACACAATATGT
ATAGGCTACCATGCCAACAACTCAACCGACACTGTTGACACAGTACTTGAGAAGAATGTGA
CAGTGACACACTCTGTCAACCTGCTTGAGGACAGTCACAATGGAAAATTATGTCTATTA AAA
GGAATAGCCCCACTACAATTGGGTAAATTGCAGCGTTGCCGGATGGATCTTAGGAAACCCA
GAATGCGAATTACTGATTTCCAGGGAATCATGGTCTTACATTGTAGAAAAACCAATCCTGA
GAATGGAACATGTTACCCAGGGCATTTCGCCGACTATGAGGAACTGAGGGAGCAATTGAG
TTCAGTATCTTCATTGAGAGATTGAAATATTCCCCAAAGGAAAGCTCATGGCCCCAACACA
CCACAACCGGAGTATCAGCATCTGCCATTAATGCGGAAAGCAGTTTTTACAAAAATTT
GCTATGGCTGACGGGGGAAGAATGGTTGTACCCAAACCTGAGCAAGTCTTATGCAAACAA
CAAAGAGAAAGAAGTCCTTGTAATGTTGGGTGTTTCATCACCCGCCTAACATAGGTGACCAA
AGGGCTCTCTATCATAAAGAAAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATTATAGCAGAAA
ATTCACCCCGAGAAATAGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAAGAAGGAAGAATCAACTAC
TACTGGACTCTACTTGAACCCGGGGATACAATAATATTTGAGGCAAATGGAATCTAATAGC
GCCAAGATATGCTTTCGCACTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCAACTCAAATGCA
CCAATGGATGAATGTGATGCGAAGTGCCAAACACCTCAGGGAGCTATAAACAGCAGTCTTC
CTTTCAGAAATGTACACCCTGTCACAATAGGAGAGTGTCCAAAGTATGTCAGGAGTGCAAA
ATTAAGGATGGTTACAGGACTAAGGAACATCCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGTTGGA
GCCATTGCCGGTTTCATTGAAGGGGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGTTAT
CATCATCAGAATGAGCAAGGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAGCACACAAAATGCCA
TTAATGGGATTACAAACAAGGTCAAATCTGTAATTGAGAAAAATGAACACTCAATTCACAGCT
GTGGGCAAGAGATTCAACAAATTTGGAAGAAAGGATGAAAACCTTAATAAAAAAGTTGATG
ATGGGTTTATAGACATTTGGACATATAATGCAGAATTGTTGGTTCTACTGGAAGTGAAGG
ACTTTGGATTTCCATGACTCCAATGTGAAGAATCTGTATGAGAAAGTAAAAAGCCAATTA
GAATAATGCCAAAGAAATAGGAAATGGGTGTTTTGAGTTCTATCATAAGTGTAAACGATGAAT
GCATGGAGAGTGTAAAAAATGGAACCTTATGACTATCCAAAATATTCCGAAGAATCAAAGTTA
AACAGGGAGAAAATTGATGGAGTGAAATTGGAATCAATGGGAGTCTATCAGATTCTGGCGA
TCTACTCAACAGTCGCCAGTTCTCTGGTTCTTTTGTCTCCCTGGGGGCAATCAGCTTCTG
GATGTGTTCCAATGGGTCTTTGCAGTGTAGAATATGCATCTGAGAGCTCTAAGTTAAAATGC
TTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTTATTGTTAATTTTGTCTTGTAAGAGAGCTTAA
TTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGTAAATGTAATTCATTTA
CATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAACTAGACATGAAGACCTGCCG
CGTACAATTGTCTTATATTTGAACAACATAAAATTGAACATCTTTTCCACAACCTTTATAAGTG
GTTAATTAGAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAAATAATGGAATATCAGTTATCGA
AATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAACCTACTAATTTTATATCATCCCTTTGATAAATG
ATAGTACA

Fig. 55

SEQ ID NO: 64

H2 de A/Singapur/1/57 (H2N2) (Constructo # 780)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATATAAAGTTTAA
 GTTAGCAAGTGTGTACATTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTAT
 TAAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTT
 TGTTGCAACATTTGAGAAAATTTGTTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAG
 AAAAAGGAAGAGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTG
 TACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAAATAAGGGTTAAT
 TGCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTC
 ATTA AAAAGAAAGAATAAATTATTTTTAAAAATTAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATT
 ATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAAT
 TTAATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATT
 TCATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAAAAAAAAACGGTATATTT
 ACTAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATAACATCCAATC
 CAACCAATCACAACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCACATCT
 ACATTATCTAATCACACATTTCTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTA
 TCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACA
 AAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGCCATCATTTATCTAATTC
 TCCTGTTACAGCAGTGAGAGGGGACCAAATATGCATTGGATACCATGCCAATAATTCACA
 GAGAAGGTGACACAATTTCTAGAGCGGAACGTCACTGTGACTCATGCCAAGGACATTTCTGA
 GAAGACCCATAACGGAAAGTTATGCAAACCTAAACGGAATCCCTCCACTTGAAGTAGGGGACT
 GTAGCATTGCCGGATGGCTCCTTGGAAATCCAGAATGTGATAGGCTTCTAAGTGTGCCAGAA
 TGGTCTATATAATGGAGAAAGAAAACCCGAGAGACGGTTTGTGTTATCCAGGCAGCTTCAA
 TGATTATGAAGAATTGAAACATCTCCTCAGCAGCGTGAAACATTTGAGAGAAAGTAAAGATTCT
 GCCCAAAGATAGATGGACACAGCATACAACAACCTGGAGGTTACGGGCCTGCGCGGTGTCT
 GGTAATCCATCATTTCTTCAGGAACATGGTCTGGCTGACAAAGAAAGAATCAAATTATCCGGTT
 GCCAAAGGATCGTACAACAATACAAGCGGAGAACAAATGCTAATAATTTGGGGGGTGCACCA
 TCCCAATGATGAGACAGAACAAAGAACATTGTACCAGAATGTGGGAACCTATGTTTCCGTAG
 GCACATCAACATTGAACAAAAGGTCAACCCAGACATAGCAACAAGGCCTAAAGTGAATGGA
 CTAGGAAGTAGAATGGAGTTCTCTTGGACCCTATTGGATATGTGGGACACCATAAATTTTGAG
 AGTACTGGTAATCTAATTGCACCAGAGTATGGATTCAAATATCGAAAAGAGGTAGTTCCAGGG
 ATCATGAAAACAGAAGGAACACTTGAGAATGTGAGACCAAATGCCAACTCCTTTGGGAGC
 AATAAATACAACATTGCCTTTTCACAATGTCCACCCACTGACAATAGGTGAGTGCCCCAAATA
 TGTA AAAATCGGAGAAGTTGGTCTTAGCAACAGGACTAAGGAATGTTCCCCAGATTGAATCAA
 GAGGATTGTTTGGGGCAATAGCTGGTTTTATAGAAGGAGGATGGCAAGGAATGGTTGATGGT
 TGGTATGGATACCATCACAGCAATGACCAGGGATCAGGGTATGCAGCAGACAAAGAATCCAC
 TCAAAAGGCATTTGATGGAATCACCAACAAGGTAAATTCTGTGATTGAAAAGATGAACACCCA
 ATTTGAAGCTGTTGGGAAAGAGTTCAGTAACCTAGAGAGAAGACTGGAGAACCTGAACAAAAA
 GATGGAAGACGGGTTTCTAGATGTGTGGACATACAATGCTGAGCTTCTAGTTCTGATGGAAA
 ATGAGAGGACACTTGACTTTCATGATTCTAATGTCAAGAATCTGTATGATAAAGTCAGAATGC
 AGCTGAGAGACAACGTCAAAGAACTAGGAAATGGATGTTTTGAATTTTATCACAAATGTGATG
 ATGAATGCATGAATAGTGTGAAAAACGGGACGTATGATTATCCCAAGTATGAAGAAGAGTCTA
 AACTAAATAGAAATGAAATCAAAGGGGTAAAATTGAGCAGCATGGGGGTTTATCAAATCCTTG
 CCATTTATGCTACAGTAGCAGGTTCTCTGTCACTGGCAATCATGATGGCTGGGATCTCTTTCT
 GGATGTGCTCCAACGGGTCTCTGCAGTGCAGGATCTGCATATGAGAGCTCTAAGTTAAATG
 CTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTGTCTTGTAGAAGAGCTTAA
 TTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGTAAATGTAATTCATTTACA
 TAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAAGTACATGAAGACCTGCCGCGTA
 CAATTGTCTTATATTTGAACAACTAAAATTGAACATCTTTTGCACAACCTTTATAAGTGGTTAAT
 ATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCAT
 TAACAATCAACTTAACGTTATTAACCTACTAATTTTATATCATCCCCTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 56

SEQ ID NO: 65

H5 de A/Anhui/1/2005 (H5N1) (Constructo # 781)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAAGTTTAAG
 TTAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATT
 AAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTT
 GTTGCAACATTTGAGAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGA
 AAAAGGAAGAGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAAGTTGTACAAAAGTTGT
 ACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATT
 GCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCA
 TTA AAAAGAAAAGAATAAATTATTTTTAAAATTAAGTTGAGTCATTTGATTAACATGTGATTAT
 TTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTA
 ATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTTCA
 TATCAAAATAAGAGAAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAA AAAAAACGGTATATTTACTA
 AAAAACTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAAC
 CAATCACACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCACATCTACAT
 TATCTAAATCACACATTCTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCAC
 CCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGA
 GAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGAGAAAATAGTGCTTCTTCTTGC
 AATAGTCAGCCTTGTTAAAAGTGATCAGATTTGCATTGGTTACCATGCAACAACCTCGACAGA
 GCAGGTTGACACAATAATGAAAAGAACGTTACTGTTACACATGCCCAAGACATACTGGAAAA
 GACACACAACGGGAAGCTCTGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTGATTTTAAGAGATTGTA
 GTGTAGCTGGATGGCTCCTCGGAAACCCAATGTGTGACGAGTTCATCAATGTGCCGGAATGG
 TCTTACATAGTGGAGAAGGCCAACCCAGCCAATGACCTCTGTTACCCAGGGAATTTCAACGA
 CTATGAAGAACTGAAACACCTATTGAGCAGAATAAACCATTTTGAGAAAATTCAGATCATCCCC
 AAAAGTTCTTGGTCCGATCATGAAGCCTCATCAGGGGTCAGCTCAGCATGTCCATACCAGGG
 AACGCCCTCCTTTTTCAGAAATGTGGTATGGCTTATCAAAAAGAACAATACATACCCAACAATA
 AAGAGAAGCTACAATAATACCAACCAGGAAGATCTTTTGATACTGTGGGGGATTTCATTCT
 AATGATGCGGCAGAGCAGACAAAGCTCTATCAAAACCCAACCACCTATATTTCCGTTGGGACA
 TCAACACTAAACCAGAGATTGGTACCAAAAATAGCTACTAGATCCAAAGTAAACGGGCAAAAGT
 GGAAGGATGGATTTCTTCTGGACAATTTTAAACCGAATGATGCAATCAACTTCGAGAGTAAT
 GGAAATTTCAATTGCTCCAGAATATGCATACAAAATTGTCAAGAAAGGGGACTCAGCAATTGTT
 AAAAGTGAAGTGAATATGGTAACTGCAATACAAAGTGTCAAACCTCAATAGGGGCGATAAAC
 TCTAGTATGCCATTCCACAACATACACCCTCTCACCATCGGGGAATGCCCAAAATATGTGAAA
 TCAAACAAATTAGTCCTTGCGACTGGGCTCAGAAATAGTCCTCTAAGAGAAAGAAGAAGAAAA
 AGAGGACTATTTGGAGCTATAGCAGGGTTTATAGAGGGAGGATGGCAGGGAATGGTAGATGG
 TTGGTATGGGTACCACCATAGCAATGAGCAGGGGAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAATCCA
 CTCAAAAGGCAATAGATGGAGTCACCAATAAGGTCAACTCGATCATTGACAAAATGAACACTC
 AGTTTGAGGGCCGTTGGAAGGGGAATTTAATAACTTAGAAAGGAGAATAGAGAATTTAAACAAGA
 AAATGGAAGACGGATTCTAGATGTCTGGACTTATAATGCTGAACCTTCTGGTTCTCATGGAAA
 ATGAGAGAACTCTAGACTTCCATGATTCAAATGTCAAGAACCTTTACGACAAGGTCGACTAC
 AGCTTAGGGATAATGCAAGGAGCTGGGTAACGGTTGTTTCGAGTTCTATCACAAATGTGATA
 ATGAATGTATGGAAAGTGTAAGAAACGGAACGTATGACTACCCGCAGTATTCAGAAGAAGCAA
 GATTA AAAAGAGAGGAAATAAGTGGAGTAAAATTGGAATCAATAGGAACTTACCAAATACTGT
 CAATTTATTCAACAGTTGCGAGTTCTCTAGCACTGGCAATCATGGTGGCTGGTCTATCTTTGT
 GGATGTGCTCCAATGGGTGCTTACAATGCAGAAATTTGCATTTAAGAGCTCTAAGTTAAATGC
 TTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTAAATTTTGTCTTGTAGAAGAGCTTAATT
 AATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGTAAATGTAATTCATTTACATA
 AGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCCTCCATAACTAACTAGACATGAAGACCTGCCGCGTACA
 ATTGTCTTATATTTGAACAACATAAAATTGAACATCTTTGCCACAACCTTTATAAGTGGTTAATAT
 AGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCATTAA
 CAATCAACTTAACGTTATTAACCTACTAATTTTATATCATCCCCTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 57

SEQ ID NO: 66

H5 de A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) (Constructo # 782)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAGTTTAAG
 TTAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATT
 AAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTT
 GTTGCAACATTTGAGAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGA
 AAAAGGAAGAGGGAGAAATAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAAGTTGTACAAAAGTTGT
 ACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATT
 GCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCA
 TTA AAAAGAAAAGAATAAATTATTTTTAAAATTTAAAGTTGAGTCATTGATTAAACATGTGATTAT
 TTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTA
 ATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTTAT
 AGATCAAATAAGAGAAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAA AAAAAACGGTATATTTACTA
 AAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAAC
 CAATCACACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCCACGCATCTGTGGCACATCTACAT
 TATCTAAATCACACATTCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCAC
 CCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGA
 GAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGAGAAAATAGTGCTTCTTTTTGC
 AATAGTCAGTCTTGTTAAAAGTGATCAGATTTGCATTGGTTACCATGCAAACAACCTCGACAGA
 GCAGGTTGACACAATAATGGAAAAGAACGTTACTGTTACACATGCCCAAGACATACTGGAAAA
 GACACACAATGGGAAGCTCTGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTAATTTTGAGAGATTGTAG
 TGTAGCTGGATGGCTCCTCGGAAACCAATGTGTGACGAGTTCATCAATGTGCCGGAATGGT
 CTTACATAGTGGAGAAGGCCAATCCAGTCAATGACCTCTGTTACCCAGGGGATTTCATGACT
 ATGAAGAATTGAAACACCTATTGAGCAGAATAAACCATTTTGAGAAAATTCAGATCATCCCCAA
 AAGTTCTTGGTCCAGTCATGAAGCCTCATTGGGGGTCAGCTCAGCATGTCCATACCAGGGAA
 AGTCCTCCTTTTTCAGAAATGTGGTATGGCTTATCAAAAAGAACAGTACATACCCAACAATAAA
 GAGGAGCTACAATAATACCAACCAAGAAGATCTTTTGGTACTGTGGGGGATTCAACATCCTAA
 TGATGCGGCAGAGCAGACAAAGCTCTATCAAAACCCAACCACCTATATTTCCGTTGGGACATC
 TACACTAAACCAGAGATTGGTACCAAGAATAGCTACTAGATCCAAAGTAAACGGGCAAAGTGG
 AAGGATGGAGTTCTTCTGGACAATTTTAAAACCGAATGATGCAATCAACTTCGAGAGTAATGG
 AAATTTTATTGCTCCAGAATATGCATACAAAATTTGTCAAGAAAGGGGACTCAACAATTATGAAA
 AGTGAATTGGAATATGGTAACTGCAATACCAAGTGTCAAACCTCCAATGGGGGCGATAAACTCT
 AGCATGCCATTCCACAATATACACCCTCTCACCATCGGGGAATGCCCAAATATGTGAAATCA
 AACAGATTAGTCCTTGCGACTGGGCTCAGAAATAGCCCTCAAAGAGAGAGAAGAAGAAAAA
 GAGAGGATTATTTGGAGCTATAGCAGGTTTATAGAGGGAGGATGGCAGGGAAATGGTAGATG
 GTTGGTATGGGTACCACCATAGCAACGAGCAGGGGAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAATC
 CACTCAAAAGGCAATAGATGGAGTCACCAATAAGGTCAACTCGATTATTGACAAAATGAACAC
 TCAGTTTGAGGCCGTTGGAAGGGAATTTAACAACCTTAGAAAGGAGAATAGAGAATTTAAACAA
 GAAGATGGAAGACGGGTTCTAGATGTCTGGACTTATAATGCTGAACCTTCTAGTTCTCATGGA
 AAACGAGAGAACTCTAGACTTTTCATGACTCAAATGTCAAGAACCTTTACGACAAGGTCCGACT
 ACAGCTTAGGGATAATGCAAAGGAGCTGGGTAACGGTTGTTTCGAGTTCTATCATAAATGTGA
 TAATGAATGTATGGAAAGTGTAAGAAACGGAACGTATGACTACCCGCAGTATTCAGAAGAAGC
 AAGACTAAAAAGAGAGGAAATAAGTGGAGTAAAATTGGAATCAATAGGAATTTACCAAAATTTG
 TCAATTTATTCTACAGTGGCCAGCTCCCTAGCACTGGCAATCATGGTAGCTGGTCTATCCTTA
 TGGATGTGCTCCAATGGGTGCTTACAATGCAGAATTTGCATTTAAGAGCTCTAAGTTAAATG
 CTTCTTCTGCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTGTCTTGTAGAAGAGCTTAA
 TTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGTAAATGTAATTCATTTACA
 TAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAACTAGACATGAAGACCTGCCGCGTA
 CAATTGTCTTATATTTGAACAACCTAAAATTGAACATCTTTTCCACAACCTTTATAAGTGGTTAAT
 ATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCATT
 AACAATCAACTTAACGTTATTAACCTACTAATTTTATATCATCCCTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 58

SEQ ID NO: 67

H6 de A/Cerceta/Hong Kong/W312/97 (H6N1) (Constructo # 783)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAGTTTA
 AGTTAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCAT
 TATTAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACA
 ATTTTGTTGCAACATTTGAGAAAATTTGTTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGA
 GAGAGAAAAAGGAAGAGGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACA
 AAAGTTGTACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAA
 GGGTTAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTT
 TGGCAAGTCATTA AAAAGAAAGAATAAATTATTTTTAAAATTAAAAGTTGAGTCATTTGATTAA
 ACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATT
 TGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCCATAGAGTCAGTTAAC
 TCATTTTTATATTTATAGATCAAATAAGAGAAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAA
 AAACGGTATATTTACTAAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAG
 GATAACATCCAATCCAACCAATCACAACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGC
 ATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATTCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAA
 ACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGAT
 TCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATG
 ATTGCAATCATTGTAATAGCAATACTGGCAGCAGCCGGAAAGTCAGACAAGATCTGCATTG
 GGTATCATGCCAACAATTCAACAACACAGGTAGATACGATACTTGAGAAGAATGTGACTGT
 CACACACTCAATTGAATTGCTGGAAAATCAGAAGGAAGAAAGATTCTGCAAGATATTGAACA
 AGGCCCTCTCGACTTAAGGGAATGTACCATAGAGGGTTGGATCTTGGGGAATCCCCAAT
 GCGACCTATTGCTTGGTGATCAAAGCTGGTCATACATTGTGGAAAGACCTACTGCTCAAAA
 CGGGATCTGCTACCCAGGAACCTTAAATGAGGTAGAAGAACTGAGGGCACTTATTGGATCA
 GGAGAAAGGGTAGAGAGATTTGAGATGTTTCCCCAAAGCACCTGGCAAGGAGTTGACACC
 AACAGTGGAACAACAAGATCCTGCCCTTATTCTACTGGTGCCTCTTTCTACAGAAACCTCCT
 ATGGATAATAAAAACCAAGACAGCAGAATATCCAGTAATTAAGGGAATTTACAACAACACTG
 GAACCCAGCCAATCCTCTATTTCTGGGGTGTGCATCATCCTCCTAACACCGACGAGCAAGA
 TACTCTGTATGGCTCTGGTGATCGATACGTTAGAATGGGAACTGAAAGCATGAATTTGCCA
 AGAGTCCGGAAATTGCGGCAAGGCCTGCTGTGAATGGACAAAGAGGCAGAAATTGATTATTA
 TTGGTCGGTTTTAAACCAGGGGAAACCTTGAATGTGGAATCTAATGGAATCTAATCGCC
 CTTTGGTATGCATACAAATTTGTCAACACAAATAGTAAAGGAGCCGTCTTCAGGTCAGATTT
 ACCAATCGAGAACTGCGATGCCACATGCCAGACTATTGCAGGGGTTCTAAGGACCAATAAA
 ACATTTCAGAATGTGAGTCCCCTGTGGATAGGAGAATGTCCCAAATACGTGAAAAGTGAAA
 GTCTGAGGCTTGCAACTGGACTAAGAAATGTTCCACAGATTGAACTAGAGGACTCTTCGG
 AGCTATTGCAAGGTTTATTGAAGGAGGATGGACTGGGATGATAGATGGGTGGTATGGCTAT
 CACCATGAAAATTCTCAAGGTCAGGATATGCAGCAGACAGAGAAAGCACTCAAAAGGCTG
 TAAACAGAATTACAAATAAGGTCAATTCCATCATCAACAAAATGAACACACAATTTGAAGCTG
 TCGATCACGAATTTCAAATCTGGAGAGGAGAATTGACAATCTGAACAAAAGAATGCAAGAT
 GGATTTCTGGATGTTTGGACATACAATGCTGAACTGTTGGTTCTTCTTGAAAACGAAAGAAC
 ACTAGACATGCATGACGCAAATGTGAAGAACCTACATGAAAAGGTCAAATCACAACTAAGG
 GACAATGCTACGATCTTAGGGAATGGTTGCTTTGAATTTTGGCATAAGTGTGACAATGAATG
 CATAGAGTCTGTCAAAAATGGTACATATGACTATCCCAAATACCAGACTGAAAGCAAATTA
 ACAGGCTAAAAATAGAATCAGTAAAGCTAGAGAACCTTGGTGTGTATCAAATTTGCCATT
 TATAGTACGGTATCGAGCAGCCTAGTGTGGTAGGGCTGATCATGGCAATGGGTCTTTGGA
 TGTGTTCAAATGGTTCAATGCAGTGCAGGATATGTATATAAGAGCTCTAAGTTAAATGCTT
 CTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTGTCTTGTAAGAGCTTAATT
 AATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGAATGTAATTCATTACA
 TAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAACTAGACATGAAGACCTGCCGCG
 TACAATTGTCTTATATTTGAACAACCTAAAATTGAACATCTTTTGCCACAACCTTTATAAGTGGT
 AATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGAAAT
 TCATTAACAATCACTTAACGTTATTAACCTACTAATTTTATATCATCCCCTTTGATAAATGATA
 GTACA

Fig. 59

SEQ ID NO: 68

H9 de A/ Hong Kong/1073/99 (H9N2) (Constructo # 785)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATATAAAGTTTAA
 GTTAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATT
 TAAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAAT
 TTTGTTGCAACATTTGAGAAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAG
 AGAAAAAGGAAGAGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAG
 TTGTACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGT
 TAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCA
 AGTCATTAAAAAGAAAGAATAAATTATTTTTAAATTTAAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATG
 TGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGATTAGTAATTAGAATTTGGTGT
 CAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTT
 TATATTTCATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAAAAAAAAACGG
 TATATTTACTAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATAACA
 TCCAATCCAACCAATCACAACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCCACGCATCTGTG
 GCACATCTACATTATCTAATCACACATTCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCC
 ACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAA
 ACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAAATGGAAACAATA
 TCACTAATAACTATACTACTAGTAGTAACAGCAAGCAATGCAGATAAAATCTGCATCGGCCA
 CCAGTCAACAAACTCCACAGAACTGTGGACACGCTAACAGAAACCAATGTTCTGTGACAC
 ATGCCAAAGAATTGCTCCACACAGAGCATAATGGAATGCTGTGTGCAACAAGCCTGGGACA
 TCCCTCATTCTAGACACATGCACTATTGAAGGACTAGTCTATGGCAACCTTCTTGTGACC
 TGCTGTTGGGAGGAAGAGAATGGTCCTACATCGTCGAAAGATCATCAGCTGTAAATGGAAC
 GTGTTACCCTGGGAATGTAGAAAACCTAGAGGAACTCAGGACACTTTTTAGTTCCGCTAGTT
 CCTACCAAGAATCCAAATCTTCCAGACACAACCTGGAATGTGACTTACACTGGAACAAGC
 AGAGCATGTTGAGGTTCAATTCTACAGGAGTATGAGATGGCTGACTCAAAGAGCGGTTTTTA
 CCCTGTTCAAGACGCCCAATACACAAATAACAGGGGAAAGAGCATTCTTTTCGTGTGGGGC
 ATACATCACCCACCCACCTATACCGAGCAACAAATTTGTACATAAGAAACGACACAACAAC
 AAGCGTGACAACAGAAGATTTGAATAGGACCTTCAAACCAAGTGATAGGGCCAAGGCCCTT
 GTCAATGGTCTGCAGGGAAGAATTGATTATTATTGGTCTGCTACTAAACAGGCCAAACATT
 GCGAGTACGATCCAATGGGAATCTAATTGCTCCATGGTATGGACACGTTCTTTCAGGAGGG
 AGCCATGGAAGAATCCTGAAGACTGATTTAAAGGTGGTAATTGTGTAGTGCAATGTCAGAC
 TGAAAAAGGTGGCTTAACAGTACATTGCCATTCCACAATATCAGTAAATATGCATTTGGAAC
 CTGCCCCAAATATGTAAGAGTTAATAGTCTCAAACCTGGCAGTCGGTCTGAGGAACGTGCCT
 GCTAGATCAAGTAGAGGACTATTTGGAGCCATAGCTGGATTATAGAAAGGAGGTTGGCCAG
 GACTAGTCGCTGGCTGGTATGGTTTCCAGCATTCAAATGATCAAGGGGTTGGTATGGCTGC
 AGATAGGGATTCAACTCAAAAGGCAATTGATAAAATAACATCCAAGGTGAATAATATAGTCGA
 CAAGATGAACAAGCAATATGAAATAATTGATCATGAATTTAGTGAGGTTGAAACTAGACTCAA
 TATGATCAATAATAAGATTGATGACCAATACAAGACGTATGGGCATATAATGCAGAATTGCT
 AGTACTACTTGAAAATCAAAAAACACTCGATGAGCATGATGCGAACGTGAACAATCTATATAA
 CAAGGTGAAGAGGGCACTGGGCTCCAATGCTATGGAAGATGGGAAAGGCTGTTTCGAGCTA
 TACCATAAATGTGATGATCAGTGCATGGAAACAATTCGGAACGGGACCTATAATAGGAGAAA
 GTATAGAGAGGAATCAAGACTAGAAAGGCAGAAAATAGAGGGGGTTAAGCTGGAATCTGAG
 GGAACCTACAAAATCCTCACCATTATTTCGACTGTCGCCTCATCTCTTGTGCTTGCAATGGG
 GTTTGCTGCCTTCTGTTCTGGGCCATGTCCAATGGATCTTGCAGATGCAACATTTGTATAT
 AAGAGCTCTAAGTTAAATGCTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTAAATTT
 TGTTCTTGTAGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAAC
 GGTGTAATGTAATTCATTTACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAACT
 AGACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTTGAACAACATAAATTGAACATCTTTT
 GCCACAACCTTTATAAGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAAT
 GGAAATATCAGTTATCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAATACTACTAATTTTATAT
 CATCCCTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 60

SEQ ID NO: 69

H3 de A/Brisbane/10/2007 (H3N2)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATATAAAGTTTAAGT
 TAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTAA
 ACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGT
 GCAACATTTGAGAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAA
 GGAAGAGGGGAGAATAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAA
 AATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTA
 AATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTGGCAAGTCATTAAAAAG
 AAAGAATAAATTATTTTAAAAATTAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAAT
 TGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATT
 TGATCTTTTCTATATATTGCCCCATAGAGTCAAGTTAACTCATTTTATATTTTCATAGATCAAATA
 AGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAAGGATATTTACTAAAAATCTAAG
 CCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACAACAA
 TCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACA
 CATTCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAA
 ATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAA
 TTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAGACTATCATTGCTTTGAGCTACATTCTATGTCTGGTT
 TTCACTCAAAAACCTTCCCGGAAATGACAACAGCAGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCA
 GTACCAAACGGAACGATAGTGAAAACAATCACGAATGACCAAATTGAAGTTACTAATGCTACTG
 AGCTGGTTTCAAGAGTTCTCAACAGGTGAAATATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTTGATGGAG
 AAACTGCACACTAATAGATGCTCTATTGGGAGACCCTCAGTGTGATGGCTTCCAAAAATAAGAA
 ATGGGACCTTTTGTGAAACGCAGCAAAGCCTACAGCAACTGTTACCCTTATGATGTGCCGGAT
 TATGCCCTCCCTTAGGTCACTAGTTGCCTCATCCGGCACACTGGAGTTTAACAATGAAAGTTTCA
 ATTGGACTGGAGTCACTCAAAACGGAACAAGCTCTGCTTGCCATAAGGAGATCTAATAACAGTTT
 CTTTAGTAGATTGAATTGGTTGACCCACTTAAATTCAAATACCCAGCATTGAACGTGACTATGC
 CAAACAATGAAAAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTTACCACCCGGGTACGGACAATGA
 CCAAATCTTCTGTATGCTCAAGCATCAGGAAGAATCACAGTCTCTACCAAAAAGAGCCAACAA
 ACTGTAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGAGTAAGGAATATCCCCAGCAGAATAAGCATCT
 ATTGGACAATAGTAAACCGGGAGACATACTTTTGATTAAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCC
 TAGGGGTTACTTCAAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGG
 CAAATGCAATTCTGAATGCATCACTCCAAACGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATCCAAAAAT
 GTAAACAGGATCACATACGGGGCCTGTCCAGATATGTTAAGCAAAACACTCTGAAATTGGCA
 ACAGGGATGCGAAATGTACCAGAGAAACAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATCGCGGGTTTC
 ATAGAAAATGGTTGGGAGGGAATGGTGGATGGTTGGTATGGTTTCAGGCATCAAAATTCAGAG
 GGAATAGGACAAGCAGCAGATCTCAAAAGCACTCAAGCAGCAATCGATCAAATCAATGGGAAG
 CTGAATAGGTTGATCGGGAAAACCAACGAGAAATTCATCAGATTGAAAAAGAGTTCTCAGAAG
 TCGAAGGGGAGAATCCAGGACCTTGAGAAATATGTTGAGGACACCAAAATAGATCTCTGGTCAT
 ACAACGCGGAGCTTCTTGTGGCCCTGGAGAACCAACATACAATTGATCTAAGTACTCAGAAAT
 GAACAACTGTTTGAAAAAACAAGAAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGG
 TTGTTTCAAAATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATAGGATCAATCAGAAATGGAACCTTATG
 ACCACGATGTATACAGAGATGAAGCATTAAACAACCGGTTCCAGATCAAGGGCGTTGAGCTGA
 AGTCAGGATACAAAGATTGGATACTATGGATTTCTTTGCCATATCATGTTTTTGTCTTGTGTT
 GCTTTGTTGGGGTTTCATCATGTGGGCCTGCCAAAAGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATT
 GAGAGCTCTAAGTTAAATGCTTCTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTG
 TTCTGTAGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGT
 GTAATGTAATTCATTACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCCTCCATAACTAAGTACACA
 TGAAGACCTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTTGAACAATAAATTGAACATCTTTTGCCACAA
 CTTTATAAGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCA
 GTTATCGAAATTCATTAACAATCACTTAACGTTATTAAGTACTAATTTTATATCATCCCTTTGA
 TAAATGATAGTACA

Fig. 61

SEQ ID NO: 70

H3 de A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTAATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAAGTTTAA
 GTTAGCAAGTGTGTACATTTTACTTGAACAAAAATATTACCTACTACTGTTATAAATCATT
 TTAAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAAT
 TTTGTTGCAACATTTGAGAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAG
 AGAAAAAGGAAGAGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAG
 TTGTACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGT
 TAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTGGCA
 AGTCATTAAAAAGAAAGAATAAATTATTTTTAAAAATTAAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGT
 GATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGATTAGTAATTAGAATTTGGTGTC
 AAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTT
 TATTTATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAACCGGTAT
 ATTTACTAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGGAGGATAACATCC
 AATCCAACCAATCACAACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCA
 CATCTACATTATCTAAATCACACATTCTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACA
 TCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACA
 CATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAGACTATCATT
 GCTTTGAGCTACATTCTATGTCTGGTTTTCACTCAAAAACCTCCCGGAAATGACAACAGCAC
 GGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGGAACGATAGTGAAAACAATCACG
 AATGACCAAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTTCAGAGTTCCTCAACAGGTGGAAT
 ATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTTGATGGAGAAAACCTGCACACTAATAGATGCTCTATTGG
 GAGACCCTCAGTGTGATGGCTTCCAAAATAAGAAATGGGACCTTTTTGTTGAACGCAGCAAA
 GCCTACAGCAACTGTTACCCTTATGATGTGCCGATTATGCCTCCCTTAGGTCACTAGTTGC
 CTCATCCGGCACACTGGAGTTTAACGATGAAAGTTTCAATTGGACTGGAGTCACTCAAAATG
 GAACAAGCTCTGCTTGCAAAGGAGATCTAATAACAGTTTCTTAGTAGATTGAATTGGTTGA
 CCCACTTAAATTCAAATACCCAGCATTGAACGTGACTATGCCAAACAATGAAAAATTTGACA
 AATTGTACATTTGGGGGGTTCCACCACCGGGTACGGACAATGACCAAATCTTCTGCATGCT
 CAAGCATCAGGAAGAATCACAGTCTCTACCAAAAGAAGCCAACAACCTGTAATCCCGAATAT
 CGGATCTAGACCCAGAATAAGGAATATCCCCAGCAGAATAAGCATCTATTGGACAATAGTAA
 AACCAGGAGACATACTTTTGATTAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGGGGTTACTTC
 AAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAATTC
 TGAATGCATCACTCCAAATGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTTCAAATGTAAACAGGAT
 CACATATGGGGCCTGTCCAGATATGTTAAGCAAAACACTCTGAAATTGGCAACAGGGATGC
 GAAATGTACCAGAGAAAACAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATCGCGGGTTTCATAGAAAAT
 GGTTGGGAGGGAATGGTGGATGGTTGGTACGGTTTCAGGCATCAAATTTCTGAGGGAATAG
 GACAAGCAGCAGATCTCAAAGCACTCAAGCAGCAATCAATCAAATCAATGGGAAGCTGAAT
 AGGTTGATCGGGAAAACCAACGAGAAATCCATCAGATTGAAAAAGAGTTCTCAGAAGTAGA
 AGGGAGAATCCAGGACCTCGAGAAATATGTTGAGGACACTAAAATAGATCTCTGGTCATACA
 ACGCGGAGCTTCTTGTGCCCCTGGAGAACCAACATACAATTGATCTAACTGACTCAGAAATG
 AACAACTGTTTGAAAGAACAAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGG
 TTGTTTCAAATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATAGGATCAATCAGAAATGGAACCTTA
 TGACCATGATGTATACAGAGATGAAGCATTAAACAACCGGTTCCAGATCAAAGGCGTTGAGC
 TGAAGTCAGGATACAAAGATTGGATACTATGGATTTCTTTGCCATATCATGTTTTTGTCTT
 GTGTTGCTTTGTTGGGGTTCATCATGTGGGCCTGCCAAAAGGCAACATTAGGTGCAACATT
 TGCATTTGAGAGCTCTAAGTTAAATGCTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTTATTG
 TTAATTTGTTCTTGTAGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAG
 ATGAACTGGTGTAAATGTAATTCATTTACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATA
 ACTAAGTAGACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTTGAACAACCTAAAATTGAAC
 ATCTTTTGCACAACCTTTATAAGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATT
 AATAATGGAATATCAGTTATCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAAGTAACTAATT
 TATATCATCCCCTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 62

SEQ ID NO: 71

H7 de A/Equino/Praga/56 (H7N7)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATATAAAGTTTAAG
 TTAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATT
 AAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTT
 GTTGCAACATTTGAGAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGA
 AAAAGGAAGAGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAAGTTGTACAAAAGTTGT
 ACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATT
 GCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCA
 TTA AAAAGAGAAAGAATAAATTATTTTTAAAATTAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTAT
 TTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTA
 ATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTCA
 TAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAA AAAAAACGGTATATTTACT
 AAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAA
 CCAATCACAACAATCCTGATGAGATAACCCACTTAAGCCCACGCATCTGTGGCACATCTACA
 TTATCTAAATCACACATTCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCA
 CCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAG
 AGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAACACTCAAATTTCTAATATTAG
 CCACTTCGGCATTCTTCTATGTACGTGCAGATAAAATCTGCCTAGGACATCATGCTGTGTCTA
 ATGGAACCAAGTAGACACCCCTTACTGAAAAAGGAATAGAAGTTGTCAATGCAACAGAAACAG
 TTGAACAAACAAACATCCCTAAGATCTGCTCAAAAGGAAAAACAGACTGTTGACCTTGGTCAAT
 GTGGATTACTAGGGACCGTTATTGGTCTCCCAATGTGACCAATTTCTTGAGTTCTCTGCTA
 ATTTAATAGTTGAAAGAAGGGAAGGTAATGACATTTGTTATCCAGGCCAAATTTGACAATGAAGA
 AACATTGAGAAAAATACTCAGAAAAATCCGGAGGAATTA AAAAGGAGAATATGGGATTCACATA
 TACCGGAGTGAGAACCAATGGAGAGACTAGCGCATGTAGAAGGTCAAGATCTTCTTTTATG
 CAGAGATGAAATGGCTTCTATCCAGCACAGACAATGGGACATTTCCACAAATGACAAAGTCCT
 ACAAGAACACTAAGAAGGTACCAGCTCTGATAATCTGGGGAATCCACCACTCAGGATCAACT
 ACTGAACAGACTAGATTATATGGAAGTGGGAATAAATTGATAACAGTTTGGAGTTCCAAATAC
 CAACAATCTTTGTCCCAATCCTGGACCAAGACCGCAAATGAATGGTCAATCAGGAAGAATT
 GACTTTCACTGGCTGATGCTAGATCCCAATGATACTGTCACTTTCAGTTTTAATGGGGCCTTT
 ATAGCACCTGACCGCGCCAGTTTCTAAGAGGTAAATCTCTAGGAATCCAAAGTGATGCACAA
 CTTGACAATAATTGTGAAGGTGAATGCTATCATATTGGAGGTACTATAATTAGCAACTTGCCT
 TTCAAAACATTAATAGTAGGGCAATCGGAAAATGCCCCAGATACGTGAAGCAGAAGAGCTTAA
 TGCTAGCAACAGGAATGAAAAATGTTCTGAAGCTCCTGCACATAAACAATACTCATCACA
 TGCGCAAAAAAAGAGGTTTATTTGGTGAATAGCAGGATTCATTGAAAATGGGTGGGAAGGAT
 TAATAGACGGATGGTATGGATATAAGCATCAGAATGCACAAGGAGAAGGGACTGCTGCAGAC
 TACAAAAGTACACAATCTGCTATCAACCAAATAACCGGAAAAATTGAACAGACTAATAGAAAAA
 CCAACCAGCAATTCGAATAATAGATAATGAGTTCAATGAAATAGAAAAACAAATTGGCAATGT
 TATTAATGGACTAGAGATTCTATCATCGAAGTATGGTCATATAATGCAGAGTTCCTCGTAGC
 AGTGGAGAATCAACACACTATTGATTTAACTGACTCAGAAATGAACAACTATATGAAAAGGTA
 AGAAGACAACTGAGAGAAAATGCTGAGGAAGATGGTAATGGCTGTTTTGAAATATTCCACCAA
 TGTGACAATGATTGCATGGCCAGCATTAGAAACAACACATATGACCATAAAAAATACAGAAAA
 GAGGCAATACAAAACAGAATCCAGATTGACGCAGTAAAGTTGAGCAGTGGTTACAAAGATATA
 ATACTTTGGTTAGCTTCGGGGCATCATGTTTCTTATTTCTTGCCATTGCAATGGGTCTTGTTT
 TCATATGTATAAAAAATGGAACATGCGGTGCACTATTTGTATATAAGAGCTCTAAGTTAAAT
 GCTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTGTTCTTGTAAGAGACTTA
 ATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGTAAATGTAATTCATTAC
 ATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAAGTACATGAAGACCTGCCGCGT
 ACAATTGTCTTATATTTGAACAATAAATTGAACATCTTTGCCACAACCTTATAAGTGGTTAA
 TATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCAT
 TAACAATCAACTTAACGTTATTAATACTACTAATTTTATATCATCCCCTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 63

SEQ ID NO: 72

HA de B/Malasia/2506/2004

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAAGTTTAAG
 TTAGCAAGTGTGTACATTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTA
 AACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGT
 TGCAACATTTGAGAAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAA
 AGGAAGAGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACC
 AAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTG
 TAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTGGCAAGTCATTA
 AAGAAAGAATAAATTATTTTAAAAATTAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAAT
 GAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTG
 ACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTATATTTTCATAGATC
 AAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAACGGTATATTTACTAAAAAT
 CTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCAC
 AACATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAA
 TCACACATTCTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCATTCTAT
 AAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACT
 AATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAAATGAAGGCAATAATTGTACTACTCATGGTAGTAACA
 TCCAATGCAGATCGAATCTGCACTGGGATAACATCGTCAAACCTCACCACATGTTGTCAAACCTG
 CTAATCAAGGGGAGGTCAATGTGACTGGTGTAAATACCACTGACAACAACACCCACCAATCTC
 ATTTTGCAAATCTCAAAGGAACAGAAACCAGAGGGAAACTATGCCCAAATGCCTCAACTGCA
 CAGATCTGGACGTGGCCTTGGGCAGACCAAAATGCACGGGGAACATACCCTCGGCAAGAGTT
 TCAATACTCCATGAAGTCAGACCTGTTACATCTGGGTGCTTTCTATAATGCACGACAGAACAA
 AAATTAGACAGCTGCCTAACTTCTCAGAGGATACGAACATATCAGGTTATCAACTCATAACGT
 TATCAATGCAGAAAATGCACCAGGAGGACCTACAAAATTGGAACCTCAGGGTCTTGCCCTAA
 CGTTACCAATGGAAACGGATTTTTCGCAACAATGGCTTGGGCCGTCCCAAAAAACGACAACAA
 CAAAACAGCAACAAATTCATTAACAATAGAAGTACCATACATTTGTACAGAAGGAGAAGACCAA
 ATTACCGTTTGGGGGTTCCACTCTGATAACGAAACCCAAATGGCAAAGCTCTATGGGGACTCA
 AAGCCCCAGAAGTTCACCTCATCTGCCAACGGAGTGACCACACATTACGTTTCACAGATTGGT
 GGCTTCCCAAATCAAACAGAAAGACGGAGGACTACCACAAAGCGGTAGAATTGTTGTTGATTAC
 ATGGTGCAAAAATCTGGGAAAACAGGAACAATTACCTATCAAAGAGGTATTTTATTGCCTCAA
 AAGTGTGGTGCAGCAAGTGGCAGGAGCAAGGTAATAAAAGGATCGTTGCCTTTAATTGGAGAAG
 CAGATTGCCTCCACGAAAAATACGGTGGATTAACAAAAGCAAGCCTTACTACACAGGGGAAC
 ATGCAAAGGCCATAGGAAATGCCCCAATATGGGTGAAAACACCCTTGAAGCTGGCCAATGGAA
 CCAAATATAGACCTCCTGCAAACTATTAAGGAAAGGGGTTTCTTCGGAGCTATTGCTGTTTT
 CTTAGAAGGAGGATGGGAAGGAATGATTGCAGGTTGGCACGGATACACATCCCATGGGGCAC
 ATGGAGTAGCGGTGGCAGCAGACCTTAAGAGCACTCAAGAGGCCATAAACAAGATAACAAAA
 ATCTCAACTCTTTGAGTGAGCTGGAAGTAAAGAATCTTCAAAGACTAAGCGGTGCCATGGATG
 AACTCCACAACGAAATACTAGAAGTAGACGAGAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGATACAATAA
 GCTCACAAATAGAAGTGCAGTCCTGCTTTCCAATGAAGGAATAATAACAGTGAAGATGAGC
 ATCTCTTGCGCTTGAAAGAAAGCTGAAGAAAATGCTGGGCCCCCTCTGCTGTAGAGATAGGGA
 ATGGATGCTTTGAAACCAACACAAGTGCAACCAGACCTGTCTCGACAGAATAGCTGCTGGTA
 CCTTTGATGCAGGAGAATTTTCTCTCCCCACTTTTGATTCACTGAATATTACTGCTGCATCTTTA
 AATGACGATGGATTGGATAATCATACTATACTGCTTTACTACTCAACTGCTGCCTCCAGTTTGG
 CTGTAACATTGATGATAGCTATCTTTGTTGTTTATATGGTCTCCAGAGACAATGTTTCTTGCTCC
 ATCTGTCTATAAGAGCTCTAAGTTAAATGCTTCTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATT
 GTTAATTTTGTCTTGTAGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGA
 TGAAGTGGTGAATGAATTCATTTACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACT
 AACTAGACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTTGAACAACATAAAATGAACATCTT
 TTGCCACAACCTTTATAAGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAAT
 GGAAATATCAGTTATCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAACATACTAATTTTATATCA
 TCCCTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 64

SEQ ID NO: 73

HA de B/Florida/4/2006

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAAGTTTAAGT
 TAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTAA
 ACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGT
 GCAACATTTGAGAAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAA
 GGAAGAGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAA
 AATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTA
 AATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTGGCAAGTCATTAAAAAG
 AAAGAATAAATTTATTTTAAATTAAGTTGAGTCATTTGATTAACATGTGATTATTTAATGAAT
 TGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATT
 TGATCTTTTCTATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTTCATAGATCAAATA
 AGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAACGGTATATTTACTAAAAATCTAAG
 CCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACAACAA
 TCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACA
 CATTCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAA
 ATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTA
 TTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAGGCAATAATTGTACTACTCATGGTAGTAACATCCAAT
 GCAGATCGAATCTGCACTGGAATAACATCTTCAAACCTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCCACTC
 AAGGGGAGGTCAATGTGACTGGTGTGATACCACTAACAACAACACCAACAAAATCTTATTTTGC
 AAATCTCAAAGGAACAAGGACCAGAGGGAACTATGCCCAGACTGTCTCAACTGCACAGATCT
 GGATGTGGCTTTGGGCAGACCAATGTGTGTGGGGACCACACCTTCGGCGAAGGCTTCAATAC
 TCCACGAAGTCAAACCTGTTACATCCGGGTGCTTTCCTATAATGCACGACAGAACAAAAATCAG
 GCAACTACCCAATCTTCTCAGAGGATATGAAAATATCAGGCTATCAACCCAAAACGTCATCGAT
 GCGGAAAAGGCACCAGGAGGACCCTACAGACTTGGAACCTCAGGATCTTGCCCTAACGCTAC
 CAGTAAGAGCGGATTTTTCGCAACAATGGCTTGGGCTGTCCCAAAGGACAACAACAAAAATGC
 AACGAACCCACTAACAGTAGAAGTACCATACATTTGTACAGAAGGGGAAGACCAAAATCACTGTT
 TGGGGGTTCCATTACAGATAACAAAACCCAAATGAAGAACCTCTATGGAGACTCAAATCCTCAA
 AGTTCACCTCATCTGCTAATGGAGTAACCACACACTATGTTTCTCAGATTGGCAGCTTCCGAGA
 TCAAACAGAAGACGGAGGACTACCACAAAGCGGCAGGATTGTTGTTGATTACATGATGCAAAA
 ACCTGGGAAAACAGGAACAATTGTCTACCAAGAGGTGTTTTGTTGCCTCAAAGGTGTGGTG
 CGCGAGTGGCAGGAGCAAAGTAATAAAAGGGTCCTTGCCTTTAATTGGTGAAGCAGATTGCCT
 TCATGAAAAATACGGTGGATTAAACAAAAGCAAGCCTTACTACACAGGAGAACATGCAAAAGCC
 ATAGGAAATTGCCCAATATGGGTGAAAACACCTTTGAAGCTCGCCAATGGAACCAAAATATAGAC
 CTCCTGCAAACTATTAAGGAAAAGGGGTTTCTTCGGAGCTATTGCTGGTTTCTAGAAGGAG
 GATGGGAAGGAATGATTGCAGGCTGGCACGGATACACATCTCACGGAGCACATGGAGTGGCA
 GTGGCGGCGGACCTTAAGAGTACGCAAGAAGCTATAAACAAGATAACAAAAAATCTCAATTCTT
 TGAGTGAGCTAGAAGTAAAGAATCTTCAAAGACTAAGTGGTGCCATGGATGAACCTCACAACG
 AAATACTCGAGCTGGATGAGAAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGACACTATAAGCTCGCAAATAG
 AACTTGCAGTCTTGCTTTCCAACGAAGGAATAATAACAGTGAAGATGAGCATCTATTGGCACT
 TGAGAGAAAACCTAAAGAAAATGCTGGGTCCCTCTGCTGTAGAGATAGGAAATGGATGCTTCGA
 AACCAACACAAGTGCAACCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAGG
 AGAATTTTCTCTCCCACTTTTGATTCACTGAACATTACTGCTGCATCTTTAATGATGATGGAT
 TGGATAACCATACTATACTGCTCTATTACTCAACTGCTGCTTCTAGTTTGGCTGTAACATTGATG
 CTAGCTATTTTTATTGTTTATATGGTCTCCAGAGACAACGTTTCATGCTCCATCTGTCTATAAGA
 GCTCTAAGTTAAATGCTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTGTCT
 TGTAGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTGTATGAGATGAACCTGGTGTA
 TGTAATTCATTACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCCTCCATAACTAAGTACATGAA
 GACCTGCCGCGTACAATTGCTTATATTTGAACAACCTAAAATGAACATCTTTTGCCACAACCTT
 ATAAGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTA
 TCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAAGTACTAATTTTATATCATCCCTTTGATAAA
 TGATAGTACA

Fig. 65

Consenso de la SEQ ID NO: 49, 48, 33 Y 9

SEQ ID NO: 74

MK(X₁)KLLVLLCTFTATYADTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLL
 E(X₂)SHNGKLCLLKGIAPLQLGNCSVAGWILGNPECELLIS(X₃)ESWSYIVE(X₄)P
 NPENGTCYPG(X₅)FADYEELREQLSSVSSFERFEIFPKESSWPNHT(X₆)TGVSA
 SCSHNG(X₇)SSFY(X₈)NLLWLTGKNGLYPNLSKSY(X₉)NNKEKEVLVLWGVHHPN
 IG(X₁₀)Q(X₁₁)ALYH(X₁₂)ENAYVSVVSSHYSR(X₁₃)FTPEIAKRPKVRDQEGRINYWTLL
 EPGDTIIFEANGNLIAP(X₁₄)YAFALSRGFGSGII(X₁₅)SNAPMD(X₁₆)CDAKCQTPQG
 AINSSLPFQNVHPVTIGECPKYVRSKLRMVTGLRNIPSIQSRGLFGAIA
 GFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADQKSTQNAINGITNKVNSVIE
 KMNTQFTAVGKEFNKLERRMENLNKKVDDGF(X₁₇)DIWTYNAELLVLENERT
 LDFHDSNVKNLYEKVKSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCN(X₁₈)ECMESVKNGTY
 DYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMGVYQILAIYSTVASSLVLLVSLGAIS
 FWMCSNGSLQCRICI

Fig. 66

SEQ ID NO: 75

MKAKLLVLLCTFTATYADTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDSHNGKLCLLKGIA
 PLQLG
 NCSVAGWILGNPECELLISKESWSYIVETPNPENGTCYPGYFADYEELREQLSSVSSFERFEIF
 PKESSW
 PNHTVTGVSASCSHNGKSSFYRNLLWLTGKNGLYPNLSKSYVNNKEKEVLVLWGVHHPPNI
 GNQRALYHT
 ENAYVSVVSSHYSRRFTPEIAKRPKVRDQEGRINYWTLLPGDTIIFEANGNLIAPWYAFALS
 RGFGSG
 IITSNAPMDECDACQTPQGAINSSLPFQNVHPVTIGECPKYVRSAKLRMVTGLRNIPSIQSRG
 LFGAIA
 GFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGYAADQKSTQNAINGITNKVNSVIEKMNTQFTAVGK
 EFNKLERRM
 ENLNKKVDDGFLDIWTYNAELLVLENERTLDFHDSNVKNLYEKVKSQKNNAKEIGNGCFEF
 YHKCNNE
 CMESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMGVYQILAIYSTVASSLVLLVSLGAISFWMC
 SNGSLQ
 CRICI

Fig. 67

SEQ ID NO: 76

MSLLTEVETYVLSIIPSGPLKAEIAQRLEDVFAGKNTDLEVLMEWLKTRPILSPLTKGILGFVFTLTVPS
ERGLQRRRFVQNALNGNGDPNNMDKAVKLYRKLKREITFHGAKEISLSYSAGALASCMGLIYNRMGAV
TT
EVAFGLVCATCEQIADSQHRSHRQMVTNTNPLIRHENRMVLASTTAKAMEQMAGSSEQAAEAMEVAS
QAR
QMVQAMRTIGTHPSSSAGLKNDLLENLQAYQKRMGVQMQRFK

Figura 68

TTAATTAAGAATTGAGCTCCACCGCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCTGTC
ACTTTATTGAGAAGATAGTGAAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAG
GAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACG
AGGAGCATCGTGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGAT
ATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCCTATCCTTCGCAAGACCCTTCCTCTATA
TAAGGAAGTTCATTTTCAATTTGGAGAGGTATTAATACTTAATAGGTTTTGATAAAAGCGAACGT
GGGGAAACCCGAACCAAACCTTCTTCTAAACTCTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAACCTTCTCTC
TTGTCTTTCTTGCGTGAGCGATCTTCAACGTTGTCAGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAACGT
TTTCTTTCACTGAAGCGAAATCAAAGATCTCTTTGTGGACACGTAGTGCGGCGCCATTAAATAA
CGTGTACTTGTCTATTCTTGTGCGGTGTGGTCTTGGGAAAAAGAAAGCTTGCTGGAGGCTGCTG
TCAGCCCCATACATTACTTGTACGATTCTGCTGACTTTCGGCGGGTGCAATATCTCTACTTC
TGCTTGACGAGGTATTGTTGCCTGTACTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTGCTGATTGGTTCTATAAGAA
ATCTAGTATTTTCTTTGAAACAGAGTTTTCCCGTGGTTTTCGAACTTGAGAAAGATTGTTAAGC
TTCTGTATATTCTGCCCAAATTTGTGCGGGCCCATGGTTTTCACACCTCAGATACTTGGACTTAT
GCTTTTTTGGATTTGAGCCTCCAGAGGTGATATTGTGCTAACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCT
GTGACTCCAGGAGATAGTGTCAGTCTTTCCTGCAGGGCCAGCCAAAGTATTAGCAACAACCTA
CACTGGTTTTCAACAAAAATCGCATGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAGTATGCTTCCAGTCCA
TATCTGGGATCCCCTCCAGGTTGAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCAGTATCA
ACAGTGTGAAGACTGAAGATTTTGAATGTTTTCTGTCAACAGAGTAACAGCTGGCCTCTCAC
GTTTCGGTGATGGGACAAAGCTGGAGCTGAAACGGGCTGATGCTGCACCAACTGTATCCATCT
TCCCACCATCCAGTGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCTTGAACAACCT
TCTACCCCAAAGACATCAATGTCAAGTGGAAGATTGATGGCAGTGAACGACAAAATGGCGTCC
TGAACAGTTGGACTGATCAGGACAGCAAAGACAGCACCTACAGCATGAGCAGCACCCCTCACG
TTGACCAAGGACGAGTATGAACGACATAACAGCTATACCTGTGAGGCCACTCACAAGACATCA
ACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGTTAGAGGCCTATTTTCTTTAGTTTGA
ATTTACTGTTATTGCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTT
TATTTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTCGTCCCTTCAGCAAGGACAC
AAAAAGATTTTAATTTTATTAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAGACCGGGAATTCGATATCAAGCTTATC
GACCTGCAGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCT
TGCGATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCA
TGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATA
GAAAACAAAATATAGCGCGCAAACCTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTA
GATTCTAGAGTCTCAAGCTTCGGCGCGCC

Figura 69

AAGCTTGCTAGCGGCCTCAATGGCCCTGCAGGTCGACTCTAGAGGTACCCCGGGCTGGTAT
ATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAGTTTAAAGTTAGCAAGTGTGTACATTTT
CTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTAACATTAGAGTAAAGAAATAT
GGATGATAAGAACAAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGTGCAACATTTGAGAAAATTT
TGTTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAAGGAAGAGGGAGAATAAA
AACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAAATAGTTGTACAAATAT
CATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGAC
GCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTGGCAAGTCATTAAAAAGAAAGAATAAATTATT
TTTAAATTAAGAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTT
GGATTAAAGTTGATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTGACATTTGATCTTTTCT
ATATATTGCCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTATATTTTATAGATCAAATAAGAGAAATAAC
GGTATATTAATCCCTCCAAAAAACAACGGTATATTTACTAAAAAATCTAAGCCACGTAGGA
GGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACAACAATCCTGATGA
GATAACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATTCTTCC
ACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACT
TTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTA
ATCATCTTGAGAGAAAATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTG
TTGGTTCTTCTCAGATCTTCGCTGATCAGATTTGCATTGGTTACCATGCAAAACAATTCACAG
AGCAGGTTGACACAATCATGAAAAAGAACGTTACTGTTACACATGCCCAAGACATACTGGAAA
AGACACACAACGGGAAGCTCTGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTAATTTAAGAGATTGTA
GTGTAGCTGGATGGCTCCTCGGGAACCCAATGTGTGACGAATTCATCAATGTACCGGAATGG
TCTTACATAGTGGAGAAGGCCAATCCAACCAATGACCTCTGTTACCCAGGGAGTTTCAACGAC
TATGAAGAATCTGAACACCTATTGAGCAGAATAAACCATTTTGAGAAAATTCAAATCATCCCCA
AAAGTTCTTGGTCCGATCATGAAGCCTCATCAGGAGTTAGCTCAGCATGTCCATACCTGGGAA
GTCCCTCTTTTTAGAAATGTGGTATGGCTTATCAAAAAGAACAGTACATACCCAACAATAAA
GAAAAGCTACAATAATACCAACCAAGAGGATCTTTTGGTACTGTGGGGAAATTCACCATCCTAA
TGATGCGGCAGAGCAGACAAGGCTATATCAAAACCCAACCACCTATATTTCCATTGGGACATC
AACACTAAACCAGAGATTGGTACCAAAAAATAGCTACTAGATCCAAAGTAAACGGGCAAGTGG
AAGGATGGAGTTCTTCTGGACAATTTTAAACCTAATGATGCAATCACTTCGAGAGTAATG
AAATTTCAATTGCTCCAGAATATGCATACAAAATTTGTCAAGAAAGGGGACTCAGCAATTATGAAA
AGTGAATTGGAATATGGTAACTGCAACACCAAGTGTCAAACCTCAATGGGGGCGATAAACTCT
AGTATGCCATTCCACAACATACACCCTCTCACCATCGGGGAATGCCCAATATGTGAAATCA
AACAGATTAGTCCTTGCAACAGGGCTCAGAAATAGCCCTCAAAGAGAGAGCAGAAGAAAAA
GAGAGGACTATTTGGAGCTATAGCAGGTTTTATAGAGGGAGGATGGCAGGGAAATGGTAGATG
GTTGGTATGGTACCACCATAGCAATGAGCAGGGGAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAATC
CACTCAAAAGGCAATAGATGGAGTCACCAATAAGGTCAACTCAATCATTGACAAAATGAACAC
TCAGTTTGAGGCCGTTGGAAGGGAATTTAATAACTTAGAAAGGAGAATAGAGAATTTAAACAA
GAAGATGGAAGACGGGTTTCTAGATGTCTGGACTTATAATGCCGAACCTCTGGTTCTCATGGA
AAATGAGAGAACTCTAGACTTTTATGACTCAAATGTTAAGAACCTCTACGACAAGGTCCGACT
ACAGCTTAGGGATAATGCAAAGGAGCTGGGTAACGGTTGTTTCGAGTTCTATCACAAATGTGA
TAATGAATGTATGGAAAGTATAAGAAACGGAACGTACAACCTATCCGCAGTATTCAGAAGAAGC
AAGATTAAAAAGAGAGGAAATAAGTGGGGTAAAAATGGAATCAATAGGAACTTACCAAACT
GTCAATTTATTCAACAGTGGCGAGTTCCCTAGCACTGGCAATCATGATGGCTGGTCTATCTT
ATGGATGTGCTCCAATGGATCGTTACAATGCAGAATTTGCATTTAAGAGCTCTAAGTTAAATG
CTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTGTTCTTGTAAGAGCTTAA
TTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGATGAACTGGTGTAAATGTAATTCATTTACA
TAAGTGGAGTCAGAATCAGAAATGTTTCTCCATAACTAAGTACATGAAGACCTGCCGCGTA
CAATTGTCTTATATTTGAACAACATAAAATGAACATCTTTTGCCACAACCTTTATAAGTGGTTAAT
ATAGCTCAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAAATGGAATATCAGTTATCGAAATTCATT
AACAATCAACTTAACGTTATTAACCTACTAATTTTATATCATCCCCTTTGATAAATGATAGTACAC
CAATTAGGAAGGAGCATGCTCGAGGCCTGGCTGGCCGAATTC

Figura 70

AAGCTTGCTAGCGGCCTCAATGGCCCTGCAGGTCGACTCTAGAGGTACCCCGGGCTGGTATA
TTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAGTTTAAGTTAGCAAGTGTGTACATTTTACT
TGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTAACATTAGAGTAAAGAAATATGGA
TGATAAGAACAAAGAGTAGTGATTTTTGACAACAATTTTGTGCAACATTTGAGAAAATTTTGT
GTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAAGGAAGAGGGAGAATAAAAACAT
AATGTGAGTATGAGAGAGAAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGA
GGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTA
GAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCATTAAGAAAGAAAGAATAAATTATTTTTAAAA
TAAAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAA
AGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTG
CCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATTTTCATAGATCAAATAAGAGAAAATAACGGTATATT
AATCCCTCCAAAAAACCGGTATATTTACTAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACA
GGATCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACACAATCCTGATGAGATAACCCA
CTTTAAGCCCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATTCTCCACACATCTG
AGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCT
ACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAG
AGAAAATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCCTTCT
CAGATCTTCGCTGACACAATATGTATAGGCTACCATGCTAACAACTCGACCGACACTGTTGACA
CAGTACTTGAAAAGAATGTGACAGTGACACACTCTGTCAACCTGCTTGAGAACAGTCACAATG
GAACCTATGTCTATTAAGGAATAGCCCCACTACAATTGGGTAAATGCAGCGTTGCCGGGT
GGATCTTAGGAAACCCAGAATGCCAATTACTGATTTCCAAGGAGTCATGGTCTACATTGTAGA
AAAACCAAATCCTGAGAATGGAACATGTTACCCAGGGCATTTCGCTGACTATGAGGAACTGAG
GGAGCAATTGAGTTCAGTATCTTCATTTGAGAGGTTTCGAAATATTCCCCAAGAAAGCTCATGG
CCCAACCACACCGTAACCGGAGTGTCAGCATCATGCTCCCATAAATGGGGAAAGCAGTTTTTAC
AGAAATTTGCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTTGTACCCAAACCTGAGCAAGTCCTATGCA
AACAACAAAGAAAAAGAAGTCCTGTACTATGGGGTGTTCATCACCCGCCAAACATAGGTGAC
CAAAAGGCCCTCTATCATACAGAAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATTATAGCAGAA
AATTCACCCAGAAATAGCCAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAAGAAGGAAGAATCAATTAATA
CTGGACTCTGCTTGAACCCGGGGATACAATAATATTTGAGGCAAATGGAAATCTAATAGCGCC
AAGATATGCTTTCGCACTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCAACTCAAATGCACCAATG
GATAAATGTGATGCCAAGTGCCAAACACCTCAGGGAGCTATAAACAGCAGTCTTCCTTTCCAG
AACGTACACCCAGTCACAATAGGAGAGTGTCCAAAGTATGTGAGGAGTGCAAAATTAAGGATG
GTTACAGGACTAAGGAACATCCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGGAGCCATTGCCGGT
TTTATTGAAGGGGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGTTATCATCATCAGAATGAG
CAAGGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAAGCACACAAAATGCCATTAATGGGATTACAAACA
AGGTCAATTCTGTAATTGAGAAAATGAACACTCAATTCACAGCAGTGGGCAAAGAGTTCAACAA
ATTGGAAAGAAGGATGGAAAATGAATAAAAAAGTTGATGATGGGTTTATAGACATTTGGACA
TATAATGCAGAACTGTTGGTTCTACTGGAAAATGAAAGGACTTTGGATTTCCATGACTCCAATG
TGAAGAATCTGTATGAGAAAGTAAAAAGCCAGTTAAAGAATAATGCTAAAGAAATAGGAAATGG
GTGTTTTGAGTTCTATCACAAGTGTAACGATGAATGCATGGAGAGTGTAAAGAATGGAACCTAT
GACTATCCAAATATTCGGAAGAATCAAAGTTAAACAGGGAGAAAATGATGGAGTGAAATTTGG
AATCAATGGGAGTCTATCAGATTCTGGCGATCTACTCAACAGTCGCCAGTTCTCTGGTTCTTTT
GGTCTCCCTGGGGGCAATCAGCTTCTGGATGTGTTCCAATGGGTCTTACAGTGTAGAATATG
CATCTAAGAGCTCTAAGTTAAATGCTTCTCGTCTCCTATTTATAATATGTTTGTATTGTTAA
TTTTGTTCTGTAGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAAC
TGGTGTAAATGTAATTCATTTACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCCTCCATAACTAATA
GACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTGCTTATATTTGAACAATAAAATGAACATCTTTTGC
CACAACCTTTATAAGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAA
ATATCAGTTATCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAATACTAATTTTATATCATCCC
CTTTGATAAATGATAGTACACCAATTAGGAAGGAGCATGCTCGAGGCCTGGCTGGCCGAATTC

Figura 71

AAGCTTGCTAGCGGCCTCAATGGCCCTGCAGGTCGACTCTAGAGGTACCCCGGGCTGGTATAT
 TTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAGTTTAAAGTTAGCAAGTGTGTACATTTTTACTT
 GAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTAACATTAGAGTAAAGAAATATGGAT
 GATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTGTTGCAACATTTGAGAAAATTTTGTGT
 TCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAGAAAAAGGAAGAGGGAGAAATAAAACATAAT
 GTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGG
 AATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAG
 AGATGTACCATTAGAGAATTTTGGCAAGTCATTAAAAAGAAAGAATAAATTATTTTAAAAATTAA
 AAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTG
 TATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCAT
 AGAGTCAGTTAACTCATTTTTATTTTCATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCT
 CCAAAAAAAGGATATTTACTAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCC
 CGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGC
 CCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATTCTCCACACATCTGAGCCACAC
 AAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGA
 TTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGG
CGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTGTGTTGGTTCTTCTCAGATCTTC
GCTCAAAAACCTTCCCGGAAATGACAACAGCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTA
CCAAACGGAACGATAGTGAAAACAATCACGAATGACCAAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGC
TGGTTCAGAGTTCCTCAACAGGTGAAATATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTTGATGGAGAAAA
CTGCACACTAATAGATGCTCTATTGGGAGACCCTCAGTGTGATGGCTTCCAAATAAGMAATGG
GACCTTTTTGTTGAACGCAGCAAAGCCTACAGCAACTGTTACCCTTATGATGTGCCGGATTATG
CCTCCCTTAGGTCAGTTGCCTCATCCGGCACACTGGAGTTTAACAATGAAAGTTTCAATTG
GAAGTGGAGTCACTCAAACCGGAACAAGCTCTGCTTGCTAAGGAGATCTAATAACAGTTTCTTT
AGTAGATTGAATTGTTGACCCACTTAAATTTCAAATACCCAGCATTGAACGTGACTATGCCAAA
CAATGAAAAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTTACCACCCGGGTACGGACAATGACCAA
ATCTTCTGTATGCTCAAGCATCAGGAAGAATCACAGTCTCTACCAAAAAGAAGCCAACAACTG
TAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGAGTAAGGAATATCCCCAGCAGAATAAGCATCTATTG
GACAATAGTAAAACCGGGAGACATACTTTTGATTAAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGG
GGTTACTTCAAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAAT
GCAATTCTGAATGCATCACTCCAAACCGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTCAAAAATGTAAA
CAGGATCACATACGGGGCCTGTCCCAGATATGTTAAGCAAAACACTCTGAAATTGGCAACAGG
GATGCGAAATGTACCAGAGAAACAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATCGCGGGTTTCATAGA
AAATGGTTGGGAGGGAATGGTGGATGGTTGGTATGGTTTCAGGCATCAAATCTGAGGGAAT
AGGACAAGCAGCAGATCTCAAAGCACTCAAGCAGCAATCGATCAAATCAATGGGAAGCTGAA
TAGGTTGATCGGGAAAACCAACGAGAAATTCATCAGATTGAAAAAGAGTTCTCAGAAGTCGAA
GGGAGAATCCAGGACCTTGAGAAATATGTTGAGGACACCAAAATAGATCTCTGGTCATACAACG
CGGAGCTTCTTGTGCCCTGGAGAACCAACATACAATTGATCTAACTGACTCAGAAATGAACAA
ACTGTTTGAAAAACAAAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGGTTGTTTC
AAAATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATAGGATCAATCAGAAATGGAACCTTATGACCACG
ATGTATACAGAGATGAAGCATTAAACAACCGGTTCCAGATCAAGGGCGTTGAGCTGAAGTCAG
GATACAAAGATTGGATACTATGGATTTCTTTGCCATATCATGTTTTTGCTTTGTGTTGCTTTGT
TGGGGTTCATCATGTGGGCCTGCCAAAAGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTTGAGAGC
TCTAAGTTAAAATGCTTCTCTCTCTCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTGTTCTTGT
AGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAAGTGGTGAATGT
AATTCATTTACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAAGTACATGAAGAC
CTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTTGAACAATAAAATTGAACATCTTTTGCCACAACCTTATAA
GTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAAATGGAATATCAGTTATCG
AAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAAGTACTAATTTTATATCATCCCTTTGATAAATGAT
 AGTACACCAATTAGGAAGGAGCATGCTCGAGGCCTGGCTGGCCGAATTC

Figura 72

AAGCTTGCTAGCGGCCTCAATGGCCCTGCAGGTCGACTCTAGAGGTACCCCGGGCTGGTATATT
TATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAGTTTAAGTTAGCAAGTGTGTACATTTTACTTGA
ACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGAT
AAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGTGCAACATTTGAGAAAAATTTTGTGTTCTC
TCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAAGGAAGGGAGGAATAAAAAACATAATGTGA
GTATGAGAGAGAAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTG
ACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTA
CCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCATTAAAAAGAAAGAATAAATTATTTTTAAATTTAAAGTTGAG
TCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAA
TTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCCATAGAGTCAGT
TAACTCATTTTTATATTTATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAAA
AAAACGGTATATTTACTAAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGAT
AACATCCAATCCAACCAATCACAACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGCATCTGT
GGCACATCTACATTATCTAAATCACACATCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCAC
ATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACA
TACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGCGAAAAACGTTGCGAT
TTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCGCTGATCGAATCTGCACT
GGAATAACATCTTCAAACCTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCCACTCAAGGGGAGGTCAATGTGAC
TGGTGTGATACCACTAACAACAACACCAACAAAATCTTATTTGCAAATCTCAAAGGAACAAGGAC
CAGAGGGAAACTATGCCAGACTGTCTCAACTGCACAGATCTGGATGTGGCTTTGGGCAGACCA
ATGTGTGTGGGGACCACACCTTCGGCGAAGGCTTCAATACTCCACGAAGTCAAACCTGTTACATC
CGGGTGCTTTCTATAATGCACGACAGAACAAAAATCAGGCAACTACCCAATCTTCTCAGAGGAT
ATGAAAATATCAGGCTATCAACCCAAAACGTCATCGATGCGGAAAAGGCACCAGGAGGACCCTA
CAGACTTGAACCTCAGGATCTTGCCCTAACGCTACCAGTAAGAGCGGATTTTTCGCAACAATGG
CTTGGGCTGTCCCAAAGGACAACAACAAAAATGCAACGAACCCACTAACAGTAGAAGTACCATAC
ATTTGTACAGAAGGGGAAGACCAATCACTGTTTGGGGGTTCCATTCAGATAACAAAACCCAAAT
GAAGAACCTCTATGGAGACTCAAATCCTCAAAAGTTCACCTCATCTGCTAATGGAGTAACCACAC
ACTATGTTTCTCAGATTGGCAGCTTCCAGATCAAAACAGAAAGACGGAGGACTACCACAAAGCGG
CAGGATTGTTGTTGATTACATGATGCAAAAACCTGGGAAAAACAGGAACAATTGTCTACCAACAGG
GTGTTTTGTTGCCTCAAAAGGTGTGGTGCAGTGGCAGGAGCAAAAGTAATAAAAGGGTCTT
GCCTTTAATTGGTGAAGCAGATTGCCCTTCATGAAAAATACGGTGGATTAAACAAAAGCAAGCCTTA
CTACACAGGAGAACATGCAAAAGCCATAGGAAATGCCCCAATATGGGTGAAAACACCTTTGAAGC
TCGCCAATGGAACCAATATAGACCTCCTGCAAAACTATTAAAGGAAAGGGGTTTTCTTCGGAGCT
ATTGCTGGTTTTCTAGAAGGAGGATGGGAAGGAATGATTGCAGGCTGGCACGGATACACATCTC
ACGGAGCACATGGAGTGGCAGTGGCGGGGACCTTAAGAGTACGCAAGAAGCTATAAACAAGAT
AACAAAAATCTCAATCTTTGAGTGAGCTAGAAGTAAAGAATCTTCAAAGACTAAGTGGTGCCAT
GGATGAACCTCCACAACGAAATACTCGAGCTGGATGAGAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGACACT
ATAAGCTCGCAAATAGAACTTGCAGTCTTGCTTTCCAACGAAGGAATAATAAACAGTGAAGATGA
GCATCTATTGGCACTTGAGAGAAAACTAAAGAAAATGCTGGGTCCCTCTGCTGTAGAGATAGGAA
ATGGATGCTTCGAAACCAACACAAGTGCAACCCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCAC
CTTTAATGCAGGAGAATTTTCTCTCCCCACTTTTGATTCACTGAACATTACTGCTGCATCTTTAAAT
GATGATGGATTGGATAACCATACTATACTGCTCTATTACTCAACTGCTGCTTCTAGTTTGGCTGTA
ACATTGATGCTAGCTATTTTTATTGTTTATATGGTCTCCAGAGACAACGTTTCATGCTCCATCTGTC
TATAAGAGCTCTAAGTTAAAATGCTTCTTCTGCTCCTATTATAATATGGTTTGTTATTGTTAATTTT
GTTCTTGTAGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACCTGGTG
TAATGTAATTCAATTAACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAAGTACATGA
AGACCTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTTGAACAACATAAAATTGAACATCTTTGCCACAACCTTA
TAAGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATC
GAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAATACTAATTTTATATCATCCCTTTGATAAATGAT
AGTACACCAATTAGGAAGGAGCATGCTCGAGGCCTGGCTGGCCGAATTC

Figura 73

TTAATTAAGAATTGAGCTCCACCGCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCT
 GTCACTTTATTGAGAAGATAGTGGAAGGAGGTTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCG
 ATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCC
 CCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGT
 GGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCTTCGCA
 AGACCCTTCTCTATATAAGGAAGTTCATTTCAATTTGGAGAGGTATTAAATCTTAATAGGT
 TTTGATAAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGAACCAAACCTTCTTCTAACTCTCTCATCT
 CTCTTAAAGCAAACCTTCTCTCTTGTCTTTCTTGCCTGAGCGATCTTCAACGTTGTCAGATC
 GTGCTTCGGCACCAGTACAACGTTTTCTTCACTGAAGCGAAATCAAAGATCTCTTTGTGG
 ACAGCTAGTGCGGCGCCATTAAATAACGTGTACTTGTCTATTCTTGTCTGCGGTGTTGCTT
 GGGAAAAGAAAGCTTGCTGGAGGCTGCTGTTGAGCCCCATACATTACTTGTACGATTCT
 GCTGACTTTGCGGCGGGTGAATATCTCTACTTCTGCTTGACGAGGTATTGTTGCCTGTAC
 TTCTTTCTTCTTCTTCTTGCTGATTGGTTCTATAAGAAATCTAGTATTTTCTTGAAACAGA
 GTTTTCCCGTGGTTTTGAACTTGGAGAAAGATTGTTAAGCTTCTGTATATTCTGCCCAA
 TTTGTGCGGGCCCATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTGTGT
 TGGTTCTTCTCAGATCTTCGCTGACACAATATGTATAGGCTACCATGCCAACAACCTCAAC
 CGACACTGTTGACACAGTACTTGAGAAGAATGTGACAGTGACACACTCTGTCAACCTACT
 TGAGGACAGTCACAATGGAAAACCTATGTCTACTAAAAGGAATAGCCCCACTACAATTGGG
 TAATTGCAGCGTTGCCGGATGGATCTTAGGAAACCCAGAATGCGAATTACTGATTTCCAA
 GGAATCATGGTCTACATTGTAGAAACACCAAATCCTGAGAATGGAACATGTTACCCAGG
 GTATTTGCGCGACTATGAGGAACTGAGGGAGCAATTGAGTTCAGTATCTTCATTTGAGAG
 ATTCGAAATATTCGCCAAAGAAAGCTCATGGCCCAACACACCGTAACCGGAGTATCAGC
 ATCATGCTCCCATAAATGGGAAAAGCAGTTTTTACAGAAATTTGCTATGGCTGACGGGGAA
 GAATGGTTTGTACCCAAACCTGAGCAAGTCTATGTAAACAACAAAGAGAAAGAAGTCCTT
 GTACTATGGGGTGTTCATCACCCGCCTAACATAGGGAACCAAAGGGCACTCTATCATACA
 GAAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTACATTATAGCAGAAGATTACCCCAAGAAATAG
 CCAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAGGAAGGAAGAATCAACTACTACTGGACTCTGCTGG
 AACCTGGGGATACAATAATTTGAGGCAAAATGGAAATCTAATAGCGCCATGGTATGCTTT
 TGCACTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCACCTCAAATGCACCAATGGATGAATG
 TGATGCGAAGTGTCAAACACCTCAGGGAGCTATAAACAGCAGTCTTCTTTCCAGAATGT
 ACACCCAGTCACAATAGGAGAGTGTCCAAAGTATGTGAGGAGTGCAAAATTAAGGATGGT
 TACAGGACTAAGGAACATCCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGAGGCCATTGCCGG
 TTTCAATTGAAGGGGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGGTGGTATGGTTATCATCATCAGAA
 TGAGCAAGGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAAGTACACAAAATGCCATTAACGGGAT
 TACAAACAAGGTCAATTCTGTAATTGAGAAAATGAACACTCAATTCACAGCTGTGGGCAAA
 GAGTTCAACAAATTGGAAAGAAGGATGGAAAACCTAAATAAAAAAGTTGATGATGGGTTC
 TAGACATTTGGACATATAATGCAGAATTGTTGTTTCTACTGGAAAATGAAAGGACTTTGGA
 TTTCCATGACTCCAATGTGAAGAATCTGTATGAGAAAGTAAAAAGCCAATTAAGAATAAT
 GCCAAAGAAATAGGAAACGGGTGTTTTGAGTTCTATCACAAGTGTAAACATGAATGCATG
 GAGAGTGTGAAAAATGGTACCTATGACTATCCAAAATATTCCGAAGAATCAAAGTTAAACA
 GGGAGAAAATTGATGGAGTGAAATGGAAATCAATGGGAGTATACCAGATTCTGGCGATCT
 ACTCAACTGTCGCCAGTTCCTTGGTTCTTTGGTCTCCCTGGGGGCAATCAGCTTCTGGA
 TGTGTTCCAATGGGTCTTGCAGTGTAGAATATGCATCTAAAGGCCTATTTTCTTTAGTTT
 GAATTTACTGTTATTCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAGAGT
 GTGTTTATTTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTCTCCCTTCAGC
 AAGGACACAAAAAGATTTTAATTTTATTAATAAAAAAAGACCGGGAATTCGATA
 TCAAGCTTATCGACCTGCAGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAAT
 CCTGTTGCCGGTCTTGCGATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAAT
 AATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTATGATTAGAGTCCCGCAAT
 TATACATTTAATACGCGATAGAAAAACAAATATAGCGCGCAAACTAGGATAAATTATCGCG
 CGCGGTGTCATCTATGTTACTAGATTCTAGAGTCTCAAGCTTCGGCGCGCC

Figura 74

TTAATTAAGAATTCGAGCTCCACCGCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCT
 GTCACTTTATTGAGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCG
 ATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCC
 CCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGT
 GGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCTTCGCA
 AGACCCCTTCCTCTATATAAGGAAGTTCATTTCAATTTGGAGAGGTATTAAATCTTAATAGGT
 TTTGATAAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGAACCAAACCTTCTTCTAAACTCTCTCATCT
 CTCTTAAAGCAAACCTTCTCTCTTGTCTTTCTTTCGTGAGCGATCTTCAACGTTGTCAGATC
 GTGCTTCGGCACCAGTACAACGTTTTCTTCACTGAAGCGAAATCAAAGATCTCTTTGTGG
 ACACGTAGTGGCGGCCATTAAATAACGTGACTTGTCTTCTTCTTGTGCGGTGTGGTCTT
 GGGAAAAGAAAGCTTGGAGGCTGTGTCAGCCCCATACATTACTTGTACGATTCT
 GCTGACTTTTCGGCGGGTGCAATATCTCTACTTCTGCTTGACGAGGTATTGTTGCCTGTAC
 TTCTTTCTTCTTCTTCTTGTGATTGGTTCTATAAGAAATCTAGTATTTTCTTTGAAACAGA
 GTTTTCCCGTGGTTTTCGAACTTGGAGAAAGATTGTTAAGCTTCTGTATATTCTGCCCAA
 TTTGTGCGGGCCCATGGAGAAAATAGTGCTTCTTCTTGCAATAGTCAGTCTTGTTAAAAGTG
 ATCAGATTTGCATTGGTTACCATGCAAAACAATTCAACAGAGCAGGTTGACACAATCATGGA
 AAAGAACGTTACTGTTACACATGCCCAAGACATACTGGAAAAGACACACAACGGGAAGCT
 CTGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTAATTTAAGAGATTGTAGTGTAGCTGGATGGCT
 CCTCGGGAACCCAATGTGTGACGAATTCATCAATGTACCGGAATGGTCTTACATAGTGGA
 GAAGGCCAATCCAACCAATGACCTCTGTTACCCAGGGAGTTTCAACGACTATGAAGAAT
 GAAACACCTATTGAGCAGAATAAACCATTTTGAGAAAATTCAAATCATCCCCAAAAGTTCT
 TGGTCCGATCATGAAGCCTCATCAGGAGTTAGCTCAGCATGTCCATACCTGGGAAGTCCC
 TCCTTTTTTAGAAATGTGGTATGGCTTATCAAAAAGAACAGTACATACCCAACAATAAAGA
 AAAGCTACAATAATACCAACCAAGAGGATCTTTTGGTACTGTGGGGAATTCAACCATCTAA
 TGATGCGGCAGAGCAGACAAGGCTATATCAAAACCCAACCACCTATATTTCCATTGGGAC
 ATCAACACTAAACCAGAGATTGGTACCAAAAATAGCTACTAGATCCAAAGTAAACGGGCAA
 AGTGAAGGATGGAGTTCTTCTGGACAATTTTAAACCTAATGATGCAATCAACTTCGAGA
 GTAATGGAAATTTCAATTGCTCCAGAATATGCATACAAAATTTGTCAAGAAAGGGGACTCAGC
 AATTATGAAAAGTGAATTGGAATATGGTAACTGCAACACCAAGTGTCAAACCTCAATGGGG
 GCGATAAACTCTAGTATGCCATTCCACAACATACACCCTCTCACCATCGGGGAATGCCCC
 AAATATGTGAAATCAAAACAGATTAGTCTTTCGAACAGGGCTCAGAAATAGCCCTCAAAGA
 GAGAGCAGAGAAGAAAAAGAGAGGACTATTTGGAGCTATAGCAGGTTTATAGAGGGGAGGA
 TGGCAGGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGGTACCACCATAGCAATGAGCAGGGGAGTGG
 GTACGCTGCAGACAAAGAATCCACTCAAAAGGCAATAGATGGAGTCACCAATAAGGTCAA
 CTCAATCATTGACAAAATGAACACTCAGTTTGAGGCCGTTTGAAGGGGAATTTAATAACTTA
 GAAAGGAGAATAGAGAATTTAAACAAGAAGATGGAAGACGGGTTTCTAGATGTCTGGACT
 TATAATGCCGAACCTTCTGGTTCTCATGGAAAATGAGAGAACTCTAGACTTTCATGACTCAA
 ATGTTAAGAACCTCTACGACAAGGTCCGACTACAGCTTAGGGATAATGCAAAGGAGCTGG
 GTAACGGTTGTTTCGAGTTCTATCACAAATGTGATAATGAATGTATGGAAAGTATAAGAAA
 CGGAACGTACAACCTATCCGCAGTATTCAGAAGAAGCAAGATTAAAAAGAGAGGAAATAAG
 TGGGGTAAAATTGGAATCAATAGGAACCTTACCAATACTGTCAATTTATTCAACAGTGGCG
 AGTTCCCTAGCACTGGCAATCATGATGGCTGGTCTATCTTTATGGATGTGCTCCAATGGA
 TCGTTACAATGCAGAATTTGCATTTAAAGGCCTATTTCTTTAGTTTGAATTTACTGTTATT
 CGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTTTATTTATGT
 AATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTCTGCCCTTCAGCAAGGACACAAAAAG
 ATTTTAATTTTATTAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAGACCGGGAATTCGATATCAAGCTTATCGAC
 CTGCAGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCT
 TGCGATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAAT
 GCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATAC
 GCGATAGAAAACAAATATAGCGCGCAAACTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCT
 ATGTTACTAGATTCTAGAGTCTCAAGCTTCGGCGCGCC

Figura 75

TTAATTAAGAATTGAGCTCCACCGCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCT
GTCACTTTATTGAGAAGATAGTGGAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCG
ATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCC
CCACCCACGAGGAGCATCGTGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGT
GGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCTTCGCA
AGACCTTCTCTATATAAGGAAGTTCATTTCAATTTGGAGAGGTATTAAAACTTAATAGG
TTTTGATAAAAGCGAACGTGGGGAACCCGAACCAAACCTTCTTCTAAACTCTCTCAT
CTCTCTTAAAGCAAACCTTCTCTCTTGTCTTTCTTGCCTGAGCGATCTTCAACGTTGTCAGA
TCGTGCTTCGGCACCAGTACAACGTTTTCTTCACTGAAGCGAAATCAAAGATCTCTTGT
GGACACGTAGTGC GGCGCCATTAAATAACGTGTACTTGTCTATTCTTGTGGTGTGGTC
TTGGGAAAAGAAAGCTTGCTGGAGGCTGCTGTTCAAGCCCATACATTACTTGTACGATT
CTGCTGACTTTCGGCGGGTGAATATCTCTACTTCTGCTTGACGAGGTATTGTTGCCTGT
ACTTCTTCTTCTTCTTCTTCTGCTGATTGGTTCTATAAGAAATCTAGTATTTCTTTGAAACA
GAGTTTTCCCGTGGTTTTCGAACTTGGAGAAAGATTGTTAAGCTTCTGTATATTCTGCCCA
AATTTGTGCGGCCCATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTTCTTGT
GTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCGCTGATCAGATTTGCATTGGTTACCATGCAAAACAATTCA
ACAGAGCAGGTGACACAATCATGGAAAAAGACGTTACTGTTACACATGCCCAAGACATA
CTGGAAAAAGACACACAACGGGAAGCTCTGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTAATTTTA
AGAGATTGTAGTGTAGCTGGATGGCTCCTCGGGAACCCAATGTGTGACGAATTCATCAAT
GTACCGGAATGGTCTTACATAGTGGAGAAGGCCAATCCAACCAATGACCTCTGTTACCCA
GGGAGTTTCAACGACTATGAAGAACTGAAACACCTATTGAGCAGAATAAACCATTTTGAG
AAAATTCAAATCACTCCCAAAAGTTCTTGGTCCGATCATGAAGCCTCATCAGGAGTTGAG
TCAGCATGTCCATACCTGGGAAGTCCCTCTTTTTTAGAAATGTGGTATGGCTTATCAAAA
AGAACAGTACATACCCAACAATAAAGAAAAGCTACAATAATACCAACCAAGAGGATCTTTT
GGTACTGTGGGGAATTCACCATCCTAATGATGCGGCAGAGCAGACAAGGCTATATCAAA
ACCCAACCACCTATATTTCCATTGGGACATCAACACTAAACCAGAGATTGGTACCAAAAAT
AGCTACTAGATCCAAAGTAAACGGGCAAAAGTGAAGGATGGAGTTCTTCTGGACAATTTT
AAAACCTAATGATGCAATCAACTTCGAGAGTAATGGAATTTTCATTGCTCCAGAATATGCA
TACAAAATTGTCAAGAAAGGGGACTCAGCAATTATGAAAAGTGAATTGGAATATGGTAACT
GCAACACCAAGTGTCAAACCTCAATGGGGGCGATAAACTCTAGTATGCCATTCCACAACA
TACACCTCTCACCATCGGGGAATGCCCAATATGTGAAATCAAACAGATTAGTCTTTG
CAACAGGGGCTCAGAAATAGCCCTCAAAGAGAGAGCAGAAGAAAAAGAGAGGACTATTT
GGAGCTATAGCAGGTTTTATAGAGGGAGGATGGCAGGGAATGGTAGATGGTTGGTATGG
GTACCACCATAGCAATGAGCAGGGGAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAATCCACTCAA
AGGCAATAGATGGAGTCACCAATAAGGTCAACTCAATCATTGACAAAATGAACACTCAGT
TTGAGGCCGTTGGAAGGGAATTTAATAACTTAGAAAGGAGAATAGAGAATTTAAACAAGA
AGATGGAAGACGGGTTTCTAGATGTCTGGACTTATAATGCCGAACCTTCTGTTTCTCATGG
AAAATGAGAGAACTCTAGACTTTTCTGACTCAAATGTTAAGAACCTCTACGACAAGGTCC
GACTACAGCTTAGGGATAATGCAAAGGAGCTGGGTAAACGGTTGTTTCGAGTTCTATCACA
AATGTGATAATGAATGTATGGAAAGTATAAGAAACGGAACGTACAACCTATCCGCAGTATTC
AGAAGAAGCAAGATTAAAAAGAGAGGAAATAAGTGGGGTAAATTTGGAATCAATAGGAAC
TTACCAAATACTGTCAATTTATTCAACAGTGCGGAGTTCCTAGCACTGGCAATCATGATG
GCTGGTCTATCTTTATGGATGTGCTCCAATGGATCGTTACAATGCAGAATTTGCATTTAAA
GGCCTATTTTCTTTAGTTTGAATTTACTGTTATTGCGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGC
GGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTTATTTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTT
AGCAGGTCGTCCCTCAGCAAGGACACAAAAAGATTTTAATTTTATTAATAAAAAAAAAAAAA
AAAAGACCGGAATTCGATATCAAGCTTATCGACCTGCAGATCGTTCAAACATTTGGCAA
TAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCGATGATTATCATATAATTTCTGTT
GAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTT
TTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAAATATAGCGCG
CAAACTAGGATAAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTAGATTCTAGAGTCTCAA
GCTTCGGCGCGCC

Figura 76

TTAATTAAGAATTGAGCTCCACCGCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTAT
 CTGTCACCTTTATTGAGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCAT
 TGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGAT
 GGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAACGTTCCAACCACGTCTTCA
 AAGCAAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACT
 ATCCTTCGCAAGACCCCTCCTCTATATAAGGAAGTTCATTTATTTGGAGAGGTATTAA
 AATCTTAATAGGTTTTGATAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGAACCAAACCTTCTTCTA
 AACTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAACCTTCTCTTGTCTTTCTTGGGTGAGCGATC
 TTCAACGTTGTCAGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAACGTTTTCTTCACTGAAGCGA
 AATCAAAGATCTCTTTGTGGACACGTAGTGGGCGCCATTAAATAACGTGTACTTGTCT
 CTATTCTTGTGGTGTGGTCTTGGGAAAGAAAGCTTGTGGAGGCTGCTGTTAGGCC
 CCATACATTACTTGTACGATTCTGCTGACTTTCGGCGGGTGCAATATCTCTACTTCTG
 CTTGACGAGGTATTGTTGCCTGTACTTCTTCTTCTTCTTCTTGTGATTGGTTCTATAA
 GAAATCTAGTATTTTCTTGAACAGAGTTTTCCCGTGGTTTTCGAACTTGAGAGAAAGA
 TTGTTAAGCTTCTGTATATTCTGCCCAAATTTGTGGGGCCCATGAAAGTAAACTACTG
 GTCTGTATGACATTTACAGCTACATATGCAGACACAATATGTATAGGCTACCATGC
 TAACAACCTGACCGACACTGTTGACACAGTACTTGAAGAAGTGTGACAGTGACACAC
 TCTGTCAACCTGCTTGAGAACAGTCACAATGGAAACTATGTCTATTAAGGAATAGC
 CCCACTACAATTGGGTAATTGCAGCGTTGCCGGGTGGATCTTAGGAAACCCAGAATG
 CGAATTACTGATTTCCAAGGAGTCATGGTCTACATTGTAGAAAAACCAAATCCTGAGA
 ATGGAACATGTTACCCAGGGCATTTCGCTGACTATGAGGAACTGAGGGAGCAATTGA
 GTTCAGTATCTTCATTTGAGAGGTTGGAATATTCCCAAAGAAAGCTCATGGCCCAA
 CCACACCGTAACCGGAGTGTGAGCATCATGCTCCCATAAATGGGGAAAGCAGTTTTTAC
 AGAAATTTGCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTGTACCCAAACCTGAGCAAGTCTT
 ATGCAACAACAAAGAAAAAGAGTCTTGTACTATGGGGTGTTCATCACCCGCCAAA
 CATAGGTGACCAAAAGGCCCTCTATCATACAGAAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTT
 CACATTATAGCAGAAAATTCACCCAGAAAATAGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCA
 AGAAGGAAGAATCAATTACTACTGGAATCTGCTTGAACCCGGGGATACAATAATATT
 GAGGCAATGGAAATCTAATAGCGCCAAGATATGCTTTCGCACTGAGTAGAGGCTTTG
 GATCAGGAATCATCAACTCAAATGCACCAATGGATAAATGTGATGCGAAGTGCCAAAC
 ACCTCAGGGAGCTATAAACAGCAGTCTTCTTCCAGAACGTACACCCAGTCACAATA
 GGAGAGTGTCCAAAGTATGTGAGGAGTGCAAAATTAAGGATGGTTACAGGACTAAGGA
 ACATCCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGGAGCCATTGCCGGTTTCATTGAAGG
 GGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGTTATCATCATCAGAATGAGCAAGG
 ATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAGCACACAAAATGCCATTAATGGGATTACAAACA
 AGGTCAATTCTGTAATTGAGAAAATGAACACTCAATTCACAGCAGTGGGCAAAGAGTT
 CAACAAATTTGAAAGAAGGATGGAAACTTGAATAAAAAAGTTGATGATGGGTTTATAG
 ACATTTGGACATATAATGCAGAACTGTTGGTTCTACTGGAAAATGAAAGGACTTTGGAT
 TTCCATGACTCCAATGTGAAGAATCTGTATGAGAAAGTAAAAAGCCAGTTAAAGAATAA
 TGCTAAAGAAATAGGAAATGGGTGTTTTGAGTTCTATCACAAGTGTAAACGATGAATGCA
 TGGAGAGTGTAAAGAATGGAATATGACTATCCAAAATATTCCGAAGAATCAAAGTTA
 AACAGGGAGAAAATGATGGAGTGAAATGGAATCAATGGGAGTCTATCAGATTCTGG
 CGATCTACTCAACAGTCGCCAGTTCTCTGGTTCTTTTGGTCTCCCTGGGGGCAATCAG
 CTTCTGGATGTGTTCCAATGGGTCTTACAGTGTAGAATATGCATCTAAAGGCCTATTT
 TCTTTAGTTTGAATTTACTGTTATTCGGTGTGCAATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCT
 GTGCTCAGAGTGTGTTTATTTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGG
 TCGTCCCTTCAGCAAGGACACAAAAGATTTTAAATTTTATTAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAG
 ACCGGGAATTCGATATCAAGCTTATCGACCTGCAGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAA
 GTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCATGATTATCATATAATTTCTGTTGA
 ATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTT
 TTATGATTAGAGTCCCAGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAAATATAGCGC
 GCAAACTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCTATGTTACTAGATTCTAGAGTCT
 CAAGCTTCGGCGCGCC

Figura 77

TTAATTAAGAATTCGAGCTCCACCGCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCT
 GTCACTTTATTGAGAAGATAGTGGAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGC
 GATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGAC
 CCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAGAAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAA
 GTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCCTATCCTTC
 GCAAGACCCTTCTCTATATAAGGAAGTTCATTTTATTTGGAGAGGTATTAATACTTAAT
 AGGTTTTGATAAAGCGAACGTGGGGAACCCGAACCAAACCTTCTTCTAACTCTCTCT
 CATCTCTCTTAAAGCAAACCTCTCTCTTGTCTTTCTTGCCTGAGCGATCTTCAACGTTGTC
 AGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAACGTTTTCTTCACTGAAGCGAAATCAAAGATCTCT
 TTGTGGACACGTAGTGCGGCCCATTAATAACGTGTACTTGTCTATTCTTGTCTGGTGT
 GGTCTTGGGAAAGAAAGCTTGCTGGAGGCTGCTGTTGAGCCCCATACATTACTTGTTA
 CGATTCTGCTGACTTTCGGCGGGTGCAATATCTCTACTTCTGCTTGACGAGGTATTGTTG
 CCTGTACTTCTTCTCTTCTTCTTCTGCTGATTGGTCTATAAGAAATCTAGTATTTCTTTG
 AAACAGAGTTTTCCCGTGGTTTTGAACTTGAGAAAGATTGTTAAGCTTCTGTATATTCT
 GCCCAAATTTGTCGGGCCCATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCT
 TCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCGCTGACACAATATGTATAGGCTACCATGCTAA
 CAACTCGACCGACACTGTTGACACAGTACTTGAAAAGAATGTGACAGTGACACACTCTG
 TCAACCTGCTTGAGAACAGTCACAATGGAAACTATGTCTATTAAGGAATAGCCCCAC
 TACAATTGGGTAATTGCAGCGTTGCCGGGTGGATCTTAGGAAACCCAGAATGCGAATTA
 CTGATTTCCAAGGAGTCATGGTCCTACATTGTAGAAAAACCAAATCCTGAGAATGGAACA
 TGTTACCCAGGGCATTTCGCTGACTATGAGGAACTGAGGGAGCAATTGAGTTCAGTATC
 TTCATTTGAGAGGTTGAAATATTCCCCAAAGAAAGCTCATGGCCCAACACACCGTAAC
 CGGAGTGTGAGCATCATGCTCCATAATGGGGAAGCAGTTTTTACAGAAATTTGCTATG
 GCTGACGGGGAAGAATGGTTTGTACCCAAACCTGAGCAAGTCCTATGCAAACAACAAAG
 AAAAGAAGTCCTTGTACTATGGGGTGTTCATCACCCGCCAAACATAGGTGACCAAAAG
 GCCCTCTATCATACAGAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACTTATAGCAGAAAT
 TCACCCCAAGAAATAGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAAGAAGGAAGAATCAATTACT
 ACTGGACTCTGCTTGAACCCGGGGATACAATAATATTTGAGGCAAATGGAAATCTAATAG
 CGCCAAGATATGCTTTCGCACTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCAACTCAAT
 GCACCAATGGATAAATGTGATGCCAAGTGCCAAACACCTCAGGGAGCTATAAACAGCAG
 TCTTCTTTCCAGAACGTACACCCAGTCACAATAGGAGAGTGTCCAAAGTATGTCAGGA
 GTGCAAAATTAAGGATGGTTACAGGACTAAGGAACATCCCATCCATTCAATCCAGAGGTT
 TGTGTTGGAGCCATTGCCGGTTTCATTGAAGGGGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGTTG
 GTATGGTTATCATCATCAGAATGAGCAAGGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAAGCAC
 ACAAATGCCATTAAATGGGATTACAAACAAGGTCAATTCTGTAATTGAGAAAATGAACAC
 TCAATTACAGCAGTGGGCAAAGAGTTCAACAAATTGGAAAGAAGGATGGAAAACCTGA
 ATAAAAAGTTGATGATGGGTTTATAGACATTTGGACATATAATGCAGAACTGTTGGTCT
 ACTGGAAAATGAAAGGACTTTGGATTTCCATGACTCCAATGTGAAGAATCTGTATGAGAA
 AGTAAAAAGCCAGTTAAAGAATAATGCTAAAGAAATAGGAAATGGGTGTTTTGAGTTCTA
 TCACAAGTGTAACGATGAATGCATGGAGAGTGTAAGAATGGAACCTATGACTATCCAAA
 ATATTCCGAAGAATCAAGTTAAACAGGGAGAAAATTGATGGAGTGAAATTGGAATCAAT
 GGGAGTCTATCAGATTCTGGCGATCTACTCAACAGTCGCCAGTTCTCTGGTCTTTTGGT
 CTCCCTGGGGGCAATCAGCTTCTGGATGTGTTCCAATGGGTCTTACAGTGTAGAATAT
 GCATCTAAAGGCCTATTTTCTTAGTTTGAATTTACTGTTATTCGGTGTGCATTTCTATGT
 TTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTTTATTTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGA
 GCTCCTGTTTAGCAGGTGCTCCCTTCAGCAAGGACACAAAAAGATTTTAATTTTATTTAAA
 AAAAAAAAAAAAAAGACCGGGAATTCGATATCAAGCTTATCGACCTGCAGATCGTTCAA
 ACATTTGGCAATAAAGTTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCGATGATTATCAT
 ATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTA
 TGAGATGGGTTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAA
 AATATAGCGCGCAAACTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTAGATTC
 TAGAGTCTCAAGCTTCGGCGCGCC

Figura 78

TTAATTAAGAATTCGAGCTCCACCGCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTAT
CTGTCACCTTTATTGAGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATT
GCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATG
GACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAA
AGCAAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTA
TCCTTCGCAAGACCCTTCCTCTATATAAGGAAGTTCATTTCAATTTGGAGAGGTATTAAA
ATCTTAATAGGTTTTGATAAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGAACCAAACCTTCTTCTAA
ACTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAACCTTCTCTCTTGTCTTTCTTGGGTGAGCGATCTT
CAACGTTGTGAGATCGTGTTCGGCACCACTACAACGTTTTCTTCACTGAAGCGAAAT
CAAGATCTCTTTGTGGACACGTAGTGGCGGCCATTAAATAACGTGTACTTGTCTAT
TCTTGTGGGTGTGGTCTTGGGAAAAGAAAGCTTGTGGAGGCTGCTGTTGAGCCCCAT
ACATTACTTGTACGATTCTGCTGACTTTCGGCGGGTGCAATATCTCTACTTCTGCTTG
ACGAGGTATTGTTGCCTGTACTTCTTCTTCTTCTTGTGATTGGTTCTATAAGAAA
TCTAGTATTTTTCTTGAACAGAGTTTTCCCGTGGTTTTCGAACTTGGAGAAAGATTGTT
AAGCTTCTGTATATTCTGCCAAATTTGTGGGGCCCATGAAGACTATCATTGCTTTGAG
CTACATTCTATGTCTGGTTTTCACTCAAAAACCTCCCGGAAATGACAACAGCACGGCAA
CGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGGAACGATAGTAAAACAATCACGAA
TGACCAAATTGAAGTACTAATGCTACTGAGCTGGTTCAGAGTTCCTCAACAGGTGAAA
TATGCGACAGTCTCATCAGATCCTGATGGAGAAAACCTGCACACTAATAGATGCTCTA
TTGGGAGACCCTCAGTGTGATGGCTTCCAAAATAAGAAATGGGACCTTTTTGTTGAAC
GCAGCAAAGCCTACAGCAACTGTTACCCTTATGATGTGCCGGATTATGCCTCCCTTAG
GTCACTAGTTGCCTCATCCGGCACACTGGAGTTTAAACAATGAAAGTTTCAATTGGACTG
GAGTCACTCAAAACGGAACAAGCTCTGCTTGCATAAGGAGATCTAATAACAGTTTCTTT
AGTAGATTGAATTGGTTGACCCACTTAAATTCAAATACCCAGCATTGAACGTGACTAT
GCCAAACAATGAAAAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTTACCACCCGGGTACG
GACAATGACCAAATCTTCTGTATGCTCAAGCATCAGGAAGAATCACAGTCTCTACCAA
AAGAAGCCAACAAACTGTAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGAGTAAGGAATATC
CCCAGCAGAATAAGCATCTATTGGACAATAGTAAAACCGGGAGACATACTTTTGATTAA
CAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGGGGTTACTTCAAAATACGAAGTGGGAAAAGC
TCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAATTCTGAATGCATCACTCCAAA
CGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTCCAAAATGTAACAGGATCACATACGGGGCC
TGTCCAGATATGTTAAGCAAAACACTCTGAAATTTGGCAACAGGGATGCGAAATGTAC
CAGAGAAACAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATCGCGGGTTTCATAGAAAATGGTTG
GGAGGGAATGGTGGATGGTTGGTATGGTTTCAAGGCATCAAAATCTGAGGGAATAGGA
CAAGCAGCAGATCTCAAAAGCACTCAAGCAGCAATCGATCAAATCAATGGGAAGCTGA
ATAGGTTGATCGGGAAAACCAACGAGAAATTCATCAGATTGAAAAAGAGTTCTCAGAA
GTCGAAGGGAGAATCCAGGACCTTGAGAAATATGTTGAGGACACCAAATAGATCTCT
GGTCATACAACGCGGAGCTTCTTGTGCCCCTGGAGAACCAACATACAATTGATCTAAC
TGACTCAGAAATGAACAACTGTTTGAAAAACAAAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTG
AGGATATGGGCAATGGTTGTTTCAAAATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATAGGA
TCAATCAGAAATGGAACCTTATGACCACGATGTATACAGAGATGAAGCATTAAACAACCG
GTTCCAGATCAAGGGCGTTGAGCTGAAGTCAGGATACAAAGATTGGATACTATGGATT
TCCTTTGCCATATCATGTTTTTGCCTTGTGTTGCTTTGTTGGGGTTTCATCATGTGGGC
CTGCCAAAAGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTTGAAGGCCTATTTCTTTAGTT
TGAATTTACTGTTATTCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAG
AGTGTGTTTTATTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTCGTCCCT
TCAGCAAGGACACAAAAAGATTTAATTTTATTAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAGACCGGGAA
TTTCATATCAAGCTTATCGACCTGCAGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAA
GATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGGCATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTA
AGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTTATGATTA
GAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAAATATAGCGCGCAAACTAG
GATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTAGATTCTAGAGTCTCAAGCTTCGG
CGCGCC

Figura 79

TTAATTAAGAATTGAGCTCCACCGCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATC
TGTCACTTTATTGAGAAGATAGTGGAAGGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTG
CGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGA
CCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAGAAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGC
AAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCT
TCGCAAGACCCTTCTCTATATAAGGAAGTTCATTTCAATTTGGAGAGGTATTAATCTT
AATAGGTTTTGATAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGAACCAAACCTTCTTCTAACTCT
CTCTCATCTCTCTAAAGCAAACCTCTCTCTTGTCTTCTTGCCTGAGCGATCTTCAACG
TTGTGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAACGTTTTCTTCACTGAAGCGAAATCAAAG
ATCTCTTGTGGACACGTAGTGCGGCGCCATTAAATAACGTGTACTTGTCTATTCTTG
TCGGTGTGGTCTTGGGAAAGAAAGCTTGCTGGAGGCTGCTGTTACGCCCCATACATT
ACTTGTTACGATTCTGCTGACTTTCGGCGGGTGCAATATCTCTACTTCTGCTTGACGAG
GTATTGTTGCCTGTACTTCTTCTTCTTCTTCTGCTGATTGGTTCTATAAGAAATCTAGT
ATTTCTTTGAAACAGAGTTTTCCCGTGGTTTTGAACTTGGAGAAAGATTGTTAAGCTT
CTGTATATTCTGCCAAATTTGTCGGGCCCCATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTT
ATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCTTCTCAGATCTTCGCTCAAAAACTTCCCGGAAA
TGACAACAGCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGGAACGATA
GTGAAAACAATCACGAATGACCAAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTTCAGAG
TTCTCAACAGGTGAAATATGCGACAGTCTCATCAGATCCTTGATGGAGAAAACTGCA
CACTAATAGATGCTCTATTGGGAGACCCTCAGTGTGATGGCTTCCAAAATAAGAAATGG
GACCTTTTTGTGAACGCAGCAAAGCCTACAGCAACTGTTACCCTTATGATGTGCCGGA
TTATGCCTCCCTTAGGTCACTAGTTGCCTCATCCGGCACACTGGAGTTTAAACAATGAAA
GTTTCAATTGGACTGGAGTCACTCAAAACGGAACAAGCTCTGCTTGCATAAGGAGATCT
AATAACAGTTTTCTTTAGTAGATTGAATTGGTTGACCCACTTAAAATCAAATACCCAGCA
TTGAACGTGACTATGCCAAACAATGAAAAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTCA
CCACCCGGGTACGGACAATGACCAAATCTCCTGTATGCTCAAGCATCAGGAAGAATC
ACAGTCTCTACCAAAGAAGCCAACAACTGTAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAG
AGTAAGGAATATCCCAGCAGAATAAGCATCTATTGGACAATAGTAAACCGGGAGACA
TACTTTTGATTAAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGGGGTTACTTCAAAATACGAA
GTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAATCTGAATGC
ATCACTCCAAACGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTCCAAATGTAACAGGATCAC
ATACGGGGCCTGTCCAGATATGTTAAGCAAAACACTCTGAAATTGGCAACAGGGATG
CGAAATGTACCAGAGAAACAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATCGCGGGTTTCATAG
AAAATGGTTGGGAGGGAATGGTGGATGGTTGGTATGGTTTCAGGCATCAAAATCTGA
GGGAATAGGACAAGCAGCAGATCTCAAAGCACTCAAGCAGCAATCGATCAAAATCAAT
GGGAAGCTGAATAGTTGATCGGGAAAACCAACGAGAAATCCATCAGATTGAAAAAG
AGTTCTCAGAAGTCGAAGGGGAGAATCCAGGACCTTGAGAAATATGTTGAGGACACCAA
AATAGATCTCTGGTCATACAACGCGGAGCTTCTTGTGCCCTGGAGAACCAACATACAA
TTGATCTAACTGACTCAGAAATGAACAACTGTTTGAAAAACAAAGAAGCAACTGAGG
GAAATGCTGAGGATATGGGCAATGGTTGTTTCAAAATATACCACAAATGTGACAATGC
CTGCATAGGATCAATCAGAAATGGAACCTTATGACCACGATGTATACAGAGATGAAGCAT
TAAACAACCGGTTCCAGATCAAGGGCGTTGAGCTGAAGTCAGGATACAAAGATTGGAT
ACTATGGATTTCTTTGCCATATCATGTTTTTGTCTTGTGTTGCTTGTGGGGTTTCA
CATGTGGGCCTGCCAAAAGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTTGAAGGCCTATT
TCTTTAGTTTGAATTTACTGTTATTCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCT
GTGCTCAGAGTGTGTTATTTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGG
TCGTCCCTTCAGCAAGGACACAAAAAGATTTTAATTTTATTAACCAACCAACCAACCA
ACCGGAATTCGATATCAAGCTTATCGACCTGCAGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAA
GTTTCTAAGATTGAATCCTGTTGCCGCTTTCGATGATTATCATATAATTTCTGTTGA
ATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTT
TTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAATATAGCGCG
CAAACCTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCTATGTTACTAGATTCTAGAGTCTCA
AGCTTCGGCGCGCC

Figura 80

TTAATTAAGAATTCGAGCTCCACCGCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTAT
 CTGTCACCTTTATTGAGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCAT
 TGCATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGAT
 GGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCA
 AAGCAAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACT
 ATCCTTCGCAAGACCCCTTCTCTATATAAGGAAGTTCATTTCAATTTGGAGAGGTATTAA
 AATCTTAATAGGTTTTGATAAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGAACCAAACCTTCTTCT
 AAACCTCTCTCATCTCTCTTAAGCAAACCTTCTCTTGTCTTTCTTGCGTGAGCGAT
 CTTCAACGTTGTCAGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAACGTTTTCTTCACTGAAGCG
 AAATCAAAGATCTCTTGTGGACACGTAGTGCGGCGCCATTAAATAACGTGTACTTGT
 CCTATTCTTGTGCGGTGTGGTCTTGGGAAAAGAAAGCTTGTCTGGAGGCTGCTGTTTCA
 CCCATACATTACTTGTACGATTCTGCTGACTTTCCGGCGGGTGCAATATCTCTACTTC
 TGCTTGACGAGGTATTGTTGCCTGTACTTCTTCTTCTTCTTCTTCTGCTGATTGGTTCTA
 TAAGAAATCTAGTATTTTCTTGAACAGAGTTTTCCCGTGGTTTTCGAACTTGGAGAA
 AGATTGTTAAGCTTCTGTATATTCTGCCCAAATTTGTCTGGGCCCATGAAGGCAATAATT
 GTACTACTCATGGTAGTAACATCCAATGCAGATCGAATCTGCACTGGAATAACATCTT
 CAACTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCCACTCAAGGGGAGGTCAATGTGACTGGTG
 TGATACCACTAACAAACACCAACAAATCTTATTTGCAAATCTCAAAGGAACAAGG
 ACCAGAGGGAACCTATGCCAGACTGTCTCAACTGCACAGATCTGGATGTGGCTTTG
 GGCAGACCAATGTGTGTGGGGACCACACCTTCGGCGAAGGCTTCAATACTCCACGAA
 GTCAAACCTGTTACATCCGGGTGCTTCTCTATAATGCACGACAGAACAAAAATCAGGC
 AACTACCCAATCTTCTCAGAGGATATGAAAATATCAGGCTATCAACCCAAAACGTCATC
 GATGCGGAAAAGGCACCAGGAGGACCCTACAGACTTGGAACCTCAGGATCTTGCCCT
 AACGCTACCAGTAAGAGCGGATTTTTCGCAACAATGGCTTGGGCTGTCCCAAAGGAC
 AACAAACAAAAATGCAACGAACCCACTAACAGTAGAAGTACCATACATTTGTACAGAAG
 GGAAGACCAAATCACTGTTTGGGGGTTCCATTGAGATAACAAAACCCAAATGAAGAA
 CCTCTATGGAGACTCAAATCCTCAAAAGTTACCTCATCTGCTAATGGAGTAACCACA
 CACTATGTTTCTCAGATTGGCAGCTTCCAGATCAAACAGAAGACGGAGGACTACCAC
 AAAGCGGCAGGATTGTTGTTGATTACATGATGCAAAAACCTGGGAAAACAGGAACAAT
 TGTCTACCAAAGAGGTGTTTTGTTGCCTCAAAAGGTGTGGTGCAGGAGTGGCAGGAG
 CAAAGTAATAAAAGGGTCTTGCCTTAAATGGTGAAGCAGATTGCCTTCATGAAAAAT
 ACGGTGGATTAAACAAAAGCAAGCCTTACTACACAGGAGAACATGCAAAAGCCATAGG
 AATTGCCCAATATGGGTGAAAACACCTTTGAAGCTCGCCAATGGAACCAAATATAGA
 CCTCTGCAAACTATTAAAGGAAAGGGGTTTCTTCGGAGCTATTGCTGGTTTCTTAG
 AAGGAGGATGGGAAGGAATGATTGCAGGCTGGCACGGATACACATCTCACGGAGCA
 CATGGAGTGGCAGTGGCGGCGGACCTTAAGAGTACGCAAGAAGCTATAAACAAGATA
 ACAAAAAATCTCAATTCCTTGAGTGAGCTAGAAGTAAAGAATCTTCAAAGACTAAGTGG
 TGCCATGGATGAACTCCACAACGAAATACTCGAGCTGGATGAGAAAGTGGATGATCTC
 AGAGCTGACACTATAAGCTCGCAAATAGAAGTTCAGTCTTGCTTTCCAACGAAGGAA
 TAATAAACAGTGAAGATGAGCATCTATTGGCACTTGAGAGAAAACCTAAAGAAAATGCT
 GGGTCCCTCTGCTGTAGAGATAGGAAATGGATGCTTCGAAACCAAACACAAGTGCAA
 CCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAGGAGAAATTTCTCTC
 CCCACTTTGATTCACTGAACATTACTGCTGCATCTTTAAATGATGATGGATTGGATAA
 CCATACTATACTGCTCTATTACTCAACTGCTGCTTCTAGTTTGGCTGTAACATTGATGC
 TAGCTATTTTTATTGTTTATATGGTCTCCAGAGACAACGTTTCATGCTCCATCTGTCTAT
 AAAGGCCTATTTCTTTAGTTTGAATTAAGTGTATTTCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGT
 GAGCGGTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTTTATTTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCT
 CCTGTTTAGCAGGTGCTCCCTTCAGCAAGGACACAAAAAGATTTTAATTTTATTAATAA
 AAAAAAAGAGACCGGGAATTCGATATCAAGCTTATCGACCTGCAGATCGTTCAA
 ACATTTGGCAATAAAGTTTTCTTAAGATTGAATCTGTTGCCGGTCTTGCGATGATTATC
 ATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTA
 TTTATGAGATGGGTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGA
 AAACAAAATATAGCGCGCAAACTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTA
 CTAGATTCTAGAGTCTCAAGCTTCGGCGCGCC

Figura 81

TTAATTAAGAATTGAGCTCCACCGCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCTGTC
 ACTTTATTGAGAAGATAGTGGAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAG
 GAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCAACCCAC
 GAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTG
 ATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCCTATCCTTCGCAAGACCCTTCCTCTA
 TATAAGGAAGTTCATTTTATTTGGAGAGGTATTAAATCTTAATAGGTTTTGATAAAGCGAAC
 GTGGGGAACCCGAACCAACCTTCTTCTAACTCTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAACCTTCTC
 TCTTGTCTTTCTTGCGTGAGCGATCTTCAACGTTGTGAGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAAC
 GTTTTCTTTCACTGAAGCGAAATCAAAGATCTCTTTGTGGACACGTAGTGCGGCGCCATTAAA
 TAACGTGTACTTGTCTATTCTTGTGCGGTGTGGTCTTGGGAAAAGAAAGCTTGCTGGAGGCTG
 CTGTTACGCCCCATACATTACTTGTACGATTCTGCTGACTTTGCGCGGGTGCAATATCTCTA
 CTTCTGCTTGACGAGGTATTGTTGCCTGTACTTCTTTCTTCTTCTTCTTCTGCTGATTGGTTCTAT
 AAGAAATCTAGTATTTTCTTTGAAACAGAGTTTTCCCGTGGTTTTCGAACTTGGAGAAAGATTG
 TTAAGCTTCTGTATATTCTGCCCAAATTTGTGCGGGCCCATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCG
 GCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCGCTGATCGAATCTGCACTGG
 AATAACATCTTCAAACCTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCCACTCAAGGGGAGGTCAATGTGAC
 TGGTGTGATACCACTAACAAACACCAACAAAATCTTATTTTGCAAATCTCAAAGGAACAAGG
 ACCAGAGGGAACTATGCCAGACTGTCTCAACTGCACAGATCTGGATGTGGCTTTGGGCAG
 ACCAATGTGTGTGGGGACCAACCTTCGGCGAAGGCTTCAATACTCCACGAAGTCAAACCTG
 TTACATCCGGGTGCTTTCTATAATGCACGACAGAACAAAAATCAGGCAACTACCCAATCTTC
 TCAGAGGATATGAAAATATCAGGCTATCAACCCAAAACGTCATCGATGCGGAAAAGGCACCA
 GGAGGACCCTACAGACTTGAACCTCAGGATCTTGCCCTAACGCTACCAGTAAGAGCGGATT
 TTTGCAACAATGGCTTGGGCTGTCCCAAAGGACAACAACAAAAATGCAACGAACCCACTAAC
 AGTAGAAGTACCATACATTTGTACAGAAGGGGAAGACCAAATCACTGTTGGGGGTTCCATTCT
 AGATAACAAAACCCAAATGAAGAACCTCTATGGAGACTCAAATCCTCAAAAGTTACCTCATCT
 GCTAATGGAGTAACACACACTATGTTTCTCAGATTGGCAGCTTCCAGATCAAACAGAAGAC
 GGAGGACTACCACAAAGCGGCAGGATTGTTGTTGATTACATGATGCAAAAACCTGGGAAAAC
 AGGAACAATTGTCTACCAAGAGGTGTTTTGTTGCCTCAAAGGTGTGGTGCGCGAGTGGCA
 GGAGCAAAGTAATAAAAGGGTCCTTGCCTTTAATTGGTGAAGCAGATTGCCTTCATGAAAAAT
 ACGGTGGATTAAACAAAAGCAAGCCTTACTACACAGGAGAACATGCAAAAGCCATAGGAAATT
 GCCCAATATGGGTGAAAACACCTTTGAAGCTCGCCAATGGAACCAAATATAGACCTCCTGCAA
 AACTATTAAAGGAAAGGGGTTTCTTCGGAGCTATTGCTGGTTTCTAGAAAGGAGGATGGGAA
 GGAATGATTGCAGGCTGGCACGGATACACATCTCACGGAGCACATGGAGTGGCAGTGGCGG
 CGGACCTTAAGAGTACGCAAGAAGCTATAACAAGATAACAAAAAATCTCAATTCTTTGAGTGA
 GCTAGAAGTAAGAATCTTCAAAGACTAAGTGGTGCCATGGATGAACTCCACAACGAAATACT
 CGAGCTGGATGAGAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGACACTATAAGCTCGCAAATAGAACTTG
 CAGTCTTGCTTTCCAACGAAGGAATAATAACAGTGAAGATGAGCATCTATTGGCACTTGAGA
 GAAAACATAAGAAAATGCTGGGTCCCTCTGCTGTAGAGATAGGAAATGGATGCTTCGAAACCA
 AACACAAGTGCAACCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAGGAGAA
 TTTTCTCTCCCCACTTTTGATTCACTGAACATTACTGCTGCATCTTTAAATGATGATGGATTGG
 ATAACCATACTATACTGCTCTATTACTCAACTGCTGCTTCTAGTTTGGCTGTAACATTGATGCT
 AGCTATTTTATTGTTTATATGGTCTCCAGAGACAACGTTTCATGCTCCATCTGTCTATAAAGG
 CCTATTTTCTTTAGTTTGAATTTACTGTTATTGCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTT
 CTGTGCTCAGAGTGTGTTTATTTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTC
 GTCCCTTCAGCAAGGACACAAAAAGATTTTAATTTTATTAACAAAAAAGACCGGG
 AATTCGATATCAAGCTTATCGACCTGCAGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGA
 TTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCGATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATG
 TAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTTATGATTAGAGTCCCGCA
 ATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAAATATAGCGCGCAAACCTAGGATAAATTATCGCGC
 GCGGTGTCATCTATGTTACTAGATTCTAGAGTCTCAAGCTTCGGCGCGCC

Figura 82

ATGTTTGGGCGCGGACCAACAAGGAAGAGTGATAACACCAAATATTACGATATTCT
 TGGTGTTCAAAAAGTGCTAGTGAAGATGAAATCAAGAAAGCCTATAGAAAGGCAG
 CGATGAAGAACCATCCAGATAAGGGTGGGGATCCTGAGAAGTTCAAGGAGTTGGG
 CCAAGCATATGAAGTGTTGAGCGATCCTGAAAAGAAAGAACTGTATGATCAATATG
 GTGAAGATGCCCTTAAAGAAGGAATGGGGGGAGGCCGAGGAAGCTCATTTCATAA
 TCCGTTTGATATTTTCGAATCATTTTTTGGTGCAGGCTTTGGTGGTGGTGGTCCTT
 CACGCGCAAGAAGACAGAAGCAAGGAGAAGATGTGGTGCATTCTATAAAGGTTTC
 CTTGGAGGATGTGTATAACGGCACTACAAAGAAGCTATCACTTTCTAGGAATGCAC
 TGTGCTCAAAATGTAAAGGGAAAGGTTCAAAAAGTGGAAGTCTGGAAGGTGTTTT
 GGATGCCAGGGCACAGGTATGAAGATTACCAGAAGGCCAAATTGGACTGGGCATGA
 TTCAACAAATGCAACACGTCTGTCCTGACTGCAAAGGAACAGGCGAGGTCATTAG
 TGAGAGAGATAGATGCCCTCAATGCAAGGGAAACAAGATTACTCAAGAAAAGAAG
 GTGCTGGAGGTGCATGTGGAAAAGGGGATGCAGCAGGGTCACAAGATTGTATTCG
 AAGGACAAGCTGATGAAGCTCCTGATACAATCACAGGAGACATAGTTTTTGTCTTG
 CAAGTAAAGGGACATCCGAAGTTTCGGAGGGAGCGTGATGACCTCCACATTGAAC
 ACAATTTGAGCTTAAGTGAAGGCTCTCTGTGGCTTCCAGTTTAATGTCACACATCTT
 GATGGAAGGCAACTATTGGTCAAATCGAACCCCGGCGAAGTCATCAAGCCAGGTC
 AACATAAAGCTATAAATGATGAGGGAATGCCACAACATGGTAGGCCGTTTCATGAAG
 GGACGCCTATACATCAAGTTTAGTGTTGATTTCCCGGATTCCGGGTTTTCTTTCCCC
 AAGCCAAAGCCTGGAATTAGAAAAGATATTACCTCAAAAGACAAGCAAGAAGTGT
 CCCAAAAGGAGGTAGATGATTGTGAGGAGACCACCCTGCATGATGTCAATATTGC
 AGAGGAGATGAGTCGAAAGAAGCAACAATACCGTGAGGCATATGATGACGATGAT
 GATGAAGATGATGAGCACTCGCAGCCTCGGGTGCAATGCGCTCAACAGTAG

Figura 83

AAGCTTGCATGCCTGCAGGTCGACTCTAGAGGATCCCCGGGCTGGTCTGTACATTCATCTTGCCGCCCTTTGCA
TTCACTTGGCCACAAAGAGTAGAGAGAAGGAAGAGAAGAGCCAGACTTCAAGAAGCGACCTTGCAAGTGCAC
TCGAGGGTCAGAACTGTATATCATATCTATGTGAGAGAAAGGGGAACATTTGAGATGGAGTCCATTTACTTGA
GGTATACTTATTATTTTATCAATAAATTTGTATACCTTATTTAGATCAATAAATTTGTCATTAAGCTATAATCCA
AAATAAATTACGATCAAATATGCAAATGTTAGCCAGTACTTGTGTTAACTTGATGGCATCTCTGGTTTCTTTGG
CAATCACATGCCTAAGAAATAAATAGTATCATATGATTGTGTTTGGTCAGACTTCAGAGTCAGATGACTCTGTTT
GGATAAACAGCTTAATTAAGCGCTTATAGAATATCATATGATTGTGTTTGGTCAGACTTCAGAGCATCTCTGGT
TTCTCTGGCAATCATATGCCTAAGAAATAAATAGTATCATATGATTGTGTTTGGTCAGACTTCAGAGTCAGATGA
CCCTGTTTGGGTAACAGCTTAATTAAGTGCTTATAGAATAAGCGCTTATCATATAAGTGCTTTTGTACAGTTATT
TCTATGAAAGTAGAAGAAATAGTCATATTGTTTTAATATAAGCTATCCTGGAGAGCTTGTGGAAATAACCAGAAA
AGAAGTTATGGACACGTCATGAGCTGTTACATAAGATCTCCCTAACAGTCTCAAAAGTGTTTATGCCAGTAGAT
AAATTCAAATAAGTCAATCTAAACAGACCCTAAATCCATTATGGTACCTATCATTATAGCTTATCCATCTTTATTA
AGAATGTCATGAGATAACATAATGATAACACATTATTTTGACACAAATGGGCAGATCTAGCAATTTAACTCTGGA
GTCTTCAAGACTGCTGTTCTTACGAAGTTCAGTCCCTGAATCATGTTCTGTATGGAAGCCTGAAAGACCTC
AAATCTAAAAGGTGGCGATAAATTGAAGGTTTACAAAATATACCCTGCGGGCTTGACACAGAGGCAAGCTCTT
TATACCTTCCAGTTCAACGGGGATGTTGATTTCAGAAGTCACTTGAGAGCAATCCTTGTCGAAGTTTGAAGT
AAATTTTGTGTAGCATATGTTGAGCTACCTACAATTACATGATCACCTAGCATTAGCTCTTCACTTAACGAGA
GAATGAAGTTTATAGGAATGAGTATGACCATGGAGTTCGCGCATGGCTTTGTAATGCCTACCCTACTTTGGCCAACT
CATCGGGGATTTACATTCAGAAAATATACATGACTTCAACCATACTTAAACCCCTTTTGTAAAGATAACTGAATGT
TCATATTTAATGTTGGGTTGTAGTGTGTTTACTTGATTATATCCAGACAGTTACAAGTTGGACAACAAGATTGTG
GGTCTGTACTGTTATTTATTTATTTTTTTTGTAGCAGAAACACCTTATCTTTGTTTCGTTTGAATGTGAATGAAA
ATAAAAGAAAGAAATAACATCATCGGCCGCTTGCTAATTTGCGGCAGTTAGGATCCTCTCGGTCACC
GGAAAGTTTCAGTAGAAGAAACAAACACCGTGACTAAAATGATACTATTATTTATTTATTTGTGTTTTCTTTTT
CTACCGGAACTTTTAGAACGGATCCCAACTCGTTCCGGGGCCGCTACAACCTGAAACAAAGAAGATATTTCT
CTCTCTTCAGAAATGTAAGTTTTCTTTACAGATACCCATTACCATTTGATTGAGATGTGGTGACTAGAGATAA
AGCATACTAATTTGACTCTTGAAACCCATAAAGTTTATGTTATCCGTGTTCTGGACCAATCCACTTGGGGGCAT
AACCTGTGTCATGTGTGGTTTGGTTTCCATTCTGATTATCGGCGACTTGTAATTTAAATCTAGGAGGGGCA
GACATTGAACAATCCGAATATTTTAATACTTATGCAAGATTTTTTTTATTAATGAGATGATGTGTTTGTGACTGA
GATTGAGTCATACATTTCACTAAGAAATGGTTCCAAGTACCAACTATCATGACCCAGTTGCAAACATGACGTTT
GGGAGTGGTCATTTGATAGTTCAATTTCACTTGGCTTCTTATTCCTTTATAATTCTAATTTCTTGTGTAAAC
TATTTATGATTTATTTCTTTAAATTTACATGTCTTTATTTTGCCTCACTAACTCAATTTGCATATAACAATG
ATAAGTGATATTTTGACTCACAAAATTTACATCAAAATTTGACATCGTTTATTTATGTTCAATGGATTAAACAAAT
ATAACAACTTTGCAACTAATTAACCACTGAATATAATTAACATAACTGTGAAAGTAGTTAACTCATTTTT
ATATTTATAGATCAAAATAAGAGAAATAACGGTATTTAATCCCTCCAAAAAAGAGGATATTTACTAAAA
AATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACAACAATC
CTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGGATCTGTGACATCTACATTATCTAAATCACACATCTTCCACAC
ATCTGAGCCACACAAAACCAATCCACATCTTTACCCGATTTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTCACTT
TGATTCCTTCAACACATACAAAGAGAGAGACTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGTTTGGGCG
CGGACCAACAAGGAAGAGTGATAACACCAATATTACGATATTCTTGGTGTTTCAAAAAGTGCTAGTGAAGATG
AAATCAAGAAAGCCTATAGAAAGGCAGCGATGAAGAACCATCCAGATAAGGGTGGGGATCCTGAGAAGTTCAA
GGAGTTGGGCCAAGCATATGAAGTGTGAGCGATCCTGAAAAGAAAGAACTGTATGATCAATATGGTGAAGAT
QCCCTTAAACAAGGAATGGGGGGAGGCGAGGAAGCTCATTTATAATCCGTTTGATATTTTGAATCATTTTT
TGGTGAGGCTTTGGTGGTGGTGGTCTTACGCGCAAGAAGACAGAAGCAAGGAGAGATGTGGTGCATTG
TATAAGGTTTCTTGGAGGATGTGTATAACGGCACTACAAAGAAGCTATCACTTTCTAGGAATGCACTGTGCT
CAAAATGTAAGGGGAAAGGTTCAAAAAGTGGAAGTCTGGAAGGTGTTTGGATGCCAGGGCACAGGTATGAA
GATTACCAAGAAAGGCAATTTGGACTGGGCATGATTCAACAAATGCAACACGTCGTCTGCTGACTGCAAAAGGAACA
GGCGAGGTCAATAGTGAGAGAGATAGATGCCCTCAATGCAAGGGGAAACAAGATTACTCAAGAAAGAAAGGTGC
TGGAGGTGCATGTGAAAAGGGGATGCAGCAGGGTCACAAGATTGTATTCGAGGACAAGCTGATGAAGCTC
CTGATACAATCACAGGAGACATAGTTTTTGTCTTGAAGTAAAGGACATCCGAAGTTTCGGAGGGAGCGTGAT
GACCTCCACATTAACACAAATTTGAGCTTAAGTGAAGCTCTGTGGCTTCCAGTTAATGTACACATCTTGA
GGAAGGCAACTATTGGTCAAATCGAACCCCGGCGAAGTCATCAAGCCAGGTCAACATAAAGCTATAAATGATG
AGGGAATGCCACAACATGGTAGGCCGTTGATGAAGGGACGCTATACATCAAGTTTAGTGTGATTTCCCGGA
TTCCGGTTTTCTTCCCAAGCCAAAGCCTGGAATTAGAAAAGATATTACCTCAAAAGACAAGCAAGAAGTTGT
CCCAAAAGGAGGTAGATGATTGTGAGGAGACACCTGTCATGATGTCAATATTGCAGAGGAGATGAGTCGAAA
GAAGCAACAATACCTGAGGCATATGATGACGATGATGAAGATGATGAGCACTCGCAGCCTCGGGTGCAA
TGCGCTCAACAGTAGGAGCTCAGCTCGAATTTCCCGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATT
GAATCCTGTTGCCGGTCTTGCATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATG
TAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAA
AACAAATATAGCGCGCAACTAGGATAAATTATCGCGCGGGTGTCTATGTTACTAGATCGAATTC

Figura 84

AAGCTTGCATGCCTGCAGGTGCACTCTAGAGGATCCCCGGGCTGGTCTGTACATTCATCTTGCCGCTTTGCATTAC
TTGGCCACAAAGAGTAGAGAGAAGGAAGAGAGCCAGACTTCAAGAAGCGACCTTGCAAGTGCCTCGAGGGT
CAGAACTGTATATCATATCTATGTGAGAGAAAGGGGAACATTTGAGATGGAGTCCATTTACTTGAGGTATACTTATTA
TTTTGATCAATAAATTTGTATACCTCTTATTTAGATCAATAAATTTGTCATTAAGCTATAATCCAAATAAATTACGATCAA
ATATGCAAAATGTTAGCCAGTACTTGTGTTAACTTGATGGCATCTCTTGGTTCTTTGGCAATCACATGCCTAAGAAAT
AAATAGTATCATATGATTGTGTTTGGTCAGACTTCAGAGTCAGATGACTCTGTTTGGATAAACAGCTTAATTAGCGCT
TATAGAATATCATATGATTGTGTTTGGTCAGACTTCAGAGTCAGATGACTCTGTTTGGATAAACAGCTTAATTAGCGCT
AAATAGTATCATATGATTGTGTTTGGTCAGACTTCAGAGTCAGATGACTCTGTTTGGATAAACAGCTTAATTAGCGCT
ATAGAATAAGCGCTTATCATATAAGTGCCTTTGTACAGTTATTTCTATGAAAGTAGAAGAAATAGTCATATTGTTTAAATA
TAAGCTATCCTGGAGAGCTTGTGGAAATAACCAGAAAAGAACTTATGGACACGTCATGAGCTGTTTACATAAGATCTC
CCTAACAGTCTCAAAAGTGTATGCCAGTAGATAAATCAAATAAGTCAATCTAAACAGACCCTAAATCCATTATGGTA
CCTATCATTTTAGCTTATCCATCTTTATTAAGAATGTGATGAGATAACATAATGATAACACATTATTTTGACACAAATGG
GCAGATCTAGCAATTTAACTCTGGAGTCTTCAAGACTGCTGTTCTTACGAAGTTCACGTCCCTGAATCATGTTCTGT
ATGGAGCCTGAAAGACCTCAAAATCTAAAGGTGGCGATAAATGAAGGTTTACAAATATACCCTGCGGGCTTGAC
ACAGAGGCAAGCTCTTTATACCTCCAGTTCACGGGGATGTTGATTTGAGAGTCACTTGGAGAGCAATCCTTGTGC
CAAGTTTGAAGTAAATTTGTGTAGCATATGTTGAGTACCTACAATTTACATGATCAGCTAGCATTAGCTCTTTCACTT
AACTGAGAGAAATGAAGTTTTAGGAATGAGTATGACCATGGAGTGGCATGGCTTTGTAATGCCTACCCCTACTTTGGCC
AACTCATCGGGGATTTACATTGAGAAAATATACATGACTTCAACCATACTTAAACCCCTTTTGTAAAGATAACTGAATGT
TCATTTAATGTTGGGTGTAGTGTTTTACTTGATTATATCCAGACAGTTACAAGTTGGACAACAAGATTTGGGGTCT
GTACTGTTATTTATTTATTTTTTTTAGCAGAAACACCTTATCTTTGTTTGGTTTGAATGTAGAATGAAAATAAAGAA
AGAAAATATAACATCATCGGCCCGCTTGTCTAATTTGCGGCAGTTAGGATCCTCTCCGTCACCGGAAAGTTTCAGT
AGAAGAAACAAACACCGTGACTAAATGATACTATTATTTATTTATTTGTTTCTTTTCTACCGGAACTTTTAG
AACGGATCCCAACTCGTTCCGGGGCCGCTACAACGAAACAAAGAGATATTTCTCTCTCTTCAGAAATGTAAAGTTT
TCCTTTACAGATACCCATTACCATTTGATTGAGATGTGGTGACTAGAGATAAAGCATACTAATTTGACTCTTGGAAAC
CCATAAAGTTTATGTTATCCGTGTTCTGGACCAATCCACTTGGGGGCATAACCTGTGTCTATGTGTGGTTTGGTTTCCA
TTCTGATTTATCGCGCAGCTTGAATTTAAATCTAGGAGGGGCAGACATTGAACAATCCCAATATTTAATAACTTATG
CAAGATTTTATTTAATGATGATGATGTTTGTGACTGAGATTGAGTCATACATTTCACTAAGAAATGGTTCCAAGTA
CCAACTATCATGACCCAGTTGCAAACATGACGTTCCGGAGTGGTCACTTTGATAGTTCAATTTATCTTGGCTCTTA
TTCTTTTATAATTTCTAATCTTCTTGTGTAACTATTTTATGATTTATTTTCTTTTAAATTTACATGTCATTTATTTGCC
TCCTAATCTCAATTTGCATATAACAATGATAAGTGATATTTTGAATCACAAAATTTACATCAAAATTTGACATCGTTTAT
TATGTTCAATGGATGATTAAACAAATATAACAACTTTGCAACTAATTAAACCACTGAATATAATTAACTATAACTGTG
AAAGTAGTTAACTCATTTTATATTTATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAATAAAC
GGTATATTTACTAAAAATCTAAGCCAGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAA
TCACAACAATCCTGATGAGATAACCCACTTAAAGCCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAATCACACATTT
TCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACA
CTTTGATTCCTTCAACACATACAAAGAGAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGTCGGGTAAA
GGAGAGGAGGACGCTATCGGTATCGATCTTGGTACCCTTACTCTTGGCTCGGAGTATGGCAACAGGACCGTGTGA
GATCAATTTGAATGATTCAAGGAACAGAACCCAGCCATCTTACGTTGCTTTCACCGACTCCGAGAGGTTGATCGGTGA
CGCAGCTAAGAATCAGGTCGCCATGAACCCCGTTTAAACCCGTTTTCGACGCTAAGAGGTTGATCGGTGCTGTTCTC
TGACAGCTCTGTTGAGAGTGACATGAAATTTGTGGCCATTCAGATTCAAGCCGGACCTGCCGATAAGCCAAATGATCTA
CGTCGAATACAAGGTTGAAGAGAAAGAGTTCGACGCTGAGGAGATTTCTTCATGGTCTTATTAAGATCGGTGAGAT
TGCTGAGGCTTACCTTGGTGTGACAAATCAAGAACCCGCTTACCGTTCCAGCTTACTTCAACGACTCTCAGCGTCA
GGCTACAAAGGATGCTGGTGTGATCGCTGGTTGAACGTTATGCAATCATCAACGAGCCTACAGCCGCCGCTATTG
CCTACGGTCTTGACAAAAGGCTACCAAGCTTCCAGAGAGAAATGTTCTTATCTTCGATCTTGGTGGTGGCAGTTTG
ATGTCTCTCTTCTTACCATTGAAGGGGTATCTTGAAGTGAAGGCAACTGCTGGTGACACCCATCTTGGTGGGGAAG
ATTTTGACAACAGAATGGTTAACCACTTTGTCCAAGAGTTCAAGAGGAAGAGTAAGAAGGATATCACCGGTAACCCAA
GAGCTCTTAGGAGGTTGAGAACTTCTGTGAGAGAGCGAAGAGGACTCTTCTTCCACTGCTCAGACCACCATCGAG
ATTGACTCTCTATACGAGGGTATCGACTTCTACTCCACCATCACCCGTGCTAGATTGAGGAGCTCAACATGGATCTC
TTCAGGAAGTGTATGGAGCCAGTTGAGAAGTGTCTTCTGTATGCTAAGATGGACAAGAGCACTGTTTATGATGTTGTC
CTTGTGGTGGTCTACCCGATCCCTAAGGTTGAGCAATGCTCCAGGACTCTTCAACGGCAAGAGCTTTGCAAG
TCTATTAACCCCTGATGAGGCTGTGCTACCGTGTGCTGTCCAGGGAGCTATTTCTCAGCGGTGAAGGAAACGAGAA
GGTTCAAGATCTTCTATTGCTCGATGTCCTCTCTCCTTGGTTTGAAGTCCCGGTGGTGTGATGACCACTTTG
ATCCCAAGGAACACAACCATCCCAACCAAGAAAGGAACAAGTCTTCTCCACTACTCAGACAACCAACCCGGTGTGTTG
ATCCAGGTGTACGAAGGAGAGAGAGCCAGAACCAAGGACAACAACCTTCTTGGTAAATTTGAGCTCTCCGGAATTC
TCCAGCTCCTCGTGGTGTCCCCAGATCAGAGTCTGCTTGTGACATTGATGCCAATGGTATCCTCAATGTCTCTGCTGA
GGACAAGACCACCGACAGAGAAGAACAGATCACCATCACCAATGACAAGGGTCTCTCTCCAAGGATGAGATTGAGA
AGATGGTTCAAGAGGCTGAGAAGTACAAGTCCGAAGCAGAGGACACAAGAAAGGTTGAAGCCAAGAACGCTCT
CGAGAACTACGCTTACAACATGAGGAACACCATCCAAGACGAGAAGATTGGTGAGAAGCTCCCGGCTCGACACAAGA
AGAAGATCGAGGATTTCTATTGAGCAGGCGATTCAATGGCTCGAGGGTAACCAAGTTGGCTGAGGCTGATGAGTTGAA
GACAAGATGAAGGAATTGAGAGCATCTGCAACCCATGTTGCCAAGATGTACCAAGGAGCTGGTGGTGAAGCCGG
TGGTCCAGGTGCCCTGTTGATGGACGATGATGCTCCCCCTGCTTCAAGCGGTGCTGGACCTAAGATCGAGGAGGTC
GACTAAGAGCTCAGCTCGAATTTCCCCGATGTTCAACATTTGCAATAAAGTTTCTAAGATTGAATCCTGTTGCCG
GTCTTGCATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGAATGCATGAGGTTATTTA
TGAGATGGGTTTTATGATTAGAGTCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAATATAGCGCGCAACCTA
GGATAAATATCGCGCGGGTGTATCTATGTTACTAGATCGAATTC

Figura 85A

AAGCTTGCATGCCTGCAGGTCGACTCTAGAGGATCCCCGGGCTGGTCTGTACATTCTCTTGCCTGCTTGCATTCA
 CTTGGCCACAAAGAGTAGAGAGAAGGAAGAGAGGCCAGACTTCAAGAAGCGACCTTCAAGTGCCTCGAGGG
 TCAGAACTGTATATCATATCTATGTGAGAGAAAGGGAACTTTGAGATGGAGTCCATTACTTGAGGTATACCTTATT
 ATTTTGATCAATAAATTTGTACTTCTTATTTAGATCAATAAATTTGTCTTAAGCTATAATCCAAAATAAATTACGATC
 AAATATGCAAATGTTAGCCAGTACTTGTGTTAACTTGTGGCATCTCTTGGTTCTTTGGCAATCACATGCCTAAGAA
 ATAAATAGTATCATATGATTGTGTTTGGTCAGACTTCAGAGTCAGATGACTCTGTTGGATAAACAGCTTAATTAAGCG
 CTTATAGAATATCATATGATTGTGTTTGGTCAGACTTCAGAGTCAGATGACTCTGTTGGATAAACAGCTTAATTAAGCG
 ATAAATAGTATCATATGATTGTGTTTGGTCAGACTTCAGAGTCAGATGACTCTGTTGGATAAACAGCTTAATTAAGCG
 CTTATAGAATAAGCGCTTATCATATAAGTGCTTTTGTACAGTTATTTCTATGAAAGTGAAGAAATAGTCATATTGTTT
 AATATAAGCTATCCTGGAGAGCTTGTGGAATAACCAAGAAAGAACTTATGGACACGTCATGAGCTGTTTACATAAGA
 TCTCCCTAACAGTCTCAAAAGTGTTTATGCCAGTAGATAAATCAAAATAGTCAATCTAAACAGACCTTAAATCCATTA
 TCGTACCTATCAGTTTGAAGTAAATTTTGTGAGCATATGTTGAGCTACCTACAATTTACATGATCACATTAGTTTGAAC
 AAATGGGCAGATCTAGCAATTTAACTCTGGAGTCTTCAAGACTGCTGTTCTTACGAAGTTCACGTCCTGAATCATG
 TTCCTGTATGGAAGCCTGAAAGACCTCAAAATCTAAAAGGTGGCGATAAATGAAGGTTTACAAAATATACCCTGCGG
 GCTTGACACAGAGGCAAGCTCTTATACCTTCCAGTTCACCGGGGATGTTGATTTGAGAAGTCACTTGGAGAGCAAT
 CCTTGCCCAAGTTTGAAGTAAATTTTGTGAGCATATGTTGAGCTACCTACAATTTACATGATCACATTAGTTTGAAC
 CTTTCACTTAACTGAGAGAATGAAGTTTATAGGAATGAGTATGACCATGGAGTGGCATGGCTTTGTAATGCCTACCT
 ACTTTGGCCAACTCATCGGGGATTACATTAGAAAATATACATGACTTCAACCATACTTAAACCCCTTTTGTAAAGAT
 AACTGAATGTTTCAATTTAATGTTGGGTTGATGTTTACTTGATTATATCCAGACAGTTACAAGTTGGACAACAAG
 ATTGGGCTCTGATCTGTTATTTATTTATTTTATTTAGCAGAAACACCTTATCTTTGTTTCTGTTGAATGTAGATGA
 AAATAAAGAAAGAAATATAACATCATCGGCCGCGCTTGTCTAATTTCCGGCAGTTAGGATCCTCTCCGGTCACCG
 GAAAGTTTCAGTAGAAGAAACAAACACCGTGACTAAAATGATACTATTATTTATTTATTTGTTTCTTTTCTAC
 CGGAACCTTTTGAACCGGATCCCAACTCGTTCCGGGGCCGCTACAACCTGAAACAAAGAAAGATATTTCTCTCTCTC
 AGAAATGTAAGTTTCTTTACAGATACCCATTCCACCTTATTGATTCAGATGTGGTACTAGAGATAAAGCATACTAAT
 TGACTCTTGGAAACCCATAAAGTTTATGTTATCCGTTCTGGAACCAATCCACTTGGGGGCATAACCTGTGTCTATGT
 GTGGTTTGGTTTCCATTCTGATTTATGCGGCGACTTGAATTTAAATCTAGGAGGGGCAGACATTGAACAATCCAA
 TATTTAATAACTTATGCAAGATTTTATTAATGAGATGATGTTTGTGACTGAGATTGAGTCATACATTTCACTA
 AGAAATGGTTTCCAAGTACCAACTATCATGACCCAGTTCAAACATGACGTTCCGGAGTGGTCACTTTGATAGTTCAA
 TTTCTATCTGGCTCTTATCTTTATAATTCTAATCTCTTCTGTGTAACATTTTCTGATTTATTTCTTAAATTT
 ACATGTCAATTTATTTGCCTCACTAACTCAATTTGCATATAACAATGATAAGTGATTTTGACTCACAAAATTTACAT
 CAAATTTGACATCGTTTATTTATGTTTATGTTGATTAACAAATATAACAACTTTGCAACTAATTAACCACTCACTGA
 ATATAAATACTATAACTGTGAAAGTAGTTAACTCATTTTATATTTTATAGATCAATAAGAGAAATAACGGTATATTA
 TGAGAGAAATGTCGGGTAAAGGAGAAGGACCACTATCGGTATCGATCTTGGTACCATTACTCTTGGCTGGAGT
 ATGGCAACACGACCGTGTGAGATCATTGCTAATGATCAAGGAACAGAACCCACGCCATCTTACGTTGCTTTCACCG
 ACTCCGAGAGGTTGATCGGTGACGCGAGCTAAGAATCAGGTCCGATGAACCCCGTTTACACCGTTTTCGACGCTAAG
 AGGTTGATCGGTGCTGCTTCTGACAGCTCTGTTGAGAGTGACATGAAATTTGGGCCATTCAAGATTCAAGCCGG
 ACCTGACATAAGCCAAATGATCTACGTGCAATACAGGCTGAAGAGAAAGAGTTGCGAGCTGAGGAGATTCTTCCA
 TGGTTCTTATTAAGATGCGTGAGATTGCTGAGGCTTACCTGGTGTGACAAATCAAGAACGCGCTTGTACCGTCCAG
 CTTACTTCAACGACTCTCAGCGTCAGGCTACAAGGATGCTGGTGTATCGCTGGTTGAACGTTATGCGAATCATCA
 ACGAGCCTACAGCCGCGGCTATTGCGTACGGTCTTGACAAAAAGGCTACCAGCGTTGGAGAGAAGAAATGTTCTTATC
 TCTGATCTTGGTGGTGGCACTTTGATGTCTCTCTTCTTACCAITGAAGAGGGTATCTTTGAGGTGAAGGCAACTGCT
 GGTGACACCCATCTTGGTGGGGAAGATTTGACAACAGAATGGTTAACCACITTTGTTCAAGAGTTCAAGAGGAAGAG
 TAAGAAGGATATCACCGGTAACCAAGAGCTCTTAGGAGGTGAGAAGTCTCTGTGAGAGAGCGAAGAGGACTCTT
 CTTCCACTGCTCAGACCACCATCGAGATTGACTCTCTATACGAGGGTATCGACTTCTACTCCACCATCACCGGTGCTA
 GATTGAGGAGCTCAACATGGATCTCTCAGGAAGTGTATGGAGCCAGTTGAGAAGTGTCTTCTGTGATGCTAAGATG
 GACAAGAGCACTGTTTATGATGTTTGTCTTGTGTTGTTGTTTACCGTATCCCTAAGGTTCAAGCAATTTGCTCCAGGAC
 TTCTTCAACGGCAAGAGCTTTGCAAGTCTATTAACCTGATGAGGCTGTTGCTACGGTGTCTGTCTCAGGGAGC
 TATTCTCAGCGGTGAAGGAAACGAGAAGGTTCAAGATCTTCTATTGCTCGATGTCACCTCTCTCTCTTGGTTTGGAA
 AACTGCCGGTGGTGTATGACCACTTTGATCCCAAGGAACACAACCATCCCAACCAAGGAAGCAAGTCTTCTCCA
 CTTACTCAGACAACCAACCCGGTGTGTTGATCCAGGTGTACGAAGGAGAGAGAGCCAGAACCAGGCAACCAACCT
 TCTTGGTAAATTTGAGCTCTCGGAATTCCTCCAGCTCCTCGTGGTGTCCCGCAGATCACAGTCTGCTTTGACATTGA
 TGCCAATGGTATCTCAATGTCTCTGCTGAGGACAAGACCACCGGACAGAAGAACAAGATCACCATCACCAATGACA
 AGGTCGTCTCTCAAGGATGAGATTGAGAAGATGGTTCAAGAGGCTGAGAAGTACAAGTCCGAAGACGAGGAGCA
 CAAGAGAGAGGTTGAAGGCAAGACGCTCTCGAGAACTACGCTTACAACATGAGGAACACCATCCAAGACGAGAAG
 ATTGGTGAGAAGCTCCCGGCTGCAGACAAGAAGAAGATCGAGGATTCTATTGAGCAGGCGATTCAATGGCTCGAGG
 GTAACCAAGTTGGCTGAGGCTGATGAGTTGGAAGACAAGATGAAGGAATGGAGAGCATCTGCAACCAATCATTTGCC
 AAGATGTACCAAGGAGCTGGTGGTGAAGCCGGTGGTCCAGGTGCCCTCTGGTATGGACGATGATGCTCCCCCTGCTT
 CAGCGGCTGCTGGACCTAAGATCGAGGAGGTCGACTCAAGAGCTCAGCTCGAATTTCCCGATCGTTTACCAATTTG
 GCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTTCGATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAG
 CATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTA

Figura 86

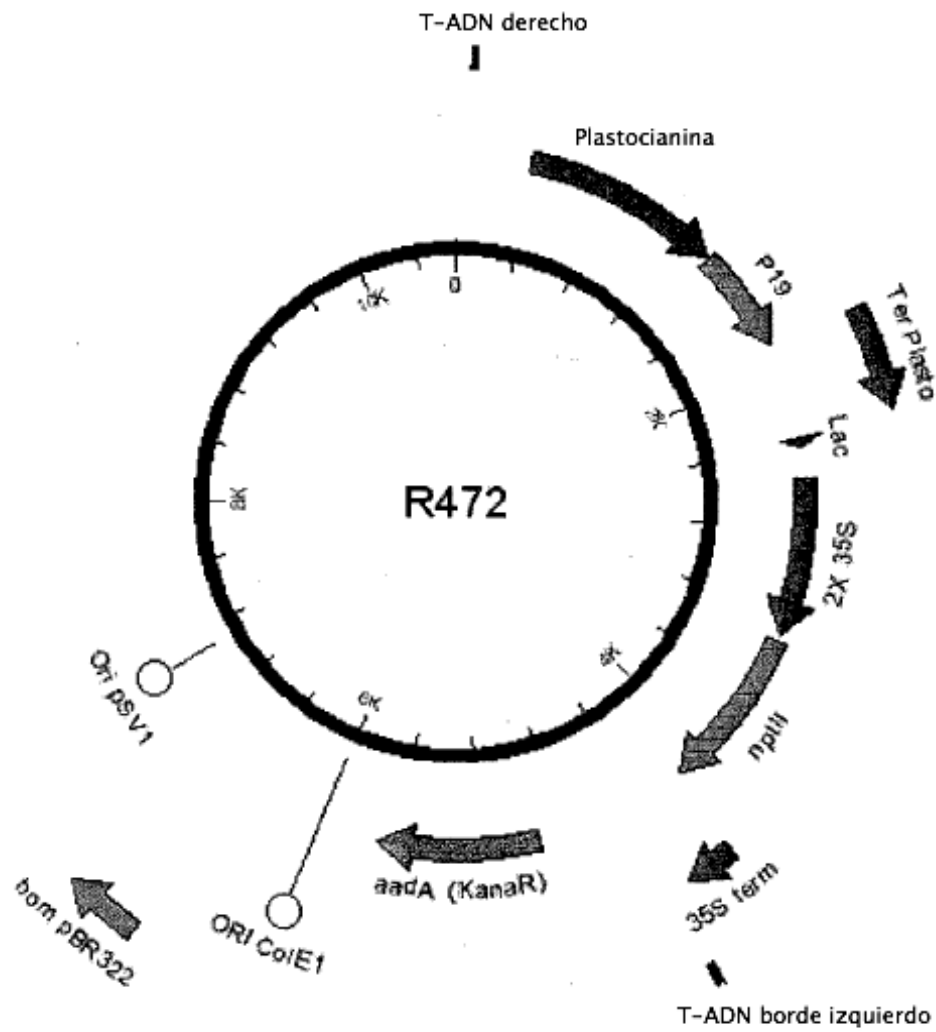
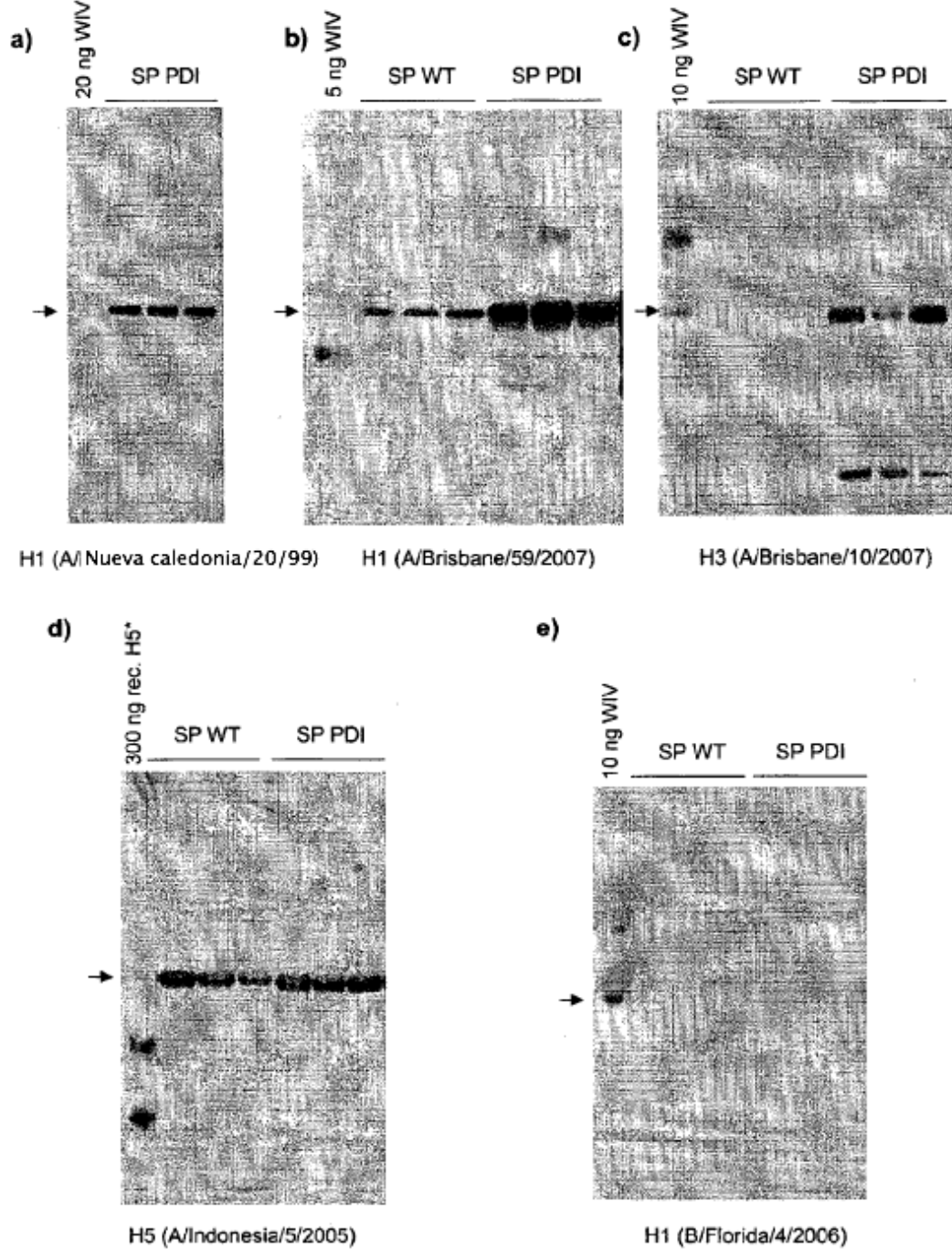


Fig. 87



* H5 recombinante (A/Vietnam/1203/2004) (de Protein Science Corporation)

Fig. 88

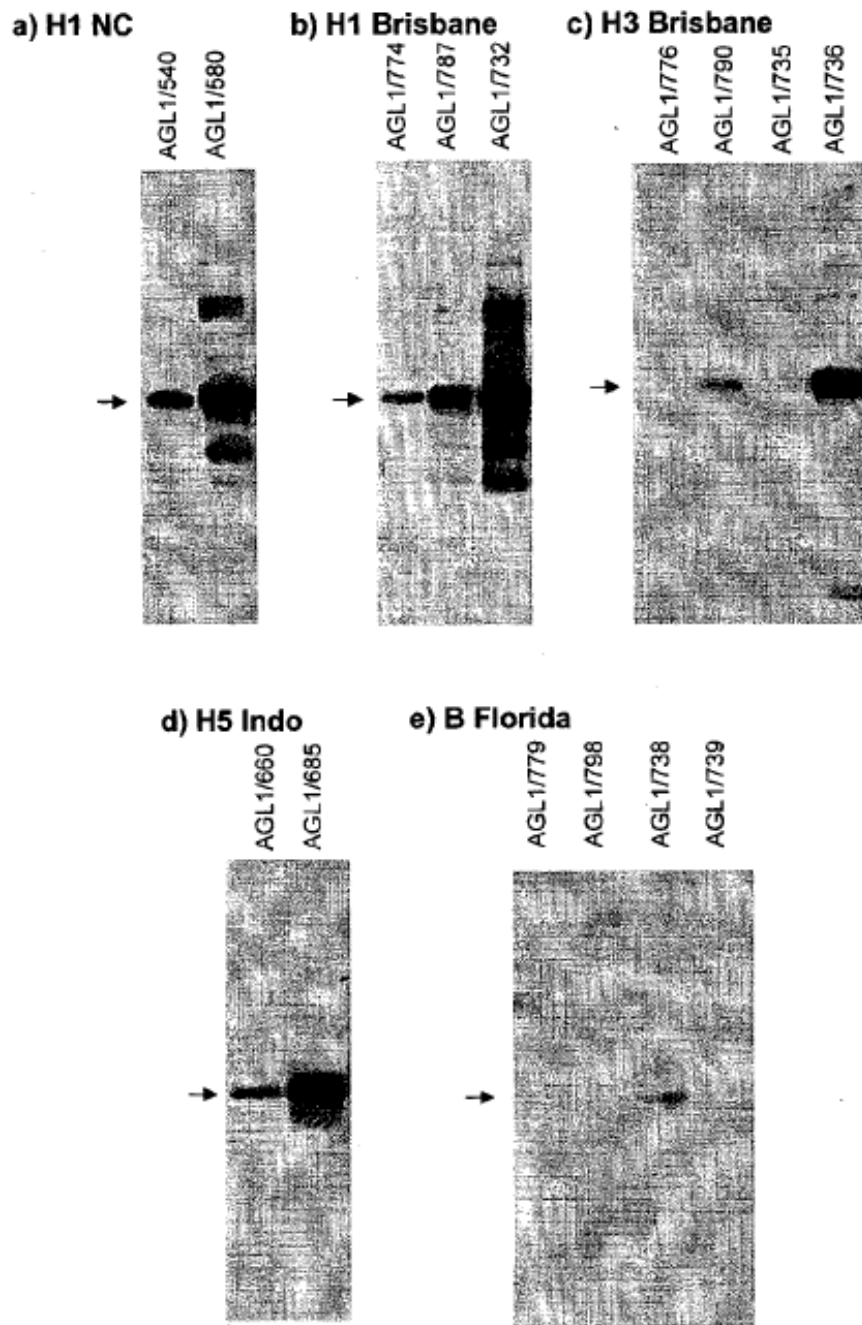


Fig. 89

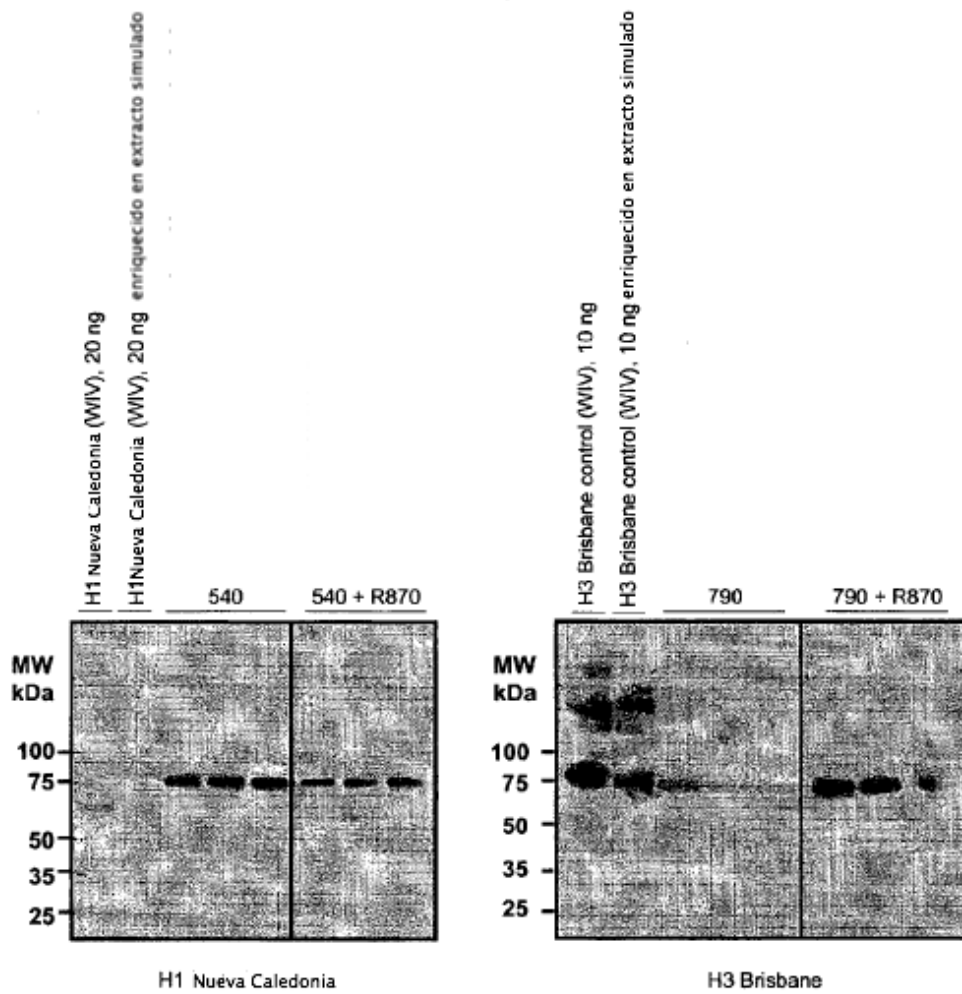


Fig. 90

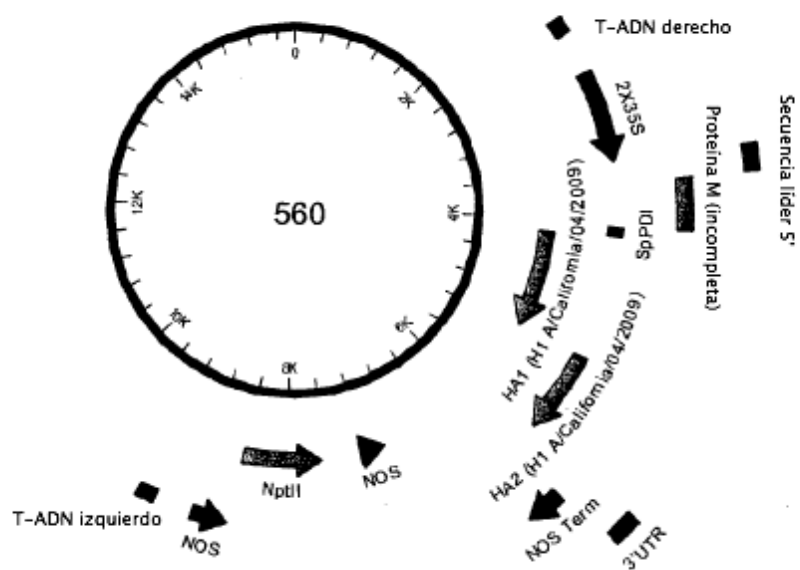


Fig. 91

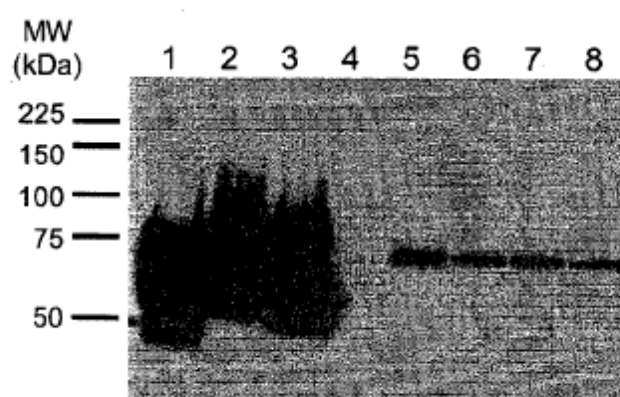


Fig. 92 A

GTCAACATGGTGGAGCAGACACACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCAATT
 GAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAG
 ATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGC
 CGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAACGTTCCAACCACGTCTTCA
 AAGCAAGTGGATTGATGTGATACATGGTGGAGCAGACACACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCA
 GAAGACCAAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATC
 TGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATC
 GTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAACG
 TTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATC
 CTTGCGAAGACCTTCTCTATATAAGGAAGTTCATTTTCATTGGAGAGGTATTAATAGGTTTGTATAAAA
 GCGAACGTGGGGACCAACCAACCAACCTTCTTCTAACTCTCTCATCTCTTAAAGCAAACTTCTCTTGTCTT
 TCTTGGTGGAGCATCTTCAAGCTTGTGATCGTGTCTCGGACCAAGTACACGTTTTCTTCACTGAAGCGAAATC
 AAGATCTCTTTGTGGACAGTGTGCGGCGCCATTAATAACGTGTACTTGTCTATTCTTGTGGTGTGGTCTTGG
 GAAAAAGAGCTTGTCTGGAGGCTGTGTTGAGCCCCATACATTACTTGTACGATTCTGCTGACTTTCGGCGGGTGC
 AATATCTCTACTTCTGCTTACGAGGTATTGTTGCTGTACTTCTTCTTCTTCTTCTGCTGATTGGTTCTATAAGAAA
 TATAGTATTTTCTTGAACAGAGTTTTCCCGTGGTTTTCTGAACCTGGAGAAAGATTGTTAAGCTTCTGTATATTCTGC
 CCAATTTGTGCGGCCCCATGGCGAAAAACGTTGCGATTTCGGCTTATTGTTTTCTTCTTCTGTTGGTTCTCTCA
 GATCTTCGCTGACACATTATGTATAGGTTATCATGCGAACAATTCAACAGACACTGTAGACACAGTACTAGAAAAAG
 AATGTAACAGTAACACACTCTGTTAACCTTCTAGAAGACAAGCAATAACGGGAACTATGCAACTAAGAGGGGTA
 GCCCATTTGCATTTGGGTAAATGTAACATTGCTGGCTGGATCCTGGGAAATCCAGAGTGTGAATCACTCTCCACAG
 CAAGCTCATGGTCTACATTGTGGAAACACCTAGTTCAGACAATGGAACGTGTTACCCAGGAGATTTCATCGATTA
 TGAGGAGCTAAGAGAGCAATTAAGCTCAGTGTCTCATCTTTGAAAGGTTTGAGATATTCCTCAAGACAAGTTTCATGG
 CCCAATCATGACTCGAACAAAGGTGTAACGGCAGCATGTCCTCATGCTGGAGCAAAAAGCTTCTACAAAAATTTAA
 TATGGCTAGTAAAAAAGGAAATTCATACCCAAAGCTCAGCAAAATCCTACATTAATGATAAAGGGGAAAGAAAGTCT
 CGTGTCTATGGGGCATTACCATCCATCTACTAGTGTGACCAACAAAGTCTCTATCAGAATGCAGATACATATGTTT
 TTGTGGGGTCATCAAGATACAGCAAGAAGTTCAAGCCGGAAATAGCAATAAGACCCAAAGTGAGGGATCAAGAA
 GGGAGAATGAATATTACTGGACACTAGTAGAGCCGGGAGACAAAATAACATTGGAAGCAACTGGAATCTAGTG
 GTACCCGAGATGTCATTGCAATGGAAAGAAATGGAACGGCTGCTTTGAAATTTACCACAAATGCGATAACACAGTGCAT
 GCAATACAACCTGTCAAACACCCAAAGGGTGTATAAACACCAGCTCCCATTTTCAGAATATACATCCGATCACAAT
 TGGAAAAATGTCCAAAATATGTAAGCAACAAATGAGACTGGCCACAGGATTGAGGAATATCCCGTCTATTCAA
 TCTAGAGGACTATTTGGGGCCATTGCCGGTTTCATTGAAGGGGGGTGGACAGGGATGGTAGATGGATGGTACGGT
 TATCACCATTGCAATGCAATGGAAAGAAATGGAACGGCTGCTTTGAAATTTACCACAAATGCGATAACACAGTGCAT
 ACTAACAAAGTAAATCTGTTATTGAAAAGATGAATACACAGTTCACAGCAGTAGGTAAGAGATTCAACCACCTGG
 AAAAAAGAAATAGAGAATTTAAATAAAAAAGTTGATGATGGTTTCTGGACATTTGGACTTACAATGCCGAATGTT
 GGTCTATTGGAATGAAAGAACTTTGGACTACCAGATTCAATGTGAAGAACTTATGAAAAGGTAAGAAGC
 GACCTAAAAAACAATGCCAAGGAAATGGAACGGCTGCTTTGAAATTTACCACAAATGCGATAACACAGTGCAT
 GAAAGTGTCAAAAATGGGACTTATGACTACCCAAAATACTCAGAGGAAGCAAAATTAACAGAGAAGAAATAGAT
 GGGGTAAAGCTGGAATCAACAAGGATTTACCAGATTTTGGCGATCTATTCAACTGTGCGCCAGTTTCATTGGTACTGG
 TAGTCTCCCTGGGGGCAATCAGTTTCTGGATGTGCTCTAATGGGTCTCTACAGTGTAGAATATGATTTAAAGGCCT
 ATTTCTTTTGAATTTACTGTTATTCGGTGTGCAATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTT
 TATTTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTCTCCCTTCAGCAAGGACACAAAAAGATTTTAATT
 TTATTAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAGACCGGAATTCGATATCAAGCTTATCGACCTGCAGATCGTTCAACATTTGGCAA
 TAAAGTTTCTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGGCATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGT
 AATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACG
 CGATAGAAAAACAAATATAGCGCGCAAACTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTAGAT

Fig. 92 B

MAKNVAIFGLLFSLLVLVPSQIFADTLICIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTHSVNLEDKHNGKLCCKLRGVAPL
 HLGKCNIAWILGNPECESLSTASSWSYIVETPSSDNGTCYPGDFIDYEELREQLSSVSSFERFEIFPKTSSWP
 NHDSNKGVTAAACPHAGAKSFYKNLIWLVKKGNSYPKLSKSYINDKGKEVLVLWGIHPSTSDAQQSLEYQNA
 TYVFGSSRYSKFKPEIAIRPKVRDQEGRMNYYWTLVEPGDKITFEATGNLVVPRYAFAMERNAGSGIIISDT
 PVHDCNTTCQTPKGAINTSLPFQNIHPITIGKCPKYVKSTKLRLATGLRNIPSIQSRGLFGAIAAGFIEGGWTGMV
 DGWYGYHHQNEQSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSVIEKMNTQFTAVGKEFNHLEKRIENLNKKVDDGFLDI
 WTYNALLVLENERLTDYHDSNVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYS
 EEAKLNREEIDGVKLESTRIYQILAIYSTVASSLLVLSLGAISFWMCSNGSLQCRIC

Fig. 93

Secuencia promotora 2x35S (SEQ ID NO: 129)

```

GTCAACATGGTGGAGCACGACACACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTC
TCAGAAGACCAAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAAACCT
CCTCGGATTCCATTGCCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAAAGGA
AGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATG
CCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGA
AAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATAACATGG
TGGAGCACGACACACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACC
AAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTC
CATTGCCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTC
CTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCG
ACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGA
CGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAA
GGGATGACGCACAATCCCCTATCCTTCGCAAGACCCTTCCTCTATATAAGGAAGT
TCATTTCAATTTGGAGAGG
    
```

Fig. 94

Casete de expresión intermedia número 972 desde PacI (promotor secuencia arriba) hasta AscI (inmediatamente secuencia bajo del terminador NOS). La secuencia del promotor 2X35S está subrayada. ATG mutado está entre una caja. El sitio de restricción Apal (inmediatamente secuencia debajo de ATG para la secuencia que codifica la proteína que va a ser expresada, en este caso HAO de H5 de A/Indonesia), está sombreado. (SEQ ID NO: 134)

TTAATTAAGTCGACAAGCTTGCATGCCTGCAGGTCAACATGGTGGAGCAGCACACACTTGTCTACTCCA
 AAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGG
 AAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGC
 TCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCC
 AAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAA
 GTGGATTGATGTGATAACATGGTGGAGCAGCACACACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCT
 CAGAAGACCAAAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAACCTCCTCGGATTCCATT
 GCCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTG
 CGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCA
 CGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATATCT
 CCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACATCCTTCGCAAGACCTTCCTCTATATAAGGAAGTTC
 ATTTCACTTGGAGAGGTATTAATCTTAATAGGTTTTGATAAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGAACCAA
 ACCTTCTTCTAAACTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAACCTCTCTTGTCTTTCTTGCCTGAGCGATCT
 TCAACGTTGTCAGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAACGTTTTCTTCACTGAAGCGAAATCAAAGATCTC
 TTTGTGGACACGTAGTGCGGCGCCATTAAATAACGTGTACTTGTCTTCTTGTCTGGTGTGGTCTTGGG
 AAAAGAAAGCTTGTGGAGGCTGCTGTTACGCCCATACATTACTTGTACGATTCTGCTGACTTTCGGC
 GGGTGCAATATCTCTACTTCTGCTTGACGAGGTATTGTTGCCTGTACTTCTTCTTCTTCTTCTGCTGAT
 TGGTCTATAAGAAATCTAGTATTTCTTGAACAGAGTTTTCCCGTGGTTTTCGAACTTGGAGAAAGAT
 TGTTAAGCTTCTGTATATTCTGCCAAATTTGTGGGGCCCATGGAGAAATAGTGCTTCTTCTTGAATA
 GTCAGTCTTGTTAAAAGTGATCAGATTTGCATTGGTTACCATGCAAAACAATTCAACAGAGCAGGTTGACA
 CAATCATGGAAGAAGCGTTACTGTTACACATGCCAAGACATACTGGAAAAGACACACAACGGGAAGC
 TCTGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTAATTTAAGAGATTGATGTAGCTGGATGGCTCCTCGGGA
 ACCCAATGTGTGACGAATTCATCAATGTACCGGAATGGTCTTACATAGTGGAGAAGGCCAATCCAACCA
 ATGACCTCTGTTACCCAGGGAGTTTCAACGACTATGAAGAACTGAAACACCTATTGAGCAGAATAAACCA
 TTTTGAGAAAATTCAAATCATCCCCAAAAGTTCTTGGTCCGATCATGAAGCCTCATCAGGAGTTAGCTCA
 GCATGTCCATACCTGGGAAGTCCCTCCTTTTTAGAAATGTGGTATGGCTTATCAAAAAGAACAGTACAT
 ACCCAACAATAAAGAAAAGCTACAATAATACCAACCAAGAGGATCTTTGGTACTGTGGGGAATTCACCA
 TCCTAATGATGCGGCAGAGCAGACAAGGCTATATCAAAACCCAACCACCTATATTTCCATTGGGACATCA
 AACTAAACAGAGATTGGTACCAAAATAGCTACTAGATCCAAAGTAAACGGGCAAAGTGGAAAGGATG
 GAGTCTTCTGGACAATTTTAAACCTAATGATGCAATCAACTTCGAGAGTAATGGAAATTTCAATTGCTCC
 AGAATATGCATACAAAATTGTCAAGAAAGGGGACTCAGCAATTATGAAAAGTGAATTGGAATATGGTAAC
 TGCAACACCAAGTGTCAAACCTCAATGGGGGCGATAAACTCTAGTATGCCATTCCACAACATACACCCTC
 TCACCATCGGGGAATGCCCAATATGTGAAATCAACAGATTAGTCCTTGCAACAGGGCTCAGAAATA
 GCCCTCAAAGAGAGAGCAGAAGAAAAAGAGAGGACTATTTGGAGCTATAGCAGGTTTTATAGAGGGAG
 GATGGCAGGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGGTACCACCATAGCAATGAGCAGGGGAGTGGGTACGCT
 GCAGACAAAGAAATCCACTCAAAGGCAATAGATGGAGTACCAATAAGGTCAACTCAATCATTGACAAAA
 TGAACACTCAGTTTGAGGCCGTTGGAAGGGAATTTAATAACTTAGAAAAGGAGAATAGAGAATTTAAACAA
 GAAGATGGAAGACGGGTTTCTAGATGTCTGGACTTATAATGCCGAACCTTCTGGTCTCATGAAAAATGAG
 AGAACTCTAGACTTTTCTGACTCAAATGTTAAGAACCCTCTACGACAAGGTCCGACTACAGCTTAGGGATA
 ATGCAAGGAGCTGGGTAACGGTTGTTTCTGAGTTCTATCACAATGTGATAATGAATGTATGGAAGTAT
 AAGAAACGGAACGTACAACCTATCCGCAGTATTGAGAAGCAAGATTAAAAAGAGAGGAAATAAGTGG
 GGTAAATTTGGAATCAATAGGAACCTTACCAATACTGTCAATTTATTCAACAGTGGCGAGTTCCCTAGCA
 CTGGCAATCATGATGGCTGGTCTATCTTTATGGATGTGCTCCCAATGGATCGTTACAATGCAGAAATTTGCA
 TTTAAAGGCCTATTTCTTTAGTTTGAATTTACTGTTATCTGTTGCTGATTCATGTTTGGTGAGCGGTTT
 TCTGTGCTCAGAGTGTGTTATTTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTCGTCCCT
 TCAGCAAGGACACAAAAAGATTTAATTTTATTAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAGACCGGGAATTCGATATCAA
 GCTTATCGACCTGCAGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTC
 TTGCGATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGT
 TATTTATGAGATGGGTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAAATAT
 AGCGCGCAAACTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCTATGTTACTAGATTCTAGAGTCTCAAGCTT
 CGGCGCGGCC

Fig. 95

Secuencia de H1 nativa de A/California/4/2009. El péptido señal de H1 nativa de A/California/4/2009 está subrayado. Los sitios de restricción SacI y StuI están entre cajones. (SEQ ID NO: 135)

ATGAAGGCAATACTAGTAGTTCTGCTATATACATTTGCAACCGCAAATG
CAGACACATTATGTATAGGTTATCATGCGAACCAATTCAACAGACACTGT
AGACACAGTACTAGAAAAGAATGTAACAGTAACACACTCTGTTAACCTT
CTAGAAGACAAGCATAACGGGAAACTATGCAAACTAAGAGGGGTAGCC
CCATTGCATTTGGGTAAATGTAACATTGCTGGCTGGATCCTGGGAAAT
CCAGAGTGTGAATCACTCTCCACAGCAAGCTCATGGTCCTACATTGTG
GAAACACCTAGTTTCAGACAATGGAACGTGTTACCCAGGAGATTTTCATC
GATTATGAGGAGCTAAGAGAGCAATTGAGCTCAGTGTCAATTTGAA
AGGTTTGAGATATTCCCCAAGACAAGTTTCATGGCCCAATCATGACTCG
AACAAAGGTGTAACGGGCAGCATGTCCTCATGCTGGAGCAAAAAGCTTC
TACAAAAATTTAATATGGCTAGTTAAAAAAGGAAATTCATACCCAAAGC
TCAGCAAATCCTACATTAATGATAAAGGGGAAAGAAGTCCTCGTGCTATG
GGGCATTCAACCATCCATCTACTAGTGCTGACCAACAAAGTCTCTATCA
GAATGCAGATACATATGTTTTTGTGGGGTCATCAAGATACAGCAAGAA
GTTCAAGCCGGAATAGCAATAAGACCCAAAGTGAGGGATCAAGAAG
GGAGAATGAACTATTACTGGACACTAGTAGAGCCGGGAGACAAAATAA
CATTGGAAGCAACTGGAAATCTAGTGGTACCGAGATATGCATTGCGAA
TGGAAAGAAATGCTGGATCTGGTATTATCATTTTCAGATACACCAGTCCA
CGATTGCAATACAACCTTGTCAAACACCCAAGGGTGCTATAAACACCAG
CCTCCCATTTTCAGAAATATACATCCGATCACCAATTGGAAAATGTCCAAAA
TATGTAAAAAGCACAAAATTGAGACTGGCCACAGGATTGAGGAATATC
CCGTCTATTCAATCTAGAGGCCTATTTGGGGCCATTGCCGGTTTCATTG
AAGGGGGGTGGACAGGGGATGGTAGATGGATGGTACGGTTATCACCAT
CAAAATGAGCAGGGGTCAGGATATGCAGCCGACCTGAAGAGCACACA
GAATGCCATTGACGAGATTACTAACAAGTAAATTCTGTTATTGAAAAG
ATGAATACACAGTTCACAGCAGTAGGTAAGAGTTCAACCACCTGGAA
AAAAGAATAGAGAATTTAAATAAAAAAGTTGATGATGGTTTCCTGGACA
TTTGGACTTACAATGCCGAACCTGTTGGTTCTATTGGAAAATGAAAGAAC
TTTGGACTACCACGATTCAAATGTGAAGAACTTATATGAAAAGGTAAAG
AGCCAGCTAAAAAACAATGCCAAGGAAATTGGAAACGGCTGCTTTGAA
TTTTACCACAAATGCGATAACACGTGCATGGAAAGTGTCAAAAATGGG
ACTTATGACTACCCAAAATACTCAGAGGAAGCAAAATTAACAGAGAAG
AAATAGATGGGGTAAAGCTGGAATCAACAAGGATTTACCAGATTTTGG
CGATCTATTCAACTGTCGCCAGTTCATTGGTACTGGTAGTCTCCCTGG
GGGCAATCAGTTTCTGGATGTGCTCTAATGGGTCTCTACAGTGTAGAA
TATGTATTTAA

Fig. 96

Secuencia final que va a ser sintetizada que contiene la secuencia de H1 de A/California/4/2009. La porción de la proteína M desde el sitio de restricción Dralll hasta Apal está subrayada. PDISP está en negrita. Los sitios de restricción SacI y StuI mutados están entre cajones. (SEQ ID NO: 136)

[illegible]

Fig. 97

Fragmento 1 sintetizado (SEQ ID NO: 137)

```
ATGCTAATATCACGTAGTGCGGCGCCATTAAATAACGTGTACTTGTCTATTCTTGTGGTGTGGTCTT
GGGAAAAGAAAGCTTGCTGGAGGCTGCTGTTGAGCCCCATACATTACTTGTACGATTCTGCTGACTT
TCGGCGGGTGCAATATCTCTACTTCTGCTTGACGAGGTATTGTTGCCTGTACTTCTTTCTTCTTCTTCT
TGCTGATTGGTCTATAAGAAATCTAGTATTTTCTTGAACAGAGTTTTCCCGTGGTTTTCGAAGTTG
GAGAAAGATTGTTAAGCTTCTGTATATTCTGCCCAAATTTGTCGGGGCCCATGGCGAAAAACGTTGCGA
TTTTCGGCTTATTGTTTTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTGGCTGACACATTATGTATAGG
TTATCATGCGAACAATTCAACAGACACTGTAGACACAGTACTAGAAAAGAATGTAACAGTAACACACTC
TGTTAACCTTCTAGAAGACAAGCATAACGGGAAACTATGCAAACTAAGAGGGGTAGCCCCATTGCATT
TGGGTAAATGTAACATTGCTGGCTGGATCCTGGGAAATCCAGAGTGTGAATCACTCTCCACAGCAAG
CTCATGGTCCTACATTGTGGAACACCTAGTTCAGACAATGGAACGTGTTACCCAGGAGATTTTCATCG
ATTATGAGGAGCTAAGAGAGCAATTAAGC
```

Fragmento 2 sintetizado (SEQ ID NO: 138)

```
TGGAAACACCTAGTTTCAAGACAATGGAACGTGTTACCCAGGAGATTTTCATCGATTATGAGGAGCTAAGA
GAGCAATTAAGCTCAGTGTCATCATTTGAAAGGTTTGAGATATTCCCAAGACAAGTTTCATGGCCCAA
TCATGACTCGAACAAAGGTGTAACGGCAGCATGTCCTCATGCTGGAGCAAAAAGCTTCTACAAAAATT
TAATATGGCTAGTTAAAAAAGGAAATTCATACCCAAAGCTCAGCAAAATCCTACATTAATGATAAAGGGA
AAGAAGTCCTCGTGCTATGGGGCATTACCATCCATCTACTAGTGCTGACCAACAAAGTCTCTATCAG
AATGCAGATACATATGTTTTTGTGGGTGTCATCAAGATACAGCAAGAAGTTCAAGCCGGAAATAGCAAT
AAGACCCAAAGTGAGGGATCAAGAAGGGAGAAATGAACTATTACTGGACACTAGTAGAGCCGGGAGAC
AAAATAACATTGCAAGCAACTGGAATCTAGTGGTACCGAGATATGCATTGCAATGGAAGAAATGC
TGGATCTGGTATTATCATTTTCAGATACACAGTCCACGATTGCAATACAACCTTGTCAAACACCCAAAGG
GTGCTATAAACACACAGCCTCCCATTTTCAAGATATACATCCGATCACAAATGGAAGAAATGTCAAAATATG
TAAAAAGCACAAAATTGAGACTGGCCACAGGATTGAGGAATATCCCGTCTATTCAATCTAGAGGACTA
TTTGGGGCCATTGCCGGTTTCATTGAAGGGGGGTGGACAGGGATGGTAGATGGATGGTACGGTTATC
ACCATCAAATGAGCAGGGGTGAGGATATGCAG
```

Fragmento 3 sintetizado (SEQ ID NO: 139)

```
TTGAAGGGGGGTGGACAGGGATGGTAGATGGATGGTACGGTTATCACCATCAAATGAGCAGGGGT
CAGGATATGCAGCCGACCTGAAGAGCACACAGAATGCCATTGACGAGATTACTAACAAAGTAAATTTCT
GTTATTGAAAAGATGAATACACAGTTCACAGCAGTAGGTAAAGAGTTCAACCACCTGGAAAAAAGAAT
AGAGAAATTTAAATAAAAAAGTTGATGATGGTTTCTGGACATTTGGACTTACAATGCCGAACTGTTGGT
TCTATTGAAAATGAAAGAACTTTGGACTACCACGATTCAAATGTGAAGAACTTATATGAAAAGGTAAG
AAGCCAGCTAAAAACAATGCCAAGGAAATTTGAAACGGCTGCTTTGAATTTTACCACAAATGCGATA
ACACGTGCATGGAAGTGTCAAAAATGGGACTTATGACTACCCAAAATACTCAGAGGAAGCAAAATTA
AACAGAGAAGAAATAGATGGGTAAAGCTGGAATCAACAAGGATTTACCAGATTTTGGCGATCTATTG
AACTGTCGCCAGTTCATTGGTACTGGTAGTCTCCCTGGGGGCAATCAGTTTCTGGATGTGCTCTAATG
GGTCTCTACAGTGTAGAATATGATTTAAAGGCCTAATA
```

Fig. 98

Casete de expresión número 560, desde PacI (promotor secuencia arriba) hasta AscI (inmediatamente secuencia abajo del terminador NOS). La secuencia de PDISP-HA0 H1 de A(California/4/2009) está subrayada. (SEQ ID NO: 146)

TTAATTAAGTCGACAAGCTTGCATGCCTGCAGGTCAACATGGTGGAGCACGACACACTTGTCTACTCCAAAAATA
TCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCG
GATTCATTGCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCA
TTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCAACCCACGA
GGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGCTTCAAGCAAGTGGATTGATGTGATAACATGGTGGAGC
ACGACACACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACA
AAGGGTAATATCCGGAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGAAAAAG
GAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGT
CCCAAAGATGGACCCCAACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGCTTCAAGCAAGT
GGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCTTCGCAAGACCTTCTCTATA
TAAGGAAGTTCAATTTCAATTTGGAGAGGTATTAATACTTAAATAGGTTTTGATAAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGA
ACCAAACCTTCTCTAACTCTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAACCTTCTCTTGTCTTTCTTGGGTGAGCGATCTT
CAACGTTGTGAGATCGTGTCTCGGCACCAAGTACAACGTTTTCTTCACTGAAGCGAAATCAAAGATCTCTTTGTGG
ACACGTAGTGCAGCGCCATTAAATAACGTGTACTTGTCTTCTTCTTGTCTGGTGTGGTCTTGGGAAAAAGAAAGCTT
GCTGGAGGCTGCTGTTGAGCCCATACATTACTTGTACGATTCTGCTGACTTTCGGCGGGTGCAATATCTCTACT
TCTGCTTGACGAGGTATTGTTGCTGTACTTCTTCTTCTTCTTCTGCTGATTGGTTCTATAAGAAATCTAGTATTT
TCCTTGAACAGAGTTTTCCCGTGGTTTTCGAAGTTGGAGAAAGATTGTAAGCTTCTGTATATTCTGCCAAATTT
GTGGGGCCCATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTTCTTCTTGTGTTGGTTCTTCTCAGATCT
TCGCTGACACATTATGTATAGGTTATCATGCGAACAATTCAACAGACACTGTAGACACAGTACTAGAAAAAGATGT
AACAGTAACACACTCTGTTAACCTTCTAGAAGACAAGCATAACGGGAAACTATGCAAACTAAGAGGGGTAGCCCC
ATTGCATTTGGGTAAATGTAACATTCTGGCTGGATCCTGGGAAATCCAGAGTGTGAATCACTCTCCACAGCAAG
CTCATGGTCTTACATTGTGGAAACACCTAGTTCAGACAAATGGAACGTGTACCCAGGAGATTTCAICGATTATGAG
GAGCTAAGAGAGCAATTAAGCTCAGTGTATCATTTGAAAGGTTTGAGATATCCCAAGACAAGTTCATGGCCCA
ATCATGACTCGAACAAAGGTGTAAACGGCAGCATGTCTCATGCTGGAGCAAAAAGCTTCTACAAAAATTTAATATG
GCTAGTTAAAAAAGGAAATTCATACCCAAAGCTCAGCAAAATCCTACATTAATGATAAAGGGGAAAGAAAGTCTCGTG
CTATGGGGCATTACCATCCATCTACTAGTGTGACCAACAAAGTCTCTATCAGAATGCAGATACATATGTTTTG
TGGGGTCATCAAGATACAGCAAGAAGTTCAAGCCGGAAATAGCAATAAGACCCAAAGTGAGGGATCAAGAAGGG
AGAATGAACATTAACCTGGACACTAGTAGAGCCGGGAGACAAAAATAACAATCGAAGCAACTGGAAATCTAGTGGTA
CCGAGATATGCATTGCAATGGAAAGAAATGCTGGATCTGGTATTATCATTTAGATACACCAAGTCCACGATTGCA
ATACAACCTTGTCAAACACCCAAAGGGTGTATAAAACACCAGCCTCCCATTTACAGAAATATACATCCGATCACAATTTG
AAAAATGTCAAAAATATGTAAGCAACAAATTTGAGACTGGCCACAGGATTGAGGAATATCCCGTCTATCAATCT
AGAGGACTATTGGGGCCATTGCCGGTTTTCAATTGAAGGGGGGTGGACAGGGATGGTAGATGGATGGTACGGTTA
TCACCATCAAAATGAGCAGGGGTGAGGATATGCAGCCGACCTGAAGAGCACACAGAATGCCATTGACGAGATT
CTAACAAAGTAAATTTCTGTTATTGAAAAGATGAATACACAGTTACACAGCAGTAGGTAAGAGTTCAACCACTGGA
AAAAAGATAGAGAAATTAATAAAAAAGTTGATGATGGTTTTCTGGACATTGGACTTACAATGCCGAACCTGTTG
GTCTATTGGAAAAATGAAAGAACTTTGGACTACCACGATTCAAAAGTGAAGAACCTATATGAAAAGGTAAGAAGCC
AGCTAAAAACAATGCCAAGGAAATTTGGAAACGGCTGCTTTGAAATTTACCACAAATGCGATAACACGTCATGGA
AAGTGTCAAAAATCGGACTTATGACTACCCAAAAATCTCAGAGGAAGCAAAATTAACAGAGAAAGAAATAGATGGG
GTAAGCTGGAATCAACAAGGATTACAGATTTGGCGATCTATTCAACTGTGCCAGTTTCTTGGTACTGGTAG
TCTCCCTGGGGGCAATCAGTTTCTGGATGTGCTCTAATGGGTCTCTACAGTGTAGAATATGATTTAAAGGCCTAT
TTCTTTAGTTTGAATTTACTGTTATTCCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGT
TTATTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTGCTCCCTTCAGCAAGGACACAAAAAGATTTT
AATTTTATTAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAGACCGGGAATTCGATATCAAGCTTATCGACCTGCAGATCGTTCAAACATT
TGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCAGTATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGT
TAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTAT
ACATTTAATACGCGATAGAAAACAAAATATAGCGGCAAACTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCTATGTT
ACTAGATCTCTAGAGTCTCAAGCTTGGCGCGCC