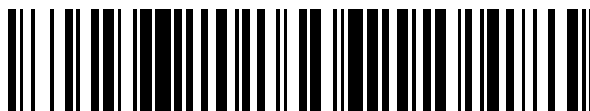


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 540 526**

51 Int. Cl.:

A61K 35/76 (2015.01)
C12N 15/45 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C12N 9/10 (2006.01)
C12N 9/78 (2006.01)
C07K 19/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.08.2011 E 11748282 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.03.2015 EP 2605783**

54 Título: **Virus del sarampión oncolítico**

30 Prioridad:

20.08.2010 EP 10008726

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

10.07.2015

73 Titular/es:

LAUER, ULRICH M. (12.5%)
Rammertstrasse 43
72072 Tübingen, DE;
BITZER, MICHAEL (12.5%);
LAMPE, JOHANNA (12.5%);
ZIMMERMANN, MARTINA (12.5%);
BERCHTOLD, SUSANNE (12.5%);
LANGE, SEBASTIAN (12.5%);
NEUBERT, WOLFGANG J. (12.5%) y
BOSSOW, SASCHA (12.5%)

72 Inventor/es:

LAUER, ULRICH M.;
BITZER, MICHAEL;
LAMPE, JOHANNA;
ZIMMERMANN, MARTINA;
BERCHTOLD, SUSANNE;
LANGE, SEBASTIAN;
NEUBERT, WOLFGANG J. y
BOSSOW, SASCHA

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 540 526 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

Virus del sarampión oncolítico

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un virus del sarampión recombinante que comprende un gen suicida para su uso en el tratamiento de células cancerosas con resistencias primaria o secundaria frente a un virus del sarampión oncolítico sin actividad de gen suicida. Además, la presente invención se refiere a un virus del sarampión recombinante basado en el genoma de la cepa Schwartz de la vacuna contra el sarampión que comprende un gen suicida, que comprende una fusión de citosina desaminasa de levadura y uracilo fosforribosiltransferasa de levadura, a un método y a un kit para preparar el virus del sarampión recombinante tal como se reivindica en el presente documento.

15 **Antecedentes de la invención**

A pesar del avance significativo en el pasado, por ejemplo en el desarrollo de agentes quimioterápicos, terapias basadas en anticuerpos, vacunación contra tumores y radioterapia, sigue existiendo una necesidad urgente y no satisfecha para el desarrollo de agentes terapéuticos y enfoques terapéuticos novedosos para el tratamiento de tumores y enfermedades cancerosas relacionadas.

Aunque los enfoques de terapia génica son sustancialmente prometedores para tales tratamientos, y aunque se han observado resultados anti tumorales en diferentes modelos de terapia génica, determinadas limitaciones, particularmente en la transferencia de genes de interés a las células tumorales, han obstaculizado el desarrollo adicional de tales enfoques.

En el pasado, se había observado ocasionalmente que las infecciones naturales o las vacunaciones con virus del sarampión daban como resultado remisiones espontáneas de los tumores, particularmente en tumores malignos hematológicos, tales como leucemias, dando como resultado la identificación del potencial oncolítico del virus del sarampión.

El virus del sarampión es un paramixovirus con envuelta, monocatenario, de sentido negativo, del género *Morbillivirus* que provoca la enfermedad infecciosa del sarampión, una infección del sistema respiratorio. El genoma del virus del sarampión contiene seis genes que codifican para ocho proteínas: la proteína de la nucleocápside (N), fosfoproteína (P), proteína de matriz (M), proteína de fusión (F), hemaglutinina (H) y proteína grande (L), y dos proteínas accesorias, denominadas C y V. El virus entra en las células diana por medio de una fusión de membrana independiente del pH. Las proteínas H y F están implicadas en la unión al receptor y la fusión de membrana, respectivamente. La entrada del virus del sarampión en las células se produce por medio de la interacción de la glicoproteína H de superficie con los dos receptores conocidos para el virus del sarampión: CD46, que está presente de manera ubicua en células nucleadas de primate, pero se sobreexpresa frecuentemente en tumores, y la molécula de señalización de activación linfocitaria (SLAM) que está ubicada principalmente en células B y T. CD46 es una proteína reguladora del complemento asociada a membrana que protege las células humanas frente a la lisis de complemento autólogo actuando como cofactor en la inactivación proteolítica de productos de complemento de C3b y C4b, proporcionando por tanto protección para células tumorales frente a la lisis mediada por complemento. El reconocimiento del receptor por parte de la proteína H conduce a cambios conformacionales de la proteína F que dan como resultado la fusión con membranas de célula diana y la posterior entrada viral. Las células infectadas, incluyendo las células tumorales, expresan las proteínas F y H virales en la superficie celular. El reconocimiento del receptor viral en células vecinas infectadas o no infectadas desencadena de manera similar una fusión célula a célula. Por tanto, el efecto citopático típico del virus del sarampión es la formación de agregados celulares mononucleares gigantes (sincitios).

La mayoría de las preparaciones de virus del sarampión usadas para las vacunas contra el sarampión o para la investigación del virus del sarampión oncolítico se basan en un virus del sarampión vivo atenuado derivado de la denominada cepa de vacuna de Edmonston, un aislado obtenido originariamente en 1954, que se usó para crear la línea celular Edmonston-Enders, y basándose en ésta, las líneas de simiente Edmonston A y B mediante pases en serie en células humanas y la posterior adaptación a fibroblastos embrionarios de pollo (CEF). Tuvo que interrumpirse el uso de la vacuna atenuada viva desarrollada originariamente basada en el linaje Edmonston B debido a su alta reactogenicidad. Mediante la atenuación adicional de las líneas Edmonston, Edmonston-Enders y Edmonston A y B, se desarrollaron derivados del sarampión adicionales (Edmonston-Enders: AIK-C, Edmonston Zagreb; Edmonston A: Schwarz; Edmonston B: Moraten).

A pesar del avance que se ha realizado desde el descubrimiento del potencial oncolítico del virus del sarampión, que se resume en un artículo de revisión reciente (Msaouel, P., Dispenzieri, A., y Galanis, E., Clinical testing of engineered oncolytic measles virus strains in the treatment of cancer: An overview, Curr Opin Mol Ther. 2009; 11: 43-53), aún no ha llegado al mercado ningún producto terapéutico basado en el virus del sarampión oncolítico, hecho que, al menos en parte, puede deberse al potencial de los virus de tipo natural de provocar efectos

secundarios graves, y particularmente a las limitaciones técnicas en la fabricación de preparaciones de virus de alta pureza para uso clínico. Aunque el conocimiento creciente de la biología del virus del sarampión, así como el desarrollo de un sistema de genética inversa que permite rescatar cepas del virus del sarampión recombinantes y la modificación mediante ingeniería viral, han abierto nuevas oportunidades para el desarrollo del virus del sarampión como agente terapéutico en el tratamiento del cáncer, siguen existiendo varias limitaciones en los constructos que se usan en la actualidad.

Por ejemplo, muchos de los programas de investigación y desarrollo que se están siguiendo actualmente se basan en el trabajo de Martin Billeter y colegas (Radecke, F., Spielhofer, P., Schneider, H., Kaelin, K., Huber, M., Dötsch, K., Christiansen, G., y Billeter, M., Rescue of measles viruses from cloned DNA. EMBO Journal 14 (1995) 5773-5784; documento WO 97/06270). Basándose en la cepa de laboratorio de VS, Guy Ungerechts y colegas han sometido a prueba la eficacia oncolítica del virus del sarampión redireccionados mediante CEA y CD20 reforzados con genes suicidas en modelos de ratón inmunocompetente (Ungerechts *et al.*, Molecular Therapy 15, 11 (2007) 1991-1997; Ungerechts *et al.*, Cancer Investigation 67, 22 (2007) 10939-10947; Ungerechts *et al.*, Molecular Therapy 13, suplemento 1 (2006) 373). Springfield *et al.* (Molecular Therapy 9, suplemento 1 (2004) 224) han sometido a prueba la expresión *in vitro* y la actividad enzimática de genes suicidas codificados por virus del sarampión recombinantes. Posteriormente, se ha demostrado que la secuencia del genoma viral clonado se desviaba con respecto a la secuencia de Edmonston B, siendo más próxima a la cepa Edmonston de tipo natural y teniendo sustituciones relacionadas con el subgrupo Edmonston (Parks *et al.*, J. Virol. 75 (2001) 910-920; Parks *et al.*, J. Virol. 75 (2001) 921-933).

Además, actualmente están rescatándose preparaciones de virus del sarampión a partir de líneas celulares que no se han aprobado para la producción de vacunas, tales como fibroblastos embrionarios de pollo (CEF) o células de riñón embrionario humano 293, tanto complicando como aumentando de este modo los costes de la producción a gran escala de partículas de virus del sarampión recombinantes de conformidad con los requisitos de BPF.

Adicionalmente, se ha demostrado que, por ejemplo, tumores derivados de determinadas líneas celulares (por ejemplo, RPMI 8226 y HT1080) eran resistentes al tratamiento con virus del sarampión oncolítico a pesar de repetidas inyecciones de virus (Peng KW, Facticeau S, Wegman T, O'Kane D, Russell SJ. Non-invasive *in vivo* monitoring of trackable viruses expressing soluble marker peptides. Nat Med. (2002);8:527-31).

Por tanto, sigue existiendo una necesidad continua de una composición farmacéutica mejorada que comprenda un virus del sarampión recombinante para su uso en el tratamiento de células cancerosas y métodos mejorados para la generación de tales composiciones farmacéuticas y tal virus del sarampión recombinante.

Objetos de la invención

Por consiguiente, en vista de los problemas de la técnica anterior, un primer objeto de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica mejorada que comprenda un virus del sarampión recombinante con actividad oncolítica frente a tumores que son resistentes al virus del sarampión de la técnica anterior.

El segundo objeto de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica mejorada que comprenda un virus del sarampión recombinante que tenga un genoma viral correspondiente al genoma de vacunas contra el sarampión vivas atenuadas establecidas.

El tercer objeto de la presente invención es proporcionar un método más seguro y más barato para rescatar un virus del sarampión recombinante para su uso en el tratamiento de células cancerosas.

Sumario de la invención

Estos y otros objetos se solucionan mediante la provisión del virus del sarampión recombinante según la reivindicación 1.

La provisión de un virus del sarampión recombinante que codifica para un gen suicida para su uso en el tratamiento de células cancerosas con resistencias primaria o secundaria frente a un virus del sarampión oncolítico sin actividad de gen suicida posibilita un tratamiento mucho más eficaz de tumores sólidos, lo que permite de manera concomitante emplear un número reducido de partículas de virus del sarampión infecciosas sin pérdida alguna en la eficacia antitumoral. De este modo pueden reducirse significativamente los costes de viroterapia.

La presente invención se refiere a un virus del sarampión recombinante basado en la cepa Schwartz de la vacuna contra el sarampión que comprende un gen suicida, que comprende una fusión de una citosina desaminasa, particularmente citosina desaminasa de levadura, y una uracilo fosforribosiltransferasa, particularmente uracilo fosforribosiltransferasa de levadura, particularmente en el que dicho gen suicida comprende una secuencia mostrada en la figura 2.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un método para generar el virus del sarampión recombinante

según la presente invención, que comprende la etapa de (a) clonar (i) el genoma de la cepa Schwartz de la vacuna contra el sarampión, y (ii) un gen suicida, que comprende una fusión de una citosina desaminasa, particularmente citosina desaminasa de levadura, y una uracilo fosforribosiltransferasa, particularmente uracilo fosforribosiltransferasa de levadura, en un plásmido bajo el control de un promotor de ARN polimerasa II.

5 En aún otro aspecto, la presente invención se refiere a un kit que comprende:

10 (a) un plásmido que comprende (i) el genoma de la cepa Schwartz de la vacuna contra el sarampión, y (ii) un gen suicida, que comprende una fusión de una citosina desaminasa, particularmente citosina desaminasa de levadura, y una uracilo fosforribosiltransferasa, particularmente uracilo fosforribosiltransferasa de levadura, bajo el control de un promotor de ARN polimerasa II, particularmente en el que dicho gen suicida comprende una secuencia mostrada en la figura 2, particularmente en el que el plásmido tiene la secuencia mostrada en la figura 4, figura 28 o figura 29, más particularmente figura 4;

15 (b) al menos un plásmido que comprende genes N, P y L auxiliares del virus del sarampión, en forma de genes individuales, cada uno bajo el control de un promotor de ARN polimerasa II.

Figuras

20 La figura 1 muestra la secuencia genética de la cepa Schwartz de la vacuna contra el sarampión (SEQ-ID NO. 1).

La figura 2 muestra la secuencia genética de la fusión de citosina desaminasa de levadura y uracilo fosforribosiltransferasa de levadura (con secuencia ligadora) (SEQ-ID NO. 2).

25 La figura 3 muestra la secuencia genética completa del plásmido pc3MerV2 Id-Trka que codifica para el virus del sarampión recombinante básico modificado mediante ingeniería a partir de la cepa Schwarz de VS sin ningún transgén pero con casete de transcripción adicional (SEQ-ID NO. 3).

30 La figura 4 muestra la secuencia genética del vector pc3MerV2 Id-SCD (que codifica para Id-SCD de VS) (SEQ-ID NO. 4).

La figura 5 muestra la secuencia genética del plásmido auxiliar requerido para la expresión del gen N (SEQ-ID NO. 5), que se basa en el constructo variante del promotor de CMV pc3, que abarca los nucleótidos del promotor de CMV desde -301 hasta -1 (definiéndose +1 como sitio de iniciación de la transcripción) más tres nucleótidos (TGG) insertados adicionalmente tras la posición -1:

- nt 1358 - 2935: ORF de N de Schwarz de VS (1578 nt = 525 aa + codón de terminación)

40 La figura 6 muestra la secuencia genética del plásmido auxiliar requerido para la expresión del gen P (SEQ-ID NO. 6), que se basa en el constructo variante del promotor de CMV pc3:

- nt 1358 - 2881: ORF de P de Schwarz de VS (1524 nt = 507 aa + codón de terminación)

45 La figura 7 muestra la secuencia genética del plásmido auxiliar requerido para la expresión del gen L (SEQ-ID NO. 7), que se basa en el constructo variante del promotor de CMV pc3:

- nt 1358 - 7909: ORF de L de Schwarz de VS (6552 nt = 2183 aa + codón de terminación)

50 La figura 8 muestra los resultados de un ensayo de proliferación de tipo SRB de células HuCCT1, RBE y TFK-1 (células de colangiocarcinoma humano) tratadas con partículas virales rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD) e incubadas con el profármaco 5-FC.

55 La figura 9 muestra los resultados de un ensayo de liberación de LDH de células HuCCT1, RBE y TFK-1 (células de colangiocarcinoma humano) tratadas con partículas virales rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD).

La figura 10 muestra los resultados de un ensayo de proliferación de tipo SRB de células SAS y HTB-43 FaDu (células de cáncer de cabeza y cuello (H&N) humano) tratadas con partículas virales rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD).

60 La figura 11 muestra los resultados de un ensayo de liberación de LDH de células SAS y HTB-43 FaDu (células de cáncer de H&N humano) tratadas con partículas virales rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD).

65 La figura 12 muestra los resultados de un ensayo de proliferación de tipo SRB de células A 673, BRZ y SRH (células de sarcoma humano) tratadas con partículas virales rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD).

La figura 13 muestra los resultados de un ensayo de liberación de LDH de células A 673 y SRH (células de sarcoma

humano) tratadas con partículas virales rescatadas de pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD).

La figura 14 muestra los resultados de un ensayo de proliferación de tipo SRB de células SRH tratadas con partículas virales rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD).

5 La figura 15 muestra los resultados de un ensayo de proliferación de tipo SRB de células tumorales de sarcoma (líneas celulares CCS, LM) tratadas con partículas virales rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD).

10 La figura 16 muestra los resultados de un ensayo de proliferación de tipo SRB de células tumorales de sarcoma (líneas celulares STO, ZAF, KD) tratadas con partículas virales rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD).

15 La figura 17 muestra los resultados de un ensayo de proliferación de tipo SRB de células tumorales de glioblastoma (líneas celulares LNT 229, LNT 229 CTS-1) tratadas con partículas virales rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD).

La figura 18 muestra los resultados de un ensayo de proliferación de tipo SRB de células tumorales de glioblastoma (líneas celulares LN 18, LN 18 resistente a la apoptosis) tratadas con partículas virales rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD).

20 La figura 19 muestra los resultados de un ensayo de proliferación de tipo SRB de células tumorales de carcinoma de células renales (ACHN), adenocarcinoma pulmonar (HOP-62) y melanoma (M14) tratadas con partículas virales rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD).

25 La figura 20 muestra los resultados de un ensayo de proliferación de tipo SRB de células tumorales de adenocarcinoma de colon (líneas celulares KM-12, HCT-15) tratadas con partículas virales rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD).

30 La figura 21 muestra el efecto de tres vectores de VS reforzados diferentes en células de carcinoma hepatocelular humano Hep3B (vectores pc3MerV2 Id-SCD, pc3MerV2 Id-VP22SCD y pMerV2 P-SCD); todos los experimentos se llevaron a cabo por cuadruplicado; los experimentos se repitieron tres veces; valores: media + EEM.

35 La figura 22 muestra el efecto de tres vectores de VS reforzados diferentes en células de carcinoma hepatocelular humano HepG2 (vectores pc3MerV2 Id-SCD, pc3MerV2 Id-VP22SCD y pMerV2 P-SCD); todos los experimentos se llevaron a cabo por cuadruplicado; los experimentos se repitieron tres veces; valores: media + EEM.

La figura 23 muestra el efecto de tres vectores de VS reforzados diferentes en células de carcinoma hepatocelular humano PLC/PRF/5 (vectores pc3MerV2 Id-SCD, pc3MerV2 Id-VP22SCD y pMerV2 P-SCD); todos los experimentos se llevaron a cabo por cuadruplicado; los experimentos se repitieron tres veces; valores: media + EEM.

40 La figura 24 muestra los resultados de una determinación de volúmenes tumorales en un modelo de tumor de HCC animal de xenoinjerto (modelo Hep3B).

La figura 25 muestra los resultados de una determinación de datos de supervivencia en un modelo de tumor de HCC animal de xenoinjerto (modelo Hep3B).

45 La figura 26 muestra los resultados de una determinación de volúmenes tumorales en un modelo de tumor de CC animal de xenoinjerto (modelo TFK-1).

50 La figura 27 muestra una vista general esquemática de ADNc virales y los respectivos vectores virales. Se muestran los plásmidos (A) pc3MerV2 Id-SCD (20.841 pb), (B) pc3MerV2 Id-VP22SCD (21.759 pb), y (C) pMerV2 P-SCD (20.546 pb). Se presentan visualmente los marcos de lectura abiertos como flechas (genes virales en blanco, transgenes en oscuro). Las regiones no traducidas y la estructura principal de plásmido se representan como líneas rectas. N: proteína de la nucleocápside, P: fosfoproteína, M: proteína de matriz, F: proteína de fusión, H: hemaglutinina, L: proteína grande, SCD: super-citosina desaminasa, VP22SCD: fusión de SCD y la proteína del virus del herpes simple VP22.

La figura 28 muestra la secuencia genética del vector pMerV2 P-SCD (que codifica para P-SCD de VS) (SEQ-ID NO. 8).

60 La figura 29 muestra la secuencia genética del vector pc3MerV2 Id-VP22SCD (que codifica para Id-VP22SCD de VS) (SEQ-ID NO. 9).

Descripción detallada de la invención

65 La presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un virus del sarampión recombinante basado en la cepa Schwartz de la vacuna contra el sarampión que comprende un gen suicida que

comprende una fusión de una citosina desaminasa y una uracilo fosforribosiltransferasa para su uso en el tratamiento de células cancerosas con resistencias primaria o secundaria frente a un virus del sarampión oncolítico sin actividad de gen suicida.

- 5 Los términos “comprender” y “contener” dentro del significado de la invención introducen una lista no exhaustiva de características. Del mismo modo, la palabra “una/a” debe entenderse en el sentido de “al menos uno/a”.

En el contexto de la presente invención, el término “gen suicida” se refiere a un gen, cuya expresión en una célula huésped provoca o da como resultado una viabilidad reducida de tales células huésped. En entornos particulares, el gen suicida provocará que una célula se destruya a sí misma a través de apoptosis. En determinados de tales entornos, la expresión del gen suicida dará como resultado una enzima, que cataliza la generación de un fármaco citotóxico a partir de un profármaco no tóxico.

En una realización particular de la composición farmacéutica según la presente invención, las células cancerosas se identifican llevando a cabo la siguiente etapa:

(a) determinar el porcentaje de células vivas en una población de células derivadas de dichas células cancerosas 72 h, o preferiblemente 96 h, tras infectar dicha población con el virus del sarampión oncolítico con una multiplicidad de infección de 1, siendo un porcentaje del 40% o más de células vivas en dicha población, particularmente el 50% o más, más particularmente el 60% o más, indicativo de que dichas células cancerosas son resistentes de manera primaria o secundaria frente a un virus del sarampión oncolítico sin actividad de gen suicida.

El virus del sarampión recombinante se basa en la cepa Schwartz de la vacuna contra el sarampión.

Una descripción de la cepa Schwartz de la vacuna contra el sarampión, incluyendo su secuencia genómica completa y su comparación con otras cepas de vacuna, puede encontrarse en Tillieux *et al.* (Tillieux, S.L., Halseyb, W.S., Satheb, G.M., y Vassilev, V. Comparative analysis of the complete sequences of nucleotides of measles, mumps, and rubella strain genomes contained in Priorix-Tetra™ and Pro-Quad™ live attenuated combined vaccines. Vaccine 27 (2009) 2265-2273).

En una realización particular, el virus del sarampión oncolítico sin actividad de gen suicida es de la cepa Schwartz de la vacuna contra el sarampión. Más particularmente, el virus del sarampión oncolítico sin actividad de gen suicida tiene una secuencia mostrada en la figura 1 (SEQ-ID NO. 1).

En el contexto de la presente invención, la expresión “tiene una secuencia según SEQ-ID NO. 1” depende del contexto dado y se refiere o bien a la secuencia de ADN representada en SEQ-ID NO. 1 (ADNc de las partículas de virus del sarampión de la cepa Schwarz), o bien a la secuencia de ARN correspondiente, tal como se encuentra empaquetada en la partícula viral rescatada de un vector que comprende tal secuencia de ADNc.

En una realización particular de la composición farmacéutica según la presente invención, el gen suicida comprende una citosina desaminasa de levadura.

Las citosina desaminasas, particularmente citosina desaminasa de levadura, y su uso como enzima de conversión en profármaco en la terapia génica contra el cáncer se ha comentado y examinado en diversas publicaciones (véase, por ejemplo: Kievit, E., Nyati, M.K., Ng, E., Stegman, L.D., Parsels, J., Ross, B.D., Rehemtulla, A., Lawrence, T.S. Yeast cytosine deaminase improves radiosensitization and by-stander effect by 5-fluoro-cytosine of human colorectal cancer xenografts. Cancer Res. 60 (2000) 6649-55).

El gen suicida comprende además una uracilo fosforribosiltransferasa, particularmente uracilo fosforribosiltransferasa de levadura.

Pudo mostrarse que la expresión concomitante de una citosina desaminasa y una uracilo fosforribosiltransferasa mejora la conversión enzimática de 5-fluorocitosina en metabolitos citotóxicos (Tiraby M, Cazaux C, Baron M, Drocourt D, Reynes JP, Tiraby G. FEMS Microbiol Lett. 167 (1998) 41-9).

El gen suicida comprende una fusión de una citosina desaminasa, particularmente citosina desaminasa de levadura, y una uracilo fosforribosiltransferasa, particularmente uracilo fosforribosiltransferasa de levadura, denominada SCD (SuperCD).

El uso de un gen de fusión que comprende una citosina desaminasa y una uracilo fosforribosiltransferasa se ha descrito para un sistema adenoviral (Erbs, P., Regulier, E., Kintz, J., Leroy, P., Poitevin, Y., Exinger, F., Jund, R., y Mehtali, M. *In vivo* cancer gene therapy by adenovirus-mediated transfer of a bifunctional yeast cytosine deaminase/uracil phosphoribosyltransferase fusion gene. Cancer Res. 60 (2000) 3813-22).

De la manera más particular, el gen suicida comprende una secuencia mostrada en la figura 2 (SEQ-ID NO. 2).

En el contexto de la presente invención, la expresión “comprende una secuencia según SEQ-ID NO...” depende del contexto dado y se refiere o bien a la secuencia de ADN representada en dicha SEQ-ID NO., o bien a la secuencia de ARN correspondiente, tal como se encuentra empaquetada en la partícula viral rescatada de un vector que comprende tal secuencia de ADN.

5 En una realización particular, el virus del sarampión recombinante comprende una secuencia de ARN que corresponde a la secuencia mostrada en la figura 4 (SEQ-ID NO. 4), la figura 28 (SEQ-ID NO. 8) o la figura 29 (SEQ-ID NO. 9), particularmente la figura 4 (SEQ-ID NO. 4).

10 En una realización particular de la composición farmacéutica según la presente invención, las células cancerosas adicionalmente no responden a agentes quimioterápicos y/o radioterapia.

En una realización particular, las células cancerosas se seleccionan de la lista de: células cancerosas de colangiocarcinoma, cáncer de cabeza y cuello, y sarcoma.

15 En una realización particular, la composición farmacéutica es para su uso en un tratamiento, que es un tratamiento repetido, particularmente cada semana, o cada dos semanas, o cada tres semanas, o cada cuatro semanas, que emplea un virus del sarampión recombinante de este tipo basado en la cepa Schwartz de la vacuna contra el sarampión que comprende un gen suicida que comprende una fusión de una citosina desaminasa y una uracilo fosforribosiltransferasa para su uso en el tratamiento de células cancerosas con resistencias primaria o secundaria frente a un virus del sarampión oncolítico sin actividad de gen suicida.

20 Recientemente, el empleo de un régimen clínico de aplicación repetitiva de un virus del sarampión recombinante sin actividad de gen suicida (cada 4 semanas durante hasta 6 ciclos) ha demostrado que los niveles de anticuerpo antisarampión en suero en el nivel inicial y a la finalización del estudio permanecieron estables tanto en la sangre como en el líquido peritoneal en comparación con el nivel inicial, lo que indica una ausencia de refuerzo significativo con respecto a la respuesta inmunitaria humoral (Galanis E, Hartmann LC, Cliby WA, Long HJ, Peetambaram PP, Barrette BA, Kaur JS, Haluska PJ Jr, Aderca I, Zollman PJ, Sloan JA, Keeney G, Atherton PJ, Podratz KC, Dowdy SC, Stanhope CR, Wilson TO, Federspiel MJ, Peng KW, Russell SJ. Cancer Res. 2010;70(3):875-82). Por tanto, se encontró que la aplicación repetitiva de virus del sarampión recombinantes era factible en el tratamiento de pacientes con cáncer.

25 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un virus del sarampión recombinante basado en la cepa Schwartz de la vacuna contra el sarampión que codifica para un gen suicida, que comprende una fusión de una citosina desaminasa, particularmente una citosina desaminasa de levadura, y una uracilo fosforribosiltransferasa, particularmente una uracilo fosforribosiltransferasa de levadura.

30 En una realización particular del virus del sarampión recombinante según la presente invención, el gen suicida comprende una secuencia según la figura 2 (SEQ-ID NO. 2).

35 En una realización particular, el virus del sarampión recombinante comprende una secuencia de ARN mostrada en la figura 4 (SEQ-ID NO. 4), la figura 28 (SEQ-ID NO. 8) o la figura 29 (SEQ-ID NO. 9), particularmente la figura 4 (SEQ-ID NO. 4).

40 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un método para generar el virus del sarampión recombinante según la presente invención, que comprende la etapa de (a) clonar (i) el genoma de la cepa Schwartz de la vacuna contra el sarampión, y (ii) un gen suicida que comprende una fusión de una citosina desaminasa y una uracilo fosforribosiltransferasa, en un plásmido bajo el control de un promotor de ARN polimerasa II.

45 Se ha mostrado el uso del sistema de promotor de ARN polimerasa II para la expresión eficaz de ARN antígenómico (ARNc) a partir de ADNc de *Mononegavirales* para el virus de la enfermedad de Borna (VEB) y el virus del sarampión (Martin, A., Staeheli, P., y Schneider, U. RNA Polymerase II-Controlled Expression of Antigenomic RNA Enhances the Rescue Efficacies of Two Different Members of the Mononegavirales Independently of the Site of Viral Genome Replication, J. Virol. 80 (2006) 5708-5715).

50 En una realización particular del método según la presente invención, el gen suicida comprende una citosina desaminasa de levadura.

55 El gen suicida comprende además una uracilo fosforribosiltransferasa, particularmente uracilo fosforribosiltransferasa de levadura.

El gen suicida comprende una fusión de una citosina desaminasa, particularmente citosina desaminasa de levadura, y una uracilo fosforribosiltransferasa, particularmente uracilo fosforribosiltransferasa de levadura.

60 En una realización particular del método según la presente invención, el gen suicida comprende una secuencia mostrada en la figura 2 (SEQ-ID NO. 2).

En una realización particular, el método comprende además la etapa de:

- 5 (b) clonar genes N, P y L auxiliares del virus del sarampión, cada uno bajo el control de un promotor de ARN polimerasa II, en al menos un vector.

En una realización particular, los genes N, P y L auxiliares virales se clonan cada uno en un vector separado bajo el control de un promotor de ARN polimerasa II, particularmente un vector de plásmido, dando como resultado (i) un plásmido que codifica para el gen N auxiliar del virus del sarampión, (ii) un plásmido que codifica para el gen P auxiliar del virus del sarampión, y (iii) un plásmido que codifica para el gen L auxiliar del virus del sarampión.

Por tanto, tal realización se refiere a un método que comprende las etapas de:

- 15 (b) clonar genes N auxiliares del virus del sarampión bajo el control de un promotor de ARN polimerasa II, en un primer vector, particularmente un vector de plásmido;

(c) clonar el gen P auxiliar del virus del sarampión bajo el control de un promotor de ARN polimerasa II en un segundo vector, particularmente un vector de plásmido;

- 20 (d) clonar el gen L auxiliar del virus del sarampión bajo el control de un promotor de ARN polimerasa II en un tercer vector, particularmente un vector de plásmido.

En una realización particular, las etapas (a) y/o (b), o (a) y/o (b) a (d), comprenden además la etapa de eliminar supuestas secuencias de corte y empalme de dicho genoma y/o dichos genes auxiliares.

25 En una realización particular, la etapa (a) da como resultado el plásmido que tiene la secuencia mostrada en la figura 4 (SEQ-ID NO. 4), la figura 28 (SEQ-ID NO. 8) o la figura 29 (SEQ-ID NO. 9), particularmente la figura 4 (SEQ-ID NO. 4).

- 30 En una realización particular, las etapas (b) a (d) dan como resultado plásmidos que tienen las secuencias mostradas en la figura 5 (SEQ-ID NO. 5), la figura 6 (SEQ-ID NO. 6) y la figura 7 (SEQ-ID NO. 7).

En una realización particular, el método según la presente invención comprende además la etapa de:

- 35 (e) transfectar células huésped con plásmidos de las etapas (a) y (b), particularmente células huésped de una línea celular certificada aprobada para la producción de vacunas, particularmente de líneas celulares Vero o MRC-5.

40 Uno de los factores más importantes para la producción de vacunas virales vivas es su estabilidad genética. La estabilidad genética incluye cuestiones relacionadas con la reversión potencial de la cepa de vacuna en formas más virulentas, la recombinación con otras secuencias virales para producir virus potencialmente patógenos, y cualquier deriva genética que pueda dar como resultado una disminución de la inmunogenicidad y la eficacia. En diversos casos se ha demostrado que la propagación de cepas de vacuna viva en líneas celulares Vero y MRC-5 mantiene la estabilidad genética de las cepas de vacuna (véase, por ejemplo, Laassri M, Meseda CA, Williams O, Merchinsky M, Weir JP, Chumakov K., Microarray assay for evaluation of the genetic stability of modified vaccinia virus Ankara B5R gene. *J. Med. Virol.* 79 (2007) 791-802).

En una realización particular, el método comprende además la etapa de:

- 50 (f) rescatar virus del sarampión recombinante de la célula huésped transfectada en la etapa (e).

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un kit que comprende:

- 55 (a) un plásmido que comprende (i) el genoma de la cepa Schwartz de la vacuna contra el sarampión, y (ii) un gen suicida, que comprende una fusión de una citosina desaminasa, particularmente citosina desaminasa de levadura, y una uracilo fosforribosiltransferasa, particularmente uracilo fosforribosiltransferasa de levadura, bajo el control de un promotor de ARN polimerasa II, particularmente en el que dicho gen suicida comprende una secuencia mostrada en la figura 2 (SEQ-ID NO. 2), particularmente en el que el plásmido tiene la secuencia mostrada en la figura 4 (SEQ-ID NO. 4), la figura 28 (SEQ-ID NO. 8) o la figura 29 (SEQ-ID NO. 9), más particularmente la figura 4 (SEQ-ID NO. 4);

- 60 (b) al menos un plásmido que comprende los genes N, P y L auxiliares del virus del sarampión, cada uno en forma de un único gen bajo el control de un promotor de ARN polimerasa II.

En una realización particular del kit según la presente invención, los genes N, P y L auxiliares virales se clonan cada uno en un plásmido separado, cada uno bajo el control de un promotor de ARN polimerasa II, particularmente en el que los plásmidos tienen las secuencias mostradas en la figura 5 (SEQ-ID NO. 5), la figura 6 (SEQ-ID NO. 6) y la figura 7 (SEQ-ID NO. 7).

La invención se describe ahora con referencia a los siguientes ejemplos. Estos ejemplos se proporcionan sólo con propósitos de ilustración y no debe interpretarse que la invención está limitada a estos ejemplos, sino que debe interpretarse más bien que abarca cualquiera y todas las variaciones que resulten evidentes como resultado de la enseñanza proporcionada en el presente documento. Los siguientes materiales y métodos se proporcionan con respecto a los siguientes ejemplos pero no limitan una multiplicidad de materiales y metodologías abarcados por la presente invención.

Ejemplos

Ejemplo 1: Preparación de vector de plásmido de ADNc de VS pc3MerV2 Id-Trka (figura 3, SEQ-ID NO. 3)

Se llevó a cabo la preparación del vector de ADNc de virus del sarampión esencialmente tal como se describió recientemente (Inoue K, Shoji Y, Kurane I, Iijima T, Sakai T, Morimoto K. J Virol Methods. 2003;107:229-36; Martin A, Staeheli P, Schneider, U. J. Virol. 2006;80:5708-15), pero con las siguientes modificaciones importantes.

- inicialmente, no estaba claro (i) qué partes/segmentos de la secuencia del promotor de ARN polimerasa II (Pol II) de citomegalovirus (CMV) usado ampliamente debían considerarse como óptimos cuando se empleaban para el rescate y la amplificación de vectores de virus del sarampión recombinante y (ii) cuáles de los diferentes genomas de virus CMV descritos en GenBank (M60321, M21295) debía usarse para la generación de un promotor mínimo basado en CMV; por tanto, tuvo que realizarse en primer lugar un análisis sistemático sobre diferentes constructos de promotor derivado de CMV mínimo; los resultados de este estudio revelaron que el constructo variante de promotor pc3, que abarca los nucleótidos del promotor de CMV desde -301 hasta -1 (definiéndose +1 como sitio de iniciación de la transcripción) más tres nucleótidos (TGG) insertados adicionalmente tras la posición -1, proporcionó un rendimiento óptimo tanto en el rescate viral como en la amplificación de virus;

- esta versión muy corta del promotor derivado de citomegalovirus, que presenta sólo 301 más 3 nucleótidos (nt), proporciona la ventaja adicional de acortar la longitud global del plásmido que contiene el genoma de vector de virus del sarampión recombinante, lo que potencia la eficacia de replicación de plásmido;

- además, la ausencia de secuencias intrónicas en el promotor de CMV pc3 mínimo (301 nt + 3 nt) obstaculiza el direccionamiento de ARNm hacia la maquinaria de corte y empalme antes de exportar ARNm desde el núcleo; una eficacia de corte y empalme reducida de ese modo mejora tanto el rescate como la amplificación del virus del sarampión;

- además, la incorporación deliberada de una ribozima del virus de la hepatitis delta (VHD) situada en 3' se usó para procesar de manera exacta el extremo 3' de todos los transcritos.

La secuencia de pc3MerV2 Id-Trka (véase la figura 1) puede describirse tal como sigue con referencia a la posición de los nucleótidos (nt); UTR - región no traducida; ORF - marco de lectura abierto:

- nt 1 - 55: secuencia líder de VS

- nt 56 - 66: inicio del gen para la transcripción transgénica (secuencia de inicio del gen obtenida del gen N de VS)

- nt 67 - 103: 5'-UTR (secuencia 5'-UTR obtenida del gen N de VS)

- nt 103 - 108: sitio de clonación, que presenta un sitio de reconocimiento para la endonucleasa de restricción *XhoI* (C'TCGAG)

- nt 109 - 114: sitio de clonación, que presenta sitios de reconocimiento para la endonucleasa de restricción *Paul* (G'CGCGC) o *Ascl* (GG'CGCGCC); ambos sitios de reconocimiento representan sitios únicos que están presentes sólo una vez en la secuencia de vector completa

- nt 115 - 126: 3'-UTR derivada del gen N de VS

- nt 127 - 136: fin del gen para la transcripción transgénica (obtenido del gen N de VS)

- nt 140 - 150: inicio del gen de N de VS

- nt 192 - 1769: ORF de N (1578 nt = 525 aa + codón de terminación)

- nt 1891 - 3414: ORF de P (1524 nt = 507 aa + codón de terminación)

- nt 2036 - 2043: sitio de clonación en 3', que presenta un sitio de reconocimiento para la endonucleasa de restricción *SdaI* (CCTGCA'GG), sitio único que está presente sólo una vez en la secuencia de vector completa

ES 2 540 526 T3

- nt 1913 - 2473: ORF de C (gen no estructural; 561 nt = 186 aa + codón de terminación)

- nt 2575 - 2582: caja de edición A5G3; inserción de un único nucleótido (G) tras nt 2580

5 - nt 1891 - 2789: ORF transmarco de V tras edición de ARNm (gen no estructural; 900 nt = 299 aa + codón de terminación)

- nt 3522 - 4529: ORF de M (1008 nt = 335 aa + codón de terminación)

10 - nt 5533 - 7194: ORF de F (1662 nt = 553 aa + codón de terminación)

- nt 7355 - 9208: ORF de H (1854 nt = 617 aa + codón de terminación)

15 - nt 9318 - 15869: ORF de L (6552 nt = 2183 aa + codón de terminación)

- nt 15942 - 15978: secuencia remolque de VS (37 nt)

20 Ejemplo 2: Preparación de vector de plásmido de Id-SCD de VS (Id-SCD) pc3MerV2 Id-SCD (figura 4, SEQ-ID NO. 4)

Para la generación del vector del virus del sarampión Id-SCD de VS (Id-SCD) recombinante, se digirió el plásmido pUC-SCD, que codifica para el gen de fusión suicida SCD, con la endonucleasa de restricción *MluI* y se ligó el fragmento que contenía el marco de lectura abierto del gen de fusión suicida SCD en el vector básico pc3MerV2 Id-Trka (derivado del vector parental pc3 que abarca el promotor de ARN polimerasa II (Pol II) de CMV optimizado (acortado y modificado)) que se había linealizado con la endonucleasa de restricción *Ascl*. Se verificó la correcta integración del fragmento mediante un digesto de restricción y secuenciación. Se produjeron satisfactoriamente partículas virales infecciosas mediante el siguiente procedimiento de rescate.

30 pc3MerV2 Id-SCD (figura 4, SEQ-ID NO. 4). La secuencia de pc3MerV2 Id-SCD (véase la figura 2) puede describirse tal como sigue con referencia a la posición de los nt:

- nt 1 - 55: secuencia líder de VS

35 - nt 56 - 66: inicio del gen para la transcripción transgénica (secuencia de inicio del gen obtenida del gen N de VS)

- nt 67 - 103: 5'-UTR (secuencia 5'-UTR obtenida del gen N de VS)

40 - nt 103 - 108: sitio de clonación, que presenta un sitio de reconocimiento para la endonucleasa de restricción *XhoI* (C'TCGAG)

- nt 109 - 114: sitio de clonación, que presenta sitios de reconocimiento para la endonucleasa de restricción *Paul* (G'CGCGC) o *Ascl* (GG'CGCGCC); ambos sitios de reconocimiento representan sitios únicos que están presentes sólo una vez en la secuencia de vector completa

45 - nt 121 - 1242: ORF de SCD (1122 nt = 373 aa + codón de terminación)

- nt 1243 - 1248: sitios de clonación, que presentan sitios de reconocimiento para las endonucleasas de restricción *MluI* (A'CGCGT) + *Paul* (A'CGCGC)

50 - nt 1249 - 1260: 3'-UTR

- nt 1262 - 1270: fin del gen para la transcripción transgénica (obtenido del gen N de VS)

55 - nt 1274 - 1284: inicio del gen de N de VS

- nt 1326 - 2903: ORF de N (1578 nt = 525 aa + codón de terminación)

- nt 3025 - 4548: ORF de P (1524 nt = 507 aa + codón de terminación)

60 - nt 3047 - 3607: ORF de C (gen no estructural; 561 nt = 186 aa + codón de terminación)

- nt 3709 - 3716: caja de edición A5G3; inserción de un único nucleótido (G) tras nt 2580

65 - nt 3025 - 3923: ORF transmarco de V tras edición de ARNm (gen no estructural; 900 nt = 299 aa + codón de terminación)

- nt 4656 - 5663: ORF de M (1008 nt = 335 aa + codón de terminación)
- nt 6667 - 8328: ORF de F (1662 nt = 553 aa + codón de terminación)
- nt 8489 - 10342: ORF de H (1854 nt = 617 aa + codón de terminación)
- nt 10452 - 17003: ORF de L (6552 nt = 2183 aa + codón de terminación)
- nt 17076 - 17112: secuencia remolque de VS (37 nt)

Ejemplo 3: Preparación de plásmidos auxiliares (figuras 5 a 7, SEQ-ID NO. 5 a 7)

Se llevó a cabo la preparación de plásmidos auxiliares que portan o bien el gen N, el gen P o bien el gen L, respectivamente, esencialmente tal como se describió recientemente (Martin A, Staeheli P, Schneider U. J Virol. 2006;80:5708-15), pero con las siguientes modificaciones importantes:

- como resultado de un análisis sistemático de diferentes constructos de promotor derivado de CMV mínimo, el constructo variante de promotor pc3, que se encontró que proporcionaba un rendimiento óptimo tanto en el rescate viral como en la amplificación de virus, también se empleó para la generación de plásmidos auxiliares;
- la ausencia de secuencias intrónicas en el promotor de CMV pc3 mínimo (301 nt + 3 nt) obstaculiza el direccionamiento de ARNm hacia la maquinaria de corte y empalme antes de exportar ARNm desde el núcleo; una eficacia de corte y empalme reducida de este modo mejora tanto el rescate como la amplificación del virus del sarampión;
- además, la incorporación deliberada de una ribozima del virus de la hepatitis delta (VHD) situada en 3' se usó para procesar de manera exacta el extremo 3' de todos los transcritos;
- finalmente, se encontró que esta variante de promotor pc3 no sólo posibilitaba una transcripción mediada por Pol II eficaz del gen N, el gen P y el gen L del virus del sarampión, sino que transcritos del gen N, el gen P y el gen L del virus del sarampión también se exportan de manera eficaz desde el núcleo sin corte y empalme abundante de sitios de corte y empalme cripticos.

Ejemplo 4: Rescate de partículas de virus del sarampión del vector Id-SCD de VS (Id-SCD)

El día 0, se sembraron células Vero (ATCC CCL-81) en una placa de 6 pocillos a una densidad de 4×10^5 células/pocillo. El día 1, se transfectaron las células Vero usando las siguientes condiciones de transfección

se pipetearon 200 µl de medio DMEM en un tubo de 1,5 ml. Después, se añadieron las siguientes cantidades de ADN de plásmido:

Plásmido	Cantidad [µg]
pcDI-DsRed	0,1
pcDIMER-N	0,5
pcDIMER-P	0,1
pcDIMER-L	0,5
plásmido de longitud completa de VS	5,0

Tras mezclar, se centrifugó la mezcla y se añadieron 18,6 µl de FuGene HD (Roche) (es decir 3 µl de FuGene/1 µg de ADN) directamente al líquido. Tras agitar con vórtex, se centrifugó la mezcla. Se incubó la mezcla de reacción durante 25 min a temperatura ambiente.

Se lavaron las células dos veces con PBS. Tras la adición de 1,8 ml de DMEM + FCS al 2% + PS, se añadió la mezcla de transfección gota a gota a las células y se sacudió la placa.

Se incubó el cultivo celular a 37°C y CO₂ al 5%.

Los días 2 y 3 se cambió el medio (1 ml de DMEM + FCS al 2% + PS).

Cuando aparecieron sincitios (aproximadamente el día 4), se sembraron las células Vero en placas de 10 cm para su recubrimiento (un frasco T75 confluyente en 10 ml, sembrar aproximadamente 0,5 ml por placa).

Al día siguiente, se realizó un recubrimiento rascando células de rescate en el medio, pipeteando hacia arriba y hacia abajo gota a gota sobre células Vero.

Cuando aparecieron sincitios (aproximadamente 1 día tras el recubrimiento), se sembraron en placa 3×10^5 células Vero en una placa de 6 pocillos para el pase 0 del virus (P.0).

5 Al día siguiente se cogieron sincitios (2-3 por constructo). Se retiró el medio de la placa de 10 cm y se pipetearon 5-10 μ l de medio directamente sobre un sincitio. Pipeteando hacia arriba y hacia abajo y raspando, se extrajo el sincitio y se pipeteó sobre las células Vero nuevas en una placa de 6 pocillos.

Cuando aparecieron sincitios, se rasparon las células en el medio y se almacenaron a -80°C (= P.0).

10 Como resultado de nuestro procedimiento que emplea estos plásmidos que codifican para:

(a) el genoma de la cepa Schwartz de la vacuna contra el sarampión, y un gen suicida, que comprende una fusión de citosina desaminasa de levadura y uracilo fosforribosiltransferasa de levadura,

15 (b) el gen N auxiliar del virus del sarampión,

(c) el gen P auxiliar del virus del sarampión,

20 (d) el gen L auxiliar del virus del sarampión,

25 cada uno bajo el control de un promotor de ARN polimerasa II, pudo conseguirse un máximo de 16.000 puntos infecciosos (sincitios) en el pase 1 (P.1), lo que es mucho mayor en comparación con los resultados que expresan los mismos genomas y transgenes bajo el control de la ARN polimerasa de bacteriófago T7, produciendo sólo un máximo de 8.800 puntos infecciosos (sincitios) en P.1. Por tanto, se ha demostrado que el uso del sistema de promotor de ARN polimerasa II derivado de CMV da como resultado una producción altamente eficaz de partículas de virus del sarampión recombinante infecciosas.

Ejemplo 5: Ensayo de proliferación de tipo SRB de células HuCCT1, RBE y TFK-1

30 La figura 8 muestra los resultados de un ensayo de proliferación de tipo SRB de células HuCCT1, RBE y TFK-1 (células de colangiocarcinoma humano) tratadas con partículas virales de Id-SCD de VS rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD) e incubadas con el profármaco 5-FC.

35 En general, para el ensayo de proliferación de tipo SRB, se sembraron las células el día 0 y se infectaron tras 24 h con una MOI cualquiera de 0,001, 0,01, 0,1, 1 ó 10 (véanse los experimentos individuales y/o las figuras adjuntas) de partículas virales, y en el caso de tratamiento con profármaco, se añadió 5-FC 3 h tras la infección. El ensayo de tipo SRB se llevó a cabo 96 h tras la infección.

40 Por el contrario, cuando se infectaron células RBE o TFK-1 con Id-SCD de VS con una multiplicidad de infección de 1 (MOI 1) y luego se cultivaron sin la adición del profármaco 5-FC, se calculó que la pérdida de masa celular tras 96 h (medida mediante el ensayo de proliferación de tipo SRB) estaba en el intervalo del 58% (RBE) o el 86% (TFK-1) en comparación con células control no infectadas (establecidas a una masa celular del 100%), respectivamente (valores rodeados por el rectángulo situado en el lado izquierdo de la gráfica).

45 Las células HuCCT1 que se habían infectado con Id-SCD de VS (MOI 1) y luego se habían cultivado sin la adición del profármaco 5-FC mostraron una pérdida de masa celular tras 96 h sólo en el intervalo del 42% en comparación con células control no infectadas (establecidas a una masa celular del 100%). De este modo, las células HuCCT1 muestran una resistencia primaria al virus del sarampión de la técnica anterior (sin empleo de una función de gen suicida adicional). Sin embargo, cuando se cultivaron células HuCCT1 infectadas con Id-SCD de VS (MOI 1) con la adición del profármaco 5-FC (que oscilaba entre 10^{-4} y 10^0 mM) se mostró una pérdida de masa celular tras 96 h en un intervalo de hasta el 99% en comparación con células control no infectadas (establecidas a una masa celular del 100%). Por tanto, se demostró que podía superarse una resistencia primaria al virus del sarampión de la técnica anterior (sin emplear una función de gen suicida adicional) de células HuCCT1 a través del uso de la función de gen suicida de SCD que cataliza la generación de un fármaco citotóxico (5-FU y derivados) a partir de un profármaco no tóxico (5-FC).

Ejemplo 6: Ensayo de liberación de LDH de células HuCCT1, RBE y TFK-1

60 La figura 9 muestra los resultados de un ensayo de liberación de LDH de células HuCCT1, RBE y TFK-1 (células de colangiocarcinoma humano) tratadas con partículas virales de Id-SCD de VS rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD) e incubadas con el profármaco 5-FC.

65 Cuando se infectaron células RBE o TFK-1 con Id-SCD de VS a MOI 1 y luego se cultivaron sin la adición del profármaco 5-FC, se calculó que la liberación de la enzima LDH (usada en este caso como parámetro sustituto para la pérdida de integridad celular) tras 96 h (medida mediante el ensayo de liberación de LDH) estaba en el intervalo del 70% (RBE) o el 85% (TFK-1) en comparación con células control no infectadas que estaban completamente

lisadas por el tratamiento con el detergente Triton X-100 (establecido a una liberación de LDH del 100%), respectivamente (valores rodeados por el rectángulo situado en el lado izquierdo de las gráficas).

5 Por el contrario, las células HuCCT1 que se habían infectado con Id-SCD de VS (MOI 1) y luego se habían cultivado sin la adición del profármaco 5-FC mostraron una liberación de la enzima LDH tras 96 h sólo en el intervalo del 31% en comparación con células control no infectadas, respectivamente. De este modo, se demostró de nuevo que las células HuCCT1 muestran una resistencia primaria al virus del sarampión de la técnica anterior (sin emplear una función de gen suicida adicional). Sin embargo, cuando se cultivaron células HuCCT1 infectadas con Id-SCD de VS
10 (MOI 1) con la adición del profármaco 5-FC (que oscilaba entre 10^{-4} y 10^0 mM) se mostró un aumento altamente significativo en la liberación de la enzima LDH tras 96 h en un intervalo de hasta el 82% en comparación con células control no infectadas (establecidas a una masa celular del 100%), respectivamente.

15 Por tanto, se demostró de nuevo que podía superarse una resistencia primaria al virus del sarampión de la técnica anterior (sin emplear una función de gen suicida adicional) de células HuCCT1 a través del uso de la función de gen suicida de SCD.

Ejemplo 7: Ensayo de proliferación de tipo SRB de células SAS y HTB- 43 FaDu

20 La figura 10 muestra los resultados de un ensayo de proliferación de tipo SRB de células SAS y HTB-43 FaDu (células de cáncer de cabeza y cuello (H&N) humano) tratadas con partículas virales de Id-SCD de VS rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD) e incubadas con el profármaco 5-FC.

25 Cuando se infectaron células HTB-43 FaDu con Id-SCD de VS a MOI 1 y luego se cultivaron sin la adición del profármaco 5-FC, se calculó que la pérdida de masa celular tras 96 h estaba en el intervalo del 66% en comparación con células control no infectadas (valores rodeados por el rectángulo situado en el lado izquierdo de las gráficas).

30 Por el contrario, las células SAS que se habían infectado con Id-SCD de VS (MOI 1) y luego se habían cultivado sin la adición del profármaco 5-FC no mostraron ninguna pérdida de masa celular en absoluto (0%) tras 96 h en comparación con células control no infectadas. De este modo, las células SAS muestran una resistencia primaria al virus del sarampión de la técnica anterior (sin emplear una función de gen suicida adicional). Sin embargo, cuando se cultivaron células SAS infectadas con Id-SCD de VS (MOI 1) con la adición del profármaco 5-FC (que oscila entre 10^{-4} y 10^0 mM) se mostró una pérdida de masa celular tras 96 h en el intervalo de hasta el 83% en comparación con células control no infectadas, respectivamente.

35 Por tanto, se demostró que podía superarse una resistencia primaria al virus del sarampión de la técnica anterior (sin emplear una función de gen suicida adicional) de células SAS a través del uso de la función de gen suicida de SCD.

Ejemplo 8: Ensayo de liberación de LDH de células SAS y HTB-43 FaDu

40 La figura 11 muestra los resultados de un ensayo de liberación de LDH de células SAS y HTB-43 FaDu (células de cáncer de H&N humano) tratadas con partículas virales de Id-SCD de VS rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD) e incubadas con el profármaco 5-FC.

45 Cuando se infectaron células HTB-43 FaDu con Id-SCD de VS a MOI 1 y luego se cultivaron sin la adición del profármaco 5-FC, se calculó que la liberación de la enzima LDH tras 96 h estaba en el intervalo del 16% en comparación con células control no infectadas que estaban completamente lisadas por el tratamiento con el detergente Triton X-100, respectivamente (valores rodeados por el rectángulo situado en el lado izquierdo de las gráficas).

50 Las células SAS que se habían infectado con Id-SCD de VS (MOI 1) y luego se habían cultivado sin la adición del profármaco 5-FC mostraron una liberación de la enzima LDH tras 96 h sólo en el intervalo del 18% en comparación con células control no infectadas, respectivamente. Sin embargo, cuando se cultivaron células SAS infectadas con Id-SCD de VS (MOI 1) con la adición del profármaco 5-FC (que oscilaba entre $10E-4$ y $10E0$ mM) se mostró un fuerte aumento en la liberación de la enzima LDH tras 96 h en un intervalo de hasta el 38% en comparación con
55 células control no infectadas (establecidas a una masa celular del 100%).

60 Por tanto, se demostró de nuevo que podía superarse una resistencia primaria al virus del sarampión de la técnica anterior (sin emplear una función de gen suicida adicional) de células SAS a través del uso de la función de gen suicida de SCD.

Ejemplo 9: Ensayo de proliferación de tipo SRB de células A 673, BRZ y SRH

65 La figura 12 muestra los resultados de un ensayo de proliferación de tipo SRB de células A 673, BRZ y SRH (células de sarcoma humano) tratadas con partículas virales de Id-SCD de VS rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD) e incubadas con el profármaco 5-FC.

Cuando se infectaron células A 673 o BRZ con Id-SCD de VS a MOI 1 y luego se cultivaron sin la adición del profármaco 5-FC, se calculó que la pérdida de masa celular tras 96 h estaba en el intervalo del 96% o el 75%, respectivamente, en comparación con células control no infectadas (valores rodeados por el rectángulo situado en el lado izquierdo de las gráficas).

5 Por el contrario, las células SRH que se habían infectado con Id-SCD de VS (MOI 1) y luego se habían cultivado sin la adición del profármaco 5-FC mostraron una pérdida de masa celular tras 96 h sólo en el intervalo del 10% en comparación con células control no infectadas. De este modo, las células SRH muestran una resistencia primaria al virus del sarampión de la técnica anterior (sin emplear una función de gen suicida adicional). Sin embargo, cuando
10 se cultivaron células SRH infectadas con Id-SCD de VS (MOI 1) con la adición del profármaco 5-FC (que oscilaba entre 10^{-4} y 10^0 mM) se mostró una pérdida de masa celular tras 96 h en el intervalo de hasta el 55% en comparación con células control no infectadas.

15 Por tanto, se demostró que podía mejorarse significativamente una resistencia primaria al virus del sarampión de la técnica anterior (sin emplear una función de gen suicida adicional) de células SAS, pero no superarse aún en las condiciones elegidas (MOI 1) a través del uso de la función de gen suicida de SCD.

Ejemplo 10: Ensayo de liberación de LDH de células A 673 y SRH

20 La figura 13 muestra los resultados de un ensayo de liberación de LDH de células A 673 y SRH (células de sarcoma humano) tratadas con partículas virales de Id-SCD de VS rescatadas de pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD) e incubadas con el profármaco 5-FC.

25 Cuando se infectaron células A 673 con Id-SCD de VS a MOI 1 y luego se cultivaron sin la adición del profármaco 5-FC, se calculó que la liberación de la enzima LDH tras 96 h estaba en el intervalo del 54% en comparación con células control no infectadas que estaban completamente lisadas por el tratamiento con el detergente Triton X-100 (valores rodeados por el rectángulo situado en el lado izquierdo de las gráficas).

30 Las células SRH que se habían infectado con Id-SCD de VS (MOI 1) y luego se habían cultivado sin la adición del profármaco 5-FC mostraron una liberación de la enzima LDH tras 96 h sólo en el intervalo del 23% en comparación con células control no infectadas. Obsérvese que, cuando se cultivaron células SRH infectadas con Id-SCD de VS (MOI 1) con la adición del profármaco 5-FC (que oscilaba entre 10^{-4} y 10^0 mM), se mostraba un aumento en la liberación de la enzima LDH del 31% tras 96 h en comparación con células control no infectadas (establecidas a una masa celular del 100%).

35 Por tanto, se demostró que aún no podía superarse suficientemente una resistencia primaria al virus del sarampión de la técnica anterior (sin emplear una función de gen suicida adicional) de células SRH en las condiciones elegidas (MOI 1) a través del uso de la función de gen suicida de SCD.

Ejemplo 11: Ensayo de proliferación de tipo SRB de SRH células

40 La figura 14 muestra los resultados de un ensayo de proliferación de tipo SRB de células SRH tratadas con partículas virales de Id-SCD de VS rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD) a una MOI elevada de 10 (habitualmente, se usa una MOI de 1; en este caso se empleó el aumento en la "carga viral" para superar los
45 fenómenos de resistencia observados a MOI 1 en presencia del profármaco 5-FC).

50 Las células SRH que se habían infectado con Id-SCD de VS a MOI 10 y luego se habían cultivado sin la adición del profármaco 5-FC mostraron una pérdida de masa celular tras 96 h en el intervalo del 68% ahora en comparación con células control no infectadas, que está mejorado significativamente en comparación con los resultados obtenidos a MOI 1, a la que sólo se obtuvo un 28% de pérdida de masa celular en comparación con células control no infectadas. Además, cuando se cultivaron células SRH infectadas con Id-SCD de VS (MOI 10) con la adición del profármaco 5-FC (que oscilaba entre 10^{-4} y 10^0 mM) se mostró una pérdida de masa celular tras 96 h en el intervalo de hasta el 89% en comparación con células control no infectadas.

55 Por tanto, se demostró que podía superarse una resistencia primaria al virus del sarampión de la técnica anterior (sin emplear una función de gen suicida adicional) de células SRH en las condiciones elegidas (MOI 10) a través del uso adicional de la función de gen suicida de SCD.

Ejemplo 12: Ensayo de proliferación de tipo SRB de células tumorales de sarcoma (líneas celulares CCS, LM)

60 La figura 15 muestra los resultados de un ensayo de proliferación de tipo SRB de células tumorales de sarcoma (líneas celulares CCS, LM) tratadas con partículas virales rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD) e incubadas con el profármaco 5-FC.

65 Las células CCS o LM que se habían infectado con vector Id-SCD de VS a MOI 1 y luego se habían cultivado sin la adición del profármaco 5-FC mostraron una pérdida de masa celular tras 96 h en el intervalo del 5% o el 25%,

respectivamente, en comparación con células control no infectadas (valores rodeados por el rectángulo situado en el lado izquierdo de las gráficas). Por tanto, las células tanto CCS como LM muestran una resistencia primaria al virus del sarampión de la técnica anterior (sin emplear una función de gen suicida adicional). Sin embargo, cuando se cultivaron células CCS o LM infectadas con Id-SCD de VS (MOI 1) con la adición del profármaco 5-FC (que oscilaba entre 10^{-4} y 10^0 mM) se mostró una pérdida de masa celular tras 96 h en el intervalo de hasta el 79% o el 94%, respectivamente, en comparación con células control no infectadas.

Por tanto, se demostró que podía mejorarse fuertemente una resistencia primaria al virus del sarampión de la técnica anterior (sin emplear una función de gen suicida adicional) de células CCS y LM, y en el caso de células LM casi superarse completamente en las condiciones elegidas (MOI 1) a través del uso de la función de gen suicida de SCD.

Ejemplo 13: Ensayo de proliferación de tipo SRB de células tumorales de sarcoma (líneas celulares STO, ZAF, KD)

La figura 16 muestra los resultados de un ensayo de proliferación de tipo SRB de células tumorales de sarcoma (líneas celulares STO, ZAF, KD) tratadas con partículas virales de Id-SCD de VS rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD) e incubadas con el profármaco 5-FC.

Cuando se infectaron células STO, ZAF o KD con Id-SCD de VS a MOI 1 y luego se cultivaron sin la adición del profármaco 5-FC, se calculó que la pérdida de masa celular tras 96 h estaba en el intervalo del 76%, el 87% o el 94%, respectivamente, en comparación con células control no infectadas (valores rodeados por el rectángulo situado en el lado izquierdo de las gráficas).

Por tanto, las células STO, ZAF o KD no mostraban una resistencia primaria al virus del sarampión de la técnica anterior (sin emplear una función de gen suicida adicional). Cuando se cultivaron células STO, ZAF o KD infectadas con Id-SCD de VS (MOI 1) con la adición del profármaco 5-FC (que oscilaba entre 10^{-4} y 10^0 mM) se mostró una pérdida de masa celular tras 96 h en el intervalo de hasta el 94%, el 99% o el 98%, respectivamente, en comparación con células control no infectadas.

Ejemplo 14: Ensayo de proliferación de tipo SRB de células tumorales de sarcoma (líneas celulares CCS, LM)

La figura 17 muestra los resultados de un ensayo de proliferación de tipo SRB de células tumorales de glioblastoma (líneas celulares LNT 229, LNT 229 CTS-1) tratadas con partículas virales de Id-SCD de VS rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD) e incubadas con el profármaco 5-FC.

Las células LNT 229 o LNT 229 CTS-1 que se habían infectado con Id-SCD de VS a MOI 1 y luego se habían cultivado sin la adición del profármaco 5-FC mostraron una pérdida de masa celular tras 96 h en el intervalo del 56% o el 27%, respectivamente, en comparación con células control no infectadas (valores rodeados por el rectángulo situado en el lado izquierdo de las gráficas). Por tanto, las células tanto LNT 229 como LNT 229 CTS-1 muestran una resistencia primaria al virus del sarampión de la técnica anterior (sin emplear una función de gen suicida adicional). Sin embargo, cuando se cultivaron células LNT 229 o LNT 229 CTS-1 infectadas con Id-SCD de VS (MOI 1) con la adición del profármaco 5-FC (que oscilaba entre 10^{-4} y 10^0 mM) se mostró una pérdida de masa celular tras 96 h en el intervalo de hasta el 97% o el 96%, respectivamente, en comparación con células control no infectadas.

Por tanto, se demostró que podía superarse casi completamente una resistencia primaria al virus del sarampión de la técnica anterior (sin emplear una función de gen suicida adicional) de células LNT 229 o LNT 229 CTS-1 en las condiciones elegidas (MOI 1) a través del uso de la función de gen suicida de SCD.

Ejemplo 15: Ensayo de proliferación de tipo SRB de células tumorales de glioblastoma (líneas celulares LN 18, LN 18 resistente a la apoptosis)

La figura 18 muestra los resultados de un ensayo de proliferación de tipo SRB de células tumorales de glioblastoma (líneas celulares LN 18, LN 18 resistente a la apoptosis) tratadas con partículas virales de Id-SCD de VS rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD) e incubadas con el profármaco 5-FC.

Las células LN 18 o LN 18 resistentes a la apoptosis que se habían infectado con Id-SCD de VS a MOI 1 y luego se habían cultivado sin la adición del profármaco 5-FC mostraron una pérdida de masa celular tras 96 h en el intervalo del 33% o el 22%, respectivamente, en comparación con células control no infectadas (valores rodeados por el rectángulo situado en el lado izquierdo de las gráficas). Por tanto, las células tanto LN 18 como LN 18 resistentes a la apoptosis muestran una resistencia primaria al virus del sarampión de la técnica anterior (sin emplear una función de gen suicida adicional). Sin embargo, cuando se cultivaron células LN 18 o LN 18 resistentes a la apoptosis infectadas con Id-SCD de VS (MOI 1) con la adición del profármaco 5-FC (que oscilaba entre 10^{-4} y 10^0 mM) se mostró una pérdida de masa celular tras 96 h en el intervalo de hasta el 97% o el 83%, respectivamente, en comparación con células control no infectadas.

Por tanto, se demostró que podía mejorarse fuertemente una resistencia primaria al virus del sarampión de la

técnica anterior (sin emplear una función de gen suicida adicional) de células LN 18 o LN 18 resistentes a la apoptosis, y en el caso de células LN 18 casi superarse completamente en las condiciones elegidas (MOI 1) a través del uso de la función de gen suicida de SCD.

5 Ejemplo 16: Ensayo de proliferación de tipo SRB de células tumorales de carcinoma de células renales (ACHN), adenocarcinoma pulmonar (HOP- 62) y melanoma (M14)

10 La figura 19 muestra los resultados de un ensayo de proliferación de tipo SRB de células tumorales de carcinoma de células renales (ACHN), adenocarcinoma pulmonar (HOP-62) y melanoma (M14) tratadas con partículas virales de Id-SCD de VS rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD) e incubadas con el profármaco 5-FC.

15 Las células ACHN, HOP-62 o M14 que se habían infectado con Id-SCD de VS a MOI 1 y luego se habían cultivado sin la adición del profármaco 5-FC mostraron una pérdida de masa celular tras 96 h en el intervalo del 20%, el 16% o el 16%, respectivamente, en comparación con células control no infectadas. Por tanto, las células ACHN, HOP-62 y M14 muestran una resistencia primaria al virus del sarampión de la técnica anterior (sin emplear una función de gen suicida adicional). Sin embargo, cuando se cultivaron células ACHN, HOP-62 o M14 infectadas con Id-SCD de VS (MOI 1) con la adición de profármaco 5-FC 1 mM, se mostró una pérdida de masa celular tras 96 h en el intervalo de hasta el 85%, el 86% o el 76%, respectivamente, en comparación con células control no infectadas.

20 Por tanto, se demostró que podía mejorarse fuertemente una resistencia primaria al virus del sarampión de la técnica anterior (sin emplear una función de gen suicida adicional) de células ACHN, HOP-62 y M14 en las condiciones elegidas (MOI 1) a través del uso de la función de gen suicida de SCD.

25 Ejemplo 17: Ensayo de proliferación de tipo SRB de células tumorales de adenocarcinoma de colon (líneas celulares KM-12, HCT-15)

30 La figura 20 muestra los resultados de un ensayo de proliferación de tipo SRB de células tumorales de adenocarcinoma de colon (líneas celulares KM-12, HCT-15) tratadas con partículas virales rescatadas del plásmido pc3MerV2 Id-SCD (Id-SCD) e incubadas con el profármaco 5-FC.

35 Las células KM-12 o HCT-15 que se habían infectado con vector Id-SCD de VS a MOI 1 y luego se habían cultivado sin la adición del profármaco 5-FC mostraron una pérdida de masa celular tras 96 h en el intervalo del 13% o el 2%, respectivamente, en comparación con células control no infectadas (valores rodeados por el rectángulo situado en el lado izquierdo de las gráficas). Por tanto, las células tanto KM-12 como HCT-15 muestran una resistencia primaria al virus del sarampión de la técnica anterior (sin emplear una función de gen suicida adicional). Sin embargo, cuando se cultivaron células KM-12 o HCT-15 infectadas con Id-SCD de VS (MOI 1) con la adición de profármaco 5-FC 1 mM, se mostró una pérdida de masa celular tras 96 h en el intervalo de hasta el 94% o el 65%, respectivamente, en comparación con células control no infectadas.

40 Por tanto, se demostró que podía mejorarse fuertemente una resistencia primaria al virus del sarampión de la técnica anterior (sin emplear una función de gen suicida adicional) de células KM-12 o HCT-15, y en el caso de células KM-12 casi superarse completamente en las condiciones elegidas (MOI 1) a través del uso de la función de gen suicida de SCD.

45 Ejemplo 18: Construcción de vectores virales alternativos

50 Se construyeron tres vectores que diferían en su matriz de gen suicida con respecto al (i) posicionamiento dentro del genoma del virus del sarampión así como (ii) su contexto de expresión génica de SCD (en este caso en el contexto de un gen de fusión; es decir con la proteína VP22 del tegumento del virus del herpes simple tipo 1 (VHS-1) que media en la función de propagación proteica de proteínas de fusión) (véase la figura 27).

55 Como la posición en el genoma en el que se inserta un transgén en el genoma del virus del sarampión afecta tanto a la replicación viral como a la expresión transgénica, se compararon dos versiones de posicionamiento del transgén de la super-citosina desaminasa (SCD). Posición en el genoma uno para SCD en el vector pc3MerV2 Id-SCD, posición en el genoma tres para SCD en el vector pMerV2 P-SCD.

60 Adicionalmente, se construyó un tercer vector, vector pc3MerV2 Id-VP22SCD, y se comparó con los otros dos vectores. En la posición en el genoma uno, este vector pc3MerV2 Id-VP22SCD expresa una fusión del transgén de SCD con el gen de la proteína VP22 del tegumento del virus del herpes simple tipo 1 (VHS-1), que media en la función de propagación proteica de proteínas de fusión (en este caso: VP22SCD) de células de expresión a células vecinas, que no se han infectado hasta el momento con estas partículas virales Id-VP22SCD de VS rescatadas del vector pc3MerV2 Id-VP22SCD, haciendo por tanto que sea una herramienta prometedora para la compensación de eficacias de transferencia de vector primarias inadecuadas.

65 DETALLES de la construcción de pc3MerV2 Id-VP22SCD: Para generar de nuevo un tercer virus de vacuna contra el sarampión reforzado (Id-VP22SCD de VS), se usó el plásmido pc3MerV2 Id-Trka como base de partida. Este

plásmido codifica para el ADNc viral con una identidad del 100% con la cepa Schwarz de vacuna y contiene una unidad de transcripción adicional vacía (ATU o Trka, casete de transcripción) entre la secuencia líder y el gen N. Esta unidad de transcripción adicional contiene todas las secuencias reguladoras necesarias para la expresión de un transgén del genoma viral. La secuencia de inicio del gen y la de fin del gen y las regiones no traducidas son idénticas a las del gen N. Pueden insertarse transgenes por medio de sitios de enzima de restricción XhoI o Paul.

El marco de lectura abierto (ORF) para VP22SCD se derivó del plásmido pUC29-VP22SCD. Dado que este ORF contiene dos sitios de restricción Sall y como lo más probablemente las etapas de clonación adicionales en el constructo de longitud completa de VS se llevarían a cabo por medio de Sall, estos sitios de restricción tuvieron que eliminarse en primer lugar mediante mutagénesis dirigida al sitio. Como el ORF ya estaba flanqueado por sitios MluI lo que produce extremos terminales idénticos a los producidos por Paul, y como el fragmento MluI-MluI derivado de este plásmido ya contenía el número correcto de nucleótidos para producir un genoma de VS según la regla de seis, fue posible insertar este fragmento en el ADNc de VS tras la eliminación de los sitios Sall sin ninguna modificación adicional. Por tanto, la estrategia de clonación estaba compuesta por tres etapas:

- Eliminación de los sitios Sall mediante mutagénesis dirigida al sitio
- Inserción de VP22SCD en pc3MerV2 Id-Trka
- Rescate del virus

Eliminación de los sitios Sall: Se aplicaron dos rondas de una mutagénesis de un único sitio. En la primera ronda, se eliminó satisfactoriamente el sitio Sall en la posición 802, tal como se muestra mediante análisis de restricción. Entonces se digirió mediante DpnI el plásmido producido y se amplificó en bacterias supercompetentes XL-1 blue y se usó como molde para la segunda ronda de mutagénesis, en la que se eliminó el sitio en la posición 1127, tal como se muestra de nuevo mediante análisis de restricción. Se verificó la eliminación de ambos sitios así como la secuencia correcta del ORF mediante secuenciación. El plásmido resultante se denominó pUC29-VP22SCD_w/oSall.

Inserción de VP22SCD en pc3MerV2 Id-Trka: Se digirió con Paul el plásmido receptor pc3MerV2 Id-Trka. Para evitar la cizalladura mecánica del plásmido de ~20 kb, no se purificó en gel el plásmido linealizado. Se inactivó térmicamente la enzima de restricción y se desfosforiló el fragmento de ADN y se sometió directamente a ligación. Se digirió con MluI pUC29-VP22SCD_w/oSall, se purificó en gel y sometió a ligación. Se mostró la inserción satisfactoria del transgén mediante el digesto de HindIII y mediante secuenciación. El plásmido resultante se denominó pc3MerV2 Id-VP22SCD.

Ejemplo 19: Comparación de vectores virales alternativos

Se compararon los tres vectores virales diferentes sintetizados tal como se describió en el ejemplo 18 con el objetivo de identificar el más eficaz (véanse las figuras 21 a 23).

La figura 21 muestra el efecto de partículas virales de Id-SCD de VS, Id-VP22SCD de VS y P-SCD de VS en células de carcinoma hepatocelular humano Hep3B.

Se infectaron las células Hep3B a una MOI de 0,001 ó 0,01 con partículas virales rescatadas de pc3MerV2 Id-SCD, pMerV2 P-SCD y pc3MerV2 Id-VP22SCD, y se determinó la masa celular tumoral o bien en presencia de 1 mM o bien en ausencia de 5-FC a lo largo del tiempo.

Como puede observarse, las partículas virales rescatadas de pc3MerV2 Id-SCD mostraban un potencial oncolítico drásticamente superior incluso en ausencia de 5-FC en el caso de una MOI de 0,01, y conducían a una pérdida casi completa de la masa celular tumoral tras 6 días incluso en el caso de una MOI de 0,001 en presencia de 5-FC.

La figura 22 muestra el efecto de partículas virales rescatadas de vectores pc3MerV2 Id-SCD, pMerV2 P-SCD y pc3MerV2 Id-VP22SCD en células de carcinoma hepatocelular humano HepG2.

Se infectaron las células HepG2 a una MOI de 0,001 o 0,01 con partículas virales rescatadas de pc3MerV2 Id-SCD, pMerV2 P-SCD y pc3MerV2 Id-VP22SCD, y se determinó la masa celular tumoral o bien en presencia de 1 mM o bien en ausencia de 5-FC a lo largo del tiempo.

Como puede observarse, las partículas virales de Id-SCD de VS mostraban un potencial oncolítico sustancialmente superior incluso en ausencia de 5-FC en el caso de una MOI de 0,01, y conducían a una pérdida de masa celular tumoral sustancialmente superior tras 6 días incluso en el caso de una MOI de 0,001 en presencia de 5-FC.

La figura 23 muestra el efecto de partículas virales rescatadas de vectores pc3MerV2 Id-SCD, pMerV2 P-SCD y pc3MerV2 Id-VP22SCD sobre células de carcinoma hepatocelular humano PLC/PRF/5.

Se infectaron las células PLC/PRF/5 a una MOI de 0,001 ó 0,01 con partículas virales rescatadas de vectores pc3MerV2 Id-SCD, pMerV2 P-SCD y pc3MerV2 Id-VP22SCD, y se determinó la masa celular tumoral o bien en presencia de 1 mM o bien en ausencia de 5-FC a lo largo del tiempo.

5 Como puede observarse, las partículas virales rescatadas de vector pc3MerV2 Id-SCD mostraban un potencial oncolítico sustancialmente superior incluso en ausencia de 5-FC en el caso de una MOI de 0,01, y conducían a una pérdida de masa celular tumoral sustancialmente superior tras 6 días incluso en el caso de una MOI de 0,001 en presencia de 5-FC.

10 Por tanto, se encontró sorprendentemente que el posicionamiento del gen suicida de SCD dentro del genoma del virus del sarampión así como el contexto de la expresión génica de SCD tenían una fuerte influencia sobre la actividad oncolítica de las partículas virales, siendo las partículas del vector pc3MerV2 Id-SCD sustancialmente mejores que las partículas rescatadas de los vectores pMerV2 P-SCD y pc3MerV2 Id-VP22SCD.

15 Ejemplo 20: Caracterización *in vivo* de vectores reforzados en modelos de tumor animal de xenoinjerto

Para someter a prueba los vectores reforzados pc3MerV2 Id-SCD, pMerV2 P-SCD y pc3MerV2 Id-VP22SCD *in vivo*, se aplicó un modelo de xenoinjerto murino de HCC humano. Como el virus del sarampión no infecta las células murinas, no es posible usar un modelo murino con tumores singénicos para someter a prueba vectores sin modificaciones especiales de las glicoproteínas de superficie.

Para comparar los vectores reforzados, se eligió un modelo de ratón de tumores Hep3B que se habían hecho crecer de manera subcutánea. Esta decisión se basó en los hechos de (i) que Hep3B puede infectarse eficazmente con VS y soportar la replicación de VS a altos niveles, (ii) que en Hep3B, la conversión de 5-FC en 5-FU es rápida y eficaz, y
 25 (iii) que a lo largo de una incubación de 1 - 4 días tras la adición del profármaco a células infectadas, puede observarse una diferencia creciente entre el tratamiento con virus solo y el tratamiento de combinación. De manera adicional, anteriormente se ha descrito un modelo de ratón de Hep3B (Blechacz B, Splinter PL, Greiner S, Myers R, Peng KW, Federspiel MJ, Russell SJ, La-Russo NF. Hepatology. Diciembre de 2006;44(6):1465-77) con una alta proporción de injerto (80%, comunicación personal con Boris Blechacz, Mayo Clinic, Rochester, MN, EE.UU.). Por el
 30 contrario, esta proporción es mucho menor en PLC/PRF/5 (60%) y en HepG2, ambas determinadas en nuestro laboratorio.

Para este experimento *in vivo*, ratones atímicos de seis semanas de edad recibieron inyecciones subcutáneas de 100 µl de una suspensión celular que contenía 10⁶ células Hep3B en PBS. Como era de esperar, las células se injertaron en el 80% de los ratones, aunque se encontró que la duración entre la implantación de las células tumorales y la aparición de los tumores era bastante heterogénea. Los tumores estaban muy bien vascularizados y tenían un aspecto azul a través de la piel desnuda de los ratones. Después de que los tumores hubiesen crecido hasta un diámetro de aproximadamente 5 mm, los ratones recibieron cinco inyecciones intratumorales del respectivo virus (Id-SCD de VS, Id-VP22SCD de VS o P-SCD de VS) con 2*10⁶ ufp por inyección y una inyección diariamente
 40 (dosis total: 10⁷ ufp). Se trataron los grupos control con medio sólo. En los siete días siguientes, los ratones recibieron 500 mg/kg de peso corporal de 5-FC en PBS por vía intraperitoneal. Se determinaron el volumen y el peso tumoral de los animales tres veces a la semana.

Para garantizar que el programa de tratamiento descrito anteriormente no conduce a toxicidades, se monitorizaron los ratones diariamente y se determinó el peso tres veces a la semana. El tratamiento combinatorio (VS-SCD + 5-FC) nunca condujo a ningún cambio visible en el comportamiento de los animales, ni mostraron reacciones como la sensibilidad aumentada al tacto. La piel de los ratones parecía sana, no se observaron cambios en sus comportamientos de movimiento o de alimentación y su peso permaneció estable.

50 El tratamiento de ratones que portan tumores con la terapia con genes suicidas tanto reduce el volumen tumoral como prolonga la supervivencia significativamente.

Como resultado de las pruebas *in vivo*, pudo documentarse un fuerte efecto oncolítico de cualquiera de los virus. Como era de esperar, la administración del profármaco solo no tuvo ningún efecto: la inyección de 5-FC en ratones tratados con virus no condujo a un desenlace alterado en comparación con el tratamiento con virus solo, pero lo que es más importante tampoco inhibió los efectos mediados por virus por una anulación temprana de la replicación del virus. Adicionalmente, no se observaron diferencias oncolíticas significativas entre los tres vectores. En este entorno experimental, el efecto directo del virus de la vacuna contra el sarampión oncolítico parece ser altamente eficaz, de modo que la aplicación adicional de 5-FC no conduce a una oncólisis potenciada o a ningún beneficio con respecto a la supervivencia. La supervivencia de los ratones mejoró significativamente mediante todos los tratamientos en comparación con los controles. La mediana de la supervivencia de los ratones tratados con control fue de 35 días y la de los ratones tratados con 5-FC sólo fue de 32 días (véase la figura 24). Todos los ratones de estos grupos tuvieron que sacrificarse antes del día 50. Por el contrario, la mediana de la supervivencia en los grupos de tratamiento osciló entre 49 días (sólo P-SCD de VS) y 82,5 días (sólo Id-SCD de VS) (véase la figura 24). Los
 65 ratones de ambos grupos tratados con P-SCD de VS se sacrificaron antes del día 100, mientras que seis ratones de los otros grupos de tratamiento sobrevivieron libres de tumor más de 150 días (en cada caso 1 ratón para sólo Id-

SCD de VS e Id-VP22SCD de VS + 5-FC; en cada caso dos ratones para Id-SCD de VS + 5-FC y para sólo Id-VP22SCD de VS). Algunos ratones de diferentes grupos de tratamiento desarrollaron un tumor secundario visible y palpable dentro de la cavidad peritoneal. Como esto se consideró un fallo del tratamiento, estos ratones no se excluyeron del análisis estadístico.

5 En todos los grupos de tratamiento, se observaron tumores con diferentes comportamientos de crecimiento. Algunos tumores crecieron muy rápidamente y alcanzaron el punto final definido de $> 2000 \text{ mm}^3$ aproximadamente en el día 30 tras el inicio del tratamiento, que era similar a los ratones tratados con control. Otros varios ratones tuvieron un crecimiento tumoral retardado, con un volumen tumoral bajo en las primeras semanas tras el inicio del tratamiento, pero finalmente, sus tumores comenzaron de nuevo a crecer y alcanzaron el volumen de punto final. Algunos otros tumores desaparecieron completamente y los ratones estuvieron libres de tumor durante más de 195 días. Este comportamiento diferencial se muestra a modo de ejemplo para ambos grupos de tratamiento con Id-SCD de VS. Además, algunos tumores tuvieron un comportamiento de crecimiento oscilante, que se debía probablemente a una replicación del virus que reduce el volumen tumoral, seguida por el crecimiento de las células tumorales restantes, ofreciendo al virus una nueva base para la replicación, conduciendo de nuevo a oncólisis y remisión del tumor. Esta contracción y crecimiento del tumor iba acompañado de la pérdida y la recuperación de la vascularización tumoral tal como se detecta mediante el brillo de color azul a través de la piel de los ratones. En el ejemplo mostrado en este caso, el tumor desapareció en última instancia el día 91. Se consideró este crecimiento oscilante como una primera pista de una replicación de virus a largo plazo en tumores.

20 Se obtuvieron resultados similares con modelos animales de xenoinjerto adicionales (células de carcinoma hepatocelular humano HepG2 y células de carcinoma hepatocelular humano PLC/PRF/5): véanse las figuras 25 y 26, respectivamente.

25 **Lista de secuencias**

SEQ-ID NO. 1: secuencia genética de la cepa Schwartz de la vacuna contra el sarampión (véase la figura 1)

30 SEQ-ID NO. 2: secuencia genética de la fusión de citosina desaminasa de levadura y uracilo fosforribosiltransferasa de levadura (con secuencia ligadora) (véase la figura 2)

SEQ-ID NO. 3: secuencia genética del virus del sarampión recombinante básico sin ningún transgén pero con casetes de inserción (véase la figura 3)

35 SEQ-ID NO. 4: secuencia genética del vector pc3MerV2 Id-SCD (véase la figura 4)

SEQ-ID NO. 5: secuencia genética del plásmido auxiliar requerido para la expresión del gen N (véase la figura 5)

40 SEQ-ID NO. 6: secuencia genética del plásmido auxiliar requerido para la expresión del gen P (véase la figura 6)

SEQ-ID NO. 7: secuencia genética del plásmido auxiliar requerido para la expresión del gen L (véase la figura 7)

SEQ-ID NO. 8: secuencia genética del vector pMerV2 P-SCD, (véase la figura 28)

45 SEQ-ID NO. 9: secuencia genética del vector pc3MerV2 Id-VP22SCD (véase la figura 29)

REIVINDICACIONES

1. Virus del sarampión recombinante basado en la cepa Schwartz de la vacuna contra el sarampión que codifica para un gen suicida que comprende una fusión de una citosina desaminasa, particularmente citosina desaminasa de levadura, y una uracilo fosforribosiltransferasa, particularmente uracilo fosforribosiltransferasa de levadura, particularmente en el que dicho gen suicida comprende una secuencia mostrada en la figura 2, particularmente en el que dicho virus del sarampión recombinante comprende una secuencia de ARN mostrada en la figura 4, 28 ó 29, particularmente mostrada en la figura 4.
2. Composición farmacéutica que comprende un virus del sarampión recombinante basado en la cepa Schwartz de la vacuna contra el sarampión que comprende un gen suicida que comprende una fusión de una citosina desaminasa, particularmente citosina desaminasa de levadura, y una uracilo fosforribosiltransferasa, particularmente uracilo fosforribosiltransferasa de levadura, particularmente en la que dicho gen suicida comprende una secuencia mostrada en la figura 2 para su uso como medicamento, particularmente para su uso en el tratamiento de células cancerosas, más particularmente en la que las células cancerosas tienen resistencias primaria o secundaria frente a un virus del sarampión oncolítico sin actividad de gen suicida, más particularmente en la que dichas células cancerosas se identifican llevando a cabo la siguiente etapa:
- (a) determinar el porcentaje de células vivas en una población de células derivadas de dichas células cancerosas 72 h, o preferiblemente 96 h, tras infectar dicha población con el virus del sarampión oncolítico con una multiplicidad de infección de 1, siendo un porcentaje del 40% o más de células vivas en dicha población, particularmente el 50% o más, más particularmente el 60% o más, indicativo de que dichas células cancerosas son resistentes de manera primaria o secundaria a un virus del sarampión oncolítico sin actividad de gen suicida.
3. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 2, en la que las células cancerosas se seleccionan de células cancerosas de carcinoma humano y sarcoma humano.
4. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 2 ó 3, en la que dicho virus del sarampión oncolítico sin actividad de gen suicida es de la cepa Schwartz de la vacuna contra el sarampión, que tiene particularmente una secuencia mostrada en la figura 1.
5. Composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en la que dicho virus del sarampión recombinante comprende una secuencia de ARN mostrada en la figura 4, 28 ó 29, particularmente mostrada en la figura 4.
6. Composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, en la que dichas células cancerosas adicionalmente no responden a agentes quimioterápicos y/o radioterapia.
7. Composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6, en la que dichas células cancerosas se seleccionan de la lista de: células cancerosas de colangiocarcinoma, carcinoma hepatocelular, cáncer de cabeza y cuello y sarcoma.
8. Composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 7, en la que dicho tratamiento es un tratamiento repetido, particularmente cada semana, o cada dos semanas, o cada tres semanas, o cada cuatro semanas.
9. Método para generar el virus del sarampión recombinante según la reivindicación 1, que comprende la etapa de:
- (a) clonar (i) el genoma de la cepa Schwartz de la vacuna contra el sarampión, y (ii) un gen suicida que comprende una fusión de una citosina desaminasa, particularmente citosina desaminasa de levadura, y una uracilo fosforribosiltransferasa, particularmente uracilo fosforribosiltransferasa de levadura, en un plásmido bajo el control de un promotor de ARN polimerasa II, particularmente en el que dicho gen suicida comprende una secuencia mostrada en la figura 2.
10. Método según la reivindicación 9, que comprende además la etapa de:
- (b) clonar genes N, P y L auxiliares del virus del sarampión, cada uno bajo el control de un promotor de ARN polimerasa II, en al menos un vector, particularmente en el que los genes N, P y L auxiliares virales se clonan cada uno en un vector separado, particularmente un vector de plásmido, más particularmente en el que el método comprende las etapas de:
- (ba) clonar genes N auxiliares del virus del sarampión bajo el control de un promotor de ARN polimerasa II, en un primer vector, particularmente un vector de plásmido;
- (bb) clonar el gen P auxiliar del virus del sarampión bajo el control de un promotor de ARN polimerasa II en un segundo vector, particularmente un vector de plásmido;

(bc) clonar el gen L auxiliar del virus del sarampión bajo el control de un promotor de ARN polimerasa II en un tercer vector, particularmente un vector de plásmido.

- 5 11. Método según la reivindicación 9 ó 10, en el que la etapa (a) y/o (b), o (a), (ba), (bb) y/o (bc), comprende además la etapa de eliminar supuestas secuencias de corte y empalme de dicho genoma y/o cualquiera de dichos genes auxiliares.
- 10 12. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en el que la etapa (a) da como resultado el plásmido que tiene la secuencia mostrada en la figura 4, 28 ó 29, particularmente mostrada en la figura 4.
13. Método según la reivindicación 10 u 11, en el que las etapas (ba) a (bc) dan como resultado plásmidos que tienen las secuencias mostradas en las figuras 5, 6 y 7.
- 15 14. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13, que comprende además la etapa de (c) transfectar células huésped con plásmidos de las etapas (a) y (b), o (a) y (ba) a (bc), particularmente células huésped de una línea celular certificada aprobada para la producción de vacunas, particularmente de líneas celulares Vero o MRC-5, particularmente que comprende además la etapa de (d) rescatar virus del sarampión recombinante de la célula huésped transformada en la etapa (c).
- 20 15. Kit que comprende:
- 25 (a) un plásmido que comprende (i) el genoma de la cepa Schwartz de la vacuna contra el sarampión, y (ii) un gen suicida, que comprende una fusión de una citosina desaminasa, particularmente citosina desaminasa de levadura, y una uracilo fosforribosiltransferasa, particularmente uracilo fosforribosiltransferasa de levadura, bajo el control de un promotor de ARN polimerasa II, particularmente en el que dicho gen suicida comprende una secuencia mostrada en la figura 2, particularmente en el que el plásmido tiene la secuencia mostrada en la figura 4, 28 ó 29, más particularmente mostrada en la figura 4;
- 30 (b) al menos un plásmido que comprende los genes N, P y L auxiliares del virus del sarampión, cada uno en forma de un único gen bajo el control de un promotor de ARN polimerasa II, particularmente en el que los genes N, P y L auxiliares virales se clonan cada uno en un plásmido separado, particularmente en el que los plásmidos tienen las secuencias mostradas en las figuras 5, 6 y 7.

Figura 1

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AF266291.1>

```

1  accaaaacaaa gttgggtaag gatagttcaa tcaatgatca tcttctagtg cacttaggat
61  tcaagatcct attatcaggg acaagagcag gattagggat atccgagatg gccacacttt
121 taaggagcct agcattgttc aaaagaaaca aggacaaacc acccattaca tcaggatccg
181 gtggagccat cagaggaatc aaacacatta ttatagtacc aatccctgga gattcctcaa
241 ttaccactcg atccagactt ctggaccggt tgggtaggtt aattggaaac ccggatgtga
301 gcgggcccac actaacaggg gcaactaatag gtatattatc cttattttgtg gagtctccag
361 gtcaattgat tcagaggatc accgatgacc ctgacgttag cataaggctg ttagaggttg
421 tccagagtga ccagtcacaa tctggcctta ccttcgcac aagaggtacc aacatggagg
481 atgaggcgga ccaatacttt tcacatgatg atccaattag tagtgatcaa tccaggttcg
541 gatggttcgg gaacaaggaa atctcagata ttgaagtgca agaccctgag ggattcaaca
601 tgattctggg taccatccta gcccaaattt gggctcttct cgcaaaggcg gttacggccc
661 cagacacggc agctgattcg gagctaagaa ggtggataaa gtacacccaa caaagaaggg
721 tagttgggtg attttagattg gagagaaaat ggttggatgt ggtgaggaac aggatgcccg
781 aggacctctc cttacgccga ttcctggctg ctctaactct ggatatacaag agaaccaccg
841 gaaacaaacc caggattgct gaaatgatat gtgacattga tacatatatc gttagaggag
901 gattagccag ttttatcctg actattaagt ttgggataga aactatgtat cctgctcttg
961 gactgcatga atttgctggt gattatcca cacttgagtc cttgatgaac ctttaccagc
1021 aaatggggga aactgcaccc tacatggtaa tctctggaga ctcaattcag aacaagttca
1081 gtgcaggatc ataccctctg ctctggagct atgccatggg agtaggagtg gaacttgaaa
1141 actccatggg aggtttgaac ttggccgat cttactttga tccagcatat tttagattag
1201 ggcaagagat ggtaaggagg tcagctggaa aggtcagttc cacattggca tctgaactcg
1261 gtatcactgc cgaggatgca aggttgttt cagagattgc aatgcatact actgaggaca
1321 agatcagtag agcggttgga ccagacaag cccaagtatc atttctacac ggtgatcaaa
1381 gtgagaatga gctaccgaga ttggggggca aggaagatag gagggtcaaa cagagtcgag
1441 gagaagccag ggagagctac agagaaaccg ggcccagcag agcaagtgat gcgagagctg
1501 cccatcttcc aaccggcaca ccctagaca ttgacaactg aacggagtcc agccaagatc
1561 cgcaggacag tcgaaggta gctgacgccc tgcttaggct gcaagccatg gcaggaatct
1621 cggagaaca aggctcagac acggacaccc ctatagtgt caatgacaga aatcttctag
1681 actaggtgcg agaggccgag gccagaaca acatccgct accatccatc attgttataa
1741 aaaacttagg aaccaggctc acacagccgc cagccatca accatccact cccacgattg
1801 gagccaatgg cagaagagca ggcacgccat gtcaaaaacg gactggaatg ctccgggtc
1861 ctcaaggcog agccatcgg ctactggcc atcgaggaag ctatggcagc atggtcagaa
1921 atatcagaca acccaggaca ggagcgagcc acctgcaggg aagagaaggc aggcagttcg
1981 ggtctcagca aacctgcct ctacgaatt ggtcaactg aaggcgggtc acctcgcac
2041 cgcggtcagg gacctggaga gagcagatgac gacgctgaaa ctttgggaaat ccccccaaga
2101 aatctccagg catcaagcac tgggttacag tgttattacg tttatgatca cagcggtgaa
2161 gcggttaagg gaatccaaga tgcctgactct atcatggttc aatcaggcct tgggtgtgat
2221 agcaccctct caggagaga caatgaatct gaaaacagcg atgtggtat tggcgaacct
2281 gataccgagg gatatgctat cactgaccgg ggatctgctc ccactctat ggggttcagg
2341 gcttctgatg ttgaaactgc agaaggaggg gagatccacg agctcctgag actccaatcc
2401 agaggcaaca actttccgaa gcttgggaaa actctcaatg ttctccgcc cccggacccc
2461 ggtagggcca gcacttccgg gacacccatt aaaaagggca cagacgcgag attagcctca
2521 tttggaacgg agatcgcgctc tttattgaca ggtggtgcaa ccaatgtgc tcgaaagtca
2581 ccctcggaac catcagggcc aggtgcacct gcggggaatg tccccgagtg tgtgagcaat
2641 gccgactga tacaggagtg gacacccgaa tctggtacca caatctccc gagatcccag
2701 aataatgaag aagggggaga ctattatgat gatgagctgt tctctgatgt ccaagatatt
2761 aaaacagcct tggccaaaat acacgaggat aatcagaaga taatctcaa gctagaatca
2821 ctgctgttat tgaagggaga agttgagtca attaagaagc agatcaacag gcaaaatctc
2881 agcatatcca cctggaagg acacctctca agcatcatga tcgcattcc tggacttggg
2941 aaggatccca acgacccac tgcagatgtc gaaatcaatc ccgacttgaa acccatcata
3001 ggcagagatt caggccgagc actggccgaa gttctcaaga aaccctgtgc cagccgacaa
3061 ctccaaggaa tgacaaatgg acggaccagt tccagaggac agctgctgaa ggaatttcag
3121 ctaaagccga tcgggaaaaa gatgagctca gccgtcgggt ttgttctga caccggccct
3181 gcatacagca gtgtaatccg ctccattata aaatccagcc ggctagagga ggatcggaag
3241 cgttacctga tgactctct tgatgatatc aaaggagcca atgatctgc caagttccac
3301 cagatgctga tgaagataat aatgaaagt ctacagctca acttacctgc caaccccatg

```

ES 2 540 526 T3

3361 ccagtcgacc caactagtac aacctaaatc cattataaaa aacttagggag caaagtgatt
 3421 gcoctcccaag gtccacaatg acagagacct acgacttoga caagtcggca tgggacatca
 3481 aagggtcgat cgctccgata caaccacca cctacagtga tggcaggctg gtgcccagg
 3541 tcagagtcac agatcctggg ctaggcgaca ggaaggatga atgctttatg tacatgtttc
 3601 tgctgggggt tghtgaggac agcgattccc tagggcctcc aatcgggcca gcatttgggt
 3661 tcoctgccctt aggtgttggc agatccacag caaagcccga aaaactcctc aaagaggcca
 3721 ctgagcttga catagttgtt agacgtacag cagggctcaa tgaaaaactg gtgttctaca
 3781 acaacacccc actaactctc ctcacacctt ggagaaaggc cctaacaaca gggagtgtct
 3841 tcaacgcaaa ccaagtgtgc aatgcggtta atctgatacc gctcgatacc ccgcagaggt
 3901 tccgtgttgt ttatatgagc atcaccgctc ttccggataa cgggtattac accgttctta
 3961 gcaagaatgc ggaattcaga tccgtcaatg cagtggcctt caacctgtg tgaccctta
 4021 ggattgacaa ggcgataggc cctgggaaga tcatcgacaa tacagagcaa cttcctgagg
 4081 caacatttat ggtccacatc gggaaactta ggagaaagaa gagtgaagtc tactctgccg
 4141 attattgcaa aatgaaaatc gaaaagatgg gcctggtttt tgcacttggg gggatagggg
 4201 gcaccagtct tcacattaga agcacaggca aaatgagcaa gactctccat gcacaactcg
 4261 ggttcaagaa gaccttatgt taccgctga tggatatcaa tgaagacctt aatcgattac
 4321 tctggaggag cagatgcaag atagtgaag tccaggcagt ttgcagcca ttgactctc
 4381 aagaattccg catttacgac gacgtgatca taaatgatga ccaaggcta ttcaaagttc
 4441 tgtagaccgt agtgcccagc aatgcccga aacgaccccc ctcaaatga cagccagaag
 4501 gcccgacaa aaaagcccc tccgaaagac tccacggacc aagcgagagg ccagccagca
 4561 gccgacggca agcgcgaaca ccaggcggcc ccagcacaga acagccctga cacaaggcca
 4621 ccaccagcca cccaatctg catcctcctc gtgggacccc cgaggacca cccccaggc
 4681 tgccccgat ccaaaccacc aaccgcatcc ccaccacccc cgggaaagaa acccccagca
 4741 attggaaggc cctccccctt ctctctcaac caaagaactc cacaaccgaa ccgcacaagc
 4801 gaccgaggtg acccaaccgc aggcattcga ctccctagac agatcctctc tccccgcaa
 4861 actaaacaaa acttagggcc aaggaacata cacacccaac agaaccaga ccccgccca
 4921 cggcgccgcg ccccaacc cgcacaacca gagggagccc ccaaccaatc ccgcccgtc
 4981 ccccggtgcc cacaggcagg gacaccaacc cccgaacaga cccagcacc aacctcgac
 5041 aatccaagac gggggggccc ccccaaaaa aggccccag gggccgacag ccagcacgc
 5101 gaggaagccc acccaacca cacacgacca cggcaaccaa accagaacc agaccacct
 5161 gggccaccag ctcccagact cggccatcac cccgcagaaa ggaaggcca caaccgcg
 5221 accccagccc cgatccggcg gggagccacc caaccgaa cagcaccaa cagcgatccc
 5281 cgaaggacc ccgaaccgca aaggacatca gtatcccaca gcctctcaa gtccccgg
 5341 ctctctctct tctogaagg accaaaagat caatccacca cccccagca cactcaactc
 5401 cccacccta aaggagacac cgggaatccc agaatacaaga ctcatccaat gtccatcatg
 5461 ggtctcaagg tgaacgtctc tgccatattc atggcagtac tgttaactct ccaaacacc
 5521 accggtcaaa tccattgggg caatctctct aagatagggg tggtaggaat aggaagtga
 5581 agctacaag ttatgactcg ttccagcctt caatcattag tcataaaatt aatgccaat
 5641 ataactctcc tcaataactg cacgaggtga gagattgcag aatacaggag actactgaga
 5701 acagttttgg aaccaattag agatgcactt aatgcaatga cccagaatat aagaccggtt
 5761 cagagtgtag cttcaagtag gagacacaag agatttgccg gagtagtctt ggcaggtg
 5821 gccctaggcg ttgccacagc tgctcagata acagccggca ttgcacttca ccagtccatg
 5881 ctgaactctc aagccatcga caatctgaga gcgagcctgg aaactactaa tcaggcaatt
 5941 gagacaatca gacaagcagg gcaggagatg atattggctg ttcagggtgt ccaagactac
 6001 atcaataatg agctgatacc gtctatgaac caactatctt gtgatttaat cggccagaag
 6061 ctccggctca aattgctcag atactataca gaaatcctgt cattatttgg ccccagttta
 6121 cgggacccca tatctgcgga gatctctatc caggctttga gctatgcgct tggaggagac
 6181 atcaataagg tgttagaaaa gctcggatag agtggagggtg atttactggg catcttagag
 6241 agcggaggaa taaaggccc gataactcac gtcgacacag agtccactt cattgtcctc
 6301 agtatagcct atccgacgct gtccgagatt aaggggggta ttgtccaccg gctagagggg
 6361 gtctcgtaca acataggctc tcaagagtgg tataccactg tgccaagta tgttgcaacc
 6421 caagggtacc ttatctcgaa ttttgatgag tcatcgtgta ctttcatgcc agaggggact
 6481 gtgtgcagcc aaaatgcctt gtacccgatg agtccctctc tccaagaatg cctccggggg
 6541 tacaccaagt cctgtgctcg tactactgta tccgggtctt ttgggaaccg gttcatttta
 6601 tcacaaggga acctaatagc caattgtgca tcaatccttt gcaagtgtta cacaacagga
 6661 acgatatta atcaagacc tgacaagatc ctaacataca ttgctgccga tcaactgccc
 6721 gtagtcgagg tgaacggcgt gaccatccaa gtcgggagca ggaggtatcc agacgctgtg
 6781 tacttgacaa gaattgacct cggctctccc atatcattgg agaggttggg cgtagggaca
 6841 aatctgggga atgcaattgc taagtggag gatgccaagg aattgttggg gctcatggac
 6901 cacatattga ggagtatgaa aggtttatcg agcactagca tagtctacat gctgattgca
 6961 gtgtgtcttg gagggttgat agggatcccc gctttaat atgtgtgcag gggcggttgt
 7021 aacaaaaagg gagaacaagt tggatgtca agaccaggcc taaagcctga tcttacggga
 7081 acatcaaaat cctatgtaag gtcgctctga tctctacaa ctcttgaacc acaaatgtcc

ES 2 540 526 T3

7141 cacaagtctc ctcttcgctc tcaagcaacc accgcaccca gcatcaagcc cacctgaaat
7201 tatctccggc ttccctctgg ccgaacaata tccgtagtta atcaaaaactt aggggtgcaag
7261 atcatccaca atgtcaccac aacgagaccg gataaatgcc ttctacaaag ataaccocca
7321 tcccaaggga agtaggatag tcattaacag agaacatctt atgattgata gaccttatgt
7381 tttgctggct gttctgtttg tcatgtttct gagcttgatc ggggtgctag ccattgcagg
7441 cattagactt catcgggcag ccatctacac cgcagagatc cataaaaagcc tcagcaccaa
7501 tctagatgta actaactcaa tccgagcatca ggtcaaggac gtgctgacac cactcttcaa
7561 aatcatcggg gatgaagtgg gcctgaggac acctcagaga ttcactgacc tagtgaaatt
7621 aatctctgac aagattaaat tccttaatcc ggatagggag tacgacttca gagatctcac
7681 ttgggtgatc aacccgccag agagaatcaa attggattat gatcaatac gtgcagatgt
7741 ggctgctgaa gagctcatga atgcattggg gaactcaact ctactggaga ccagacaac
7801 caatcagttc cttagctgtct caaagggaaa ctgctcaggg ccactacaa tcagaggtca
7861 attctcaaac atgtcgtctgt ccctgttaga cttgtattta ggtcagaggtt acaatgtgtc
7921 atctatagtc actatgacat cccagggaaat gtatggggga acttacctag tggaaaagcc
7981 taatctgagc agcaaaaggt cagagttgtc acaactgagc atgtaccgag tgtttgaaat
8041 aggtgtttatc agaaatccgg gtttgggggc tccggtgttc catatgacaa actatcttga
8101 gcaaccagtc agtaatgatc tcagcaactc tatgggtggct ttgggggagc tcaaatctgc
8161 agccctttgt cacggggaag attctatcac aattccctat cagggatcag ggaaaggtgt
8221 cagcttccag ctctgcaagc taggtgtctg gaaatcccca accgacatgc aatcctgggt
8281 ccccttatca acggatgatc cagtgataga caggctttac ctctcatctc acagaggtgt
8341 tatcgtgac aatcaagcaa aatgggctgt cccgacaaca cgaacagatg acaagttgag
8401 aatggagaca tgcttccaac aggcgtgtaa gggtaaaatc caagcactct gcgagaatcc
8461 cgagtgggca ccattgaagg ataacaggat tccttcatac ggggtcttgt ctggtgatct
8521 gagtctgaca gttgagctta aaatcaaat tgcttcggga ttcgggcatc tgatcacaca
8581 cggttcaggy atggacctat acaaatccaa ccacaacaat gtgtattggc tgactatccc
8641 gccaatgaag aacctagcct taggtgtaat caacacattg gagtggatac cgagattcaa
8701 ggtagtccc tacctcttca ctgtcccaat taaggaagca ggcgaagact gccatgcccc
8761 aacataccta cctgcggagg tggatggtga tgtcaaactc agttccaatc tgggtgattct
8821 acctggtcaa gatctccaat atgttttggc aacctacgat acttccaggg ttgaacatgc
8881 tgtggtttat tacgtttaca gcccaagccg ctcatcttct tacttttatc ctttttaggtt
8941 gcctataaag ggggtcccca tcgaattaca agtggaaatgc ttccatggg tcaaaaaact
9001 ctggtgccgt cacttctgtg tgcttgcgga ctcagaatct ggtggacata tcactcactc
9061 tgggatgggtg ggcatgggag tcagctgcac agtcacccgg gaagatggaa ccaatcgcag
9121 atagggctgc tagtgaacca atcacatgat gtcacccaga catcaggcat acccactagt
9181 gtgaaataga catcagaatt aagaaaaacg taggggtccaa gtggttcccc gttatggact
9241 cgctatctgt caaccagatc ttataacctg aagttcacct agatagcccc atagttacca
9301 ataagatagt agccatcctg gagtatgctc gagtccctca cgcttacagc ctggaggacc
9361 ctacactgtg tcagaacatc aagcacccgc taaaaaacgg attttccaac caaatgatta
9421 taaacaatgt ggaagttggg aatgtcatca agtccaagct taggagttat cgggccact
9481 ctcatattcc atatccaaat tgtaatcagg atttatttaa catagaagac aaagagtcaa
9541 cgaggaagat ccgtgaactc ctcaaaaagg ggaattcgtc gtactccaaa gtcagtgata
9601 aggttttcca atgcttaagg gacactaact cacggcttgg cctaggctcc gaattgaggg
9661 aggacatcaa ggagaaaagt attaaacttg gagtttcatc gcacagctcc cagtggttt
9721 agccctttct gttttggttt acagtcaaga ctgagatgag gtcagtgatt aaatcacaaa
9781 ccataactgt ccataggagg agacacacac ctgtattctt cactggtagt tcagttgagt
9841 tgctaattctc tcgtgacctt gttgctataa tcagtaaaga gtctcaacat gtatattacc
9901 tgacatttga actggttttg atgtattgtg atgtcataga ggggaggtta atgacagaga
9961 ccgctatgac tattgatgct aggtatacag agcttctagg aagagtcaga tacatgtgga
10021 aactgataga tggtttcttc cctgcactcg ggaatccaac ttatcaaatt gtagccatgc
10081 tggagcctct ttcacttgct tacctgcagc tgagggatat aacagtagaa ctcagaggtg
10141 ctttccttaa ccactgcttt actgaaatac atgatgttct tgaccaaaac gggttttctg
10201 atgaagggtac ttatcatgag ttaactgaag ctctagatta cattttcata actgatgaca
10261 tacatctgac aggggagatt ttctcatttt tcagaagttt cggccacccc agacttgaag
10321 cagtaacggc tgctgaaaat gttaggaaat acatgaatca gcctaaagtc attgtgtatg
10381 agactctgat gaaaggatc gccatatttt gtggaatcat aatcaacggc tatcgtgaca
10441 ggcacggagg cagttggcca ccgctgaccc tccccctgca tgctgcagac acaatccgga
10501 atgctcaagc ttcaggtgaa gggttaaacg atgagcagtg cgttgataac tggaaatctt
10561 ttgctggagt gaaatttggc tgctttatgc ctcttagcct ggatagtgat ctgacaatgt
10621 acctaaagga caaggcact gctgctctcc aaagggatg ggattcagtt taccgaaag
10681 agttcctgcy ttacgacctt cccaagggaa ccgggtcacg gaggcttcta agtgtttcc
10741 ttaatgatctc gagctttgac ccatatgatg tgataatgta tgttgtaagt ggagcttacc
10801 tccatgacct tgagttcaac ctgtcttaca gcctgaaaga aaaggagatc aaggaaacag
10861 gtgacttttt tgctaaaatg acttacaana tgagggcatg ccaagtgatt gctgaaaatc

ES 2 540 526 T3

10921 taatctcaaa cgggattggc aaatatttta aggacaatgg gatggccaag gatgagcacg
 10981 atttgactaa ggcaactccac actctagctg tctcaggagt ccccaaagat ctcaaagaaa
 11041 gtcacagggg ggggccagtc ttaaaaacct actccogaag cccagtcac acaagtacca
 11101 ggaacgtgag agcagcaaaa gggtttatag ggttccctca agtaattcgg caggaccaag
 11161 aactgatca tccggagaat atggaagctt acgagacagt cagtgcattt atcacgactg
 11221 atctcaagaa gtactgcctt aattggagat atgagaccat cagcttgttt gcacagaggc
 11281 taaatgagat ttacggattg ccctcatttt tccagtggct gcataagagg cttgagacct
 11341 ctgtcctgta tgtaagtgac cctcattgcc ccccgacct tgacgccccat atcccgttat
 11401 ataaagtccc caatgatcaa atcttcatta agtaccctat gggaggata gaagggtatt
 11461 gtcagaagct gtggaccatc agcaccattc cctatctata cctggctgct tatgagagcg
 11521 gagtaagat tgcttcgcta gtgcaggagg acaatcagac catagccgta caaaaaaggg
 11581 taccagcac atggccctac aaccttaaga aacgggaagc tgctagagta actagagatt
 11641 actttgtaat tcttaggcaa aggctacatg atattggcca tcacctcaag gcaaatgaga
 11701 caattgtttc atcacatttt tttgtctatt caaaaggaat atattatgat gggctacttg
 11761 tgtcccaatc actcaagagc atcgcaagat gtgtattctg gtcagagact atagttgatg
 11821 aaacaagggc agcatgcagt aatattgcta caacaatggc taaaagcatc gagagagggt
 11881 atgaccgtta ccttgcatat tccctgaacg tccctaaaagt gatacagcaa atctctgatc
 11941 ctcttgctt cacaatcaat tcaaccatga cccgggatgt agtcataccc ctctcacia
 12001 acaacgacct cttaataagg atggcactgt tgcccgtcc tattgggggg atgaattatc
 12061 tgaatatgag caggctgttt gtcagaaaca tcggtgatcc agtaacatca tcaattgctg
 12121 atctcaagag aatgattctc gcctcactaa tgccctgaaga gaccctccat caagtaatga
 12181 cacaacaacc gggggactct tcatcctag actgggctag cgacccttac tcagcaaatc
 12241 ttgtatgtgt ccagagcatc actagactcc tcaagaacat aactgcaagg tttgtcctga
 12301 tccatagttc aaaccaatg ttaaaaggat tattccatga tgacagtaa gaagaggacg
 12361 agggactggc ggcattcctc atggcacagg atattatagt acctagggca gctcatgaaa
 12421 tcctggatca tagtgtcaca ggggcaagag agtctattgc aggcattgctg gataccacia
 12481 aaggcttgat tcgagccagc atgaggaagg gggggttaac ctctcgagtg ataaccagat
 12541 tgtccaatta tgactatgaa caattcagag cagggatggt gctattgaca ggaagaaaga
 12601 gaaatgtcct cattgacaaa gagtcatggt cagtgcagct ggcgagagct ctaagaagcc
 12661 atatgtgggc gaggctagct cgaggacggc ctatctacgg ccttgaggct cctgatgtac
 12721 tagaatctat gcgaggccac cttattcggc gtcctagagac atgtgtcctc tgcgatgtg
 12781 gatcagtc aaacagtgatg tttttgtcc cctcgggttg ccaactggat gctattgaca
 12841 aggaaacatc atccttgaga gtccatata ttggttctac cactgatgag agaacagaca
 12901 tgaagcttgc cttcgttaaga gcccacagtc gatccttgcg atctgctggt agaatagcaa
 12961 cagtgtactc atgggcttac ggtgatgatg atagctcttg gaacgaagcc tggttggttg
 13021 ctaggcaaaag ggccaatgtg agcctggagg agctaagggt gatcactccc atctcaactt
 13081 cgactaatth agcgcatagg ttgagggatc gttagcactca agtgaaatac tccaggtacat
 13141 ccctgtccg agtggcgagg tataccacia caatctctca tttgtcatat tttgtcatat
 13201 cagataagaa ggttgatact aactttatat accaacaagg aatgcttcta gggttgggtg
 13261 ttttagaaac attgtttcga ctcgagaaag ataccggatc atctaacaag gtattacatc
 13321 ttcacgtcga aacagattgt tgctgatcc cgatgataga tcatcccagg ataccagct
 13381 ccgcgaagct agagctgagg gcagagctat gtaccaaccc attgatatat gataatgcac
 13441 cttaattga cagagatgca acaggctat acaccagag ccataggagg caccttgtgg
 13501 aatttgttac atggtccaca ccccaactat atcacattt agctaagtcc acagcactat
 13561 ctatgattga cctggtaaca aaatttgaga aggaccatag gaatgaaatt ctagctctca
 13621 tagggatga cgatatcaat agtttcataa ctgagttct gctcatagag ccaagattat
 13681 tcaactatcta cttgggcccag tgtgcccga tcaattgggc atttgatgta cattatcata
 13741 gaccatcagg gaaatatcag atgggtgagc tgttgtcctc gttcctttct agaatgagca
 13801 aaggagtgtt taagggtgct gtcaatgctc taagccacc aaagatctac aagaaattct
 13861 ggcatgtgg tattatagag cctatccatg gtccttcaat tgatgctcaa aacttgaca
 13921 caactgtgtg caacatggtt tacacatgct atatgacct cctcgacctg ttgttgaatg
 13981 aagagttaga agagttcaca tttctcttgt gtgaaagcga cgaggatgta gtaccggaca
 14041 gattcgacaa catccaggca aaacacttat gtgttctggc agatttgtag tgtcaaccag
 14101 ggacctgccc accaattcga ggtctaagac cggtagagaa atgtgcagtt ctaaccgacc
 14161 atatcaaggc agaggctatg ttatctccag caggatcttc gtggaacata aatccaatta
 14221 ttgtagacca ttactcatgc tctctgactt atctccggcg aggatcgatc aaacagataa
 14281 gattgagagt tgatccagga ttcattttcg acgccctcgc tgaggtaaat gtcagtcagc
 14341 caaagatcgg cagcaacaac atctcaaata tgagcatcaa ggctttcaga cccccacag
 14401 atgatgttgc aaaattgctc aaagatca acacaagcaa gcacaattct cccattcag
 14461 gggcaatct cgccaattat gaaatccatg ctttccgcag aatcgggttg aactcatctg
 14521 cttgctacaa agctgttgag atatcaaat taattaggag atgccttgag ccaggggagg
 14581 acggcttgtt cttgggtgag ggatcgggtt ctatgttgat cacttataaa gagatactta
 14641 aactaaacia gtgcttctat aatagtgagg tttccgcaa ttctagatct ggtcaaaggg

ES 2 540 526 T3

14701 aattagcacc ctatccctcc gaagttggcc ttgtcgaaca cagaatggga gtaggtaata
 14761 ttgtcaaagt gctctttaac gggaggcccg aagtcacgtg ggtaggcagt gtagattgct
 14821 tcaatttcat agttagtaat atccctacct ctagtgtggg gtttatccat tcagatatag
 14881 agaccttgcc tgacaaagat actatagaga agctagagga attggcagcc atcttatcga
 14941 tggctctgct cctgggcaaa ataggatcaa tactgggtgat taagcttatg cctttcagcg
 15001 gggattttgt tcagggattt ataagttatg tagggctca ttatagagaa gtgaaccttg
 15061 tataccctag atacagcaac ttcattctta ctgaatotta tttggttatg acagatctca
 15121 aggctaaccg gctaataaat cctgaaaaga ttaagcagca gataattgaa tcatctgtga
 15181 ggacttcacc tggacttata ggtcacatcc tatccattaa gcaactaagc tgcatacaag
 15241 caattgtggg agacgcagtt agtagagggt atatcaatcc tactctgaaa aaacttacac
 15301 ctatagagca ggtgctgac aattgcgggt tggcaattaa cggacctaag ctgtgcaaag
 15361 aattgatcca ccatgatggt gcctcagggc aagatggatt gcttaattct atactcatcc
 15421 tctacagggg gttggcaaga ttcaaagaca accaaagaag tcaacaaggg atgttccacg
 15481 cttaccccgt attggttaagt agcaggcaac gagaacttat atctaggatc acccgcaaat
 15541 tctgggggca cattcttctt tactccggga acaaaaagtt gataaataag tttatccaga
 15601 atctcaagtc cggctatctg atactagact tacaccagaa tatcttcggt aagaatctat
 15661 ccaagtcaga gaaacagatt attatgacgg ggggtttgaa acgtgagtgg gtttttaagg
 15721 taacagtcaa ggagaccaaa gaatggtata agttagtcgg atacagtgcc ctgattaagg
 15781 actaattggt tgaactccgg aaccctaatc ctgccctagg tggttaggca ttatttgcaa
 15841 tatattaaag aaaactttga aaatacgaag tttctattcc cagctttgtc tgggt

Figura 2

atggtgacaggggaatggcaagcaagtgggatcagaagggtatggacattgcctatgagga
 ggcggccttaggttacaaagaggggtgggtgttctattggcggatgtcttatcaataacaaag
 acggaagtgttctcgggtcgtggtcacaacatgagatttcaaaagggtccgccacactacat
 ggtgagatctccactttggaaaactgtgggagattagagggcaaagtgtacaaagataccac
 tttgtatacgacgctgtctccatgcgacatgtgtacaggtgccatcatcatgtatggtatc
 cacgctgtgttgcgggtgagaacgttaatttcaaaagtaagggcgagaaatatttacaact
 agaggtcacgaggttgttgttgttgacgatgagaggtgtaaaaagatcatgaaacaatttat
 cgatgaaagacctcaggattggtttgaagatattgggtgaggottcggaaccatttaagaacg
tctacttgctacctcaaaacaaaccaattgctgggtttgtacaccatcatcagaaataagaat
acaactagacctgatttcattttctactccgatagaatcatcagattgttggttgaagaagg
tttgaaccatctacctgtgcaaaagcaaattgtggaaactgacaccaacgaaaacttcgaag
gtgtctcattcatgggtaaaatctgtgggtttccattgtcagagctggatgaatcgatggag
caaggattaagagactgttgtaggctctgtgcgatcggtaaaattttaattcaaagggacga
ggagactgctttaccaaagtatttctacgaaaaattaccagaggatataatctgaaaggtatg
tcttctatttagaccaatgctggccaccgggtggtagtgctatcatggctacagaagtcttg
attaagagaggtgttaagccagagagaatttacttcttaaacctaactctgtagtaaggaagg
gattgaaaaataccatgccgccttcccagaggtcagaattgttactgggtgccctcgacagag
gtctagatgaaaacaagtatctagtccagggttgggtgactttggtgacagatactactgt
gtttaa

citosina desaminasa (CD)

gct - ligador (alanina)

uracilo fosforribosiltransferasa (UPRT)

Figura 3

pc3MerV2 Id-Trka

viral:

- nt: 1 - 55: líder de VS
- nt 56 - 66: inicio del gen para transgén (originariamente del gen N; fase 2)
- nt 67 - 103: 5'-UTR (originariamente del gen N)
- nt 103 - 108: sitio de clonación XhoI (c'tcgag)
- nt 109 - 114: sitio de clonación Paul (g'cgcg) o AscI (gg'cgcgcc); único
- nt 115 - 126: 3'-UTR
- nt 127 - 136: fin del gen para transgén (originariamente del gen N)
- nt 140 - 150: inicio del gen de N (fase 2)
- nt 192 - 1769: ORF de N (1578 nt = 525 aa + terminación)
- nt 1891 - 3414: ORF de P (1524 nt = 507 aa + terminación)
- nt 2036 - 2043: sitio de clonación en 3' SdaI (CCTGCA'GG), único
- nt 1913 - 2473: ORF de C (no estructural; 561 nt = 186 aa + terminación)
- nt 2575 - 2582: caja de edición A5G3; inserción de G tras nt 2580
- nt 1891 - 2789: ORF transmarco de V tras edición de ARNm (no estructural; 900 nt = 299 aa + terminación)
- nt 3522 - 4529: ORF de M (1008 nt = 335 aa + terminación)
- nt 5533 - 7194: ORF de F (1662 nt = 553 aa + terminación)
- nt 7355 - 9208: ORF de H (1854 nt = 617 aa + terminación)
- nt 9318 - 15869: ORF de L (6552 nt = 2183 aa + terminación)
- nt 15942 - 15978: remolque de VS (37 nt)

```

accaaacaaagttgggtaaggatagttcaatcaatgatcatcttctagtgacttaggattc
aagatcctattatcagggacaagagcaggattagggatctctcgaggcgccatccatcat
tggtataaaaaacttaggattcaagatcctattatcagggacaagagcaggattagggat
ccgagatggccacacttttaaggagcttagcattggtcaaaagaaacaaggacaaaccacc
attacatcaggatccggtggagccatcagaggaatcaaacacattattatagtagcaatccc
tgagattcctcaattaccactcgatccagacttctggaccggttggtgaggttaattggaa
accggtgtgagcgggcccactaacaggggactaataggtatattatccttattttgtg
gagtcctccaggtcaattgattcagaggatcaccgatgaccctgacgttagcataaggctgtt
agaggttgccagagtgaccagtcacaatctggccttaccttcgcatcaagaggtaccaaca
tggaggatgaggcggaccaatactttcacatgatgatccaattagtagtgatcaatccagg
ttcggatggttcgggaacaaggaaatctcagatattgaagtgcaagaccctgagggttcaa
catgattctgggtaccatcctagcccaatttgggtcttgctcgcaaaggcggttacggccc
cagacacggcagctgattcggagctaagaaggtggataaagtaacccaacaagaagggtg
ggttggtgaatttagattggagagaaaatggttggtggtgaggaacaggattgccgagga
cctctccttacgcogattcatggtcgctctaactcctggatatcaagagaacaccggaaaca
aaccaggattgctgaaatgatatgtgacattgatacatatcgttagaggcaggattagcc
agttttatcctgactattaagtttgggatagaaactatgtatcctgctcttgactgcatga
atgtgctggtgagttatccacacttgagtccttgatgaacctttaccagcaaattgggggaaa
ctgcaccctacatggtaatcctggagaactcaattcagaacaagttcagtgaggatcatac
cctctgctctggagctatgccatgggagtaggagtggaacttgaaaactccatgggaggttt

```

gaactttggccgatcttactttgatccagcatatthtagattagggcaagagatggtaagga
 ggtcagctggaaaggtcagttccacattggcatctgaactcggatcactgcccagagatgca
 aggcttgtttcagagattgcaatgcatactactgaggacaagatcagtagagcgggtggacc
 cagacaagcccaagtatcatttctacacgggtgatcaaagtgagaatgagctaccgagattgg
 ggggcaaggaagataggagggcaaacagagtcgaggagaagccagggagagctacagagaa
 accgggcccagcagagcaagtgatgagagagctgcccatcttccaaccggcacaccctaga
 cattgacactgcaacggagtcagccaagatccgcaggacagtcgaaggctcagctgacgccc
 tgcttaggctgcaagccatggcaggaatctcggaagaacaaggctcagacacggacaccct
 atagtgtacaatgacagaaatcttctagactaggtgagagaggccgagggccagaacaacat
 ccgctaccatccatcattgttataaaaaacttaggaaccaggtccacacagccgcccagccc
 atcaaccatccactcccacgattggagccaatggcagaagagcaggcacgcatgtcaaaaa
 cggactggaatgcatccgggctctcaaggccgagcccacggctcactggccatcgaggaag
 ctatggcagcatggtcagaaatcagacaaccaggacaggagcagaccctgcagggaa
 gagaaggcaggcagttcgggtctcagcaaacatgcctctcagcaattggatcaactgaagg
 cgggtgcacctcgcatccgcggtcagggacctggagagagcgatgacgacgctgaaactttgg
 gaatcccccaagaaatctccaggcatcaagcactgggttacagtggttattacgtttatgat
 cacagcgggtgaagcgggttaaggaatccaagatgctgactctatcatggttcaatcaggcct
 tgatgggtgatagcaccctctcaggaggagacaatgaatctgaaaacagcgatgtggatattg
 gcgaacctgataccgagggatatgctatcactgaccggggatctgctcccatctctatgggg
 ttcagggcttctgatggtgaaactgcagaaggaggggagatccacgagctcctgagactcca
 atccagaggcaacaactttccgaagcttgggaaaactctcaatgttccctccgccccggacc
 ccggtagggccagcacttccgggacaccattaaaaagggcacagacgcgagattagcctca
 tttggaacggagatcgctctttattgacaggtggtgcaaccaatgtgctcgaaagtacc
 ctcggaaccatcaggggccaggtgcacctgcggggaatgtccccgagtggtgagcaatgccg
 cactgatacaggagtgacacccgaatctggtaccacaatctccccgagatcccagaataat
 gaagaagggggagactattatgatgatgagctgttctctgatgtccaagatattaaacagc
 cttggccaaaatacacgaggataatcagaagataatctccaagctagaatcactgctgttat
 tgaagggagaagttgagtcattaagaagcagatcaacaggcaaaaatcagcatatccacc
 ctggaaggacacctctcaagcatcatgatcgccattcctggacttgggaaggatcccaacga
 cccactgcagatgtcgaaatcaatcccgacttgaaacccatcataggcagagattcaggcc
 gagcactggccgaagttctcaagaaaccggtgcccagccgacaactccaaggaatgacaaat
 ggacggaccagttccagaggacagctgctgaaggaatttcagctaaagccgatcgggaaaaa
 gatgagctcagccgtcgggtttgttccctgacaccggccctgcatcacgcagtgtaatccgct
 ccattataaaaatccagccggctagaggaggatcggaaagcgttacctgatgactctccttgat
 gatatacaaggagccaatgatcttgccaagttccaccagatgctgatgaagataataatgaa
 gtagctacagctcaacttacctgccaacccatgccagtcgaccaactagtacaacctaaa
 tccattataaaaaacttaggagcaaagtgattgcctccaagggtccacaatgacagagacct
 acgacttcgacaagtcggcatgggacatcaaagggtcgatcgctccgatacaaccaccacc
 tacagtgatggcaggctggtgccccaggtcagagtcatagatcctggtctaggcgacaggaa
 ggatgaatgctttatgtacatggttctgctgggggttgttgaggacagcgattccctagggc
 ctccaatcgggagcagcatttgggttccctgccccttaggtggttgagcagatccacagcaagccc
 gaaaaactcctcaaagaggccactgagcttgacatagttggttagacgtacagcagggctcaa
 tgaaaaactggtgttctacaacaacccccactaactctcctcacaccttggagaaagggtcc
 taacaacaggaggtgtcttcaacgcaaccaagtggtgcaatgcgggttaatctgataccgctc
 gatccccgcagaggttccgtgtgtttatagagcatccccgtcttccggataacgggta
 ttacaccgttccatagaagaatgctggaattcagatcgggtcaatgcagtggtcctcaacctgc
 tggtgacccttaggattgacaaggcagataggccctgggaagatcatcgacaatacagagcaa
 ctctctgaggcaacatttatggtccacatcgggaacttcaggagaaagaagagtgaaagtcta
 ctctgccgattattgcaaaaatgaaaatcgaaaagatgggctggtttttgacttggtggga
 tagggggcaccagctctcacattagaagcacaggcaaaaatgagcaagactctccatgcacaa
 ctccgggttcaagaagaccttatggtaccgctgatggatataatgaagaccttaatcgatt
 actctggaggagcagatgcaagatagtaagaatccaggcagttttgcagccatcagttcctc

aagaattccgcatttacgacgacgtgatcataaatgatgaccaaggactattcaaagttctg
tagaccgtagtgcccagcaatgcccgaaaacgacccccctcacaatgacagccagaaggccc
ggacaaaaaagccccctccgaaagactccacggaccaagcgagaggccagccagcagccgac
ggcaagcgcaacaccagggcgccccagcacagaacagccctgacacaaggccaccaccagc
caccccaatctgcatcctcctcgtgggacccccgaggaccaacccccaggctgccccgat
ccaaaccaccaaccgcatccccaccacccccgggaaagaaacccccagcaattggaaggccc
ctccccctctcctcaacacaagaactccacaaccgaaccgcacaagcgaccgaggtgaccc
aaccgcaggcatccgactccctagacagatcctctctccccggcaactaaacaaaacttag
ggccaaggaacatacacaccacaacagaaccagacccccggcccacggcgccgcccccaac
ccccgacaaccagaggggagcccccaaccaatcccgccggtccccgggtgccacaggcagg
gacaccaacccccgaacagaccagcaccacaaccatcgacaatccaagacgggggggcccc
ccaaaaaaaggccccagggggccgacagccagcaccgcgaggaagcccaaccacccccacaca
cgaccacggcaaccaaaccagaaccagaccacctgggccaccagctcccagactcggcca
tcacccccgcagaaaggaaaggccacaacccgcgcacccccagccccgatccggcggggagcca
cccaaccgaaaccagcacccaagagcgtatccccgaaggacccccgaaccgcaaaggacatca
gtatcccacagcctctccaagtcccccggtctcctcctctctcgaagggaccaaaagatca
atccaccacacccgacgacactcaactccccaccctaaaggagacaccgggaatcccagaa
tcaagactcatccaatgtccatcatgggtctcaaggtgaacgtctctgcatattcatggca
gtactgttaactctccaaacaccaccgggtcaaattccattggggcaatctctctaagatagg
ggtggtaggaataggaagtgaagctacaaagttatgactcgttccagccatcaatcattag
tcataaaattaatgcccataataactctcctcaataactgcacgagggtagagattgcagaa
tacaggagactactgagaacagttttggaaccaattagagatgcacttaatgcaatgacca
gaatataagaccggttcagagtgtagcttcaagtaggagacacaagagatttgccgggagtag
tcctggcaggtgcgccctaggcgttgccacagctgctcagataacagccggcattgcactt
caccagtcctatgctgaactctcaagccatcgacaatctgagagcgagcctggaaactactaa
tcaggcaattgagacaatcagacaagcagggcgaggagatgatattggctgttcagggtgtcc
aagactacatcaataatgagctgataccgtctatgaaccaactatcttgtgatttaatcggc
cagaagctcgggctcaaattgctcagatactatacagaaatcctgtcattatttggccccag
tttacgggacccccatctcgggagatctatccaggctttgagctatgcgcttgaggagag
acatcaataaggtgttagaaaagctcggatacagtgagggtgatttactgggcatcttagag
agcggaggaataaaaggccccgataactcacgtcgacacagagtcctacttcattgtcctcag
tatagcctatccgacgctgtccgagattaaggggggtgattgtccaccggctagagggggct
cgtacaacataggctctcaagagtggtataccactgtgcccaagtatgttgcaaccaaggg
taccttatctcgaattttgatgagtcacgtgtactttcatgccagaggggactgtgtgcag
ccaaaatgccttgtaccgatgagtcctctgctccaagaatgcctccgggggtacaccaagt
cctgtgctcgtacactcgtatccgggtcttttgggaaccggttcattttatcacaagggaac
ctaatagccaatgtgcatcaatcctttgcaagtgttacacaacaggaacgatcattaatca
agaccctgacaagatcctaacatacatgtgctgccgatcactgcccggtagtcgaggtgaacg
gcgtgaccatccaagtcgggagcaggaggtatccagacgctgtgtacttgacagaaatgac
ctcggctcctccatattcattggagaggttgacgtagggacaaatctggggaaatgcaattgc
taagttggaggatgccaaaggaattggtggagtcacggaccagatattgaggagatgaaag
gtttatcgagcactagcatagctacatcctgattgcagtggtcttgagggttgataggg
atccccgctttaatatggtgctgcagggggcgttgtaacaaaaagggagaacaagttggtat
gtcaagaccaggcctaagcctgatcttacgggaacatcaaaatcctatgtaaggtcgctct
gatcctctacaactcttgaaacacaaatgtcccacaagtctcctctcgtcatcaagcaacc
accgcaccagcatcaagcccacctgaaattatctccggcttcctctggccgaacaataatc
ggtagttaatcaaaacttaggggtgcaagatcatccacaatgtcaccacaacgagaccggata
aatgccttctacaaagataacccccatcccaagggaagtaggatagtcattaacagagaaca
tcttatgattgatagaccttatgttttgctggctgttctgtttgtcatgtttctgagcttga
tcgggttgctagccattgcaggcattagacttcacgggcagccatctacaccgcagagatc
cataaaagcctcagcaccaatctagatgtaactaactcaatcgagcatcaggtcaaggacgt
gctgacaccactcttcaaaatcatcgggtgatgaagtgggcctgaggacacctcagagattca

ctgacctagtgaattaatctctgacaagattaaattccttaatccggatagggagtacgac
 ttcagagatctcacttgggtgatcaaccgcccagagagaatcaaattggattatgatcaata
 ctgtgcagatgtggctgctgaagagctcatgaatgcattgggtgaactcaactctactggaga
 ccagaacaaccaatcagttcctagctgtctcaaagggaaactgctcagggcccactacaatc
 agaggccaattctcaaacatgctcgctgtccctggttagacttgtatttaggtcgaggttaca
 tgtgtcatctatagtcactatgacatcccaggaatgtatgggggaacttacctagtggaaa
 agcctaactctgagcagcaaaaggtcagagttgtcacaactgagcatgtaccgagtggttgaa
 gtagggttatcagaaatccgggtttgggggctccggtgttccatgatgacaaactatcttga
 gcaaccagtcagtaatgatctcagcaactgtatgggtggctttgggggagctcaaactcgcag
 ccctttgtcaccgggaagattctatcacaattccctatcagggatcagggaaaggtgtcagc
 ttcagctcgtcaagctaggtgtctggaatccccaaccgacatgcaatcctgggtccctt
 atcaacggatgatccagtgatagacaggctttacctctcatctcagagaggtgttatcgctg
 acaatcaagcaaaaatgggctgtcccgacaacacgaacagatgacaagttgcgaatggagaca
 tgcttccaacaggcgtgtaagggtaaaatccaagcactctgcgagaatcccgagtgggcacc
 attgaaggataacaggattccttcatacggggcttctgtctgttgatctgagctcagcagttg
 agcttaaaatcaaaattgcttcgggattcgggccattgatcacacacggttcagggatggac
 ctatacaaatccaaccacaacaatgtgtattggctgactatcccgccaatgaagaacctagc
 cttaggtgtaatcaacacattggagtgatgataccgagattcaaggttagtccctacctctca
 ctgtccaattaaggaagcaggcgaagactgccatgccccaacataacctacctgaggaggtg
 gatgggtgatgtcaaaactcagttccaatctgggtgatctacctgggtcaagatctccaatatgt
 tttggcaacctacgatacttccaggggtgaacatgctgtgggtttattacgtttacagccaa
 gccgctcattttcttacttttatccttttaggttgccataaaaggggggtccccatcgaatta
 caagtggaaatgcttcacatgggacccaaaactctgggtgccgtcacttctgtgtgcttgccga
 ctcagaatctgggtggacatactcactcactctgggatgggtgggcatgggagtcagctgcacag
 tcaccgggaagatggaaccaatcgcagatagggctgctagtgaaaccaatcacatgatgtca
 ccagacatcaggcataccactagtggtgaaatagacatcagaattaagaaaaacgtagggt
 ccaagtgggttccccgttatggactcgctatctgtcaaccagatcttataccctgaagttcac
 ctgatagccccgatagttaccaataagatagtagccatcctggagtatgctcgagtcctca
 cgcttacagcctggaggaccctacactgtgtcagaacatcaagcaccgcctaaaaaacggat
 tttccaaccaaatagattataaacaatgtggaagtgggaatgtcatcaagtccaagcttagg
 agttatccggcccactctcatattccatatacaaatgtaatcaggatttatttaacataga
 agacaaagagtcaacgaggaagatccgtgaaactcctcaaaaaggggaattcgtctgactcca
 aagtcaagtataaggttttccaatgcttaagggacactaactcacggcttgccctaggctcc
 gaattgagggaggacatcaaggagaaagttattaacttgggagtttacatgcacagctccca
 gtgggttgagcccttctgttttgggttacagtcagactgagatgagggtcagtgattaat
 cacaaaccatacttgccataggaggagacacacacctgtattcttactggtaggtcagtt
 gaggttgctaactctctcgtgaccttgttgctataatcagtaagagttctcaacatgtatatta
 cctgacatttgaactgggttttgatgtattgtgatgtcatagaggggagggtaatgcacagaga
 ccgctatgactattgatgctaggtatacagagcttctaggaagagtcagatacatgtggaaa
 ctgatagatgggttcttccctgcactcgggaatccaacttatcaaatgtagccatgctgga
 gcctcttccacttgcttacctgcagctgagggatataacagtagaactcagaggtgctttcc
 ttaaccactgcttactgaaaatacatgatgttcttgaccaaaacgggttttctgatgaaggt
 acttatcatgagttaactgaagctctagattacattttcataactgatgacatacatctgac
 aggggagattttctcatttttcagaagtttcggccaccccagacttgaagcagtaacggctg
 ctgaaaatggttaggaaatacatgaatcagcctaaagtcatgtgtatgagactctgatgaaa
 ggtcatgccatattttgtggaatcataatcaacggctatcgtgacaggcacggaggcagttg
 gccaccgctgaccctccccctgcatgctgcagacacaatccggaatgctcaagcttcaggtg
 aagggtaacacatgagcagtgcttgataactggaaatcttttgctggagtgaaatttggc
 tgctttatgcctcttagcctggatagtgatctgacaatgtacctaaaggacaaggcacttgc
 tgctctccaaaggggaatgggattcagtttaccggaaagagttcctgcgttacgaccctccca
 agggaaaccgggtcagggaggttgtagatgttttccctaatgatcagagctttgaccat
 gatgtgataatgtatgttgaagtggagcttacctccatgaccctgagttcaacctgtctta

cagcctgaaagaaaaggagatcaaggaaacaggtagactttttgctaaaatgacttacaaaa
 tgagggcatgccaaagtgattgctgaaaatcctaactcaaacgggattggcaaatattttaag
 gacaatgggatggccaaggatgagcagcatttgactaaggcactccacactctagctgtctc
 aggagtcaccaaaagatctcaaagaaagtacagggggggccagtccttaaaaacctactccc
 gaagcccagtcacacacaagtaccaggaacgtgagagcagcaaaaagggtttatagggttcctc
 caagtaattcggcaggaccaagacactgatcatccggagaatatggaagcttacgagacagt
 cagtgcatttatcacgactgatctcaagaagtactgccttaattggagatatgagaccatca
 gcttgtttgcacagaggctaaatgagatttacggattgccctcatttttccagtggtgcat
 aagaggcttgagacctctgtcctgtatgtaagtgacctcattgccccccgacctgacgc
 ccataatcccgttatataaagtcccaatgatcaaatcttcattaagtacctatgggaggtta
 tagaagggtattgtcagaagctgtggaccatcagcaccattccctatctataacctggctgct
 tatgagagcggagtaaggattgcttcgttagtgcaaggggacaatcagaccatagccgtaac
 aaaaagggtaccagcacatggccctacaaccttaagaaacgggaagctgctagagtaacta
 gagattactttgtaattcttaggcaaaggctacatgatattggccatcacctcaaggcaaat
 gagacaattgtttcatcacattttttgtctattcaaaaggaatataattatgatgggctact
 tgtgtcccaatcactcaagagcatcgcaagatgtgtattctggtcagagactatagttgatg
 aaacaagggcagcatgcagtaatattgctacaacaatggctaaaagcatcgagagaggttat
 gaccgttaccttgcataatccctgaacgtcctaaaagtgatacagcaaatctgatctctct
 tggcttcacaatcaattcaacctgaccgggatgtagtcatacccctcctcacaacaacg
 acctcttaataaggatggcactggtgcccgcctctatggggggatgaattatctgaatatg
 agcaggctgtttgtcagaacatcggtgatccagtaacatcatcaattgctgatctcaagag
 aatgattctcgctcactaatgcctgaagagacctccatcaagtaatgacacaacaaccgg
 gggactctcattcctagactgggctagcgaccttactcagcaaatcttgtatgtgtccag
 agcatcactagactcctcaagaacataactgcaaggtttgtcctgatccatagtccaaacc
 aatgttaaaggattattccatgatgacagtaaagaagaggacgaggactggcggcattcc
 tcatggacaggcatattatagctacctagggcagctcatgaaatcctggatcatagttgca
 ggggcaagagagctctattgcaggcatgctggataccacaaaaggcttgattcgagccagcat
 gaggaaggggggggttaacctctcgagtgataaccagattgtccaattatgactatgaacaat
 tcagagcagggatggtgctattgacaggaagaaagagaaatgtcctcattgacaaagagtca
 tgttcagtgcagctggcgagagctctaagaagccatattgtgggagaggctagctcgaggacg
 gcctatttacggccttgaggctcctgatgtactagaatctatgagggccaccttattcggc
 gtcagagacatgtgtcatctgcgagtggtgatcagtcactacggatgggtttttgtcccc
 tcgggttgccaactggatgatattgacaaggaacatcactccttgagagtcctatatattgg
 ttctaccactgatgagagaacagacatgaagcttgccctcgttaagagcccccaagtcgatcct
 tgcgatctgctgttagaatagcaacagtgactcatgggcttacgggtgatgatgatagctct
 tggaaacgaagcctggtgttggctaggcaaagggccaatgtgagcctggaggagctaagggt
 gatcactccatctcaacttcgactaatttagcgcataaggttgagggatcgtagcactcaag
 tgaaatactcagggtacatcccttgtccgagtgccgaggtataccacaatctccaacgacaat
 ctctcatttgtcatatcagataagaaggttgataactaactttatataccaacaaggaatgct
 tctagggttgggtgttttagaaacattgtttcgactcgagaaagataccggatcatctaaca
 cggattacatcttcacgtcgaaacagattgttgcggtgatcccgatgatagatcatcccagg
 ataccagctcccgcaagctagagctgagggcagagctatgtaccaaccattgatatatga
 taatgcacctttaattgacagagatgcaacaaggctatacaccagagccataggaggcacc
 ttgtggaatttgttacatggtccacacccccactatatcacattttagctaagtcacagca
 ctatctatgattgacctggttaacaaaatttgagaaggaccatatgaatgaaatttcagctct
 cataggggatgacgatatacaatagtttcataactgagtttctgctcatagagccaagattat
 tcaactatctacttgggccagtggtgcccacatcaattgggcatttgatgtacattatcataga
 ccatcagggaaatatcagatgggtgagctggtgtcatcgttcctttctagaatgagcaagg
 agtgtttaagggtgcttgtcaatgctctaagccacccaagatctacaagaaattctggcatt
 gtgggtattatagagcctatccatggctccttcaacttgatgctcaaaacttgcacacaactgtg
 tgcaacatggtttacacatgctatatgacctacctcgacctgttgttgaatgaagagttaga
 agagttcacattttctcttgtgtgaaagcgacgaggatgtagtaccggacagattcgacaaca

tccaggcaaaacacttatgtgttctggcagatttgtactgtcaaccagggaacctgccacca
 attcgaggtctaagaccggtagagaaatgtgcaagttctaaccgaccatatcaaggcagagggc
 tatgttatctccagcaggatcttcggtggaacataaatccaattattgtagaccattactcat
 gctctctgacttatctccggcgaggatcgatcaaacagataagattgagagttgatccagga
 ttcatttttcgacgccctcgctgaggtaaatgtcagtcagccaaagatcggcagcaacaacat
 ctcaaatatgagcatcaaggctttcagacccccacacgatgatggtgcaaaattgctcaaag
 atatcaacacaagcaagcacaatcttcccatttcagggggcaatctcgccaattatgaaatc
 catgctttccgcagaatcgggttgaactcatctgcttgctacaaagctggtgagatatcaac
 attaattaggagatgccttgagccaggggaggacggcttgttcttgggtgagggatcgggtt
 ctatggtgatcacttataaagagatacttaaactaaacaagtgcttctataatagtgggggtt
 tccgccaattctagatctggtcaaaggaattagcacccctatccctccgaagttggccttgt
 cgaacacagaatgggagtaggtaatatgtcaaagtgctctttaaaccgggaggcccaagtca
 cgtgggtaggcagtgtagattgcttcaatttcatagttagtaatatccctacctctagtgtg
 gggtttatccattcagatatagagaccttgccctgacaaagatactatagagaagctagagga
 attggcagccatcttatcgatggctctgctcctgggcaaaataggatcaatactggtgatta
 agcttatgcctttcagcggggattttgttcagggatttataagttatgtagggctcattat
 agagaagtgaaccttgtataacctagatacagcaacttcatctctactgaatcttatttggg
 tatgacagatctcaaggctaaccggctaataatcctgaaaagattaagcagcagataattg
 aatcatctgtgaggacttcacctggacttataggtcacatcctatccattaagcaactaagc
 tgcatacaagcaattgtgggagacgcagttagtagaggtgatatacaatcctactctgaaaa
 acttacacctatagagcaggtgctgatcaattgcggttggaattaaccggacctaaagctgt
 gcaagaattgatccaccatgatgttgctcagggcaagatggattgcttaattctatactc
 atcctctacagggagttggcaagattcaaagacaaccaagaagtcaacaagggatgttcca
 cgcttaccctgatttggtaagtagcaggcaacgagaacttatacttaggatcaccctgcaaat
 tctgggggcacattcttcttactccgggaacaaaaagttgataaataagtttatccagaat
 ctcaagtccggctatctgatactagacttacaccagaatatcttcggttaagaatctatccaa
 gtcagagaaacagattattatgacggggggttgaacgtgagtggtttttaaaggtaacag
 tcaaggagaccaagaatggtataagttagtcggatacagtgccctgattaaggactaattg
 gttgaactccggaaccctaactcctgcccaggtggttaggcattatttgcaatatattaag
 aaaactttgaaaatacgaagtttctattcccagcttctgctggtggccggcatggtcccagc
 ctccctcgctggcgccggctgggcaacattccgaggggaccgtcccctcggtaatggcgaatg
 ggacgcggccggctgatcgacgatccggctgctaacaagcccgaaggaagctgagttggc
 tgcctgccaccgctgagcaataactagcataacccttggggcctctaaacgggtcttgaggg
 gtttttctgctgaaaggaggaactatatccggatcgagatcaattctgtgagcgtatggcaa
 cgaaggaaaaatagttatagtagccgcactcgatgggacatttcaacgtaaaccggttaata
 atattttgaaatcttattccattatctgaaatggtggtaaaactaactgctgtgtgtatgaa
 tgctttaaggaggcttccttttctaaacgattgggtgaggaaccgagatagaaataatagg
 aggtaatgatatgtatcaatcgggtgtgtagaaagtgttacatcgactcataatattatattt
 tttatctaaaaaactaaaaataaacattgattaaattttaataataacttaaaaatggatg
 ttgtgtcgttagataaacggttatgtattttgaggaaattgataatgagttagattacgaa
 ccagaaagtgcaaatgaggtcgcaaaaaactgccgtatcaaggacagttaaaactattact
 aggagaattatTTTTTcttagtaagttacagcgcacacgggtatattagatggtgccaccgtag
 tgtatataggatctgctcccgggtacacataacggttatttgagagatcatttctataattta
 ggagtgatcccgaaggaagctgagttggctgctgccaccgctgagcaataactagcataac
 cccttggggcctctaaacgggtcttgaggggttttttctgctgaaaggaggaacgcgcctgatg
 cggatatttctccttacgcactctgtgcgggtatttcacaccgcatatatgggtgactctcagt
 acaatctgctctgatgccgcatagttaagccagccccgacaccggccaacaccgctgacgc
 gcctgacgggcttgtctgctcccggcatccgcttacagacaagctgtgaccgtctccggga
 gctgcatgtgtcagaggttttcaccgtcatcaccgaaacgcgcgagacgaaagggcctcggtg
 atacgcctatTTTTataggttaatgtcatgataataatggtttcttagacgtcaggtggcac
 ttttccggggaatgtgctgcggaaccctatTTTgtttatttttctaaatacattcaaatatgt
 atccgctcatgagacaataaccctgataaatgcttcaataatattgaaaaaggaagagtatg

agtattcaacatttccgtgtcgccottattcccttttttgcggcattttgccttctctgtttt
tgctcaccagaaacgctgggtgaaagtaaaagatgctgaagatcagttgggtgcacgagtg
gttacatcgaactggatctcaacagcggtaagatccttgagagttttcgccccgaagaacgt
ttccaatgatgagcacttttaagttctgctatgtggcgcggtattatcccgtattgacgc
cgggcaagagcaactcgggtcgccgcatacactattctcagaatgacttggttgagtactcac
cagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaagagaattatgcagtgctgccata
accatgagtgataaactcgcggccaacttacttctgacaacgatcggaggaccgaaggagct
aaccgcttttttgacacaacatgggggatcatgtaactcgccttgatcgttgggaaccggagc
tgaatgaagccatacacaacgacgagcgtgacaccacgatgcctgtagcaatggcaacaacg
ttgcgcaactattaactggcgaactacttactctagcttcccggcaacaattaatagactg
gatggaggcggataaagttgcaggaccacttctgcgctcggcccttccggctggctggttta
ttgctgataaatctggagccgggtgagcgtgggtctcgggtatcattgcagcactggggcca
gatggtaagccctcccgtatcgtagttatctacacgacggggagtcaggcaactatggatga
acgaaatagacagatcgtgagataggtgcctcactgattaagcattggtaactgtcagacc
aagtttactcatatatacttttagattgatttaaaacttcatttttaatttaaaggatctag
gtgaagatcctttttgataatctcatgacaaaatcccttaacgtgagtttctgttccactg
agcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatccttttttctgcgctaa
tctgctgcttgcaaacaaaaaaaccaccgctaccagcgggtggtttggttgccggatcaagag
ctaccaactccttttccgaaggtaactggcttcagcagagcgcagatacacaataactgtcct
tctagtgtagccgtagtttaggccaccacttcaagaactctgtagcaccgcctacatacctcg
ctctgctaactcctgttaccagtggtgctgctgccagtgggcgataagtcgtgtcttaccgggtg
gactcaagacgatagttaccggataaggcgcagcggctcgggctgaacggggggttctgtgcac
acagcccagcttgagcgaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgtgagcattgag
aaagcgcacgcttcccgaagggagaaaaggcggacaggtatccggtaagcggcagggtcgg
acaggagagcgcacgaggagcttccagggggaaacgcctgggtatctttatagtcctgtcgg
gtttcgccacctctgacttgagcgtcgatttttgtgatgctcgtcagggggcgagcctat
ggaaaaacgccagcaacgcggcctttttacggttcctggccttttgctggccttttgctcac
atgttcttctcgtgttatcccctgattctgtggataaccgtattaccgcctttgagtgagc
tgataaccgctcgccgcagccgaacgaccgagcgcagcagtcagtgagcaggaagcggaa
agcgcaccaatacgcacaaccgcctctccccgcgcttggccgattcattaatgcagctggcac
gacaggttcccgactggaaagcgggcagtgagcgcacgcaattaatgtgagttagctcac
tcattaggcaccccaggctttacactttatgcttccggctcgtatggtgtgtggaattgtga
gcgataacaatttcacacaggaacagctatgaccatgattacgccaagcttacgcgtcct
ggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtatta
gtcatcgctattaccatgggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcgggt
tgactcacggggatttccaagtctccacccattgacgtcaatgggagtttggtttggcacc
aaaatcaacgggactttccaaaatgtcgtaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggt
aggcgtgtacgggtgggaggtctatataagcagagctcgttttagtgaaccgtgg

Figura 4

pc3MerV2 Id-SCD

viral:

- nt 1 - 55: líder de VS
- nt 56 - 66: inicio del gen de transgén (originariamente del gen N; fase 2)
- nt 67 - 103: 5'-UTR (originariamente del gen N)
- nt 103 - 108: XhoI (c'tcgag); no singular en este contexto
- nt 109 - 114: sitio de clonación en 5' Paul+Mlul (g'CGCGT)
- nt 121 - 1242: ORF de SuperCD (1122 nt = 373 aa + terminación)
- nt 1243 - 1248: sitio de clonación en 3' Mlul+Paul (A'cgcg)
- nt 1249 - 1260: 3'-UTR
- nt 1262 - 1270: fin del gen de transgén (originariamente del gen N)
- nt 1274 - 1284: inicio del gen de N (fase 2)
- nt 1326 - 2903: ORF de N (1578 nt = 525 aa + terminación)
- nt 3025 - 4548: ORF de P (1524 nt = 507 aa + terminación)
- nt 3047 - 3607: ORF de C (no estructural; 561 nt = 186 aa + terminación)
- nt 3709 - 3716: caja de edición A5G3; inserción de G tras nt 3714
- nt 3025 - 3923: ORF transmarco de V tras edición de ARNm (no estructural; 900 nt = 299 aa + terminación)
- nt 4656 - 5663: ORF de M (1008 nt = 335 aa + terminación)
- nt 6667 - 8328: ORF de F (1662 nt = 553 aa + terminación)
- nt 8489 - 10342: ORF de H (1854 nt = 617 aa + terminación)
- nt 10452 - 17003: ORF de L (6552 nt = 2183 aa + terminación)
- nt 17076 - 17112: remolque de VS (37 nt)

```

accaaacaagttgggtaaggatagttcaatcaatgatcatcttctagtgacttaggattc
aagatcctattatcagggacaagagcaggattagggatctctcgaggcgcggtgccaccatgg
tgacagggggaatggcaagcaagtgggatcagaagggtatggacattgcctatgaggaggcg
gccttaggttacaaagagggtggtgttccctattggcggatgtcttatcaataacaaagacgg
aagtgttctcggtcggtggtcacaacatgagatttcaaaaggatccgccacactacatggtg
agatctccactttggaaaactgtgggagattagagggcaaagtgtacaaagataccactttg
tatacgacgctgtctccatgcgacatgtgtacaggtgccatcatcatgtatggtattccacg
ctgtgttgtcgggtgagaacgtaatttcaaaagtaaggcgagaaatatttacaactagag
gtcacgaggttgttgttgttgacgatgagaggtgtaaaaagatcatgaaacaatttatcgat
gaaagacctcaggattggttgaagatattggtgaggcttcggaaccttgaagaacgtcta
cttgctacctcaaaacaaaccaattgctgggttggtagacacatcatcagaaataagaatacaa
ctagacctgatttcattttctactccgatagaatcatcagattggttgggtgaagaaggtttg
aacatctacctgtgcaaaagcaaattgtggaaactgacaccaacgaaaacttcgaaggtgt
ctcattcatgggtaaaatctgtggtgttccattgtcagagctggtgaatcgatggagcaag
gattaagagactgttgttaggtctgtgcgatcggtaaaattttaattcaaaggagcagaggag
actgctttaccaagttattctacgaaaaattaccagaggatatactgaaaggatgtctt
cctattagacccaatgctggccaccgggtggtagtgtatcatggctacagaagtcttgatta
agagaggtgttaagccagagagaaatttacttcttaaacctaactctgtagtaaggaaggatt
gaaaaataccatgccgcctcccagaggtcagaattgttactggtgccctcgacagaggtct
    
```

agatgaaaacaagtatctagttccagggttgggtgactttggtgacagataactactgtggtt
 aaacgcgccatccatcattggtataaaaaacttaggattcaagatcctattatcagggaaca
 gagcaggattaggatccgagatggccacacttttaaggagcttagcattggtcaaaaga
 aacaaggacaaaccaccattacatcaggatccggtggagccatcagaggaatcaaacacat
 tattatagtagcaatccctggagattcctcaattaccactcgatccagacttctggaccggt
 tggtagggttaattggaaaccggatgtgagcgggcccactaacaggggactaataagggt
 atattatccttatttggtagtctccaggtcaattgattcagaggatcaccgatgaccctga
 cgtagcataaggctgtagaggtgtccagagtaccagtcacaatctggccttaccttcg
 catcaagaggtaccaacatggaggatgaggcggaccaatacttttcacatgatgatccaatt
 agtagtgatcaatccaggttcggatgggttcgggaacaaggaaatctcagatattgaagtgca
 agaccctgagggattcaacatgattctgggtaccatcctagcccaaatttgggtcttgctcg
 caaaggcgggttacggcccagacacggcagctgattcggagctaagaagggtggataaagtac
 acccaacaagaagggttagttggtgaatttagattggagagaaaaatgggtggatgtggtgag
 gaacaggattgccgaggacctctccttacgocgattcatggctcgctctaatectggatatca
 agagaacacccggaaacaaaccaggattgctgaaatgatagtgtgacattgatataatc
 gttagaggcaggattagccagttttatcctgactattaagtttgggatagaaactatgtatcc
 tgctcttgactgcatgaatttgctggtgagttatccacacttgagtccttgatgaacctt
 accagcaaatgggggaaactgcacctacatggtaatectggagaactcaattcagaacaag
 ttcagtgaggatcataccctctgctctggagctatgccatgggagtaggagtggaacttga
 aaactccatgggaggttgaactttggccgatcttactttgatccagcatattttagattag
 ggcaagagatggtaaggaggtcagctggaaagggtcagttccacattggcatctgaactcgggt
 atcactgccgaggatgcaaggcttgtttcagagattgcaatgcataactactgaggacaagat
 cagtagagcgggttgaccagacaagcccaagtatcatttctacacgggtgatcaaagtgaga
 atgagctaccgagattggggggcaaggaagataggaggggtcaaacagagtcgaggagaagcc
 agggagagctacagagaaaccgggcccagcagagcaagtgatgcgagagctgccatcttcc
 aaccggcacaccctagacattgacactgcaacggagtcagccaagatccgcaggacagtc
 gaaggtcagctgacgcccctgcttaggctgcaagccatggcaggaatctcggagaacaaggc
 tcagacacggacaccctatagtgtacaatgacagaaatcttctagactaggtgcgagaggc
 cgagggccagaacaacatccgctaccatccatcattggtataaaaaacttaggaaccagggt
 ccacacagccgccagcccatcaaccatccactcccacgattggagccaatggcagaagagca
 ggcacgccatgtcaaaaacggactggaatgcatccgggctctcaaggccgagccatcggct
 cactggccatcgaggaagctatggcagcatgggtcagaaatcagacaaccaggacaggag
 cgagccacctgcaggaagagaaggcaggcagttcgggtctcagcaaaccatgcctctcagc
 aattggatcaactgaaggcgggtgcacctcgcatccgcggtcagggacctggagagagcgatg
 acgacgctgaaactttgggaatcccccaagaaatctccaggcatcaagcactgggttacag
 tgttattacgtttatgatcacagcgggtgaagcgggttaagggaatccaagatgctgactctat
 catggttcaatcaggccttgatggtgatagcaccctctcaggaggagacaatgaatctgaaa
 acagcgatgtggatattggcgaacctgataccgagggatatgctatcactgaccggggatct
 gctcccatctctatgggggttcagggtctctgatgtgaaactgcagaaggagggggatcca
 cgagctcctgagactccaatccagaggcaacaactttccgaagcttgggaaaactctcaatg
 ttccctccgcccccgaccccggtagggccagcacttccgggacaccattaaaaagggcaca
 gacgcgagattagcctcatttggaaacggagatcgcgctctttattgacaggtggtgcaacca
 atgtgctcgaaagtaccctcggaaacctcagggccaggtgcacctgcggggaatgtccccg
 agtgtgtgagcaatgccgactgatacaggagtggaacccogaatctggtaccacaatctcc
 ccgagatcccagaataatgaagaagggggagactattatgatgatgagctgttctctgatgt
 ccaagatattaaaacagccttggccaaaatacacgaggataatcagaagataatctccaagc
 tagaatcactgctgttattgaagggagaagttgagtcatttaagaagcagatcaacaggcaa
 aatatcagcatatccaccctggaaggacacctctcaagcatcatgatcgccattcctggact
 tgggaaggatcccaacgacccactgcagatgtcgaaatcaatcccgacttgaaaccatca
 taggcagagattcaggccgagcactggccgaagttctcaagaaaccggttgccagccgacaa
 ctccaaggaatgacaaatggacggaccagttccagaggacagctgctgaaggaatctcagct
 aaagccgatcgggaaaaagatgagctcagccgtcgggtttgttccctgacaccggccctgcat

cacgcagtgtaatccgctccattataaaaatccagccggctagaggaggatcgggaagcgttac
ctgatgactctccttgatgatatacaaaggagccaatgatcttgccaagttccaccagatgct
gatgaagataataatgaagtagctacagctcaacttacctgccaacccccatgccagtcgacc
caactagtacaacctaataatccattataaaaaacttaggagcaaagtgattgcctcccaaggt
ccacaatgacagagacctacgacttcgacaagtcggcatgggacatcaaagggctgatcgct
ccgatacaaccaccacctacagtgatggcaggctgggtgccccaggctcagagtcatagatcc
tggcttaggcgacaggaaggatgaatgctttatgtacatgtttctgctgggggttgtgagg
acagcgattccctagggcctccaatcgggcgagcatttgggttccctgcccttaggtgttggc
agatccacagcaaagcccgaaaaactcctcaaagaggccactgagcttgacatagttgttag
acgtacagcagggctcaatgaaaaactgggtgttctacaacaacccccactaactctcctca
caccttgagaaaggtcctaacaacagggagtgcttcaacgcaaaccaagtgtgcaatgcg
gttaatctgataccgctcgataccccgcagaggttccgtgttgtttatagatcaccog
tctttcggataacgggtattacacogtctcctagaagaatgctggaattcagatcgggtcaatg
cagtgcccttcaacctgctggtgacccttaggattgacaaggcgataggccctgggaagatc
atcgacaatacagagcaacttccctgaggcaacatttatgggccacatcgggaacttcaggag
aaagaagagtgaagtctactctgccgattattgcaaaatgaaaatcgaaaagatgggctgg
tttttgacttgggtgggatagggggcaccagttcacattagaagcacaggcaaaatgagc
aagactctccatgcacaactcgggttcaagaagaccttatgttaccgctgatggatcaaa
tgaagaccttaatcgattactctggaggagcagatgcaagatagtaagaatccaggcagttt
tgcagccatcagttcctcaagaattccgcatttacgacgacgtgatcataaatgatgaccaa
ggactattcaaagttctgtagaccgtagtgccagcaatgccgaaaacgacccccctcaca
atgacagccagaaggcccggaacaaaaagccccctccgaaagactccacggaccaagcgaga
ggccagccagcagccgacggcaagcgcaaacaccagggcggccccagcacagaacagccctga
cacaaggccaccaccagccacccccaatctgcatcctcctcgtgggacccccgaggaccaacc
cccaaggtgccccgatccaaaccaccaaccgcatccccaccacccccggaaagaaacc
ccagcaattggaaggccccctccccctctcctcaacacaagaactccacaaccgaaccgcac
aagcagaccgaggtgacccaaccgcagggcatccgactccctagacagatcctctctccccggc
aaactaaacaaaacttagggccaaggaacatacacacccaacagaaccagacccccggccca
cggcgccgcgcccccaacccccgacaaccagaggggagcccccaaccaatcccgcgggtccc
ccggtgccacagggcagggaaccaacccccgaacagacccagcaccacaacctcgacaatc
caagacgggggggcccccccaaaaaaaggccccagggggccgacagccagcaccgcgaggaa
gccccaccacccacacacgaccacggcaaccaaaccagaaccagaccacctgggccacc
agctcccagactcggccatcacccccgcagaaaggaaaggccacaacccgcgacccccagccc
cgatccggcggggagccaccaaccogaaccagcacccaagagcgatccccgaaggaccccc
gaaccgcaaaggacatcagtatcccacagcctctccaagtcccccggtctcctcctctctc
gaagggacaaaagatcaatccaccacacccgacgacactcaactccccaccctaaaggag
acaccgggaatcccagaatcaagactcatccaatgtccatcatgggtctcaaggtgaacgtc
tctgccatattcatggcagtagttaaactctccaaacacccaccggtcaaattccattgggg
caatctcttaagataggggtggtaggaataggaagtgaagctacaaagttatgactcgtt
ccagccatcaatcattagtcataaaatataatgcccaatataactctcctcaataactgcag
agggtagagattgcagaatacaggagactactgagaacagttttggaaccaattagagatgc
acttaatgcaatgaccagaatataagaccggttcagagtgtagcttcaagtaggagacaca
agagatttgcgggagtagtccctggcaggtgcgggccctaggcgttgccacagctgctcagata
acagccggcattgcacttcaccagttccatgctgaactctcaagccatcgacaatctgagagc
gagcctggaaactactaatcaggcaattgagacaatcagacaagcaggggcaggagatgatat
tggctgttcagggtgtccaagactacatcaataatgagctgataccgtctatgaaccaacta
tcttgtgatataatcggccagaagctcgggctcaaattgctcagatactatacagaaatcct
gtcattatttggccccagtttacgggacccccatatctgaggagatctctatccaggcttga
gctatgcgcttggaggagacatcaataaggtgttagaaaagctcggatacagtgagggtgat
ttactgggcatcttagagagcggaggaataaaggccccgataactcacgtcgacacagagtc
ctacttcatgtcctcagtatagcctatccgacgctgtccgagattaaggggggtgattgtcc
accggctagagggggtctcgtacaacataggctctcaagagtggtataaccactgtgccaag

tatggtgcaaccaaggggtaccttatctcgaatthttgatgagtcacogtgtactttcatgcc
 agaggggactgtgtgcagccaaaatgccttgtacccgatgagtcctctgctccaagaatgcc
 tccgggggtacaccaagtcctgtgctcgtacactcgtatccgggtcttttgggaaccggttc
 atttatcacaaggggaacctaatagccaattgtgcatcaatcctttgcaagtgttacacaac
 aggaacgatcattaatcaagaccctgacaagatcctaacatacattgctgccgatcactgcc
 cggtagtcgaggtgaacggcgtgaccatccaagtcgggagcaggaggtatccagacgctgtg
 tacttgcacagaattgacctcggctcctcccatatcattggagaggttggacgtagggacaaa
 tctggggaatgcaattgctaagttggaggatgccaaggaattgttggagtcacogcaccaga
 tattgaggagtatgaaaggtttatcgagcactagcatagtctacatcctgattgcagtggtg
 ctggagggttgatagggatccccgctttaatatggttgcagggggcgttgaacaaaaa
 gggagaacaagttggtatgtcaagaccaggcctaaagcctgatcttacgggaacatcaaat
 cctatgtaaggtcgtctgatcctctacaactcctgaaacacaaatgtcccacaagtctcct
 cttcgtcatcaagcaaccaccgcaccagcatcaagcccactgaaattatctccggcttcc
 ctctggccgaacaatatcggtagttaatcaaaacttagggtgcaagatcatccacaatgtca
 ccacaacgagaccggataaatgccttctacaaagataacccccatcccaaggggaagtaggat
 agtcattaacagagaacatcttatgattgatagaccttatgttttgcctggtgttctgtttg
 tcatgtttctgagcttgatcgggttgcctagccattgcaggcattagacttcatcgggcagcc
 atctacaccgcagagatccataaaagcctcagcaccaatctagatgtaactaactcaatcga
 gcatcaggtcaaggacgtgctgacaccactcttcaaaatcatcgggtgatgaagtggcctga
 ggacacctcagagattcactgacctagtgaattaatctctgacaagattaattcctta
 ccggatagggagtacgactcagagatctcacttgggtgatcaaccgcagagagaatcaa
 attggattatgatcaatactgtgcagatgtggctgctgaagagctcatgaatgcattgggtga
 actcaactctactggagaccagaacaaccaatcagttcctagctgtctcaaagggaaactgc
 tcagggcccactacaatcagaggtcaattctcaaacatgtcogctgtccctggttagacttga
 tttaggtcagaggtacaatgtgtcatctatagtcactatgacatcccaggggaatgatgggg
 gaacttacctagtggaaaagcctaactctgagcagcaaaaaggtcagagttgtcacaactgagc
 atgtaccgagtggttgaagttaggtgttatcagaaaatccgggttgggggctccgggtgtcca
 tatgacaaaactatcttgagcaaccagtcagtaatgatctcagcaactgtatgggtggcttgg
 gggagctcaaactcgcagcccttggtcacgggggaagattctatcacaattccctatcagggga
 tcagggaaaggtgtcagcttccagctcgtcaagctaggtgtctggaaatccccaaccgacat
 gcaatcctgggtccccttatcaacggatgatccagtgatagacaggctttacctctcatctc
 acagaggtgttatcgtgacaatcaagcaaaaatgggctgtcccgacaacacgaacagatgac
 aagttgcgaatggagacatgcttccaacaggcgtgtaagggtaaaatccaagcactctgcga
 gaatcccagtgggcaccattgaaggataacaggattccttcatacggggctctgtctgttg
 atctgagctgacagttgagcttaaaatcaaaattgcttcgggattcgggaccattgatcaca
 cacgggttcagggatggacctatacaaatccaaccacaacaatgtgtattggctgactatccc
 gccaatgaagaacctagccttaggtgtaatcaacacattggagtgataccgagattcaagg
 ttagtccctacctcttactgtcccaatgaaggaagcaggcgaagactgccatgccccaca
 tacctacctgcggaggtggatgggtgatgtcaaacctcagttccaatctggtgattctacctgg
 tcaagatctccaatatgttttggcaacctacgatacttccagggttgaacatgctgtgggtt
 attacgtttacagcccaagccgctcattttcttacttttatccttttaggttgcctataaag
 ggggtcccctcgaattacaagtggaaatgcttcacatgggacaaaaaactctggtgccgtca
 cttctgtgtgcttgcggactcagaatctggtggacatatcactcactctgggatgggtgggca
 tgggagtcagctgcacagtcacccgggaagatggaaccaatcgcagatagggctgctagtga
 accaatcacatgatgtcaccagacatcaggcataccactagtgtgaaatagacatcagaa
 ttaagaaaaacgtaggggtccaagtggttccccgttatggactcgtatctgtcaaccagatc
 ttataccctgaagttcacctagatagccgatagttaccaataagatagtagccatcctgga
 gtatgctcgagtcctcagccttacagcctggaggaccctacactgtgtcagaacatcaagc
 accgcctaaaaaacggatthttccaacaaatgattataaacaatgtggaagttgggaatgtc
 atcaagtccaagcttaggagttatccggcccactctcatattccatatacaaatgtaatca
 ggattttatthaacatagaagacaagagtcacagaggaagatccgtgaactcctcaaaaagg
 ggaattcogctgtactccaaagtcagtgataaggtthttccaatgcttaagggacactaactca

cggcttggcctaggctccgaattgagggaggacatcaaggagaaagttattaacttgggagt
 ttacatgcacagctcccagtggtttgagcccttctgttttggtttacagtcaagactgaga
 tgaggtcagtgattaaatcacaaccatacttgccataggaggagacacacacctgattc
 ttcactggtagttcagttgagttgctaactctctcgtgacctgttgctataatcagtaaaga
 gtctcaacatgtatattacctgacatttgaactggttttgatgtattgtgatgtcatagagg
 ggaggttaatgcagagaccgctatgactattgatgctaggtatacagagcttctaggaaga
 gtcagatacatgtgaaactgatagatggtttcttccctgcactcgggaatccaacttatca
 aattgtagccatgctggagcctcttccacttgcttacctgcagctgagggatataacagtag
 aactcagaggtgcttcccttaaccactgcttactgaaatacatgatgttcttgaccaaacc
 gggtttctgatgaaggtacttatcatgagttaactgaagctctagattacattttcataac
 tgatgacatacatctgacaggggagattttctcatttttcagaagtctcgccaccccagac
 ttgaagcagtaacggctgctgaaaatgtaggaaatacatgaatcagcctaaagtcattgtg
 tatgagactctgatgaaaggtcatgccatattttgtggaatcataatcaacggctatcgtga
 caggcacggaggcagttggccaccgctgaccctccccctgcatgctgcagacacaatccgga
 atgctcaagcttcaggtgaagggttaacacatgagcagtgcggtgataactggaaatcttt
 gctggagtgaatattggctgctttatgcctcttagcctggatagtgatctgacaatgtacct
 aaaggacaaggcacttgctgctctccaaagggaatgggattcagtttaccgaaagagttcc
 tgcgttacgacctcccaagggaaccgggtcacggaggcttgtagatgtttccttaatgat
 tcgagctttgaccatgatgtgataatgatgttgtaagtggagcttacctccatgacct
 tgagttcaacctgtcttacagcctgaaagaaaaggagatcaaggaaacaggtagacttttg
 ctaaaatgacttacaaaatgagggcatgccaagtgttgctgaaaatctaactcaaacggg
 attggcaaatattttaaggacaatgggatggccaaggatgagcacgatttgactaaggcact
 ccacactctagctgtctcaggagtccccaaagatctcaaagaaagtcacaggggggggcccag
 tcttaaaaacctactcccgaagcccagtcacacacaagtaaccaggaacgtgagagcagcaaaa
 gggtttatagggttccctcaagtaattcggcaggaccaagacactgatcatccggagaatat
 ggaagcttacgagacagtcagtgcatttatcacgactgatctcaagaagtactgccttaatt
 ggagatatgagaccatcagcttgtttgcacagaggctaaatgagatttacggattgacctca
 ttttccagtggtgcataagaggcttgagacctctgtcctgtatgtaagtgacctcattg
 ccccccgaccttgacgcccataatcccgttatataaagtccccaatgatcaaatcttcatta
 agtacctatgggagggtatagaagggtattgtcagaagctgtggaccatcagcaccattccc
 tatctataacctggctgcttatgagagcggagtaaggattgcttcggttagtgcaaggggaca
 tcagaccatagccgtaacaaaaagggtaccagcacatggccctacaaccttaagaaacggg
 aagctgctagagtaactagagattactttgtaattcttaggcaaaggctacatgatattggc
 catcacctcaaggcaaatgagacaattgtttcatcacattttttgtctattcaaaaggaat
 atattatgatgggctacttgtgtcccaatcactcaagagcatcgcaagatgtgtattctggt
 cagagactatagttgatgaaacaagggcagcatgcagtaaatattgctacaacaatggctaaa
 agcatcgagagaggttatgaccgttaccttgcatattccctgaacgtcctaaaagtgataca
 gcaaatctgatctctcttggcttcaaatcaattcaacctgaccgggatgtagtcatac
 cctcctcacaacaacgacctcttaataaggatggcactgttgcccgtcctattgggggg
 atgaattatctgaatatgagcaggctgtttgtcagaaacatcgggtgatccagtaacatcatc
 aattgctgatctcaagagaatgattctcgcctcactaatgcctgaagagacctccatcaag
 taatgacacaacaaccgggggactcttcattccttagactgggctagcgaccttactcagca
 aatcttgtatgtgtccagagcatcactagactcctcaagaacataactgcaaggtttgtcct
 gatccatagtccaaaccatgttaaaggattattccatgatgacagtaaagaagaggacg
 agggactggcggcattcctcatggacaggcatattatagtagctagggcagctcatgaaatc
 ctggatcatagtgctcacaggggcaagagagtctattgcaggcatgctggataccacaaaagg
 ctgattcgagccagcatgaggaagggggggttaacctctcgagtataaccagattgtcca
 attatgactatgaacaattcagagcagggatggtgctattgacaggaagaaagagaaatgtc
 ctattgacaaagagtcagttcagtgacagctggcgagagctctaagaagccatattgtgggc
 gaggctagctcgaggacggcctatttacggccttgaggtccctgatgtactagaatctatgc
 gaggccaccttattcggcgtcatgagacatgtgtcatctgcgagtggtgatcagcaactac
 ggatgggtttttgtcccctcgggttgccaactggatgatattgacaaggaaacatcatcctt

gagagtcccatatattgggttctaccactgatgagagaacagacatgaagcttgccttcgtaa
 gagccccaagtgcgatccttgcgatctgctggttagaatagcaacagtgtactcatgggcttac
 ggtgatgatgatagctccttggaaacgaagcctgggtggttggttaggcaaaggccaatgtgag
 cctggaggagctaagggtgatcactcccactctcaacttcgactaatttagcgcataggttga
 gggatcgtagcactcaagtgaataactcaggtacatcccttgtccgagtgccgaggtatacc
 acaatctccaacgacaatctctcatttgtcatatcagataagaaggttgataactaactttat
 ataccaacaaggaatgcttcttaggggttgggtggttttagaaacattgtttcgactcgagaaag
 ataccggatcatctaacacggtattacatcttcacgtcgaacagattggtgctgatcccg
 atgatagatcatcccaggataccagctcccgcaagctagagctgagggcagagctatgtac
 caaccattgatatatgataatgcaccttaattgacagagatgcaacaaggctatacacc
 agagccataggaggcaccttgtggaatttgttacatgggtccacaccccaactatcacatt
 ttagctaagtcacagcactatctatgattgacctggttaacaaaatttgagaaggaccat
 gaatgaaatttcagctctcataggggatgacgatatacaatagtttcataactgagtttctgc
 tcatagagccaagattattcactatctacttgggcccagtggtgcccacatcaattgggcattt
 gatgtacattatcatagaccatcagggaaatcagatgggtgagctggtgtcatcgttctt
 ttctagaatgagcaaggagtggttaagggtgcttgtcaatgctcgaagccacccaaagatct
 acaagaaattctggcattgtggtattatagagcctatccatgggtccttcacttgatgctcaa
 aacttgcacacaactgtgtgcaacatgggttacacatgctatatgacctacctcgacctgtt
 gttgaatgaagagttagaagagttcacatttctctgtgtgaaagcgacgaggatgtagtac
 cggacagattcgacaacatccaggcaaaacacttatgtgttctggcagatttgtactgtcaa
 ccagggacctgccaccaattcgagggtcgaagaccggtagagaaatgtgcagttcctaaccga
 ccatatcaaggcagaggctatgttatctccagcaggatcttcgtggaacataaatccaatta
 ttgtagaccattactcatgctctctgacttatctccggcgaggatcgatcaaacagataaga
 ttgagagttgatccaggattcattttcgacgcctcgctgaggtaaatgtcagtcagccaaa
 gatcggcagcaacaacatctcaaatatgagcatcaaggcttccagacccccacacgatgatg
 ttgcaaaattgctcaaagatatcaacacaagcaagcacaatcttcccatttcagggggcaat
 ctccccaattatgaaatccatgcttccgcagaatcgggttgaactcatctgcttgcatacaa
 agctggtgagatatcaacattaattaggagatgccttgagccaggggaggacggcttgttct
 tgggtgagggatcgggttctatggtgatcacttataaagagataacttaactaaacaagtgc
 ttctataatagtggggttccgccaattctagatctggtcaaaggaattagaccctatcc
 ctccgaagtggccttgtcgaacacagaatgggagtaggtaatatgtcaaagtgctcttta
 acgggagggcccgaagtacgtgggttaggcagtgtagattgcttcaatttcatagttagta
 atccctacctctagtgtgggttatccattcagatatagagacctgacctgacaaagatac
 tatagagaagctagaggaattggcagccatcttatcgatggctctgctcctgggcaaaatag
 gatcaataactggtgattaagcttatgccttccagcgggatttgggttcagggatttataagt
 tatgtagggtctcattatagagaagtgaaccttgtataacctagatacagcaacttcatctc
 tactgaatcttatttgggttatgacagatctcaaggctaaccggctaataatcctgaaaaga
 ttaagcagcagataattgaatcatctgtgaggacttcacctggacttatagggtcacatccta
 tccattaagcaactaagctgcatacaagcaattgtgggagacgcagttagtagaggtgat
 caatcctactctgaaaaaacttacacctatagagcagggtgctgatcaattgcgggttggcaa
 ttaacggacctaaagctgtgcaagaattgatccaccatgatggtgcctcagggcaagatgga
 ttgcttaattctataactcatcctctacagggagttggcaagattcaagacaaccaaagaag
 tcaacaagggatgttccacgcttaccocgtattggtaagtagcaggcaacgagaacttat
 ctaggatcaccgcgcaattctgggggcacattcttcttactccgggaacaaaaagttgata
 aataagtttatccagaatctcaagtccggctatctgatactagacttacaccagaatatctt
 cgttaagaatctatccaagtcaagaaacagattattatgacggggggttgaacgtgagt
 ggggttttaaggtaacagtcaaggagaccaagaatggtataagttagtcggatacagtgcc
 ctgattaaggactaattgggtgaactccggaaccctaatacctgcctagggtggttaggcatt
 atttgcaatatattaagaaaacttgaaaaatacgaagtttctattcccagcttgtctggt
 ggccggcatggtcccagcctcctcgctggcgcggctgggcaacattccgaggggaccgctcc
 cctcggtaatggcgaatgggacgcggccggctcgatcgacgatccggctgctaacaagcccg
 aaaggaagctgagttggctgctgccaccgctgagcaataactagcataacccttggggcct

ctaaacgggtcttgaggggttttttgcctgaaaggaggaactatatccggatcgagatcaatt
 ctgtgagcgtatggcaaacgaaggaaaaatagttatagtagccgcactcgatgggacatttc
 aacgtaaaccgtttaataatattttgaatcttattccattatctgaaatgggtggtaaaacta
 actgctgtgtgatgaaatgctttaaggaggcttcttttctaaacgattgggtgaggaaac
 cgagatagaaataataggaggaatgatatgtatcaatcgggtgtgtagaaagtgttacatcg
 actcataatattatattttttatctaaaaaactaaaaataaacattgattaaattttaatat
 aatacttaaaaatggatgtgtgtcgtagataaacctgttatgtattttgaggaaattgat
 aatgagttagattacgaaccagaaagtgcaaatgaggtcgcaaaaaaactgccgtatcaagg
 acagttaaaactattactaggagaattattttttcttagtaagttacagcgacacgggtatat
 tagatgggtgccaccgtagtgtatagtagctcctcgggtacacatatacgttatttgaga
 gatcatttctataatttaggagtgatcccgaaggagctgagttggctgctgccaccgctg
 agcaataactagcataaaccttggggcctctaaacgggtcttgaggggttttttgcctgaaa
 ggaggaacgcgctgatgcggtattttctccttacgcacatctgtgcggtatttcacaccgcat
 atatgggtgcaactctcagtacaatctgctctgatgccgcatagttaagccagccccgacacc
 gccaacaccogctgacgcgccctgacgggcttgtctgctcccggcatccgcttacagacaag
 ctgtgaccgtctccgggagctgcatgtgtcagaggttttcaccgctcatcaccgaaacgcgcg
 agacgaaagggcctcgtgatacgcctatttttataggttaatgtcatgataataatggttc
 tttagacgtcaggtggcacttttcggggaaatgtgcgcggaaccctatttgtttatttttct
 aaatacattcaaataatgtatccgctcatgagacaataaccctgataaatgcttcaataatat
 tgaaaaaggaagagtatgagtattcaacatttccgtgtcgcccttattcccttttttgcggc
 attttgccttctgtttttgctcaccagaaacgctgggtgaaagttaaagatgctgaagatc
 agttgggtgcacgagtgggttacatcgaactggatctcaacagcggtaagatccttgagagt
 tttcgccccgaagaacgttttccaatgatgagcacttttaaagttctgctatgtggcgggt
 attatcccgtattgacgccgggcaagagcaactcggctcggcgatacactattctcagaatg
 acttgggtgagtactcaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaagagaa
 ttatgcagtgctgccataaccatgagtgataaacactgcccgaacttactctgacaacgat
 cggaggaccgaaggagctaaccgcttttttgcacaacatgggggatcatgtaactcgccttg
 atcgttgggaaccggagctgaatgaagccataccaaacgacgagcgtgacaccacgatgcct
 gtagcaatggcaacaacggttgcgcaaacctattaactggcgaaactacttactctagcttcccg
 gcaacaattaatagactggatggaggcggataaaagttgcaggaccacttctgcgctcggccc
 ttccggctggctggtttattgctgataaatctggagccgggtgagcgtgggtctcgcggtatc
 attgcagcactggggccagatggtaagccctcccgtatcgtagttatctacacgacggggag
 tcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgctgagataggtgcctcactgattaagc
 attggtaaactgtcagaccaagtttactcatatatacttttagattgatttaaaacttcatttt
 taatttaaaaggatctaggtgaagatcctttttgataatctcatgacaaaatcccttaacg
 tgagttttcgttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatc
 cttttttctgcgcgtaactctgctgcttgcaacaaaaaaaccaccgctaccagcgggtggtt
 tgtttgcccgatcaagagctaccaactcttttccgaaggtaactggcttcagcagagcgca
 gataccaataactgtccttctagtgtagccgtagttaggccaccacttcaagaactctgtag
 caccgcctacatacctcgcctctgctaactcctgttaccagtggtgctgccagtgggcgataag
 tcgtgtcttaccgggttgactcaagacgatagttaccggataaggcgcagcggctcgggctg
 aacggggggttcgtgcacacagcccagcttggagcgaacgacctacaccgaactgagatacc
 tacagcgtgagcatgagaaagcgcacacgcttcccgaaggggagaaaggcggacaggtatccg
 gtaagcggcaggggtcggaacagggagagcgcacgagggagcttccagggggaaacgcctggt
 tctttatagtcctgtcgggtttcggccacctctgacttgagcgtcgatttttgtgatgctcgt
 caggggggcgagcctatggaaaaacgcagcaacgcggcctttttacgggtcctggccttt
 tgcctggccttttgcctcacatgttctttcctgcgttatcccctgattctgtggataaccgcat
 taccgcctttgagtgagctgataaccgctcgcgcgacccgaacgaccgagcgcagcagctcag
 tgagcaggaagcgggaagagcgcaccaataacgcaaacgcctctcccgcgcgttggccgatt
 cattaatgcagctggcagcagaggtttcccgaactggaaagcgggcagtgagcgaacgcaat
 taatgtgagttagctcactcattaggcaccaccaggctttacactttatgcttccggctcgta
 tgttgtgtggaattgtgagcggataacaatttcacacaggaaacagctatgaccatgattac

ES 2 540 526 T3

gccaagcttacgcgtcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttgg
cagtacatctacgtattagtcacgcgtattaccatggatgacgggtttggcagtacatcaa
tgggcgtggatagcgggttgactcacggggattccaagtctccacccattgacgtcaatg
ggagttgttttggcaccaaatcaacgggactttccaaatgtcgtacaactccgccccca
ttgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacgggtgggaggtctatataagcagagctcgtttagt
gaaccgtgg

Figura 5

pcDIMer-N

nt 1358 - 2935: ORF de N de Schwarz de VS (1578 nt = 525 aa + codón de terminación)

```

agcttgcattgcctgcaggtcaattccctggcattatgccagtcacatgaccttatgggactt
tcctacttggcagtcacatctacgtattagtcacgctattaccatggatgacgggtttggc
agtacatcaatgocgctggataccgggttgactcacggggatttccaagtctccacccatt
cacgtcaatgggagtttggtttggcaccaaaatcaacgggacttccaaaatgtcgtaaaca
ctccgccccattgacgcaaatgggocggtaggcgtgtacgggtgggaggtctatataagcagag
ctcgttttagtgaaccgtcagatcgctggagacgccatccacgctgttttgacctccataga
agacaccgggaccgatccagcctggggatctagcctccgocggccgggaacgggtgcatggaa
cgcggtatccccgtgccaagagtgcgtaagtaccgcctatagagtctataggcccccccc
ttggcttcttatgcatgctatactgtttttggcttggggctctatacaccocgcttctcat
gttataggatggtatagcttagcctatagggtgtgggttattgaccattattgaccactcc
cctattgggtgacgatactttccattactaatccataacatggctctttgccacaactctctt
tattggctatatgccaatacactgtccttcagagactgacacggactctgtatttttacagg
atggggctctcatttatttatacaaatccacatacaaacaccaccgtccccagtggccgca
gtttttattaaacataacgtgggatctccacgcgaatctcgggtacgtgttccggacatggg
ctcttctccggtagcggcggagctcctacatccgagccctgctcccatgcctccagcgactc
atggctcgtcggcagctccttgctcctaacagtgaggccagacttaggcacagcacgatgc
ccaccaccaccagtgtgccgcacaaggccgtggcggtagggatgtgtctgaaaatgagctc
ggggagcgggcttgaccgctgacgcatttggaaagacttaaggcagcggcagaagaagatgc
aggcagctgagttgttgtgtctgataagagtacagaggaactcccggttggcgtgctgttaa
cgggtggagggcagtgtagctgagcagtaactcgttgctgccgcgcgcgccaccagacataat
agctgacagactaacagactgttcccttccatgggtctttctgcagtcaccgtccttgaca
cgatcggatccccgggtacctctagaagatctgatatcgtcgacctcgaggccaccatggcca
cacttttaaggagcttagcattgttcaaaagaaacaaggacaaaccaccattacatcagga
tccgggtggagccatcagaggaatcaaacacattattatagtagcaatccctggagattcctc
aattaccactcgatccagacttctggaccgggtgggtgaggttaattggaaaccggatgtga
gocggcccaactaacaggggactaataggtatattatccttatttgggagctccaggt
caattgattcagaggatcacgatgacctgacgttagcataaggctgttagaggttgtcca
gagtgaccagtcacaatctggccttaccttcgatcaagaggtaccaacatggaggatgagg
cggaccaataacttttcacatgatgatccaattagtagtgatcaatccaggttcggatggttc
gggaacaaggaaatctcagatattgaagtgcagaccctgagggattcaacatgatctcggg
taccatcctagcccaatttgggtcttgctcgcaaaggcggttacggccccagacacggcag
ctgattcggagctaagaaggtggataaagtacaccaacaagaagggtagttgggtgaattt
agattggagagaaaatggttggatgtggtgaggaacaggattgcccagggacctctccttacg
ccgattcatggtcgtctaatcctggatcaagagaaacccccgaaacaaccaggattg
ctgaaatgatatgtgacattgatataatcgttagaggcaggattagccagttttatcctg
actattaagtttgggatagaaactatgtatcctgctcttgactgcatgaatttgctggtga
gttatccacacttgagtccttgatgaacctttaccagcaaatgggggaaactgcacctaca
tggtaatcctggagaactcaattcagaacaagttcagtgacagatcatacctctgctctgg
agctatgccatgggagtaggagtggaacttgaactccatgggaggtttgaactttggccg
atcttactttgatccagcatatttttagattagggcaagagatggtaaggaggtcagctggaa
aggctcagttccacattggcatctgaactcggatcactgccgaggatgcaaggcttgtttca
gagattgcaatgcatactactgaggacaagatcagtagagcgggttggaaccagacaagccca
agtatcatttctacacgggtgatcaaagtgagaatgagctaccgagattggggggcaaggaag
ataggaggggtcaaacagagtcgaggagaagccagggagagctacagagaaaccgggcccagc

```

agagcaagtgatgcgagagctgcccattctccaaccggcacaccccctagacattgacactgc
 aacggagtcagccaagatccgcaggacagtcgaaggtcagctgacgccctgcttaggctgc
 aagccatggcaggaatctcgaagaacaaggctcagacacggacaccccctatagtgtacaat
 gacagaaatcttctagactaggtgcgagagggccgagggccagaacaacatccgcctaccatc
 catcattctcgaggaattctagatcccacgtcactattgtatactctatattatactctatg
 ttatactctgtaatcctactcaataaacgtgtcacgcctgtgaaaccgtactaagtctcccg
 tgtcttcttatcaccatcaggtgacatcctcgcgccaggctgtcaatcatgccggtatcgatt
 ccagtagcaccggccccacgctgacaaccactcttgacagcgttagcagcggcccctcttaac
 aagccgacccccaccagcgtcgcggttactaacactcctctccccgacctgcagcccaagct
 ctagagggccctattctatagtgtcacctaaatgctagagctcgtgatcagcctcgactgt
 gccttctagttgccagccatctgttgtttgccctcccccgctgcttcttgaccctggaag
 gtgccactcccactgtcctttcctaataaaaatgaggaaattgcatcgcattgtctgagtagg
 tgtcattctattctggggggtgggggtggggcaggacagcaagggggaggattgggaagacaa
 tagcaggcatgctggggatgcggtgggctctatggcttctgaggcggaaagaaccagctggg
 gctctagggggatccccacgcgccctgtagcggcgcattaagcgcggcgggtgtgggtggtt
 acgcgcagcgtgaccgctacacttgccagcgccttagcgcgccctcctttcgctttctccc
 ttctttctcgccacgttcgcccgtttccccgtcaagctctaaatcggggcatcccttag
 ggttccgatttagtgctttacggcacctcgacccccaaaaacttgattagggtgatggttca
 cgtagtgggccatcgccctgatagacggtttttcgccctttgacgctggagtcacgctctt
 taatagtgactcttgttccaaactggaacaacactcaaccctatctcggctctattcttttg
 atttataagggtattttggggatttcggcctattgggttaaaaaatgagctgatttaacaaaa
 ttaacgcgaattaattctgtggaatgtgtgtcagttagggtgtggaaagtcccaggctcc
 ccaggcaggcagaagtatgcaaagcatgcatctcaattagtcagcaaccagggtgtggaaagt
 cccaggctccccagcaggcagaagtatgcaaagcatgcatctcaattagtcagcaaccata
 gtcccccccctaactccgcccataactccgcccagttccgcccattctccgccc
 ccatggctgactaattttttttatttatgagagggccgaggccgctctgctctgagctat
 tccagaagttagtgaggaggcttttttgaggcctaggcttttgcaaaaagctcccgggagct
 tgtatatccattttcggatctgatcaagagacaggatgaggatcgtttcgcatgattgaaca
 agatggattgcacgcaggttctccggccgcttgggtggagaggctattcggctatgactggg
 cacaacagacaatcggtctctgatgcccgcgctgttccggctgtcagcgcaggggcgcccg
 gttctttttgtcaagaccgacctgtccgggtgccctgaatgaactgcaggacgaggcagcgcg
 gctatcgtggctggccacgacggcgcttcttgcgcagctgtgctcagcgttgtcactgaag
 cgggaagggactggctgctattggggcgaagtgcggggcaggatctcctgtcactctcacctt
 gtcctgcccagaaaagtatccatcatggctgatgcaatgcccggctgcatacgttgatcc
 ggctacctgccattcgaccaccaagcgaacatcgcatcgagcgcagcactcggatgg
 aagccggtcttgtcgatcaggatgatctggacgaagagcatcaggggctcgcgccagccgaa
 ctgttcgccaggctcaaggcgcgatgcccagggcgaggatctcgtcgtgacccatggcga
 tgctgcttgccgaatatcatggtggaaaatggccgctttctggattcatcgactgtggcc
 ggctgggtgtggcggaccgctatcaggacatagcgttggtacctgataattgctgaagag
 ctggcggcgaatgggctgaccgcttctcgtgctttacggatcgcgcgtcccgatccgca
 gcgcatcgccttctatcgccttcttgacgagttcttctgagcgggactctgggggttcgaaat
 gaccgaccaagcgcagcccaacctgccatcacgagatttcgattccaccgcccgttctatg
 aaaggttgggcttcggaatcgttttccggggacgcgggctggatgatcctccagcgggggat
 ctcatgctggagttcttcgcccacccaactgtttattgcagcttataatggttacaata
 aagcaatagcatcacaatttcacaaataaagcatttttttactgcattctagtgtggtt
 tgtccaaactcatcaatgtatcttatcatgtctgtataccgctcgacctctagctagagcttg
 gcgtaatcatggtcatagctgtttcctgtgtgaaattgttatccgctcacaattccacacaa
 catacagaccggaagcataaagtgtaaagcctgggggtgcctaatgagtgagctaactcacat
 taattgcgttgcgctcactgcccgtttccagtcgggaaacctgtcgtgccagctgcattaa
 tgaatcggccaacgcgcggggagaggcggtttgcgtattgggcgctcttccgcttctcgtc
 cactgactcgtcgcgctcggctcgttcggctgcggcgagcggatcagctcactcaaaggcgg
 taatacggttatccacagaatcaggggataacgcaggaaagaacatgtgagcaaaaggccag

caaaaggccaggaaccgtaaaaaggccgcggttgctggcggtttttccataggctccgcccccc
tgacgagcatcacaaaaatcgacgctcaagtcagaggtggcgaaaccgcagagactataaa
gataccaggcggtttccccctggaagctccctcgtgcgctctcctggtccgaccctgccgctt
accggatacctgtccgcctttctcccttcgggaagcgtggcgctttctcaatgctcacgctg
taggtatctcagttcgggtgtaggtcgttcgctccaagctgggctgtgtgcacgaacccccg
ttcagcccgcaccgctgcgccttatccgtaactatcgtcttgagtcacaaccggtaagacac
gacttatcgccactggcagcagccactggtaacaggattagcagagcgaggtatgtaggcgg
tgctacagagttcttgaagtggccttaactacggctacactagaaggacagtatttggtat
tctgcgctctgctgaagccagttaccttcggaaaaagagttggtagctcttgatccggcaaa
caaaccaccgctggtagcgggtgggttttttggtttgcaagcagcagattacgcgcagaaaaa
aggatctcaagaagatcctttgatcttttctacggggtctgacgctcagtggaacgaaaact
cacgtaagggattttgggtcatgagattatcaaaaaggatcttcacctagatccttttaaat
taaaaatgaagttttaaatcaatctaaagtatatatgagtaaacttgggtctgacagttacca
atgcttaatcagtgaggcacctatctcagcagatctgtctatttcgttccatcatagttgct
gactccccgctcgtgtagataactacgatacgggagggttaccatctggccccagtgctgca
atgataccgcgagacccaogctcacgggctccagatttatcagcaataaaccagccagccgg
aagggccgagcgcagaagtggcctgcaactttatccgcctccatccagttatattaattggt
gccgggaagctagagtaagtagttcgccagttaatagtttgcgcaacggtggtgccattgct
acaggcatcgtgggtgacgctcgtcgtttgggtatggcttcattcagctccggttcccaacg
atcaaggcgagttacatgatcccccatggtgtgcaaaaaagcggttagctccttcgggtctc
cgatcgttgctcagaagtaagttggcgcgagtggtatcactcatggttatggcagcactgcat
aattctcttactgtcatgccatccgtaagatgcttttctgtgactgggtgagtaactcaacaa
gtcattctgagaatagtgtatgcggcgaccgagttgctcttgccccggcgtcaatacgggata
ataccgcgccacatagcagaactttaaaagtgctcatcattggaaaacggtcttcggggcga
aaactctcaaggatcttaccgctggtgagatccagttcgatgtaaccactcgtgcacccaa
ctgatcttcagcatcttttactttcaccagcgtttctgggtgagcaaaaacaggaaggcaaa
atgccgcaaaaaagggaataagggcgacacggaaatggtgaatactcatactcttcctttt
caatattattgaagcatttatcagggttattgtctcatgagcggatacatatttgaatgat
ttagaaaaataaacaatataggggttccgcgcacatttccccgaaaagtgccacctgacgctc
acggatcgggagatc

Figura 6

pcDIMer-P

nt 1358 - 2881: ORF de P de Schwarz de VS (1524 nt = 507 aa + codón de terminación)

agcttgc atg cctgc aggtca attcc cctgg cattatgccc agt acatgac cttatggg actt
 tcctacttggc agt acatctacgt attagtc atcgctattacc atggtgatgcgg ttttggc
 agtacatcaatgcgcgtggataccgg tttgactcacggggatttcca agtctccacccatt
 cacgtcaatgggagtttgttttggc accaaaaatcaacgggacttcca aaaaatgctcgt aacaa
 ctccgccccattgacgcaaatggg cggtaggcgtgtacgg tgggaggtctatataagcagag
 ctcgtttagtgaaccgtcagatcg cctgggagacgccatccacgctgttttgacctccataga
 agacacccgggaccgatccagcctggggatctagcctccgcggccgggaacgggtgcattggaa
 cgcggtattccccgtgccaagagtgacgtaagtaccgcctatagagtcctataggcccaccccc
 ttggcttcttatgcatgctatactgtttttggcttggggctctatacacc ccccgcttccctcat
 gttatagggtgatggtatagcttagcctatagggtgtgggttattgaccattattgaccactcc
 cctattgggtgacgatactttccattactaatccataacatggctctttgccacaactctctt
 tattggctatatagccaatacactgtccttcagagactgacacggactctgtatttttacagg
 atggggctctcatttattatttaca aattcacatatacaacaccacgg tccccagtgcccgca
 gtttttattaacataacgtgggatctccacgcgaatctcgggtacgtgttccggacatggg
 ctcttctccggtagcggcggagctcctacatccgagccctgctcccatgctccagcgactc
 atggctcgtcggcagctccttgcctcctaacagtgaggccagacttaggcacagcacgatgc
 ccaccaccaccagtggtgccgcacaaggccgtggcggtagggatgtgtctgaaaatgagctc
 ggggagcgggcttgcaccgctgacgcatttggaa gacttaaggcagcggcagaagaagatgc
 aggcagctgagttgttgtgttctgataagagtcagaggttaactcccg tttgogggtgtgttaa
 cgggtggagggcagtgtagtctgagcagtaactcgttgcctgccgcgcgcgccaccagacataat
 agctgacagactaacagactgttctttccatgggtcttttctgcagtcaccgtccttgaca
 cgatcggatcccgggtacctctagaagatctgatatcgtcgcacctcgaggccaccatggcag
 aagagcagggcacgccatgtcaaaaacggactggaatgcatccgggtctcaaggccgagccc
 atcggctcactggccatcgaggaagctatggcagcatggtcagaaatcagacaaccagg
 acaggagcagaccacctgcagggaaagagaaggcagggcaggtccgggtctcagcaaacccatgcc
 tctcagcaattggatcaactgaaggcgggtgcacctcgcatccgcggctcagggacctggagag
 agcgatgacgacgctgaaactttgggaatccccccaagaaatctccaggcatcaagcactgg
 gttacagtggtattacgtttatgatcacagcggtgaaagcgg taaaggaatccaagatgctg
 actctatcatggttcaatcaggccttgatgggtgatagcaccctctcaggaggagacaatgaa
 tctgaaaacagcgatgtggatattggcgaacctgataccgagggatagctatcactgaccg
 gggatctgctcccatctctatgggggttcagggcttctgatgttgaaactgcagaaggagggg
 agatccacgagctcctgagactccaatccagaggcaacaacttccgaagcttgggaaaact
 ctcaatgttctccgccccggacccccggtagggccagcactccggggacacccattaaaaa
 gggcacagacgcgagattagcctcatttggaaacggagatcgcgctctttattgacaggtgggtg
 caacccaatgtgctcgaaggtcacctcggaaacctcagggccaggtgcacctgcgggggat
 gtccccgagtggtgagcaatgccgcactgatacaggagtggaaccccgaatctggtaccac
 aatctccccgagatcccagaataatgaagaagggggagactattatgatgatgagctgttct
 ctgatgtccaagatattaaaacagccttggccaaaaatacacgaggataatcagaagataatc
 tccaagctagaatcactgctgttattgaaggggagaagttgagtc aattaagaagcagatcaa
 caggcaaaaatcagcatatccacctggaaggacacctctcaagcatcatgatcgccattc
 ctggacttgggaaggatcccacgacccccactgcagatgtcga aatcaatcccgacttgaaa
 cccatcataggcagagattcaggccgagcactggccgaagttctcaagaaacccgttgccag
 ccgacaactccaaggaatgacaaaatggacggaccagttccagaggacagctgctgaaggaat
 ttcagctaaagccgatcgggaaaaagatgagctcagccgtcgggtttgttctgacacccggc
 cctgcatcacgcagtgtaatccgctccattataaaaatccagccggctagaggaggatcggaa

gcggttacctgatgactctccttgatgatatcaaaggagccaatgatcttgccaagttccacc
 agatgctgatgaagataataatgaagtagctacagctcaacttacctgccaacccccatgcc
 gtcgacccaactagtacaacctaaatcctcgaggaattctagatcccacgtcactattgtat
 actctatattatactctatggtatactctgtaatcctactcaataaacgtgtcacgcctgtg
 aaaccgtaactaagtctcccgtgtcttcttatcaccatcaggtgacatcctcgcccaggctgt
 caatcatgccggtatcgattccagtagcaccggccccacgctgacaaccactcttgacgagc
 ttagcagcgcgccctcttaacaagccgacccccaccagcgtcgcggttactaacactcctctc
 cccgacctgcagcccaagctctagagggccctattctatagtgtcacctaaatgctagagct
 cgctgatcagcctcgactgtgecttctagttgccagccatctggtggttgccccctccccgt
 gccttcttgacctggaaggtgccactcccactgtcctttcctaataaaatgaggaaattg
 catcgcatgtctgagtaggtgtcattctattctgggggtgggggtggggcaggacagcaag
 ggggaggattgggaagacaatagcaggcatgctggggatgcggtgggctctatggcttctga
 ggcgaaagaaccagctggggctctagggggtatccccacgcgcctgtagcggcgcattaa
 gcgcggcgggtgtggtggttacgcgcagcgtgaccgctacacttgccagcgccttagcgc
 gctccttctgcttcttcccttcttctcgcacgcttcgcccgttccccgtcaagctct
 aaatcggggcatccctttagggttccgatttagtgctttacggcacctcgacccccaaaaac
 ttgattagggtgatggttcacgtagtggccatcgccctgatagacgggttttctgccccttg
 acgttggagtccacgttctttaatagtgactcttgttccaaactggaacaacactcaacc
 tatctcggctctattcttttgattataagggttttggggatttcggcctattgggttaaaaa
 atgagctgatttaacaaaaatthaacgcgaattaatctgtggaatgtgtgtcagttagggt
 gtggaaagtccccaggctccccaggcaggcagaagtatgcaaagcatgcatctcaattagtc
 agcaaccagggtgtggaaagtccccaggctccccaggcaggcagaagtatgcaaagcatgcatc
 tcaattagtcagcaaccatagtcgcccccactcgcacctcccccccactcgc
 agttccgcccattctccgccccatggctgactaattttttttatattatgacagaggccgaggc
 cgcctctgcctctgagctattccagaagtagtgaggaggcttttttggaggcctaggctttt
 gcaaaaagctcccgggagcttgtatataccattttcggatctgatcaagagacaggatgagga
 tctgttctgcatgattgaacaagatggattgcacgcagggttctccggccgcttgggtggagag
 gctattcggctatgactgggcacaacagacaatcggctgctctgatgccgcccgtgttccggc
 tgtcagcgcaggggcccgggttctttttgtcaagaccgacctgtccgggtgcctgaatgaa
 ctgcaggacgaggcagcgcggctatcgtggctggccacgacggggcgttccctgcccagctgt
 gctcgacgttgtcactgaagcgggaaggactggctgctattgggcgaagtgccggggcagg
 atctcctgtcactcacttgcctcctgcccagaaagtatccatcatggctgatgcaatgccc
 cggctgcatacgttgcctgacccgctacctgccattcgcaccacaagcgaacatcgcacga
 gcgagcagctactcggatggaagccggctctgtcagatcaggatgatctggacgaagagc
 atcaggcctcgcgcccagccgaactgttcgccaaggctcaaggcgcgcatgcccgacggcgaggat
 ctcgtcgtgacccatggcgatgectgcttgccgaatatcatggtggaaaatggccgctttc
 tggattcatcgactgtggccggctgggtgtggcggaccgctatcaggacatagcgttggcta
 cccgtgatattgctgaagagcttggcggcgaatgggctgaccgcttccctcgtgctttacggt
 atcgcgctcccgatcgcagcgcategccttctatcgccttcttgacgagttcttctgagc
 gggactctggggttcgaaatgaccgaccaagcgcgcccacctgccatcacgagatttca
 tccaccgccccttctatgaaagggttgggcttcggaatcgttttccgggacgcccggctgga
 tgatcctccagcgcgggatctcatgctggagttcttcgcccacccccactgtttattgca
 gttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaatttcacaataaagcatttttttc
 actgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatcttatcatgtctgtataccgt
 cgacctctagctagagcttggcgtaatcatggtcatagctgtttcctgtgtgaaattggtat
 ccgctcacaattccacacaacatacagagccggaagcataaagtgtaaagcctgggggtgccta
 atgagtgagctaactcacattaatgacgttgcgctcactgcccgctttccagtcgggaaacc
 tgcgtgccagctgcattaatgaatcggccaacgcgcggggagaggcgggtttgcgtattggg
 cgctcttccgcttccctcgtcactgactcgtcgcgctcggctcgttcggctgcccgcagcgg
 atcagctcactcaaaggcggtaatacggttatccacagaatcaggggataacgcaggaaaga
 acatgtgagcaaaaggccagcaaaaggccaggaaccgtaaaaaggccgcgcttgcgtggcgttt
 tccataggctccgccccctgacgagcatcacaataatcgacgctcaagttagaggtggcg

ES 2 540 526 T3

aaacccgacaggactataaagataaccaggcggtttcccctggaagctccctcgtgcgctctc
ctgttccgaccctgccgcttaccggatacctgtccgcctttctcccttcgggaagcgtggcg
ctttctcaatgctcacgctgtaggtatctcagttcgggtgtaggtcgttcgctccaagctggg
ctgtgtgcacgaacccccggttcagcccagccgctgcgccttatccggtaactatcgtcttg
agtccaacccggtgaagacacgacttatcgccactggcagcagccactggtaacaggattagc
agagcgaggtatgtagggcgtgctacagagttcttgaagtggggcctaactacggctacac
tagaaggacagtatTTGGTatctgcgctctgctgaagccagttaccttcggaaaaagagttg
gtagctcttgatccggcaaacaaccaccgctggtagcgggtggTTTTTTgTTTTgcaagcag
cagattacgcgcagaaaaaaggatctcaagaagatcccttgatcttttctacggggctga
cgctcagtggaacgaaaactcacgttaagggattttgggtcatgagattatcaaaaaggatct
tcacctagatccTTTTaaalTaaaaatgaagTTTTaaatcaatctaaagtatatatgagtaa
acttggctctgacagttaccaatgcttaatcagtgaggcacctatctcagcgatctgtctatt
tcgttcatccatagttgcctgactccccgctcgtgtagataactacgatacgggagggttac
catctggccccagtgctgcaatgataccgcgagaccacgctcaccggctccagatttatca
gcaataaaccagccagccggaagggccgagcgcagaagtggctctgcaactttatccgcctc
catccagctctattaattgTTGCCGGAagctagagtaagtagttcggcagttaatagtttgc
gcaacgttgttgccattgctacaggcatcgtgggtgcacgctcgtcgtttgggtatggcttca
ttcagctccggttcccaacgatcaaggcgagttacatgatccccatgTTGTGcaaaaaagc
ggttagctccttcggctcctccgatcgttgtcagaagtaagttggccgcagtggtatcactca
tggttatggcagcactgcataattctcttactgtcatgccatccgtaagatgcttttctgtg
actggtgagtactcaaccaagtcattctgagaatagtgtatgcggcgaccgagttgctcttg
cccggcgtcaatacgggataataccgcgccacatagcagaacttTAAAAGTgctcatcattg
gaaaacgttcttcggggcgaaaactctcaaggatcttacogctgTTGAGATccagttcgatg
taaccactcgtgcacccaactgatcttcagcatcttttactttcaccagcgtttctgggtg
agcaaaaacaggaaggcaaaaatgccgcaaaaaagggaataagggcgacacggaaatgTTGAA
tactcatactcttctTTTTcaatattattgaagcatttatcagggttatgtctcatgagc
ggatacatatttgaatgtatttagaaaaataaacaataggggttccgcgcacatttccccg
aaaagtgccacctgacgtcgacggatcgggagatc

Figura 7

pcDIMer-L

nt 1358 - 7909: ORF de L de Schwarz de VS (6552 nt = 2183 aa + codón de terminación)

agcttgc atgcctgc aggtca attccctggc attatgccc agtacatgac cttatggg actt
 tcctacttggc agtacatctac gttattagtc atcgctattac catggtgatg cgggttttggc
 agtacatcaatgc gcgtgggata ccgggttgactca cggggatttcca agtctccac cccatt
 cacgtcaatggg agtttgttttggc accaaaatca acgggacttcca aaaatgtc gtaacaa
 ctccgccccattg acgcaaatggg cggtaggcgtg tacggtagg aggtctatata agcagag
 ctcgtttagtga accgtcagatcg cctggagacg ccatccac gctgttttgac ctccataga
 agacaccgggac ccatccagc ctggggatctag cctccg cggcgggaac ggtgcattggaa
 cgcggttcccc gtgccaag agtgacgta agtaccgc ctatag agtctatagg cccaccccc
 ttggcttcttat gcatgctata ctgtttttggc ttgggtctata cacccccgcttcc tcat
 gttataggtgat ggtatagctt agcctatagg tgggttattg accattattg accactcc
 cctattggtgac gatactttcc attactaatcc ataacatgg ctctttgcca caactctctt
 tattggctatat gccaatac actgtccttc agagactg acacggact ctgtattttt acagg
 atggggtctcat ttattattt taaaattcac atataca acaccacc gtcccc agtgccc gca
 gtttttattaaac ataacgtggg atctccac gcgaatctc gggtagctgt tccggacatggg
 ctcttctccgg tagcggcgg agctcctacat ccgagccct gctcccat gctccagc gactc
 atggctcgtcggc agctccttgct cctaac agtggagg ccagactt aggcac agcacgatgc
 ccaccaccacc agtggtccgc caaaggcc gttggcgg tagggtatgt gctctgaaa atgagctc
 ggggagcgggct tgcaccgctg acgcattt ggaagact taaggc agcggc gagaagaatgc
 aggcagctgag ttgtgtgtt ctgataa agagtca gaggta actccc gttg cgggtgctgttaa
 cgggtggagg ggcagtgtag tctgagc agtactcgt tggctg ccgcgcgc gccacc agacataat
 agctgacagact aacagactgt tcccttcc atgggtctt tctg cagtcacc gtccttgaca
 cgatcggatccc cgggtacctct agaagatct gatatac gtcgacctc gacgcc accatggact
 cgctatctgtc aaccagatctt ataccctg aagttcac ctatagatag cccgatag ttaccaat
 aagatagtagc catcctgg agtatgctc gagtccctc acgcttac agcctggagg accctac
 actgtgtcaga acatca agcaccgc ctaaaaa cgggatttcca accaaaatg attataaaca
 atgtggaagttg ggaatgtcat caagttcca agcttagg agttatcc gggccc actctcatatt
 ccatatccaaa ttgtaatc aggatttatt ttaacataga agacaaa agagtca acgaggaagat
 ccgtgaactcct caaaaagg ggaattcgc tgtactcca aagtcagt gataaggttttcca at
 gcttaagg gacactaac tccagccttgg cctaggctcc gaattg agggaggacatca aggag
 aaagttatta acttggg agtttacatgc acagctccc agtggtttg agcccttctgttttg
 gtttacagtca agactgag atgaggtc agtgattaa atcaca aaccatactt gccatagga
 ggagacacacac ctgtattctt cactggtagttc agttgag ttgcta atctctcgtgacctt
 gttgctataatc agtaaa agagtctca acatgtata ttacctgac atttga actggtttgat
 gtattgtgatgt catagagg gggaggtta atgacag agaccgctat gactattgat gctaggt
 atacagagcttct aggaag agtcagata catgtggaaa ctgatag atggtttcttccctgca
 ctccgggaatcca acttatcaa attgtagcc atgctggagc cctcttcc acttgcttacctgca
 gctgagggatata acagtaga actcag aggtgcttcc ttaaccactg cttactgaa atac
 atgatgttcttg accaaaac ggggttttct gatgaa ggtacttatcat gaggta actgaagct
 ctagattacatt ttcataa ctgatgac atacatctg acagggg agatttctc atttttcag
 aagtttccggc acccccag acttga agcagtaac ggtgctgaaa atggttag gaaatacatga
 atcagcctaa agtcattgtgtat gagactct gatgaa aggtcatgcc atattttgtg gaatc
 ataatacacc ggtatcgtg acagga cgggag gtcagttggcc accgctg accctccccctgca
 tgctgcagacaca atccgga atgctca agcttcagg tgaagg gttaacac atgagcag tgcg
 ttgataactg gaaatctttt gctggag tgaatttggc tgccttatg cctcttagc ctggat
 agtgatctgaca atgtacctaa aggaca aggcactt gctgctctcca aagggaatggg gattc

agtttaccgaaagagttcctgcggttacgacctcccaaggaaccgggtcacggaggcttg
 tagatgttttccctaatgatctcgagctttgacctatgatgtgataatgtatggtgtaagt
 ggagcttacctccatgacctgagttcaacctgtcttacagcctgaaagaaaaggagatcaa
 ggaaacaggtagactttttgctaaaatgacttacaaaatgagggcatgccaagtgattgctg
 aaaatctaactcaaacgggattggcaaatattttaaggacaatgggatggccaaggatgag
 cacgatttgactaaggcactccacactctagctgtctcaggagtccccaaagatctcaaaga
 aagtcacagggggggccagctcttaaaaacctactcccgaagcccagtcacacaagtacca
 ggaacgtgagagcagcaaaagggtttatagggttccctcaagtaattcggcaggaccaagac
 actgatcatccggagaatatggaagcttacgagacagtcagtgcatcttatcacgactgatct
 caagaagtactgccttaattggagatatgagaccatcagcttgtttgacagaggctaaatg
 agatttacggattgccctcattttccagtggtgcataagaggcttgagacctctgtcctg
 tatgtaagtgacctcattgccccccgaccttgacgccatatacccgttatataaagtccc
 caatgatcaaactctcattaagtaccctatgggaggtatagaagggtattgtcagaagctgt
 ggaccatcagcaccattccctatctatacctggctgcttatgagagcggagtaaggattgct
 tcgtagtgcaaggggacaatcagaccatagccgtaacaaaaagggtaccagcacatggcc
 ctacaaccttaagaaacgggaagctgctagagtaactagagattactttgtaattcttaggc
 aaaggctacatgatattggccatcacctcaaggcaaatgagacaattgtttcatcacatttt
 tttgtctattcaaaaggaatatattatgatgggctacttgtgtcccaatcactcaagagcat
 cgcaagatgtgtattctggtcagagactatagttgatgaaacaagggcagcatgcagtaata
 ttgctacaacaatggctaaaagcatcgagagagggtatgaccgttaccttgcatattccctg
 aacgtcctaaaagtgatacagcaaatctgatctctcttggcttcacaatcaattcaacct
 gaccgggatgtagtcataccctcctcacaacaacgacctcttaataaggatggcactgt
 tggccgctcctattggggggatgaattatctgaatatgagcaggctgtttgtcagaacatc
 ggtgatccagtaaacatcaattgctgatctcaagagaatgattctcgcctcactaatgcc
 tgaagagacctccatcaagtaatgacacaacaaccgggggactcttcattcctagactggg
 ctagcgaccttactcagcaaatcttgtatgtgtccagagcatcactagactcctcaagaac
 ataactgcaaggtttgtcctgatccatagtccaaaccatgttaaaaggattattccatga
 tgacagtaaaagaagaggacgagggactggcggcattcctcatggacaggcatattatagtac
 ctagggcagctcatgaaatcctggatcatagtgtcacaggggcaagagagtctattgcaggc
 atgctggataccacaaaaggcttgattcgagccagcatgaggaaggggggtaacctctcg
 agtgataaccagattgtccaattatgactatgaacaattcagagcagggatggtgctattga
 caggaagaaagagaaatgtcctcattgacaaagagtcagttcagtgacgctggcgagagct
 ctaagaagccatatgtgggogaggctagctcgaggacggcctatttacggccttgaggctcc
 tgatgtactagaatctatgogaggccacctattcggcgtcatgagacatgtgtcatctgog
 agtgtggatcagtcactacggatgggtttttgtcccctcgggttgccaactggatgatatt
 gacaaggaaacatcatccttgagagtccecatatattggttctaccactgatgagagaacaga
 catgaagcttgccctcgtaagagccccaaagtcgatccttgogatctgctgttagaatagcaa
 cagtgactcatgggcttacgggtgatgatgatagctcttggaaacgaagcctggttgttggt
 aggcaaaaggccaatgtgagcctggaggagctaagggtgatcactcccactcaacttcgac
 taatttagogcataggttgagggatcgtagcactcaagtgaataactcaggtacatcccttg
 tccgagtgogcaggtataaccacaatctccaacgacaatctctcatttgtcatatcagataag
 aaggttgataactttatataccaacaaggaatgcttctaggggtgggtgttttagaaac
 attgtttcogactcgagaaagataccggatcatctaacacgggtattacatcttcacgtcgaaa
 cagattggtgogtgatcccgatgatagatcatcccaggatacccagctcccgaagctagag
 ctgagggcagagctatgtaccaaccattgatatatgataatgcaccttaattgacagaga
 tgcaacaaggctatacaccagagccataggaggcaccttgtggaatttgttacatggtcca
 caccacaactatatacatttttagctaagtccacagcactatctatgattgacctggttaaca
 aaatttgagaaggaccatatgaatgaaatctcagctctcataggggatgacgatataatag
 tttcataactgagtttctgctcatagagccaagattattcactatctacttgggcccagtggt
 cggccatcaattgggcatttgatgtacattatcatagaccatcagggaaatatcagatgggt
 gagctgttgcctcctttctagaatgagcaaaggagtgtttaagggtgcttgtcaatgc
 tctaagccaccaagatctacaagaattctggcattgtggtattatagagcctatccatg

gtccttcacttgatgctcaaaacttgcacacaactgtgtgcaacatggtttacacatgctat
 atgacctacctcgacctgttgttgaatgaagagttagaagagttcacatctcttgtgtga
 aagcgacgaggatgtagtaccggacagattcgacaacatccaggcaaaacacttatgtgttc
 tggcagatttgtactgtcaaccagggacctgccaccaattcgaggctcaagaccggtagag
 aatgtgcagttctaaccgaccatatcaaggcagaggctatgttatctccagcaggatcttc
 gtggaacataaatccaattattgtagaccattactcatgctctctgacttatctccggcgag
 gatcgatcaaacagataagattgagagttgatccaggattcattttcgacgccctcgctgag
 gtaaatgtcagtcagccaaagatcggcagcaacaacatctcaaataatgagcatcaaggcttt
 cagacccccacacgatgatgttgcaaaattgctcaaagatatcaacacaagcaagcacaatc
 tcccatttccagggggcaatctcgccaattatgaaatccatgctttccgcagaatcgggttg
 aactcatctgcttgcatacaagctgttgagatatcaacattaattaggagatgccttgagcc
 aggggaggacggcttgttcttgggtgagggatcgggttctatgttgatcacttataaagaga
 tacttaaactaaacaagtgttctataatagtgggggttccgccaattctagatctgggtcaa
 agggaattagcaccctatccctccgaagttggccttgtcgaacacagaatgggagtaggtaa
 tattgtcaaagtgctctttaacgggaggcccgaagtcacgtgggtaggcagtgtagattgct
 tcaatttcatagttagtaatatccctacctctagtgtgggggttatccattcagatatagag
 acctgcctgacaaagatactatagagaagctagaggaattggcagccatcttatcgatggc
 tctgctcctgggcaaaataggatcaatactgggtgattaagcttatgcctttcagcggggatt
 ttgttcagggtttataagttatgtagggtctcattatagagaagtgaaccttgtataccct
 agatacagcaacttcatctctactgaatcttatttgggttatgacagatctcaaggctaaccg
 gctaatgaatcctgaaaagattaagcagcagataattgaatcatctgtgaggacttcacctg
 gacttataggtcacatcctatccattaagcaactaagctgcatacaagcaattgtgggagac
 gcagttagtagaggtgatatacctactctgaaaaaacttacacctatagagcaggtgct
 gatcaattgcgggttggcaattaacggacctaaagctgtgcaaagaattgatccaccatgatg
 ttgcctcagggcaagatggattgcttaattctatactcatcctctacaggaggttggcaaga
 ttcaaagacaaccaagaagtcaacaagggatgttccacgcttaccocgtatttggaagtag
 caggcaacgagaacttatatctaggatcaccocgcaaatcttggggggcacattcttcttact
 ccgggaacaaaaagttgataaataagtttatccagaatctcaagtcgggctatctgatacta
 gacttacaccagaatatcttcgtaagaatctatccaagtcagagaaacagattattatgac
 ggggggtttgaaacgtgagtggggttttaaggtaacagtcaggagaccaagaatggtata
 agttagtcggatacagtgccctgattaaaggactaattgggtgaaactccggaaccctaatcct
 gccttaggtgggttaggcattatttgcagaattctagatcccacgctcactattgtatactcta
 tattatactctatgttatactctgtaactcctactcaataaacgtgtcacgcctgtgaaaccg
 tactaagctctcccggtcttcttatcaccatcaggtgacatcctcgcccaggctgtcaatca
 tgccggatcgattccagtagcaccggccccacgctgacaaccactcttgacgcgtagca
 gcgcccccttaacaagccgacccccaccagcgtcgcggttactaacactcctctccccgac
 ctgcagcccaagctctagagggccctattctatagtgacacctaagtctagagctcgctga
 tcagcctcgactgtgccttctagttgccagccatctgttgtttgcccctcccccggtgccttc
 cttgaccctggaaggtgccactcccactgtcctttcctaataaaatgaggaattgcatcgc
 attgtctgagtaggtgtcattctattctgggggggtgggggtggggcaggacagcaagggggag
 gattgggaagacaatagcaggcatgctggggatgcgggtgggctctatggctctgagcgga
 agaaccagctggggctctagggggtatccccacgcgcctgtagcggcgcattagcgcgg
 cgggtgtgggtggttacgcgcagcglgaccgctacacttgccagcgccttagcgcggctcct
 ttcgctttcttcccttcttctcgcacgcttgcgggttccccgtaagctctaaatcg
 gggcatccctttagggttccgatttagtgctttacggcacctcgacccccaaaaacttgatt
 aggggtgatggttcacgtagtgggccatcgccctgatagacgggttttgcgctttgacggtg
 gagtccaggttcttaataagtgactcttgttccaaactggaacaacactcaaccctatctc
 ggtctattcttttgatttataagggattttggggatctcgccctattgggttaaaaaatgagc
 tgatttaacaaaaatttaacgcgaattaatctgtggaatgtgtgtcagttaggggtgtgaa
 agtcccaggctcccaggcaggcagaagtatgcaaagcatgcatctcaattagtcagcaac
 cagggtgtgaaagtcccaggctcccagcaggcagaagtatgcaaagcatgcatctcaatt
 agtcagcaaccatagtcggccctaaactccgcccataactccgcccctaaactccgcccagttcc

gcccattctccgccccatggctgactaattttttttatattatgcagaggccgaggccgcctc
 tgcctctgagctattccagaagtagtgaggaggcttttttggaggcctaggcttttgcaaaa
 agctcccgggagcttgtatatccattttcggatctgatcaagagacaggatgaggatcgttt
 cgcatgattgaacaagatggattgcacgcagggtctccggccgcttgggtggagaggctatt
 cggctatgactgggcacacagacaatcggctgctctgatgccgcggtgttccggctgtcag
 cgcaggggcccgggttctttttgtcaagaccgacctgtccggtgccctgaatgaactgcag
 gacgaggcagcggctatcgtggctggccacgacgggcttccctgcgagctgtgctcga
 cgttgcactgaagcgggaaggactggctgctattggggaagtgccggggcaggatctcc
 tgtcatctcaccttgcctcctgccgagaaagtatccatcatggctgatgcaatgccggcgctg
 catacgttggatccggctacctgccattcgcaccaccaagcgaacatcgcacgcagcagc
 acgtactcggatggaagccggcttctgtcgcacaggatgatctggacgaagagcatcaggggc
 tcgcccagccgaactgttccggaggctcaaggcgcgcacgccgacggcgaggatctcgtc
 gtgacccatggcgatgcctgcttgcgaatatcatgggtggaaaatggccgcttttctggatt
 catcgactgtggccggctgggtgtggcggaccgctatcaggacatagcgttggctaccggtg
 atattgctgaagagcttggcggcgaatgggctgaccgcttccctcgtgctttacggtatcgcc
 gctcccgatccgcagcgcacgccttctatcgccttcttgacgagttcttctgagcgggact
 ctgggggttcgaaatgaccgaccaagcgcagcccaacctgccatcacgagatttcgatccac
 cggcccttctatgaaagggtgggcttcggaatcgttttccgggacgccggctggatgatcc
 tccagcgggggatctcatgctggagttcttcgcccaccccaacttgtttattgcagcttat
 aatgggtacaaataaagcaatagcatcacaatttcacaaataaagcatttttttactgca
 ttctagttgtggttctgccaactcatcaatgtatcttatcatgtctgtataaccgctgcacct
 cttagctagagcttggcgtaatcatggctcatagctgttccctgtgtgaaatggttatccgctc
 acaattccacacacatacagagccggaagcataaagtgtaaagcctgggggtgcctaatgagt
 gagctaactcacattaattgcgcttgcgctcactgcccgcttccagtcgggaaacctgctgt
 gccagctgcattaatgaatcggccaacgcgcggggagaggcggttgcgatttgggcgctct
 tccgcttccctcgtcactgactcgtcgcctcggctcgttccggctgcggcgagcggatcagc
 tcaactcaaaggcggtaatacgggttatccacagaatcaggggataacgcaggaagaacatgt
 gagcaaaaaggccagcaaaaaggccaggaaccgtaaaaaggcccgcttgcctggcgttttccat
 aggtccgccccctgacgagcatcacaanaatcgacgctcaagtcagaggtggcgaaaccc
 gacaggactataaagataaccaggcgttccccctggaagctccctcgtgcgctctcctgttc
 cgaccctgccgcttaccggataacctgtccgcttctcccttcgggaagcgtggcgcttct
 caatgctcacgctgtaggtatctcagttcgggtgtaggtcgttccgctccaagctgggctgtgt
 gcacgaacccccggtcagcccagccgctgcgcttatccggtaactatcgtcttgagcca
 acccggtaaagacacgacttatcgccactggcagcagccactggtaacaggattagcagagcg
 aggtatgtaggcgggtgctacagagttcttgaagtgggtggcctaactacggctacactagaag
 gacagttattgggtatctgcgctctgctgaagccagttaccttcggaaaaagagttggtagct
 cttagatccggcaaaaaccaccgctggtagcgggtggttttttgtttgcaagcagcagatt
 acgcgcagaaaaaaggatctcaagaagatcctttgatcttttctacggggtctgacgctca
 gtggaacgaaaactcacgtaagggattttgggtcatgagattatcaaaaaggatcttcacct
 agatccttttaaatataaatgaagtttttaaatcaatctaaagtatatatgagtaaacttgg
 tctgacagttaccaatgcttaatcagtgaggcacctatctcagcagatctgtctatctcgttc
 atccatagttgcctgactccccgtcgtgtagataactacgatacgggagggttaccatctg
 gcccagtgctgcaatgataccgagcagaccacgctcaccggctccagatttatcagcaata
 aaccagccagccggaaggccgagcgcagaagtggctcctgcaactttatccgctccatcca
 gtctattaattgttgcgggaagctagagtaagttagttcggccagttaatagtttgcgcaacg
 ttgttggcattgctacaggcatcgtgggtgtcacgctcgtcgtttgggtatggcttcatcagc
 tccggttcccaacgatcaaggcgagttacatgatccccatggtgtgcaaaaaagcgggttag
 ctcttccggtcctccgatcgttgtcagaagtaagttggccgcagtggtatcactcatggta
 tggcagcactgcataattctcttactgtcatgccatccgtaagatgcttttctgtgactgg
 gactactcaaccaagtcatcttgagaatagtgtatgcggcgaccgagttgctcttgcggc
 gtcaatacgggataataaccgcccacatagcagaactttaaagtgtcatcattggaaaac
 gttcttccggggcgaaaaactctcaaggatcttaccgctgttgagatccagttcgatgtaacc

ES 2 540 526 T3

actcgtgcacccaactgatcttcagcatcttttactttcaccagcgtttctgggtgagcaaa
aacaggaaggcaaaatgccgcaaaaaaggaataagggcgacacggaaatgttgaatactca
tactcttcctttttcaatattattgaagcatttatcagggttattgtctcatgagcggatac
atattgaatgtatttagaaaaataaacaataggggttccgcgcacatttccccgaaaagt
gccacctgacgtcgacggatcgggagatc

Figura 8

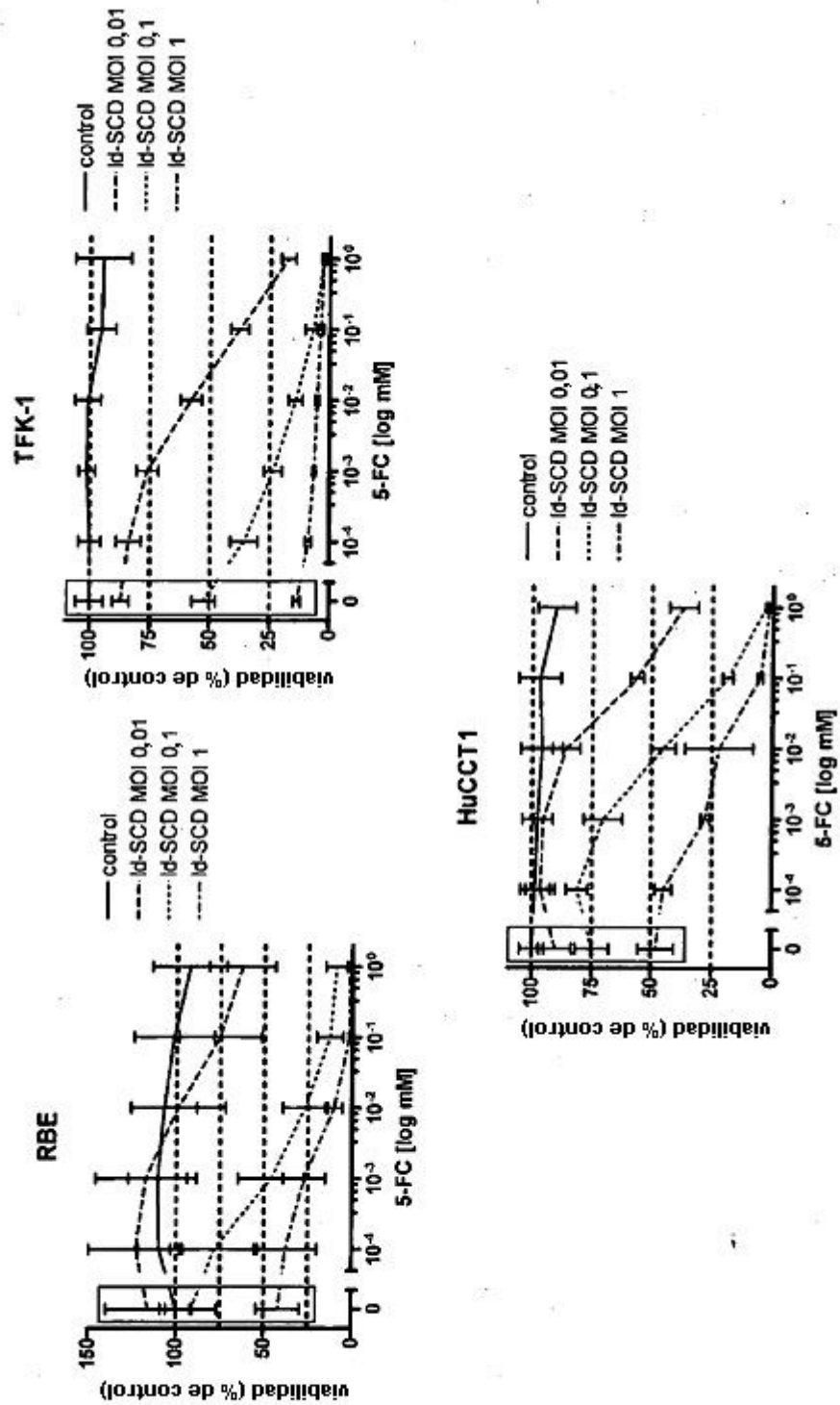


Figura 8 (datos sin procesar)

RBE

control	MOI 0.01	MOI 0.1	MOI 1
100.00	112.85	85.27	41.90
100.85	118.46	83.82	37.70
110.54	108.68	85.03	27.81
107.05	101.61	82.52	16.56
101.41	89.78	111.91	1.81
92.62	50.72	50.8	9.4

TFK-1

control	MOI 0.01	MOI 0.1	MOI 1
100.00	83.08	47.97	13.61
100.03	77.25	32.41	0.74
110.10	69.85	21.73	1.42
100.85	51.19	18.36	1.21
105.76	33.88	16.0	2.69
104.60	15.66	2.26	2.0

HuCCT1

control	MOI 0.01	MOI 0.1	MOI 1
100.00	89.26	71.27	47.98
98.55	95.68	76.40	44.87
97.84	93.53	64.84	27.78
96.01	88.94	39.96	21.98
96.95	51.17	17.09	5.21
90.08	38.43	2.68	1.48

Figura 9

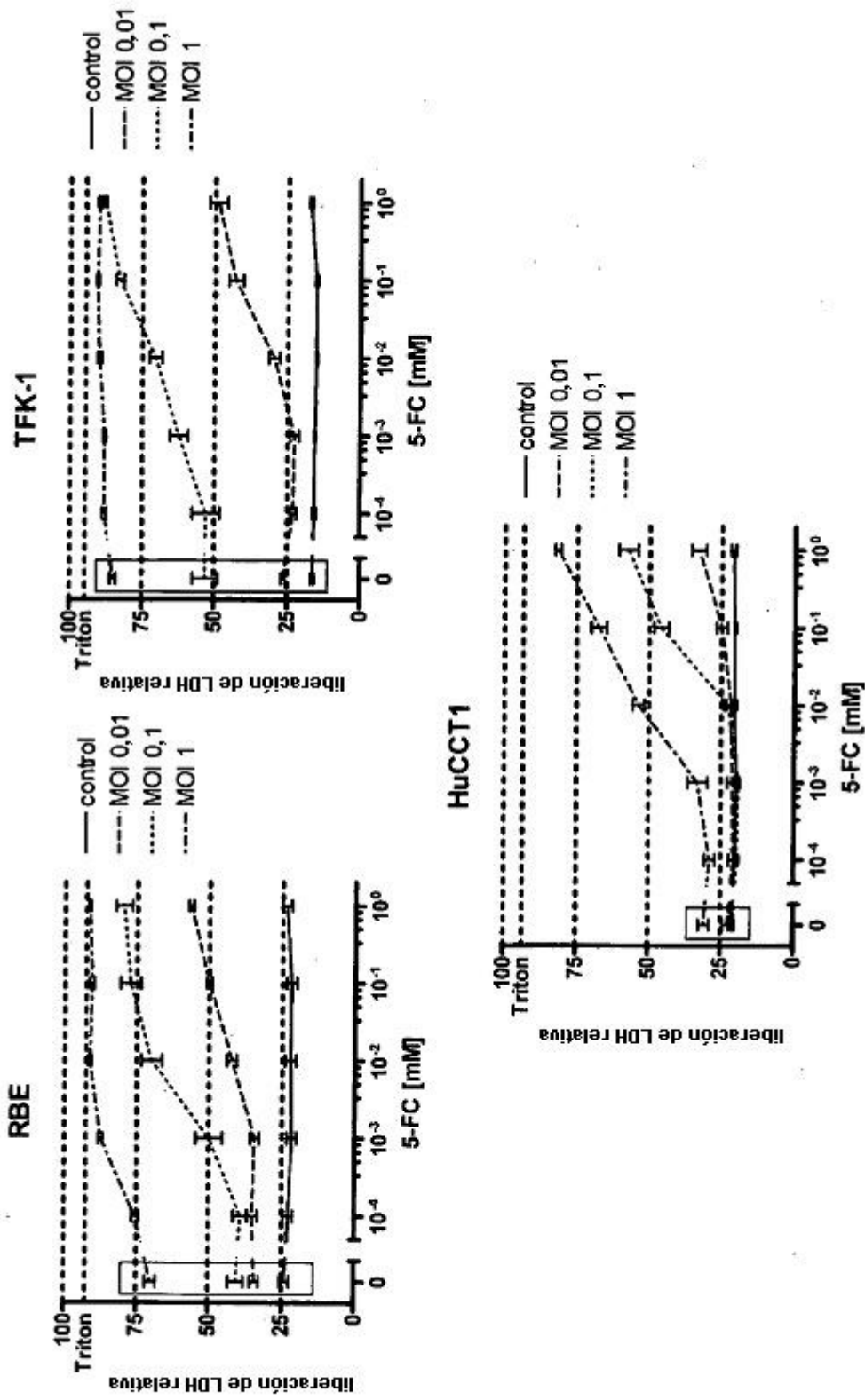


Figura 10

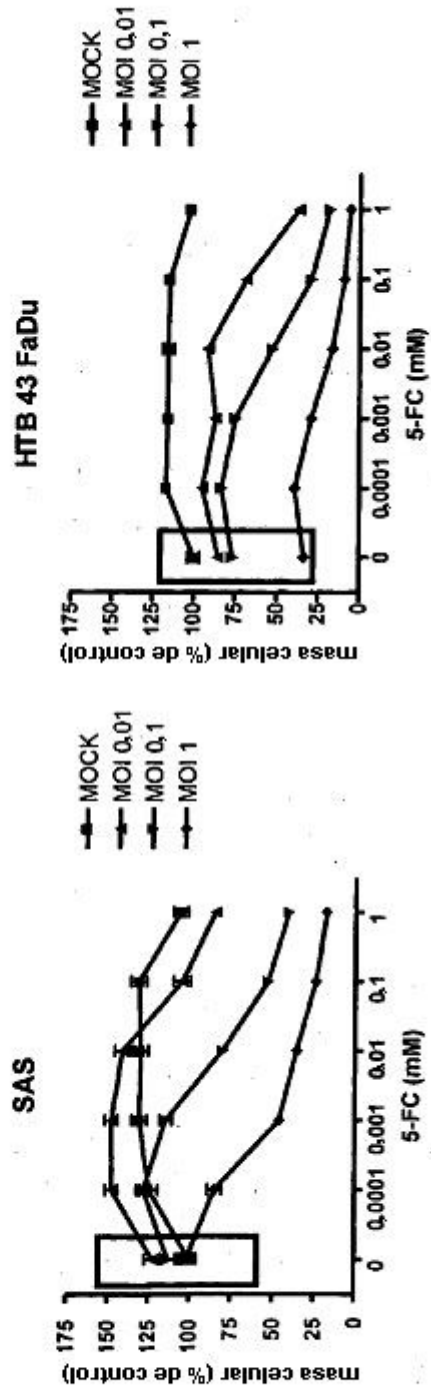


Figura 10 (datos sin procesar)

SAS

HTB-43 FaDu

	control	MOI 0,01	MOI 0,1	MOI 1		control	MOI 0,01	MOI 0,1	MOI 1
	100,00	122,22	112,75	101,55		100,00	84,96	76,55	33,43
	124,51	147,54	127,69	84,64		116,65	94,74	83,10	39,22
	130,56	147,65	114,36	45,82		115,59	86,81	74,80	29,12
	129,65	140,91	79,77	35,27		115,42	91,38	52,71	16,48
	130,95	104,41	52,75	23,72		114,71	68,53	29,39	9,25
	105,35	84,26	40,10	17,44		102,32	36,96	18,29	5,71

Figura 11

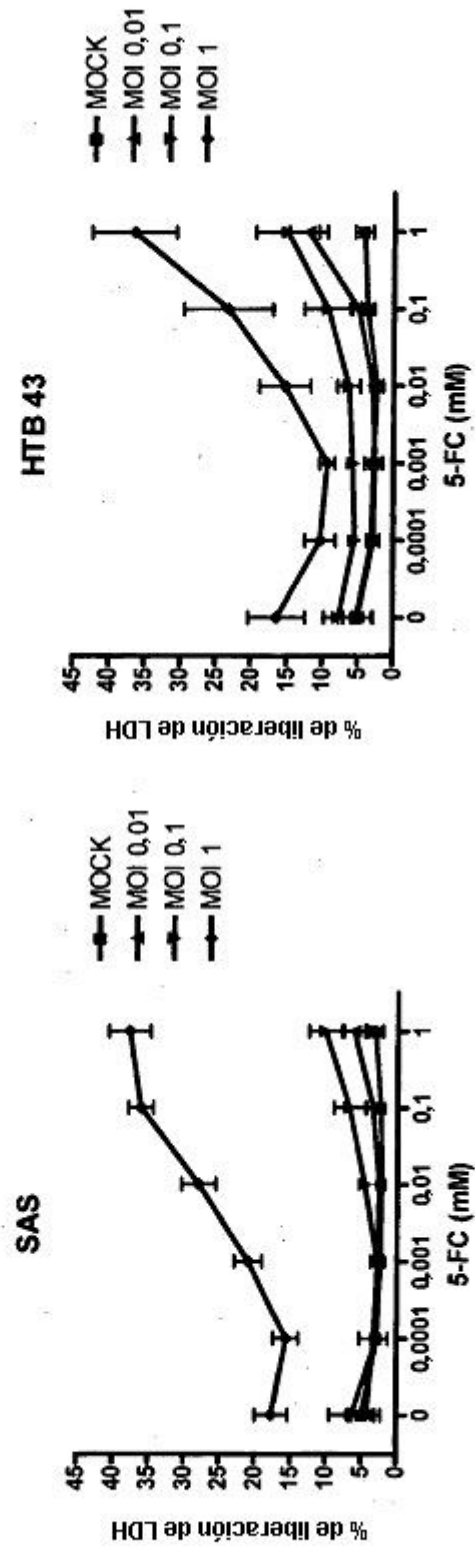


Figura 11 (datos sin procesar)

HTB-43 FaDu

SAS

	control	MOI 0,01	MOI 0,1	MOI 1	control	MOI 0,01	MOI 0,1	MOI 1
1	5,21	4,99	7,72	16,40	4,97	4,31	6,30	17,65
2	3,06	2,85	5,44	10,29	2,86	3,28	2,87	15,63
3	2,82	2,55	5,77	9,33	2,35	2,83	2,84	20,98
4	2,32	2,86	6,33	15,28	2,21	2,57	4,62	27,94
5	3,69	5,01	9,28	23,26	2,34	3,52	6,81	36,13
6	4,19	12,06	15,02	36,48	3,22	6,19	10,26	37,72

Figura 12

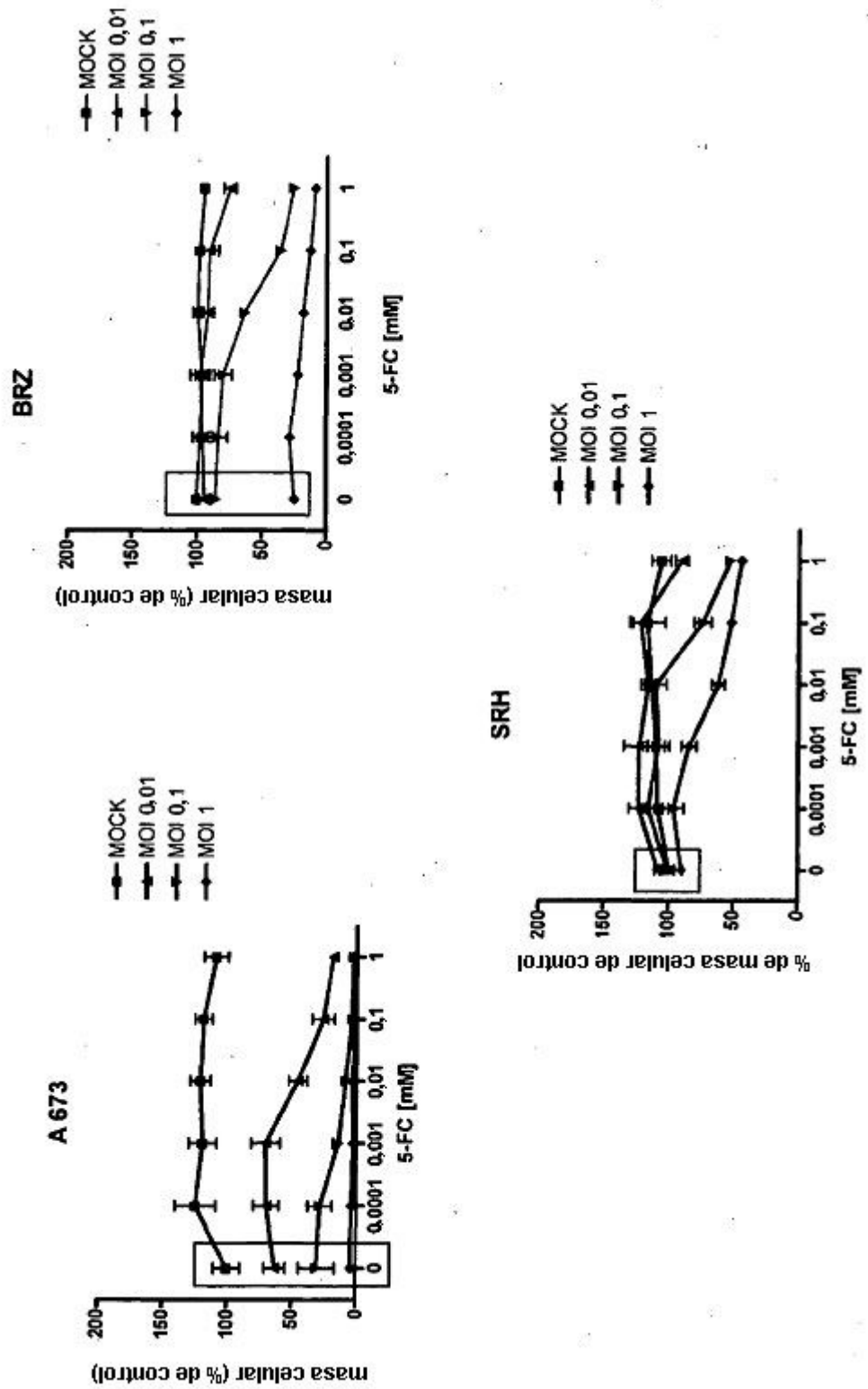


Figura 12 (datos sin procesar)

A 673

BRZ

control	MOI 0,01	MOI 0,1	MOI 1	control	MOI 0,01	MOI 0,1	MOI 1
100,00	62,90	30,46	3,88	100,00	94,02	85,64	24,64
124,63	69,80	28,06	3,73	97,08	95,68	83,49	28,30
118,90	70,17	13,83	2,41	96,60	97,67	80,17	22,26
120,45	45,01	8,12	3,14	99,55	92,16	63,81	17,90
118,41	25,78	3,52	1,78	98,34	90,63	35,95	12,91
108,66	17,93	2,64	2,39	94,72	75,29	25,75	9,00

SRH

control	MOI 0,01	MOI 0,1	MOI 1	control	MOI 0,01	MOI 0,1	MOI 1
100,00	108,37	100,90	89,80	100,00	94,02	85,64	24,64
108,46	123,06	116,04	96,24	97,08	95,68	83,49	28,30
109,91	123,13	108,19	83,86	96,60	97,67	80,17	22,26
114,29	116,24	110,56	62,09	99,55	92,16	63,81	17,90
117,06	121,99	73,92	52,01	98,34	90,63	35,95	12,91
106,57	90,65	53,43	44,59	94,72	75,29	25,75	9,00

Figura 13

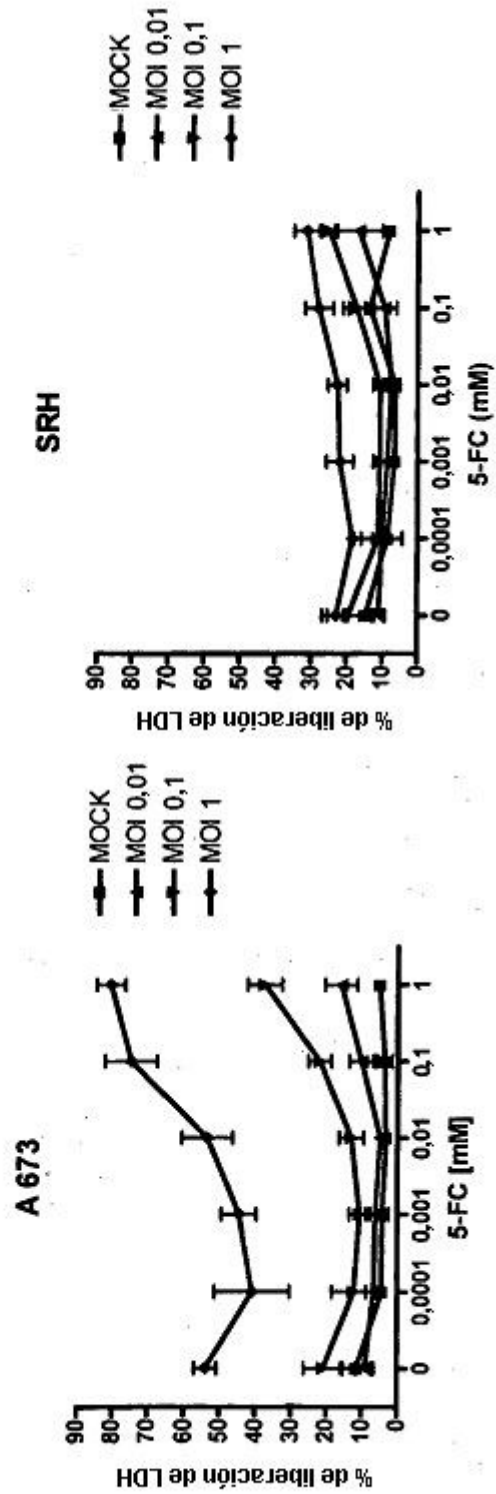


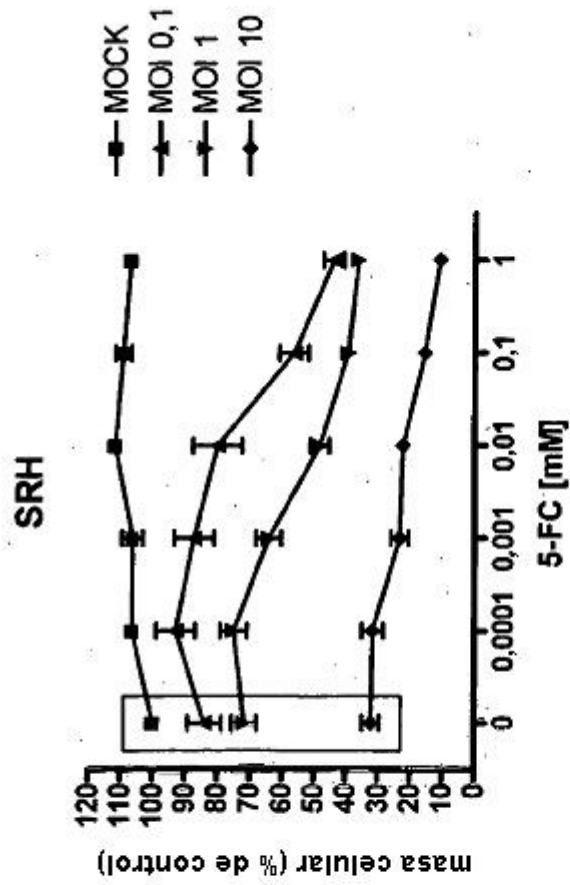
Figura 13 (datos sin procesar)

A 673

SRH

	control	MOI 0,01	MOI 0,1	MOI 1	control	MOI 0,01	MOI 0,1	MOI 1
	11,52	9,12	20,72	53,89	14,64	10,98	19,49	22,90
	4,39	6,73	12,28	40,86	8,59	10,07	11,21	18,43
	4,42	6,37	10,72	44,62	6,55	8,62	10,65	21,91
	3,33	4,93	18,52	53,52	6,34	7,38	10,78	22,64
	3,69	10,22	21,94	74,71	13,65	9,42	17,34	27,86
	5,12	16,01	37,49	80,47	8,05	16,84	25,07	31,23

Figura 14



5-FC [mM]	MOCK	MOI 0,1	MOI 1	MOI 10
control	100,00	83,90	71,73	32,26
0,0001	106,35	92,90	75,01	31,76
0,001	106,30	87,21	64,26	23,31
0,01	111,73	80,18	48,34	22,31
0,1	109,28	56,45	39,55	15,64
1	107,08	44,07	36,48	10,81

Figura 15

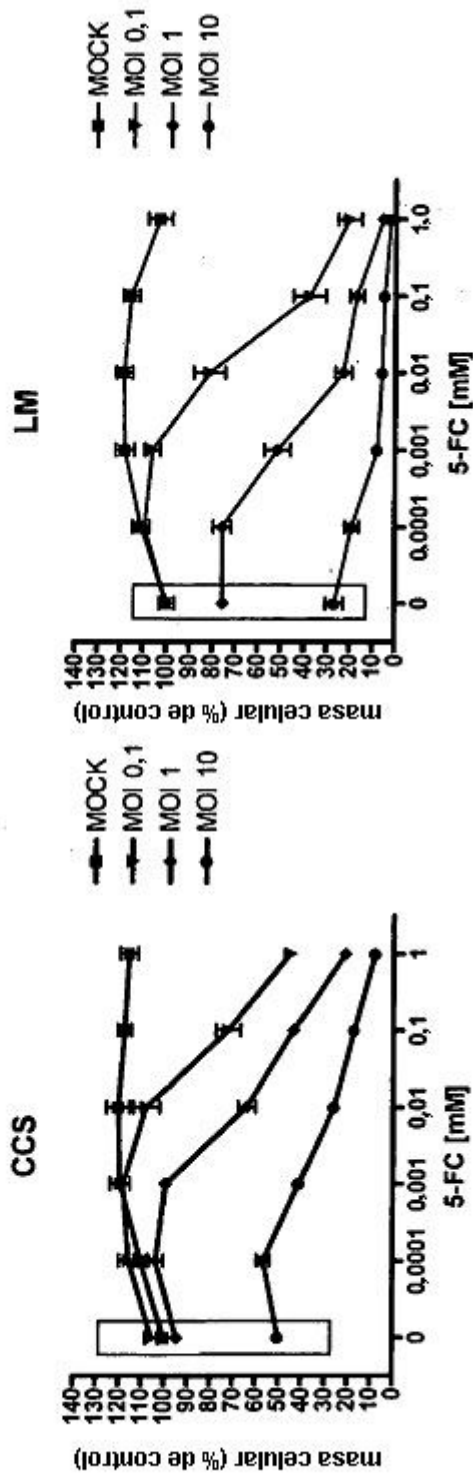


Figura 15 (datos sin procesar)

CCS

LMI

	control	MOI 0,1	MOI 1	MOI 10	control	MOI 0,1	MOI 1	MOI 10
	100,00	99,75	75,41	26,68	100,00	105,29	94,73	50,04
	110,92	109,42	75,58	19,10	110,26	115,57	103,50	56,67
	118,08	106,01	51,44	7,93	119,40	118,08	99,57	41,23
	118,36	81,25	22,82	5,79	120,31	107,84	64,13	26,07
	115,34	37,63	16,96	4,71	117,63	72,38	43,60	17,27
	103,00	20,20	5,59	2,09	115,72	45,22	21,35	8,07

Figura 16

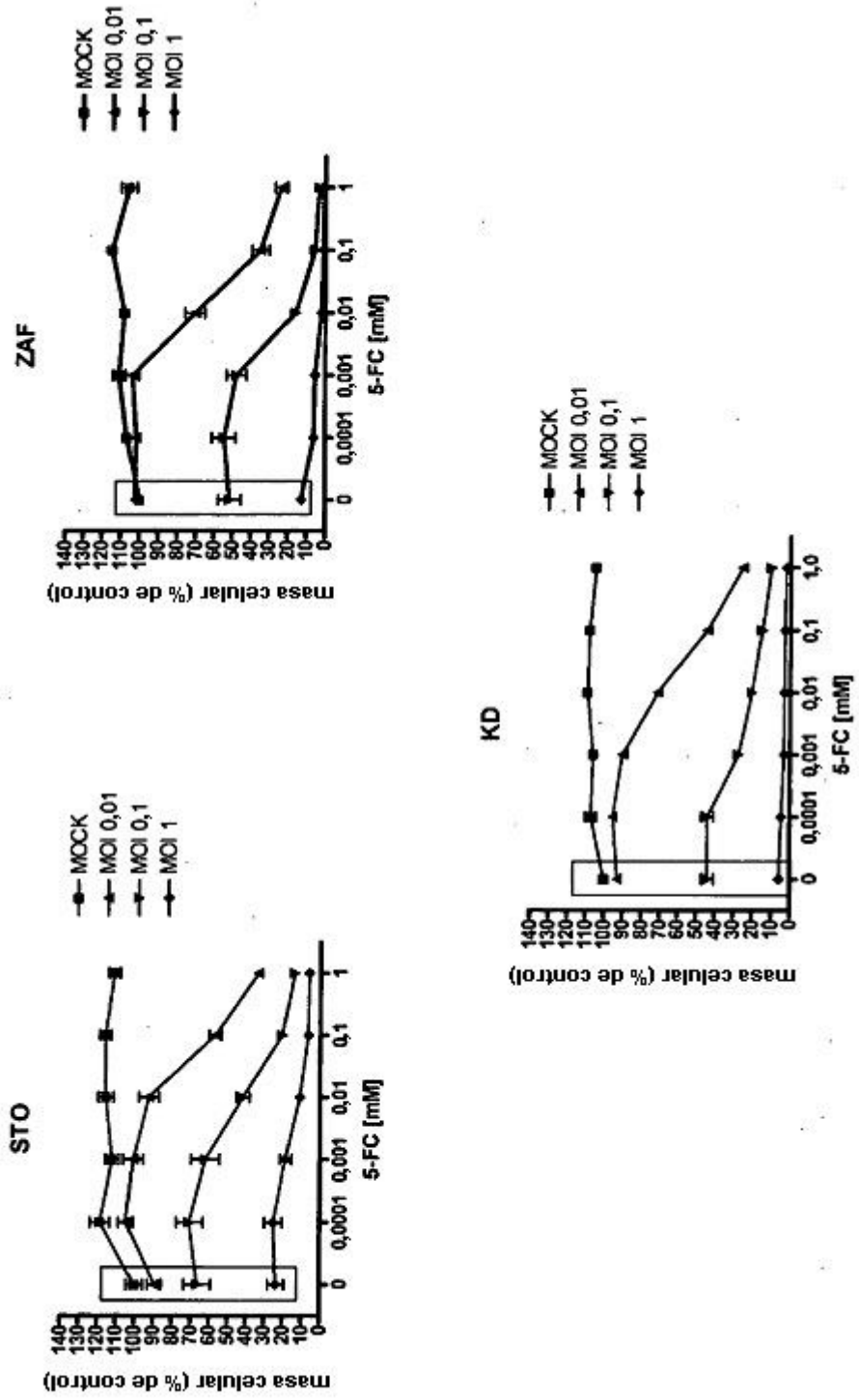


Figura 16 (datos sin procesar)

ZAF				STO			
control	MOI 0,01	MOI 0,1	MOI 1	control	MOI 0,01	MOI 0,1	MOI 1
99,92	102,19	51,36	12,64	100,00	89,47	66,29	23,53
106,79	98,75	54,55	6,01	118,38	104,52	70,59	24,92
111,00	103,62	47,79	5,39	107,95	100,76	61,99	18,46
108,04	71,75	15,92	1,97	115,28	92,52	41,69	10,93
114,76	38,10	5,71	1,08	115,60	56,72	20,27	6,34
105,84	26,66	3,38	1,24	110,65	33,31	13,69	5,88

KD			
control	MOI 0,01	MOI 0,1	MOI 1
100,00	93,33	43,65	5,89
107,06	96,33	43,66	4,77
105,86	90,88	27,11	3,20
108,86	71,89	20,16	3,15
107,89	44,46	14,72	2,99
104,54	25,59	10,26	2,20

Figura 17

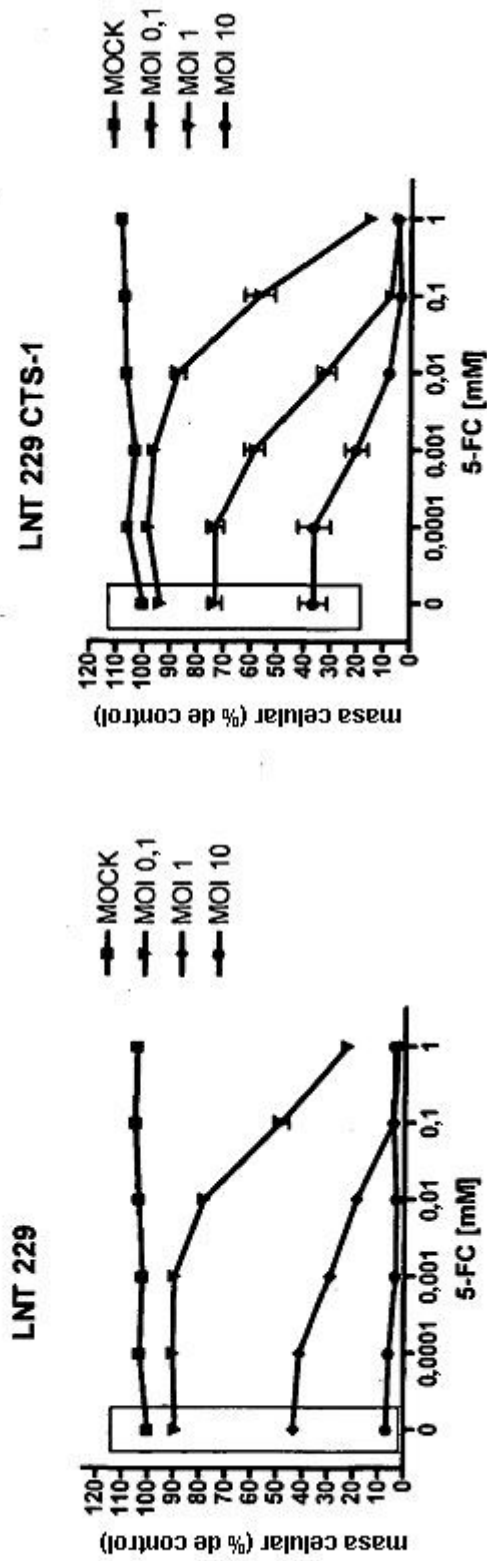


Figura 17 (datos sin procesar)

LNT 229

	control	MOI 0,1	MOI 1	MOI 10		control	MOI 0,1	MOI 1	MOI 10
0	100,00	89,35	43,51	6,79		100,00	93,55	73,07	36,29
0,0001	103,18	90,30	41,21	5,84		105,58	98,10	73,09	36,00
0,0002	102,32	89,94	29,37	3,49		103,02	96,18	58,57	20,31
0,0003	103,93	78,49	18,76	3,19		106,34	87,12	31,76	7,90
0,0004	105,24	48,50	4,35	4,29		107,32	56,77	7,78	3,76
0,0005	104,76	22,70	2,59	4,17		108,52	15,21	4,23	5,01

LNT 229 CTS-1

Figura 18

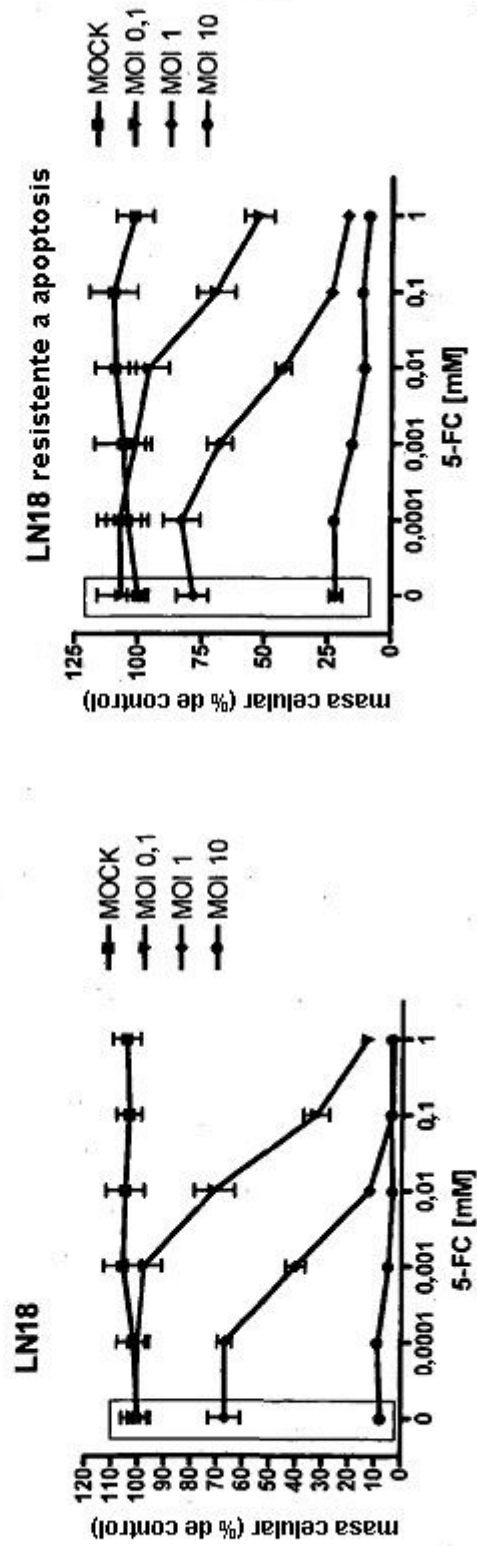


Figura 18 (datos sin procesar)

LN 18						LN 18 resistente a apoptosis					
control	MOI 0,1	MOI 1	MOI 10	control	MOI 0,1	MOI 1	MOI 10				
100,00	100,61	66,89	7,78	100,00	106,54	78,31	21,79				
101,78	100,29	66,99	8,87	104,10	107,26	82,75	22,26				
105,74	97,77	40,18	5,07	106,21	101,39	67,85	15,34				
104,95	71,13	12,20	3,41	109,17	95,91	42,64	10,47				
103,62	32,49	3,69	4,17	109,98	69,32	23,56	11,25				
104,71	13,19	3,45	4,00	101,87	52,57	17,38	8,95				

Figura 19

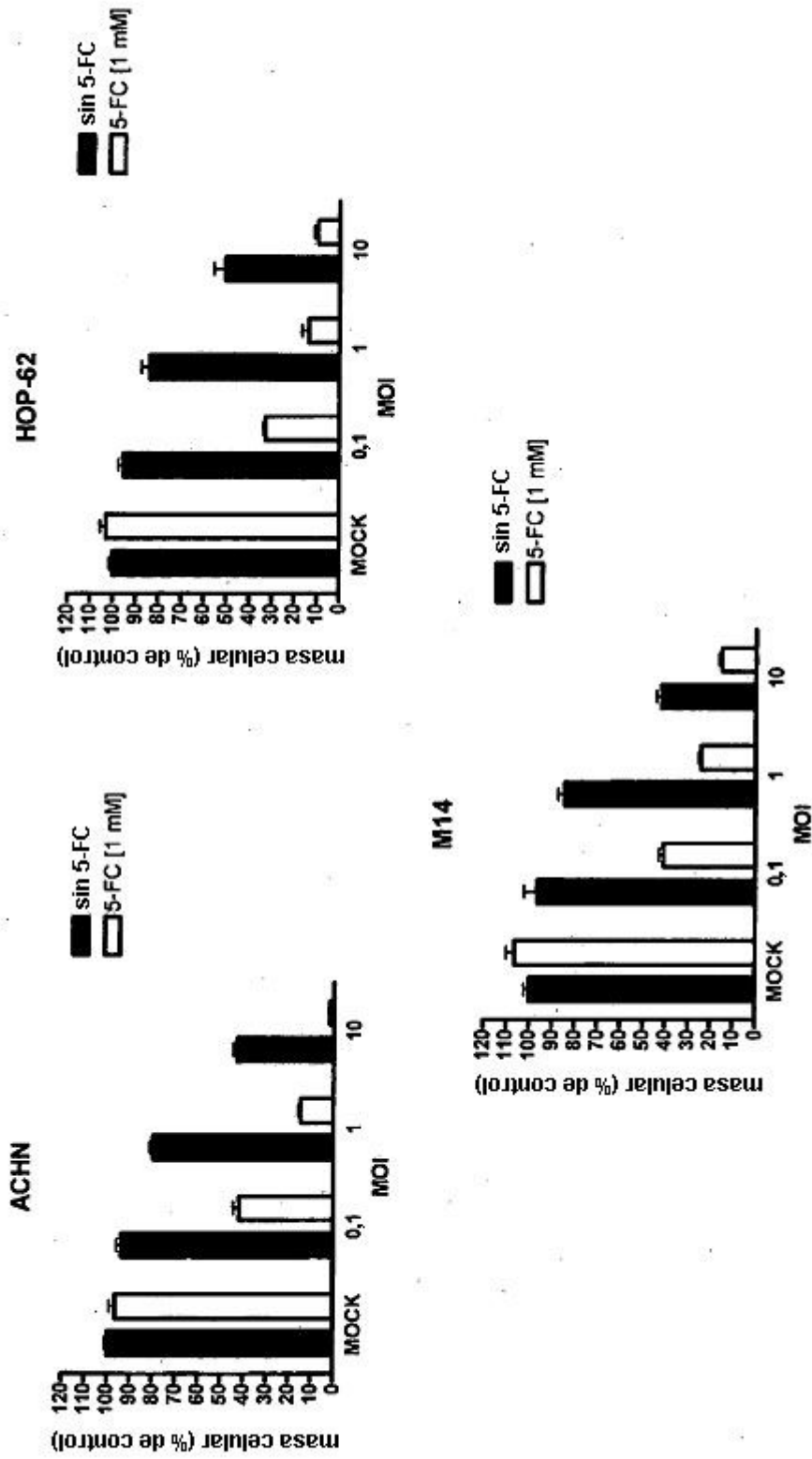


Figura 19 (datos sin procesar)

ACHN

control	MOI 0,1	MOI 1	MOI 10
100,00	93,63	79,79	42,91
96,38	41,95	14,62	1,89

HOP-62

control	MOI 0,1	MOI 1	MOI 10
100,00	95,50	83,74	50,50
103,08	32,71	13,50	9,55

M14

control	MOI 0,1	MOI 1	MOI 10
100,00	96,22	84,30	41,96
106,23	40,71	24,12	15,06

Figura 20

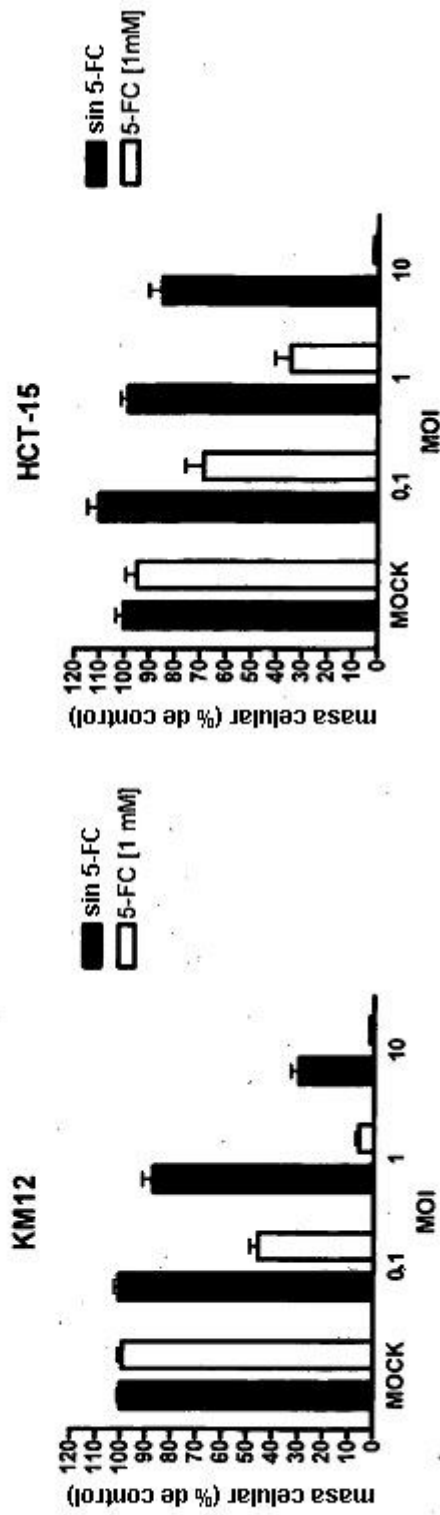


Figura 20 (datos sin procesar)

KM12

control	MOI 0,1	MOI 1	MOI 10	control	MOI 0,1	MOI 1	MOI 10
100,00	100,65	86,91	29,73	100,00	110,12	98,41	85,13
99,34	45,75	5,98	1,76	94,77	68,66	34,54	1,71

HCT-15

Figura 21

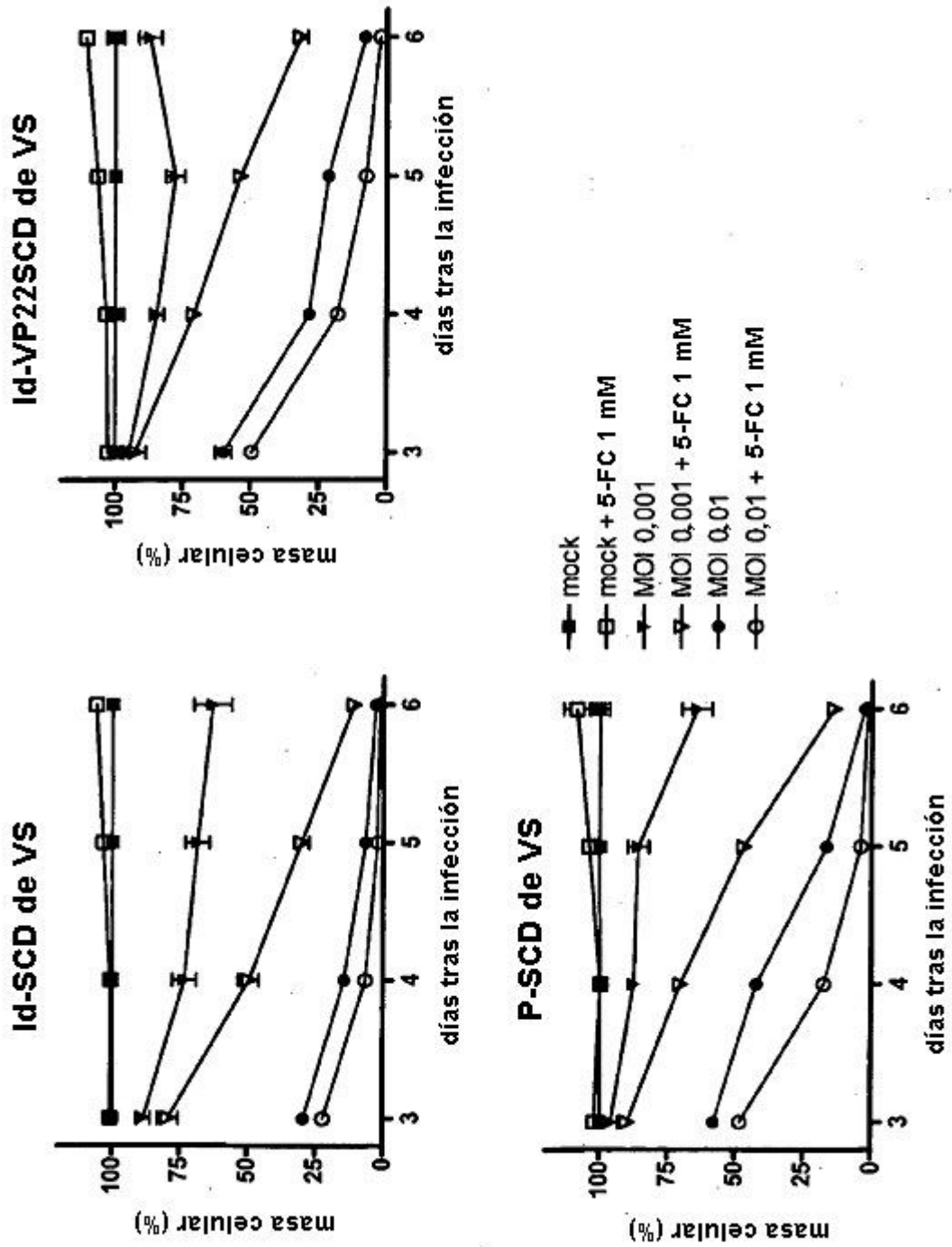


Figura 22

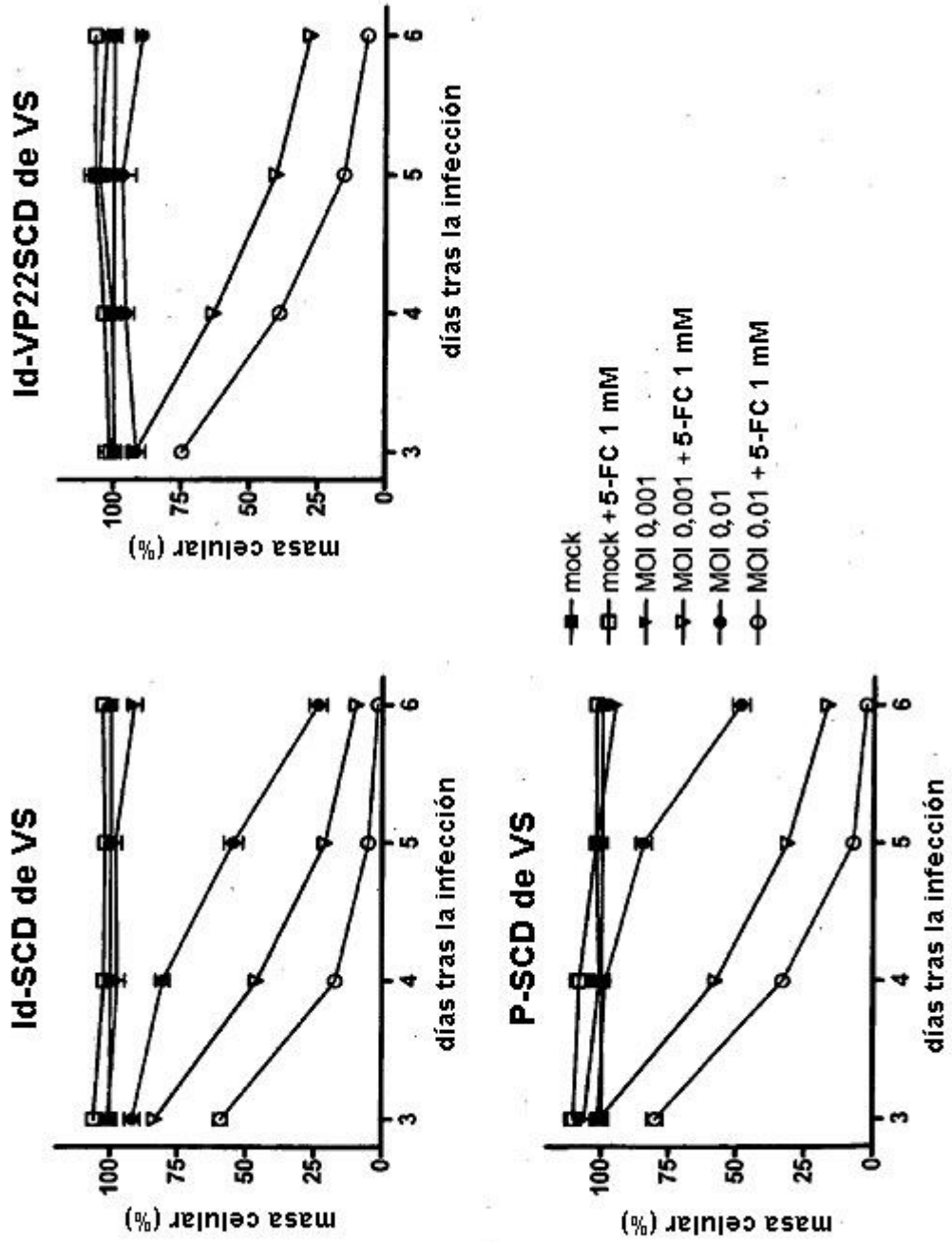
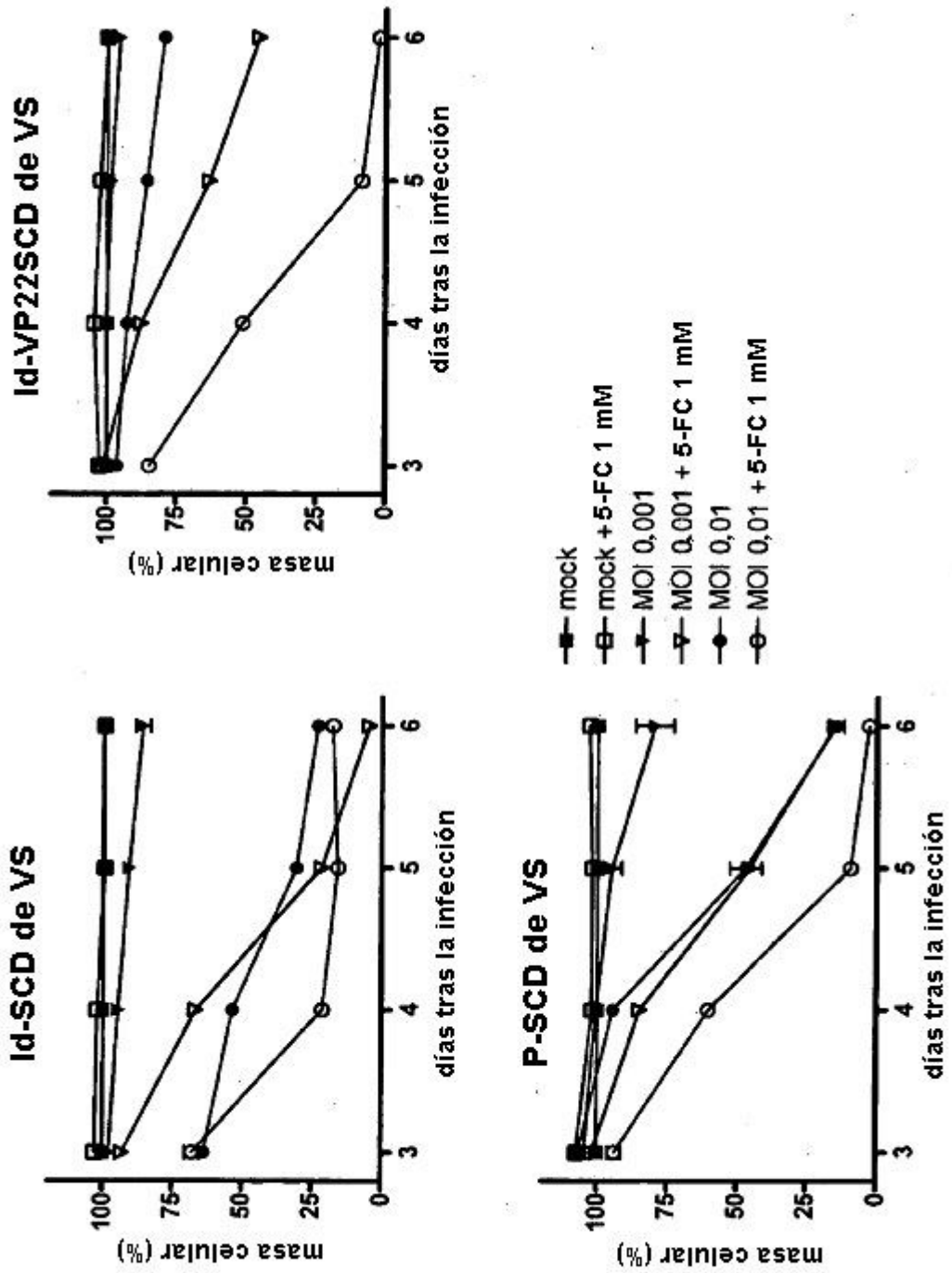


Figura 23



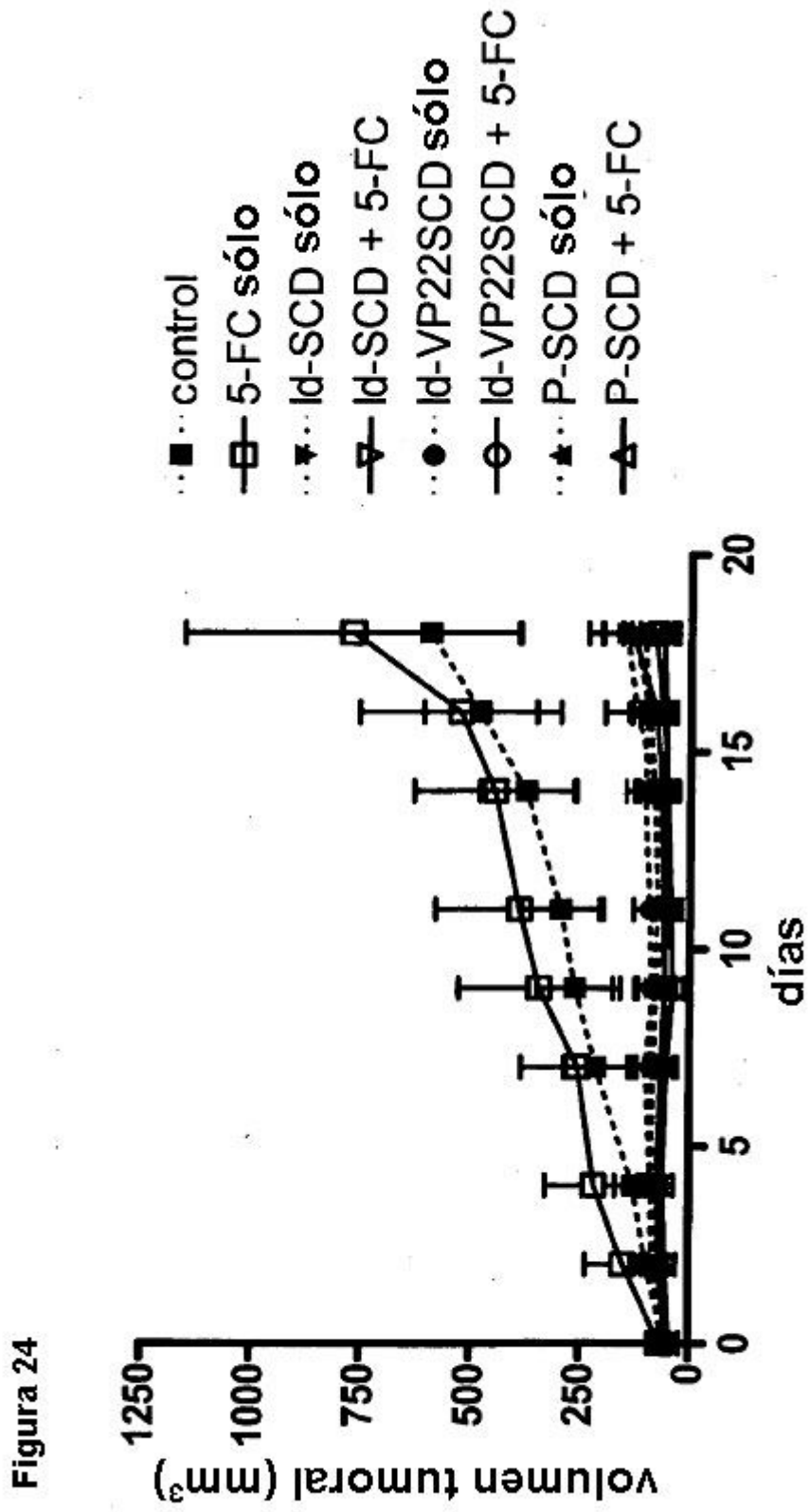
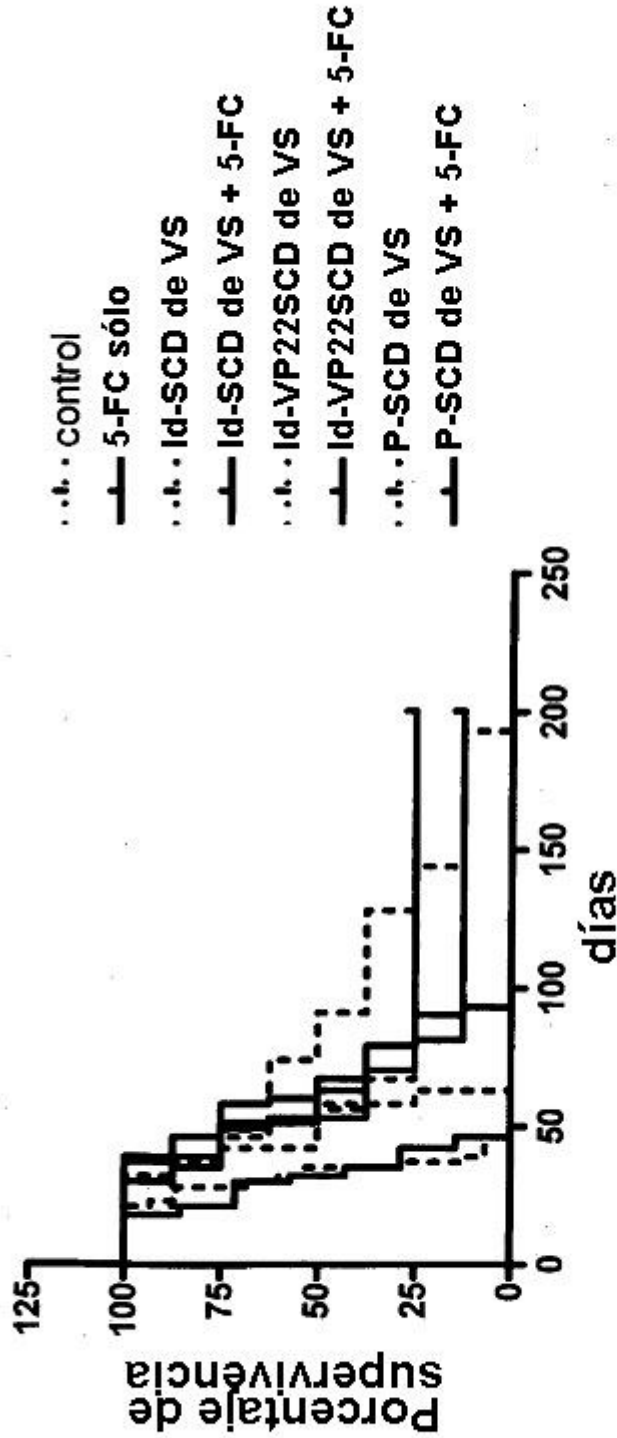


Figura 25



Tratamiento	control	5-FC sólo	Id-SCD de VS	Id-SCD de VS + 5-FC	Id-VP22SCD de VS	Id-VP22SCD de VS + 5-FC	P-SCD de VS	P-SCD de VS + 5-FC
mediana de la supervivencia [d]	35	32	82,5	61,5	55,5	52	49	60

Figura 26

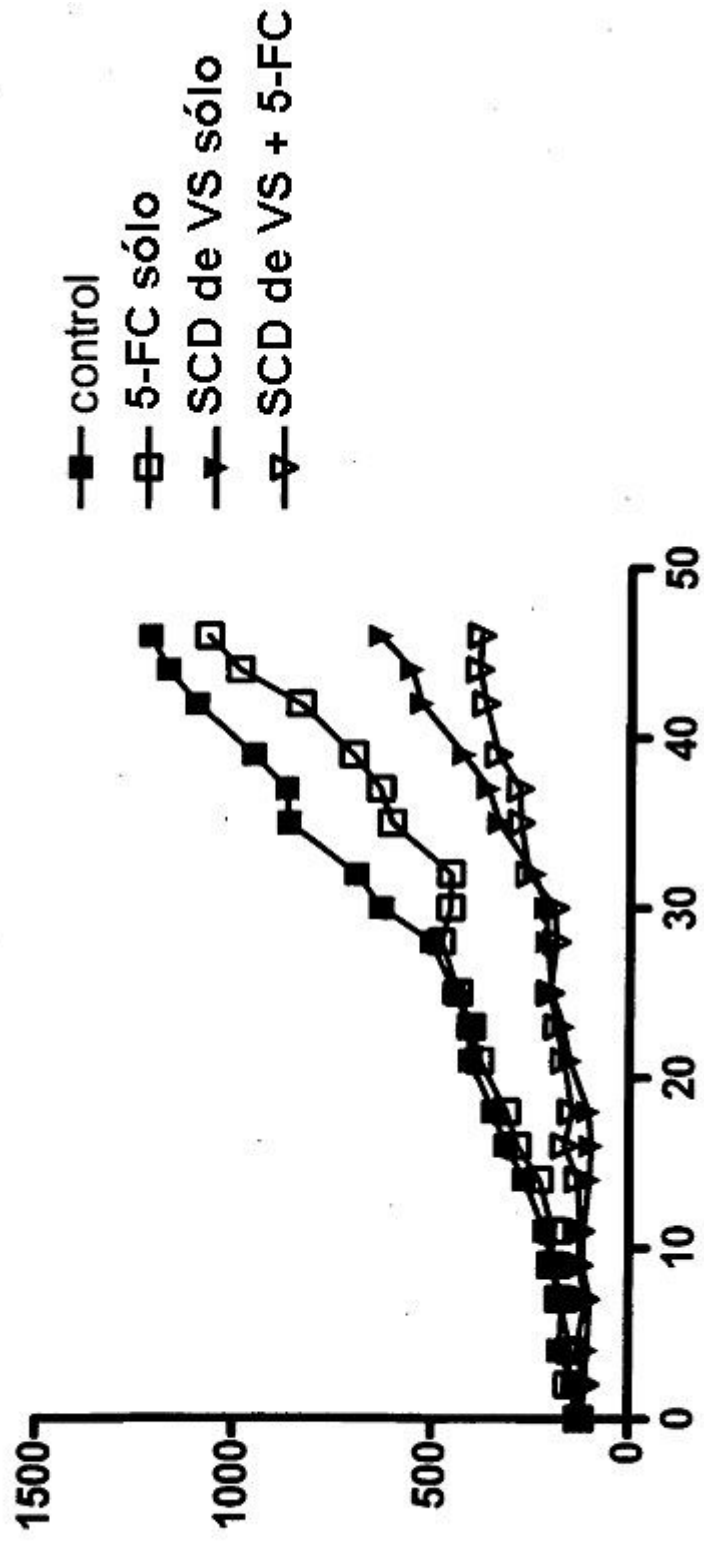


Figura 27

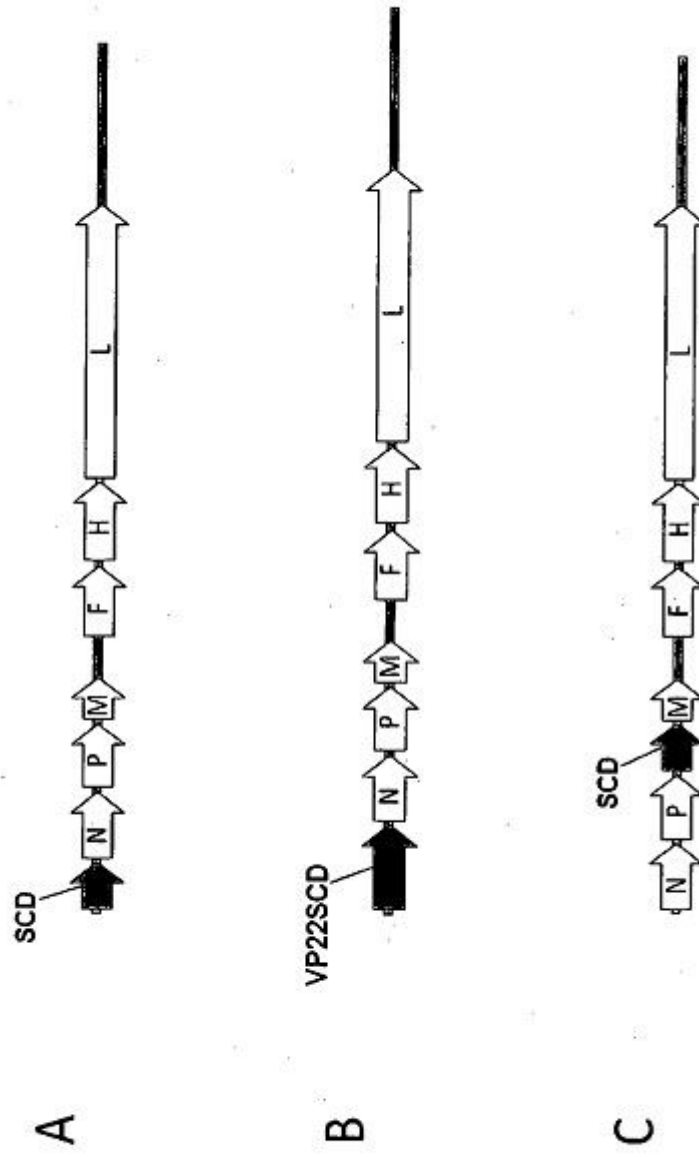


Figura 28**pMerV2 P-SCD (que codifica para P-SCD de VS)**

accaaacaaagttgggtaaggatagttcaatcaatgatcatcttctagtgcaacttaggatt
 caagatcctattatcagggacaagagcaggattagggatatccgagatggccacacttta
 aggagcttagcattgttcaaaagaaacaaggacaaccaccattacatcaggatccggg
 gagccatcagaggaatcaaacacattattatagtagcaatccctggagattcctcaattac
 cactcgatccagacttctggaccgggttggtgaggttaattggaaccgggatgtgagcggg
 cccaaactaacaggggcaactaataggtatattatccttattttgtggagtctccagggtcaat
 tgattcagaggatcaccgatgaccctgacgtagcataaggctgtagagggtgtccagag
 tgaccagtcacaatctggccttaccttcgcatcaagaggtaccaacatggaggatgaggcg
 gaccaatacttttcacatgatgatccaattagtagtgatcaatccagggtcggatgggtcg
 ggaacaaggaaatctcagatattgaagtgcaagaccctgagggattcaacatgattctggg
 taccatcctagcccaaatttgggtcttgctcgcaaggcgggttacggccccagacacggca
 gctgattcgggagctaagaaggtggataaagtacaccaacaagaagggtagttgggtgaat
 ttagattggagagaaaatggttggatgtggtgaggaacaggattgccgaggacctctcct
 acgccgattcatggtcgctctaactcctggatatacaagagaacaccggaaacaaaccagg
 attgctgaaatgatatgtgacattgatacatatcctgtagaggcaggattagccagtttta
 tcttgactattaagtttgggatagaaactatgtatcctgctcttggactgcatgaatttgc
 tgggtgagttatccacacttgagtccttgatgaaccttaccagcaaattgggggaaactgca
 ccctacatggtaatcctggagaactcaattcagaacaagttcagtgaggatcataccctc
 tgctctggagctatgccatgggagtaggagtggaacttgaaaactccatgggaggtttgaa
 ctttggccgatcttactttgatccagcatatttttagattagggcaagagatggtaaggagg
 tcagctggaaaggctcagttccacattggcatctgaactcggatcactgccgaggatgcaa
 ggcttgtttcagagattgcaatgcatactactgaggacaagatcagtagagcgggttgacc
 cagacaagcccaagtatcatttctacacgggtgatcaaagtgagaatgagctaccgagattg
 gggggcaaggaagataggaggggtcaaacagagtcgaggagaagccagggagagctacagag
 aaaccgggcccagcagagcaagtgatgagagagctgccatcttccaaccggcacaccct
 agacattgacactgcaacggagtccagccaagatccgcaggacagtcgaaggctcagctgac
 gccctgcttaggctgcaagccatggcaggaatctcggaagaacaaggctcagacacggaca
 cccctatagtgtaaatgacagaaatcttctagactaggtgagagggccgagggccagaa
 caacatccgcctaccatccatcattgttataaaaaacttaggaaccaggtccacacagccg
 ccagcccatcaaccatccactcccacgattggagccaatggcagaagagcaggcacgccat
 gtcaaaaacggactggaatgcatccgggctctcaaggccgagcccatcggctcactggcca
 tcgaggaagctatggcagcatggtcagaaatatcagacaaccaggacaggagcagagccac
 ctgcaggaagagaaggcaggcagttcgggtctcagcaaaccatgcctctcagcaattgga
 tcaactgaaggcgggtgcacctcgcatccgcgggtcagggacctggagagagcagtgacgacg
 ctgaaactttgggaatcccccaagaaatctccaggcatcaagcactgggttacagtggtta
 ttacgtttatgatcacagcgggtgaagcgggttaagggaaatccaagatgctgactctatcatg
 gttcaatcaggccttgatgggtgatagcaccctctcaggaggagacaatgaatctgaaaaca
 gcgatgtggatattggcgaacctgataccgagggatatgctatcactgaccggggatctgc

tcccatctctatgggggttcagggttctgatggtgaaactgcagaaggaggggagatccac
gagctcctgagactccaatccagaggcaacaactttccgaagcttgggaaaactctcaatg
ttcctccgccccggacccccggtagggccagcacttccgggacaccattaaaaagggcac
agacgcgagattagcctcatttggaacggagatcgcgcttttattgacaggtggtgcaacc
caatgtgctcgaaagtcaccctcggaacatcagggccaggtgcacctgcggggaatgtcc
ccgagtggtgagcaatgccgactgatacaggagtggacaccgcaatctggtaccacaat
ctccccgagatcccagaataatgaagaagggggagactattatgatgatgagctgttctct
gatgtccaagatattaaaacagccttggccaaaatacacgaggataatcagaagataatct
ccaagctagaatcactgctgttattgaagggagaagttgagtcaattaagaagcagatcaa
caggcaaaatatcagcatalccaccctggaaggacacctctcaagcatcatgatcgccatt
cctggacttgggaaggatcccaacgacccccactgcagatgtcgaaatcaatcccgacttga
aaccatcataggcagagattcaggccgagcactggccgaagttctcaagaaaccggtgc
cagccgacaactccaaggaatgacaaaatggacggaccagttccagaggacagctgctgaag
gaatttcagctaaagccgatcgggaaaaagatgagctcagccgctcgggttggtcctgaca
ccggccctgcatcacgcagtgtaatccgctccattataaaatccagccggctagaggagga
tcggaagcgttacctgatgactctccttgatgatatacaaggagccaatgatcttgccaag
ttccaccagatgctgatgaagataataatgaagtagctacagctcaactacctgccaacc
ccatgccagtcgacccaactagtcctccatcattggtataaaaaacttaggaaccaggtcc
atacacctgacgctcgaggcgcgtgccaccatggtgacagggggaatggcaagcaagtggg
atcagaagggataggacattgcctatgaggaggcggccttaggttacaagaggggtggtgt
tcctattggcggatgtcttatcaataacaagacggaagtggttctcggctcgtggtcacaac
atgagatttcaaaagggatccgccacactacatggtgagatctccactttggaaaactgtg
ggagattagagggcaaaagtgtacaaagataaccactttgtatacgacgctgtctccatgca
catgtgtacaggtgccatcatcatgtatggtattccacgctgtgttgctcgggtgagaacggt
aatttcaaaagtaagggcgagaaatatttacaactagaggtcacgaggttggttggtg
acgatgagaggtgtaaaaagatcatgaaacaatttatcgatgaaagacctcaggattggtt
tgaagatattggtgaggcttcggaaccatttaagaacgtctacttgctacctcaacaac
caattgctgggtttgtacaccatcatcagaataagaatacaactagacctgatttcattt
tctactccgatagaatcatcagattggttggttgaagaaggtttgaaccatctacctgtgca
aaagcaaatgtggaaactgacaccaacgaaaacttcgaaggtgtctcattcatgggtaaa
atctgtggtgtttccattgtcagagctggtgaatcgatggagcaaggattaagagactggt
gtaggtctgtgctatcggtaaaaatttcaatcgaaggacgaggagactgctttaccaaa
gttattctacgaaaaattaccagaggatatactgaaaggtatgtcttccatttagacca
atgctggccaccggtggtagtgctatcatggctacagaagtcttgattaagagaggtggtta
agccagagagaatttacttcttaaacctaactctgtagtaaggaagggttgaaaaatacca
tgccgccttcccagaggtcagaattggttactggtgccctcgacagaggtctagatgaaaac
aagtatctagttccaggggtgggtgactttggtgacagatactactgtgtttaaaccgcg
acgtctagtacaacctaaatccattataaaaaacttaggagcaaagtgattgcctccaag
gtccacaatgacagagacctacgacttcgacaagtcggcatgggacatcaaagggtcgatc
gctccgatacaaccaccacctacagtgatggcaggctggtgccccaggtcagagtcatag
atcctggtctagggcagaggaaggatgaatgctttatgtacatgtttctgctgggggtgt
tgaggacagcgattccctagggcctccaatcgggagcatttgggttccctgccccttaggt
ggtggcagatccacagcaaagcccgaaaaactcctcaaagaggccactgagcttgacatag
ttgttagacgtacagcagggctcaatgaaaaactggtgttctacaacaacccccactaac
tctcctcacaccttgagaaaggtcctaacaacagggagtgcttcaacgcaaaccaagtg
tgcaatgcggttaatctgataccgctcgataccccgcagaggttccgtggtgtttatatga
gcatcaccgctcttccggataacgggtattacaccgcttccctagaagaatgctggaattcag
atcgggtcaatgcagtgccctcaacctgctggtgacccttaggattgacaaggcgataggc

cctggaagatcatcgacaatacagagcaacttctgaggcaacatttatggtccacatcg
 ggaacttcaggagaaagaagagtgaagtctactctgccgattattgcaaaatgaaaatcga
 aaagatgggcctggtttttgcacttgggtgggatagggggcaccagtcttcacattagaagc
 acaggcaaaatgagcaagactctccatgcacaactcgggttcaagaagaccttatggtacc
 cgctgatggatatcaatgaagacctaatacgattactctggaggagcagatgcaagatagt
 aagaatccaggcagttttgcagccatcagttcctcaagaattccgcatttacgacgacgtg
 atcataaatgatgaccaaggactattcaaagttctgtagaccgtagtgccagcaatgcc
 gaaaacgacccccctcacaatgacagccagaaggcccggacaaaaagccccctccgaaag
 actccacggaccaagcgagaggccagccagcagccgacggcaagcgcgaacaccaggcggc
 cccagcacagaacagccctgacacaaggccaccaccagccacccaatctgcatcctctc
 gtgggacccccgaggaccaaccccccaaggctgcccccgatccaaaccaccaaccgcatccc
 caccacccccgggaaagaaacccccagcaattggaaggccccctccccctcttctcaacac
 aagaactccacaaccgaaccgcacaagcgcagccgaggtgacccaaccgcaggcatccgactc
 cctagacagatcctctctccccggcaaaactaaacaaaacttagggccaaggaaacatacaca
 cccaacagaaccagaccccggcccacggcgcgcgcccccaacccccgacaaccagaggg
 agcccccaaccaatcccgcgggtcccccggtgcccaacggcaggggacaccaacccccgaa
 cagaccacagcaccacccatcgacaatccaagacgggggggcccccccaaaaaaggcccc
 caggggcccgcagcagcaccgcgaggaagcccaccccacacacgaccacggcaacc
 aaaccagaaccagaccaccctgggcccaccagctcccagactcggccatcacccccgcagaa
 aggaaaggccacaaccccgcgaccccagccccgatccggcggggagccaccaacccgaac
 cagcacccaagagcgcgatccccgaaggacccccgaaccgcaaaggacatcagtatcccacag
 cctctccaagtcccccggtctcctcctcttctcgaagggaccaaagatcaatccaccaca
 cccgacgacactcaactccccaccctaaaggagacaccgggaaatcccagaatcaagactc
 atccaatgtccatcatgggtctcaagggtgaacgtctctgccatattcatggcagtactgtt
 aactctccaaacaccccaccggtcaaattccattggggcaatctctctaagataggggtggtg
 ggaataggaagtgaagctacaagttatgactcgttccagccatcaatcattagtataa
 aattaatgcccaatataactctcctcaataactgcacgagggtagagattgcagaatacag
 gagactactgagaacagttttggaaccaattagagatgcacttaatgcaatgaccagaat
 ataagaccggttcagagtgtagcttcaagtaggagacacaagagatttgccgggagtagtcc
 tggcaggtgccccttaggcgttgccacagctgctcagataacagccggcattgcacttca
 ccagtcctatgctgaactctcaagccatcgacaatctgagagcgcagcctggaaactactaat
 caggcaattgagacaatcagacaagcagggcagggagatgatattggctgttcagggtgtcc
 aagactacatcaataatgagctgataccgtctatgaaccaactatcttgtgatttaatcgg
 ccagaagctcgggctcaaattgctcagatactatacagaatcctgtcattatctggcccc
 agtttacgggaccccatactctgcccagatatctatccaggctttgagctatgcgcttgag
 gagacatcaataaggtggttagaaaagctcggatacagtgagggtgatttactgggcatcct
 agagagcggaggaataaaggccccgataactcacgtcgacacagagtcctacttcatgtc
 ctcagtatagcctatccgacgctgtccgagattaagggggtgattgtccaccggctagagg
 ggtctcgtacaacataggctctcaagagtgggtataccactgtgcccagatggtgcaac
 ccaaggtaccttatctcgaattttgatgagtcacgtgtactttcatgccagaggggact
 gtgtgcagccaaaatgccttgtacccgatgagtcctctgctccaagaatgcctccgggggt
 acaccaagtctgtgctcgtacactcgtatccgggtcttttggaaccgggttcattttatc
 acaaggaacctaatagccaattgtgcatcaatcctttgcaagtgttacacaacaggaacg
 atcattaatcaagaccctgacaagatcctaacatacattgctgccgatcactgcccggtag
 tcgaggtgaacggcgtgaccatccaagtcgggagcaggaggtatccagacgctgtgtactt
 gcacagaattgacctcggctcctccatcatctggagaggttgagcgtagggacaaatctg
 gggaatgcaattgctaagttggaggatgccaaaggaattggtggagtcacggaccagatat
 tgaggagtatgaaaggtttatcgagcactagcatagtctacatcctgattgcagtggtct

tggagggttgatagggatccccgctttaatatggttgctgcagggggcggttgtaacaaaaag
 ggagaacaagttggtatgtcaagaccaggcctaagcctgatcttacgggaacatcaaaat
 cctatgtaaggtcgctctgatcctctacaactcttgaaacacaaatgtcccacaagtctcc
 tcttcgtcatcaagcaaccaccgcaccagcatcaagcccacctgaaattatctccggctt
 ccctctggccgaacaatatcggtagttaatcaaaacttagggtgcaagatcatccacaatg
 tcaccacaacgagaccggataaatgccttctacaagataacccccatccaaggggaagta
 ggatagtcattaacagagaaacatcttatgattgatagaccttatgttttgctggctgttct
 gtttgctcatgtttctgagcttgatcgggttgctagccattgcaggcattagacttcatcg
 gcagccatctacaccgcagagatccataaaagcctcagcaccaatctagatgtaactaact
 caatcgagcatcagggtcaaggacgtgctgacaccactcttcaaaatcatcggtgatgaagt
 gggcctgaggacacctcagagattcactgacctagtgaattaatctctgacaagattaaa
 tccttaatccggataggagtagcacttcagagatctcacttgggtgatcaaccgccag
 agagaatcaaattggattatgatcaatactgtgcagatgtggctgctgaagagctcatgaa
 tgcatgtgggaactcaactctactggagaccagaacaaccaatcagttcctagctgtctca
 aagggaaactgctcagggccactacaatcagaggtcaattctcaaacatgtcgctgtccc
 tgttagacttgtatttagggtcgaggttacaatgtgtcatctatagtcactatgacatccca
 gggatgtatgggggaacttacctagtggaaaagcctaactctgagcagcaaaaggtcagag
 ttgtcacaactgagcatgtaccgagtggttgaagttaggtgttatcagaaatccgggttgg
 gggctccgggtgtccatatagacaaactatcttgagcaaccagtcagtaatgatctcagcaa
 ctgtatgggtggcttgggggagctcaaactcgcagcccttgtcacggggaagattctatc
 acaattccctatcagggatcagggaaaggtgtcagctccagctcgtcaagctaggtgtct
 ggaaatccccaacccagacatgcaatcctgggtccccttatcaacggatgatccagtgataga
 caggctttacctctcatctcacagaggtgttatcgctgacaatcaagcaaaatgggctgtc
 ccgacaacacgaacagatgacaagttgcaatggagacatgcttccaacaggcggtgtaagg
 gtaaaatccaagcactctgcgagaatcccagtgggcaccattgaaggataacaggattcc
 ttcatacggggcttctgtctgttgatctgagctgacagttgagcttaaaatcaaaattgct
 tcgggatccggccattgatcacacacgggtcagggatggacctatacaaatccaaccaca
 acaatgtgtattggctgactatcccgccaatgaagaacctagccttaggtgtaatcaacac
 attggagtgataaccgagattcaaggttagtccctacctcttcaactgtcccaattaaggaa
 gcaggcgaagactgccatgccccaacatacctacctgaggaggtggatgggtgatgtcaaac
 tcagttccaatctggtgatctacctggtcaagatctccaatatgttttggaacctacga
 tacttccaggggtgaacatgctgtggtttattacgtttacagcccaagccgctcattttct
 tacttttatccttttaggttgcctataaagggggctccccatcgaattacaagtggaaatgct
 tcacatgggaccacaaaactctgggtgccgtcacttctgtgtgcttgcggactcagaatctgg
 tggacatatcactcactctgggatgggtgggcatgggagtcagctgcacagtcacccgggaa
 gatggaaccaatcgcagatagggtgctagtgaaccaatcacatgatgtcaccagacatc
 aggcatacccactagtgtgaaatagacatcagaattaagaaaaacgtagggccaagtggg
 tccccgttatggactcgctatctgtcaaccagatcttataccctgaagttcacctagatag
 cccgatagttaccaataagatagtagccatcctggagtatgctcgagtcctcaccgcttac
 agcctggaggaccctacactgtgtcagaacatcaagcaccgcctaaaaaacggattttcca
 accaatgattataaacaatgtggaagttgggaatgtcatcaagtccaagcttaggagttta
 tccggccactctcatattccatatacaaatgtgaatcaggatttatttaacatagaagac
 aaagagtcaacgaggaagatccgtgaactcctcaaaaaggggaattcgctgtactccaaag
 tcagtgataaggttttccaatgcttaagggacactaactcacggcttggcctaggctccga
 attgagggaggacatcaaggagaaagttattaacttgggagtttacatgcacagctcccag
 tggtttgagcccttctgttttggtttacagtcgaagactgagatgaggtcagtgatataat
 cacaaaccataacttgcctataggaggagacacacacctgtattcttcaactggtagttcagt
 tgagttgctaactctctcgtgaccttgttgctataatcagtaagagctctcaacatgtatat

tacctgacatttgaactgggttttgatgtattgtgatgtcatagaggggaggttaatgacag
 agaccgctatgactattgatgctaggtatacagagcttctaggaagagtcagatacatgtg
 gaaactgatagatgggttcttccctgcactcgggaatccaacttatcaaattgtagccatg
 ctggagcctctttcacttgcttacctgcagctgagggatataacagtagaactcagaggtg
 ctttccctaaccactgctttactgaaatacatgatgttcttgacccaaaacgggttttctga
 tgaaggtacttatcatgagttaactgaagctctagattacattttcataactgatgacata
 catctgacaggggagattttctcatttttcagaagtttcggccaccccagacttgaagcag
 taacggctgctgaaaatgtaggaatacatgaatcagcctaaagtcatttgtgtatgagac
 tctgatgaaaggctcatgccatattttgtggaatcataatcaacggctatcgtgacaggcac
 ggaggcagttggccaccgctgaccctccccctgcatgctgcagacacaatccggaatgctc
 aagcttcagggtgaagggttaacacatgagcagtgcggtgataactggaaatcttttgctgg
 agtgaatttggtgcttctatgcctcttagcctggatagtgatctgacaatgtacctaaag
 gacaaggcacttgctgctctccaaagggaatgggattcagtttaccgaaagagttcctgc
 gttacgaccctcccaagggaaccgggtcacggaggctttagatgttttcttaattgatc
 gagctttgaccatgatgtgataatgtatgttgtaagtggagcttacctccatgaccct
 gagttcaacctgtcttacagcctgaaagaaaaggagatcaaggaaacaggtagactttttg
 ctaaaatgacttcaaaaatgagggcatgccaaagtattgctgaaaatctaactcaaacgg
 gattggcaaatattttaaggacaatgggatggccaaggatgagcacgatttgactaaggca
 ctccacactctagctgtctcaggagtccccaaagatctcaaagaaagtcacaggggggggc
 cagtcttaaaaacctactcccgaagcccagtcacacacaagtagcaggaaacgtgagagcagc
 aaaagggtttataggggtccctcaagtaattcggcaggaccaagacactgatcatccggag
 aatatggaagcttacgagacagtcagtgcatttatcacgactgatctcaagaagtagctgc
 ttaattggagatatgagaccatcagcttgtttgcacagaggctaaatgagatttacggatt
 gccctcatttttccagtggtgcataaagggttgagacctctgtcctgtatgtaagtgac
 cctcattgccccccgaccttgacgcccataatcccggtatataaaagtccccaatgatcaaa
 tcttcattaagtaccctatgggaggtatagaagggtattgtcagaagctgtggaccatcag
 caccattccctatctatacctggctgcttatgagagcggagtaaggattgcttcgtagtg
 caaggggacaatcagaccatagccgtaacaaaaagggtaccagcacatggccctacaacc
 ttaagaaacgggaagctgctagagtaactagagattactttgtaattcttaggcaaaggct
 acatgatattggccatcacctcaaggcaaatgagacaattgtttcatcacattttttgtc
 tattcaaaaggaatatattatgatgggctacttgtgtcccaatcactcaagagcatcgcaa
 gatgtgtattctggctcagagactatagttgatgaaacaagggcagcatgcagtaaatgc
 tacaacaatggctaaaagcatcgagagaggttatgaccgttaccttgcatattccctgaac
 gtccataaaagtgatacagcaaatctgatctctcttggcttcacaatcaattcaacctga
 cccgggatgtagtcatacccctcctcacaacaacgacctcttaataaggatggcactggt
 gccgctcctattggggggatgaattatctgaatatgagcaggctgtttgtcagaaacatc
 ggtgatccagtaacatcatcaattgctgatctcaagagaaatgattctcgcctcactaatgc
 ctgaagagaccctccatcaagtaatgacacaacaaccgggggactcttcattcctagactg
 ggctagcgacccttactcagcaaatcttgatgtgtccagagcatcactagactcctcaag
 aacataactgcaaggtttgtcctgatccatagtccaaaccatgttaaaaggattattcc
 atgatgacagtaaagaagaggacgagggactggcggcattcctcatggacaggcattat
 agtacctagggcagctcatgaaatcctggatcatagtgtcacaggggcaagagagctatt
 gcaggcatgctggataaccacaaaaggcttgattcgagccagcatgaggaagggggggttaa
 cctctcgagtgataaccagattgtccaattatgactatgaacaattcagagcagggatggg
 gctattgacaggaagaaagagaaatgtcctcattgacaaagagtcattcagtgacgctg
 gcgagagctctaagaagccatattgtggcgaggctagctcgaggacggcctatttacggcc
 ttgaggctcctgatgtactagaatctatgcgaggccacctattcggcgctcatgagacatg
 tgtcatctgcgagtggtgatcagtcactacggatgggtttttgtcccctcgggttgccaa

ctggatgatattgacaaggaaacatcatccttgagagtcccatatattgggttctaccactg
 atgagagaacagacatgaagcttgccttcgtaagagccccaagtcgatccttgcgatctgc
 tgttagaatagcaacagtgactcatgggcttacggatgatgatagctccttggaacgaa
 gcctgggttgttggctaggcaaggccaatgtgagcctggaggagctaagggatgatcactc
 ccatctcaacttcgactaatttagcgcatagggttgaggatcgtagcactcaagtgaata
 ctcaaggtacatcccttgtccgagtgccgaggtataaccacaatctccaacgacaatctctca
 tttgtcatatcagataagaagggtgataactttatataccaacaaggaatgcttctag
 ggttgggtgttttagaaacattgtttcgactcgagaaagataccggatcatctaacacggg
 attacatcttcacgctgaaacagattgttgcgtgatcccgatgatagatcatcccaggata
 cccagctcccgaagctagagctgagggcagagctatgtaccaaccattgatataatgata
 atgcacctttaattgacagagatgcaacaaggctatacaccagagccataggaggcacct
 tgtggaatttgttacatgggtccacaccccaactatatacacattttagctaagtcacagca
 ctatctatgattgacctggttaacaaaatttgagaaggaccatatgaatgaaatttcagctc
 tcataggggatgacgatatacaatagtttcataactgagtttctgctcatagagccaagatt
 attcaactatctacttgggccagtggtgcggccatcaattgggcatttgatgtacattatcat
 agaccatcagggaatatcagatgggtgagctgttgtcatcgttcctttctagaatgagca
 aaggagtgtttaagggtgcttgtcaatgctctaagccaccaagatctacaagaattctg
 gcattgtggtattatagagcctatccatgggtccttcaacttgatgctcaaaacttgcacaca
 actgtgtgcaacatgggtttacacatgctatatacactacctcgacctgttgttgatgaag
 agttagaagagttcacatttctcttgtgtgaaagcgacgaggatgtagtaccggacagatt
 cgacaacatccaggcaaaacacttatgtgttctggcagatttgtactgtcaaccagggacc
 tggccaccaatctgaggtctaagaccggtagagaaatgtgcagttctaaccgaccatatca
 aggcagaggctatgttatctccagcaggatcttcgtggaacataaatccaattattgtaga
 ccattactcatgctctctgacttatctccggcgaggatcgatcaaacagataagattgaga
 gttgatccaggattcattttcgacgcctcgtgaggtaaatgtcagtcagccaagatcg
 gcagcaacaacatctcaaatatgagcatcaaggcttcagacccccacacgatgatgttgc
 aaaattgctcaaagatatcaacacaagcaagcacaatcttccatttcagggggcaatctc
 gccaatatgaaatccatgcttccgcagaatcgggttgaactcatctgcttgcatacaag
 ctgttgagatatcaacattaattaggagatgccttgagccaggggaggacggctgttctt
 ggggtgagggatcgggttctatgttgatcacttataaagagataactaaactaaacaagtgc
 ttctataatagtgggggttccgccaattctagatctgggtcaaaggaattagcacctatc
 cctccgaagttggccttgtcgaacacagaatgggagtaggtaatatgtcaaagtgcctt
 taacgggaggcccgaagtcacgtgggtaggcagtgtagattgcttcaatttcatagttagt
 aatatccctacctctagtgtgggtttatccattcagatatagagacctgcctgacaaag
 atactatagagaagctagaggaattggcagccatcttatcgatggctctgctcctgggcaa
 aataggatcaatactgggtgattaagcttatgccttccagcggggattttgttcagggattt
 ataagttatgtagggtctcattatagagaagtgaaccttgataccctagatacagcaact
 tcatctctactgaatcttatttgggttatgacagatctcaaggctaaccggctaataatcc
 tgaaaagattaagcagcagataattgaatcatctgtgaggacttcacctggacttataggt
 cacatcctatccattaagcaactaagctgcatacaagcaattgtgggagacgcagttagta
 gaggtgatataatcctactctgaaaaacttacacctatagagcaggtgctgatcaattg
 cgggttggcaattaacggacctaagctgtgcaagaattgatccaccatgatgttgcctca
 gggcaagatggattgcttaattctatactcatcctctacagggagttggcaagattcaaag
 acaaccaagaagtcaacaaggatgttccacgcttaccctcgatttggttaagtagcaggca
 acgagaacttatatctaggatcaccgcaaatctgggggacacattcttcttactccggg
 acaaaaaagttgataaataagtttatccagaatctcaagtcaggctatctgatactagact
 tacaccagaatatcttcgttaagaatctatccaagtcagagaaacagattattatgacggg
 ggggttgaaacgtgagtggtttttaaggtaacagtcaggagaccaagaatgggtataag

ttagtcggatacagtgccctgattaaggactaattgggtgaaactccggaaccctaactctg
 ccctaggtgggttaggcattatgtgcaatatattaagaaaactttgaaaatacgaagttc
 tattcccagctttgtctgggtggccggcatgggtcccagcctcctcgtggtggcggctggg
 aacattccgaggggaccgtcccctcggtaatggcgaatgggacgcccggctcgatcgacg
 atccggctgctaacaagcccgaaggaagctgagttggctgctgccaccgctgagcaata
 actagcataaacccttggggcctctaaacgggtcttgaggggttttttggctgaaaggagga
 actatatccggatcgagatcaattctgtgagcgtatggcacaacgaaggaaaaatagttata
 gtagccgcactcgatgggacatttcaacgtaaaccgtttaataatattttgaaatcttattc
 cattatctgaaaatgggtggtaaaactaactgctgtgtgtatgaaatgctttaaggaggcttc
 cttttctaacgattgggtgaggaaccgagatagaaataataggaggtaatgatatgtat
 caatcgggtgtgtgaaagtgttacatcgactcataatattatattttttatctaaaaaact
 aaaaataaacattgattaaattttaataataacttaaaaaatggatggtgtgtcgttagat
 aaaccgtttatgtattttgaggaaattgataatgagttagattacgaaccagaaagtgcaa
 atgaggtcgcaaaaaaactgccgtatcaaggacagttaaaactattactaggagaattatt
 ttttcttagtaagtacagcgacacgggtatattagatgggtgccaccgtagtgatatagga
 tctgctcccggtagacataacgattttgagagatcatttctataaattaggagtgatcc
 cgaaaggaagctgagttggctgctgccaccgctgagcaataactagcataaacccttgggg
 cctctaaacgggtcttgaggggttttttggctgaaaggaggaacgcgccctgatgcggtattt
 tctccttacgcatctgtgcggtatttcacaccgcatatattgggtgactctcagtacaatct
 gctctgatgccgcatagttaagccagccccgacaccccgcaacaccccgctgacgcgccctg
 acgggcttgtctgctcccggcatccgcttacagacaagctgtgaccgtctccgggagctgc
 atgtgtcagaggttttaccgctcatcaccgaaacgcgcgagacgaaagggcctcgtgatac
 gcctatttttataggttaatgtcatgataataatggtttcttagacgtcaggtggcacttt
 tcggggaaatgtgcgcggaaccctatttgtttatttttctaatacattcaaatatgtat
 ccgctcatgagacaataaccctgataaatgcttcaataatattgaaaaaggaagagtatga
 gtattcaacatttccgtgtcgccttattcccttttttgcggcattttgccttccgtttt
 tgctcaccagaaacgctgggtgaaagttaaagatgctgaagatcagttgggtgcacgagtg
 ggttacatcgaaactggatctcaacagcggtaagatccttgagagttttcgccccgaagaac
 gtttccaatgatgagcacttttaaaagttctgctatgtggcggcgggtattatcccgattga
 cgccgggcaagagcaactcggctcgccgcatacactatttctcagaatgacttgggtgagtac
 tcaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaagagaattatgcagtgctg
 ccataaccatgagtgataaactgcgggcaacttacttctgacaacgatcggaggaccgaa
 ggagctaaccgcttttttgcacaacatgggggatcatgtaactcgccttgatcgttgggaa
 ccggagctgaatgaagccataccaacgacgagcgtgacaccacgatgcctgtagcaatgg
 caacaacgttgcgcaactattaactggcgaacttacttactctagcttcccggcaacaatt
 aatagactggatggaggcggataaaagtgcaggaccacttctgcgctcggcccttccggct
 ggctggtttattgtgataaatctggagccggtgagcgtgggtctcgcggtatcattgcag
 cactggggccagatggtaagccctcccgtatcgtagttatctacacgacggggagtcaggc
 aactatggatgaacgaaatagacagatcgctgagatagggtgcctcactgattaagcattgg
 taactgtcagaccaagtttactcatatatacttttagattgatttaaaacttcatttttaat
 ttaaaaggatctaggtgaagatcctttttgataatctcatgacccaaaatcccttaacgtga
 gtttctcgttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatcct
 tttttctgcgogtaactctgctgcttgcaaaaaaaaccaccgctaccagcgggtggttt
 gtttgccggatcaagagctaccaactcttttccgaaggtaactggcttcagcagagcgcga
 gataccaataactgtccttctagtgtagccgtagttaggccaccacttcaagaactctgta
 gcaccgcctacatacctcgtctgctaactcctgttaccagtggctgctgccagtgggcgata
 agtcgtgtcttaccgggttgactcaagacgatagttaccggataagggcgcagcggctcggg
 ctgaacgggggggttcgtgcacacagcccagcttggagcgaacgacctacaccgaactgaga

ES 2 540 526 T3

tacctacagcgtgagcattgagaaagcgccacgcttcccgaagggagaaaggcggacaggt
atccggtaagcggcagggtcggaacaggagagcgcacgagggagcttccagggggaaacgc
ctgggatctttatagtcctgtcgggttccgccacctctgacttgagcgtcgatTTTTGTGA
tgctcgtcagggggcgaggcctatggaaaaacgccagcaacgcggccttttacggttcc
tggccttttgctggccttttgctcacatggtctttcctgcggttatcccctgattctgtgga
taaccgtattaccgcctttgagtgagctgataccgctcgccgcagccgaacgaccgagcgc
agcgagtcagtgagcaggaagcgggaagagcgccaatacgc aaaccgcctctccccgcgc
gttggccgattcattaatgcagctggcacgacaggttcccgactggaaagcgggcagtga
gcgcaacgcaattaatgtgagttagctcactcattaggcaccaccaggctttacactttatg
cttccggctcgtatggtgtgtggaattgtgagcggataacaatttcacacaggaaacagct
atgaccatgattacgccaagcttacgcgtgtaatacgactcactataggg

Figura 29

pc3MerV2 Id-VP22SCD (que codifica para Id-VP22SCD de VS)

accaaacaaagttgggtaaggatagttcaatcaatgatcatcttctagtgcacttaggatt
 caagatcctattatcagggacaagagcaggattagggatatctcgagggcgcgtgccacat
 gacctctcgccgctccgtgaagtccgggtccgcgggaggttccgcgcgatgagtacgaggat
 ctgtactacaccccgctctcaggtatggcgagtcccgatagtcggcctgacacctcccgcc
 gtggcgccctacagacacgctcgcgccagaggggaggggtccgttctcgtccagtacgacga
 gtccgattatgccctctacgggggctcgtcatccgaagacgacgaacacccggaggtcccc
 cggacgcggcgtcccggttccggggcggttttgtccggcccggggcctgcgcggggcgctc
 cgccacccgctgggtccggaggggcccggacgcacaccaccaccgccccccgggccccccg
 aaccagcgggtggcgactaaggcccccgggccccggcgggcgagaccaaccgcggcagg
 aatcggcccagccagaatccgcccactcccagacgccccgcctcgacggcgccaacc
 gatccaagacacccgcgcaggggtggccagaaagctgcacttagcaccgccccccaaa
 ccccgacgcgccatggacccccgggtggccggctttaacaagcgcgtctctgcgcgcg
 gtccggcgccctggcgccatgcatgcccgatggcgggcgtccagctctgggacatgtcgc
 gtccgcgcacagacgaagacctcaacgaactccttggcatcaccaccatccgcgtgacgg
 ctgaggggcaaaaacctgcttcagcgcgccaacgagttggtgaatccagacgtggtgcag
 gacggtgacgcggccacggcgactcgagggcggttctgcggcgctcgcgccccaccgagcgac
 ctcgagccccagcccgtccgcttctcgccccagacggcccgtcgaggatatcgccaccat
 ggtgacagggggaatggcaagcaagtgggatcagaagggtatggacattgcctatgaggag
 gcggccttaggttaciaagaggggtggtgttctattggcggatgtcttatcaataacaaag
 acggaagtgttctcggtcgtggtcacaacatgagatttcaaaagggtccgccacactaca
 tgggtgagatctccacttggaaaactgtgggagattagagggcaaaagtgtaciaaagatacc
 actttgtatacgcgctgtctccatgogacatgtgtacaggtgccatcatcatgtatggta
 ttccacgctgtgttgcgggtgagaacgttaatttcaaaagtaaggcgagaaatatttaca
 aactagaggtcacgaggttgttgttgttgacgatgagaggtgtaaaaagatcatgaaacia
 tttatcgatgaaagacctcaggattggtttgaagatattggtgaggcttcggaaccattta
 agaacgtctacttgctacctcaacaaaaccaattgctgggtttgtacaccatcatcagaaa
 taagaatacaactagacctgatttcatcttctactccgatagaatcatcagattgttgggt
 gaagaaggtttgaaccatctacctgtgcaaaagcaaatgtggaaactgacaccaacgaaa
 acttcgaagggtgtctcattcatgggtaaaatctgtgggtgttccattgtcagagctgggtga
 atcgatggagcaaggattaagagactgttgttaggtctgtgcgtatcggtaaaattttaaatt
 caaagggacgaggagactgctttaccaaagtatttctacgaaaaattaccagaggatatat
 ctgaaaggatgtcttctatttagaccaatgctggccaccgggtggtagtgtatcatggc
 tacagaagtcttgattaagagaggtgttaagccagagagaatttacttcttaaacctaattc
 tgtagtaaggaagggttgaaaaataccatgccgcctcccagaggtcagaattgttactg
 gtccctcgacagaggtctagatgaaaacaagtatctagtccagggttgggtgactttgg
 tgacagatactactgtgtttaataaacgcgccatccatcattgttataaaaaacttaggat
 tcaagatcctattatcagggacaagagcaggattagggatatccgagatggccacactttt
 aaggagcttagcattgttcaaaagaacaaggacaaccaccattacatcaggatccgggt
 ggagccatcagaggaatcaaacacattattatagtagcaatccctggagattcctcaatta

ccactcgatccagacttctggaccggttggtgaggttaattggaaaccggatgtgagcgg
gccccaaactaacaggggactaataggtatattatccttatttgtggagtctccaggtcaa
ttgattcagaggatcaccgatgaccctgacggttagcataaggctgttagaggttgtccaga
gtgaccagtcacaatctggccttaccttcgcatcaagaggtaccaacatggaggatgagggc
ggaccaatacttttcacatgatgatccaattagtagtgatcaatccaggttcggatggttc
gggaacaaggaaatctcagatattgaagtgaagaccctgagggattcaacatgattctgg
gtaccatcctagcccaaatttgggtcttgctcgcaaaggcggttacggccccagacacggc
agctgattcggagctaagaagggtgataaagtacaccaacaagaagggtagttggtgaa
tttagattggagagaaaatgggttgatgtggtgaggaacaggattgccgaggacctctcct
tacgccgattcatggtcgctctaactcctggatatcaagagaacacccggaaacaaaccag
gattgctgaaatgatatgtgacattgatacatatcgttagaggcaggattagccagtttt
atcctgactattaagtttgggatagaaactatgtatcctgctcttggactgcatgaatttg
ctggtgagttatccacacttgagtccttgatgaacctttaccagcaaatgggggaaactgc
accctacatggtaatcctggagaactcaattcagaacaagttcagtgccaggatcataccct
ctgctctggagctatgccatgggagtaggagtggaacttgaaaactccatgggaggtttga
actttggccgatcttactttgatccagcatattttagattagggcaagagatggttaaggag
gtcagctggaaagggtcagttccacattggcatctgaactcggatcactgccgaggatgca
aggcttgtttcagagattgcaatgcatactactgaggacaagatcagtagagcgggttgac
ccagacaagcccaagtatcatttctacacgggtgatcaaagtgagaatgagctaccgagatt
ggggggcaaggaagataggaggggtcaaacagagtcgaggagaagccaggagagctacaga
gaaaccgggcccagcagagcaagtgatgagagagctgccatcttccaaccggcacacccc
tagacattgacactgcaacggagtcagccaagatccgcaggacagtcgaagggtcagctga
cgccctgcttaggctgcaagccatggcaggaatctcggagaacaaggctcagacacggac
accctatagtgtaaatgacagaaatcttctagactagggtgcgagagggccgagggccaga
acaacatccgcctaccatccatcattgttataaaaaacttaggaaccaggtccacacagcc
gccagcccatcaaccatccactcccacgattggagccaatggcagaagagcaggcacgcca
tgtcaaaaacggactggaatgcatccgggctctcaaggccgagcccatcggctcactggcc
atcgaggaagctatggcagcatggtcagaaatatcagacaaccaggacaggagcgagcca
cctgcaggaagagaaggcaggcagttcgggtctcagcaaaccatgcctctcagcaattgg
atcaactgaaggcgggtgcacctcgcatccgcgggtcaggacactggagagagcgatgacgac
gctgaaactttgggaatcccccaagaaatctccaggcatcaagcactgggttacagtggt
attacgtttatgatcacagcgggtgaagcgggttaagggaatccaagatgctgactctatcat
ggttcaatcaggccttgatggtgatagcaccctctcaggaggagacaatgaatctgaaaac
agcgatgtggatattggcgaacctgataccgaggggatatgctatcactgaccggggatctg
ctcccatctctatgggggtcagggtctctgatgtgaaactgcagaaggaggggagatcca
cgagctcctgagactccaatccagaggcaacaactttccgaagcttgggaaaactctcaat
gttctcgcgccccggacccccggtagggccagcacttccgggacaccattaaaaagggca
cagaocgagattagcctcatttggaaocggagatcgcgctctttattgacaggtggtgcaac
ccaatgtgctogaaagtcaccctcggaaacctcagggccaggtgcacctgcggggaatgtc
cccagtggtgtgagcaatgccgactgatacaggagtggaaccccgaatctggtaccacaa
tctccccgagatcccagaataatgaagaagggggagactattatgatgatgagctgttctc
tgatgtccaagatattaaaacagccttggccaaaatacacgaggataatcagaagataatc
tccaagctagaatcactgctgttattgaagggagaagttgagtcaattaagaagcagatca
acaggcaaaaatcagcatatccaccctggaaggacacctctcaagcatcatgatcgccat
tcctggacttgggaaggatcccaacgacccccactgcagatgtcgaatatcaatcccgacttg
aaaccatcataggcagagattcaggccgagcactggccgaagttctcaagaaaccggttg
ccagccgacaactccaaggaatgacaaatggacggaccagttccagaggacagctgctgaa
ggaatttcagctaaagccgatcgggaaaaagatgagctcagccgtcgggtttgttctgac

accggccctgcatcacgcagtgtaatccgctccattataaaatccagccggctagaggagg
atcgggaagcgttacctgatgactctccttgatgatatacaaaggagccaatgatcttgccaa
gttccaccagatgctgatgaagataataatgaagtagctacagctcaactacctgccaac
ccoatgccagtcgacccaactagtacaacctaaatccattataaaaaacttaggagcaaag
tgattgcctcccaaggtccacaatgacagagacctacgacttcgacaagtgcggcatgggac
atcaaagggtcgatcgctccgatacaacccaccacctacagtgatggcaggctggtgcccc
aggtcagagtcatagatcctggtctagggcagaggaaggatgaatgctttatgtacatggt
tctgctgggggttggtgaggacagcgattccctagggcctccaatcgggagcatttggg
ttcctgcccttaggtggtggcagatccacagcaaagcccgaaaaactcctcaaagaggcca
ctgagcttgacatagttggttagacgtacagcagggtcaatgaaaaactgggtgtctacaa
caacccccactaactctcctcacacctggagaaaggctctaacaacagggagtgcttc
aacgcaaaccaagtgtgcaatgcggttaactctgataccgctcgataccccgcagaggttc
gtgtgtttatagatcaccctcttccggataacgggtattacaccttccctagaag
aatgctggaattcagatcggtaatgcagtgccctcaacctgctggtgaccttaggatt
gacaaggcgataggccctgggaagatcatcgacaatacagagcaacttccctgaggcaacat
ttatggtccacatcgggaacttcaggagaaagaagagtgaagtctactctgccgattattg
caaatgaaaatcgaaaagatgggcctggttttgcacttgggtgggatagggggcaccagt
cttcacattagaagcacaggcaaaatgagcaagactctccatgcacaactcgggttcaaga
agaccttatgttaccogctgatggatatcaatgaagacctaatcgattactctggaggag
cagatgcaagatagtaagaatccaggcagttttgcagccatcagttcctcaagaattccgc
atttacgacgacgtgatcataaatgatgaccaaggactattcaaagttctgtagaccgtag
tgcccagcaatgccgaaaaacgacccccctcaaatgacagccagaaggccggacaaaaa
agccccctccgaaagactccaacggaccaagcgagaggccagccagcagccgacggcaagcg
cgaacaccaggcggccccagcacagaacagccctgacacaaggccaccaccagccacccca
atctgcatcctcctcgtgggacccccgaggaccaaccccccaaggctgccccgatccaaac
caccaaccgcatccccaccacccccgggaaagaaacccccagcaattggaaggccccctccc
cctcttctcaacacaagaactccacaaccgaaccgcacaagcgaccgaggtgaccaacc
gcaggcatccgactccttagacagatcctctctccccggcaactaaacaaaacttagggc
caaggaacatacacaccaacagaacccagacccccggccacggcgccgcccccaacc
ccgacaaccagaggggagcccccaaccaatcccgcgggtcccccggtgcccacaggcagg
acaccaacccccgaacagaccagcaaccaaccatcgacaatccaagacggggggcccc
ccaaaaaaggccccaggggcccagcagccagcaccgaggaagcccacccacccacac
acgaccagggcaaccaaacagaaaccagaccacctgggcccaccagctcccagactcggc
catcaccgagcaaaaggaaaggccacaacccgcgacccccagccccgatccggcggggag
ccaccaacccgaaccagcaccgaagagcgatccccgaaggacccccgaaccgcaaaggac
atcagtatcccacagcctctccaagtccccgggtctcctcctctctcgaagggaccaaaa
gatcaatccaccacacccgacgacactcaactccccaccctaaaggagacaccgggaatc
ccagaatcaagactcatccaatgtccatcatgggtctcaaggtgaacgtctctgccatatt
catggcagtaactgttaactctccaaacacccaccggtcaaatccattggggcaatctctct
aagataggggtggttaggaataggaagtgaagctacaaagttatgactcgttccagccatc
aatcattagtcataaaattaatgcccaatataactctcctcaataactgcacgagggtaga
gattgcagaatacaggagactactgagaacagtttggaaaccaattagagatgacttaat
gcaatgaccagaatataagaccggttcagagtgtagcttcaagtaggagacacaagagat
ttgcgggagtagtctggcaggtgcccctagggcgttgccacagctgctcagataacagc
cggcattgcacttaccagtcctatgctgaactctcaagccatcgacaatctgagagcagc
ctggaaactactaatcaggcaattgagacaatcagacaagcagggcaggagatgatattgg
ctgttcagggtgtccaagactacatcaataatgagctgataccgtctatgaaccaactatc
ttgtgatttaatcggccagaagctcgggctcaaatgctcagatactatacagaatcctg

tcattatTTGGCCCCagTTTAcGGGacCCcAtatctGcGGagAtatctatccagGcttTga
gctatGcGctTgGaggagacatcaataaggtgTtagaaaagctcgggatacagTggaggTga
TTTactGGGcatcttagagagcggaggaataaaggccCGgataactcacgTcgacacagag
tcctactTcattgtcctcagTatagcctatccgacgctgtccgagattaagggggTgattg
TccaccggctagaggggTctcgtacaacataggctctcaagagTggTataccactgtgcc
caagTatgtTgcaacccaaggtaccttatctcgaattttgatgagTcatcgtgTactTtC
atgccagaggggactgtgtgcagccaaaatgcctTgtacccgatgagTcctctgTccaag
aatgcctccgggggtacaccaagTcctgtgTcgtacactcgtatccgggtctTTTgggaa
ccggTtcatTTTatcacaagggAACcTaatagccaattgtgcatcaatcctTtgcaagTgt
TAcacaacaggaacgatcattaatcaagaccctgacaagatcctaacatacattgctgccg
atcactgcccggtagTcgaggTgaacggcgtgaccatccaagTcgggagcaggaggTatcc
agacgctgtgTactTgcacagaattgacctcggTcctcccatatcattgggagaggTtgGac
gtagggacaaatctggggaatgcaattgctaagTtgaggatgccaaggaattgtTggagT
catcggaccagatattgaggagTatgaaaggTttatcgagcactagcatagTctacatcct
gattTgcagTgtctTggagggtTgatagggatccccgctTtaatatgtTgctgcaggggg
cgtTgTaaCaAAAagggagaacaagTtggtatgtcaagaccaggcctaagcctgatctta
cgggaacatcaaaatcctatgtaaggTcgctctgatcctctacaactctTgaaacacaat
gtcccacaagTctcctctcgtcatcaagcaaccaccgcaccagcatcaagcccacctga
aattatctccgcttccctctggccgaacaatatcggtagTtaataaaaacttagggTgca
agatcatccacaatgtcaccacaacgagaccggataaatgccttctacaagataaacCCC
atcccagggagtaggatagTcattaacagagaacatcttatgattgatagaccttatgt
TTTgctggctgtTctgtTtgTcatgtTtctgagctTgatcgggtTgctagccattgcaggc
attagactTcatcgggcagccatctacaccgcagagatccataaaagcctcagcaccaatc
tagatgTaaCTaaCTcaatcgagcatcaggTcaaggacgtgctgacaccactctTcaaat
catcggTgatgaagTggcctgaggacacctcagagattcactgacctagTgaaattaatc
TctgacaagattaaattccttaatccggatagggagTacgactTcagagatctcactTggT
gtatcaaccCGccagagagaatcaaatTggattatgatcaatactgtgcagatgtggctgc
TgaagagctcatgaatgcattggTgaactcaactctactgggagaccagaacaaccaatcag
TtCctagctgtctcaaagggaaactgctcagggccactacaatcagaggTcaattctcaa
acatgtcgtgtcctgttagactTgtatttaggtcgaggTtacaatgtgtcatctatagT
cactatgacatcccagggaaTgtatgggggaactTacctagTggaaaagcctaactctgagc
agcaaaaggtcagagTtgTcacaactgagcatgtaccgagTgtTgaaTtaggtgttatca
gaaatccgggtTtgggggctccggTgtccatatgacaaactatctTgagcaaccagTcag
taatgatctcagcaactgtatggTggctTtgggggagctcaaaactcgcagccctTgtcac
ggggaagattctatcacaattccctatcagggatcagggaaaggtgtcagctTccagctcg
TcaagctaggTgtctggaaatccccaacCGacatgcaatcctgggtccccttatcaacgga
TgatccagTgatagacaggctTtacctctcatctcacagaggTgttatcgtgacaatcaa
gcaaaatgggctgtcccgacaacacgaacagatgacaagTtgCGaatggagacatgctTcc
aacaggcgtgTaaGGgtaaaatccaagcactctgcgagaatcccgagTgggcaccattgaa
ggataacaggattcctTcatacggggtctTgtctgtTgatctgagTctgacagTtgagctt
aaaatcaaaattgctTcgggattcgggccattgatcacacaggtTcagggatggacctat
acaaatccaaccacaacaatgtgtattggctgactatcccgccaatgaagaacctagcctt
aggTgTaatcaacacattggagTggataccgagattcaaggTtagTccctacctctTcact
gtcccAattaaggaaGcaggcgaagactgccatgccccaacatacctacctgcggaggTgg
atggTgatgtcaaaactcagTtccaatctggTgattctacctggTcaagatctccaatatgt
TTTggcaacctacgatactTccagggTtgaacatgctgtggTttattacgtTtacagccca
agccgctcattTtctactTtatacctTtaggtTgcctataaagggggTccccatcgaat
TacaagTggaatgctTcacatgggacCaAAAactctggTgCCgtcactTctgtgtgctTgc

ggactcagaatctggtggacatatcactcactctgggatggtgggcatgggagtcagctgc
 acagtcacccgggaagatggaaccaatcgcagatagggctgctagtgaaccaatcacatga
 tgtcaccagacatcaggcatacccactagtgtgaaatagacatcagaattaagaaaaacg
 tagggtccaagtggttccccgttatggactcgctatctgtcaaccagatcttataccctga
 agttcacctagatagcccgatagttaccaataagatagtagccatcctggagtatgctcga
 gtccctcacgcttacagcctggaggaccctacactgtgtcagaacatcaagcaccgctaa
 aaaacggatttccaaccaaatgattataaacaatgtggaagttgggaatgtcatcaagtc
 caagcttaggagttatccggccactctcatattccatatccaaattgtaatcaggattta
 ttaacatagaagacaaagagtcaacgaggaagatccgtgaactcctcaaaaaggggaatt
 cgctgtactccaaagtcagtgataaggttttccaatgcttaagggacactaactcacggct
 tggcctaggctccgaattgaggaggacatcaaggagaaagttattaacttgggagtttac
 atgcacagctcccagtggtttgagcccttctgttttggtttacagtcaagactgagatga
 ggtcagtgattaaatcacaaaccatacttgccataggaggagacacacacctgtattctt
 cactggtagttcagttgagttgctaattctctcgtgacctgttgctataatcagtaagag
 tctcaacatgtatattacctgacatttgaactggttttgatgtattgtgatgtcatagagg
 ggaggttaatgacagagaccgctatgactattgatgctaggatatacagagcttctaggaag
 agtcagatacatgtggaactgatagatggtttctccctgcactcgggaatccaacttat
 caaattgtagccatgctggagcctctttcacttgcttacctgcagctgagggatataacag
 tagaactcagaggtgctttccttaaccactgctttactgaaatacatgatgttcttgacca
 aaacgggttttctgatgaaggtacttatcatgagttaactgaagctctagattacattttc
 ataactgatgacatacatctgacaggggagattttctcatttttcagaagtttcggccacc
 ccagacttgaagcagtaacggctgctgaaaatgtaggaaatacatgaatcagcctaaagt
 cattgtgtatgagactctgatgaaaggtcatgccatattttgtggaatcataatcaacggc
 tatcgtgacaggcacggaggcagttggccaccgctgacctccccctgcatgctgcagaca
 caatccggaatgctcaagcttcaggtgaaggttaacacatgagcagtgcggtgataactg
 gaaatcttttgctggagtgaaatttggctgctttatgcctcttagcctggatagtgatctg
 acaatgtacctaaaggacaaggcacttgctgctctccaaaggggaatgggattcagtttacc
 cgaaagagttcctgcgttacgacctcccaaggggaaccgggtcacggaggcttgtagatgt
 tttccttaatgattcagactttgacccatatgatgtgataatgtatgttgtaagtggagct
 tacctccatgacctgagttcaacctgtcttacagcctgaaagaaaaggagatcaaggaaa
 caggtagactttttgctaaaatgacttacaaaatgagggcatgccaagtgattgctgaaaa
 tctaattcaaacgggattggcaaatattttaaggacaatgggatggccaaggatgagcac
 gatttgactaaggcactccacactctagctgtctcaggagtccccaaagatctcaaagaaa
 gtcacagggggggccagctcttaaaaacctactcccgaagcccagtcacacaagtaccag
 gaacgtgagagcagcaaaaagggtttatagggttccctcaagtaattcggcaggaccaagac
 actgatcatccggagaatatggaagcttacgagacagtcagtgcatcttatcacgactgatc
 tcaagaagtactgccttaattggagatatgagaccatcagcttgtttgcacagaggctaaa
 tgagatttacggattgccctcatttttccagtggtgcataagaggcttgagacctctgtc
 ctgtatgtaagtgacctcattgccccccgaccttgacgcccataatcccgttatataaag
 tccccaatgatcaaatcttcattaagtacctatgggaggtatagaagggattgtcagaa
 gctgtggaccatcagcaccattccctatctataacctggctgcttatgagagcggagtaagg
 attgcttcggttagtgcaaggggacaatcagaccatagccgtaacaaaaagggtaaccagca
 catggccctacaaccttaagaaacgggaagctgctagagtaactagagattactttgtaat
 tcttaggcaaaggctacatgatattggccatcacctcaaggcaaatgagacaattgtttca
 tcacattttttgtctattcaaaaggaatatattatgatgggctacttgtgtcccaatcac
 tcaagagcatcgcaagatgtgtattctggtcagagactatagttgatgaaacaagggcagc
 atgcagtaaatattgctacaacaatggctaaaagcatcgagagaggttatgaccgttacctt
 gcatattccctgaacgtcctaaaagtgatacagcaaatctctgatctctcttggcttcaaa

tcaattcaaccatgacccgggatgtagtcatacccctcctcacaacaacgacctcttaat
aaggatggcactggtgcccgctcctattggggggatgaattatctgaatatgagcaggctg
tttgtcagaaacatcggtgatccagtaacatcatcaattgctgatctcaagagaatgattc
tcgcctcactaatgcctgaagagaccctccatcaagtaatgacacaacaaccgggggactc
ttcattcctagactgggctagcgacccttactcagcaaatcttgtagtggtccagagcatic
actagactcctcaagaacataactgcaaggtttgctcctgatccatagtccaacccaatgt
taaaaggattattccatgatgacagtaaagaagaggacgagggactggcggcattcctcat
ggacaggcatattatagtacctagggcagctcatgaaatcctggatcatagtgtcacaggg
gcaagagagtctattgcaggcatgctggataaccacaaaaggcttgattcgagccagcatga
ggaagggggggttaacctctcgagtgataaccagattgtccaattatgactatgaacaatt
cagagcagggatgggtgctattgacaggaagaaagagaaatgtcctcattgacaaagagtca
tggtcagtgacagctggcgagagctctaagaagccatatgtgggocgaggctagctcgaggac
ggcctatttacggccttgaggctcctgatgtactagaatctatgagggccaccttattcg
gcgtcatgagacatgtgtcatctgagagtggtggtcagtcactacggatgggtttttgtc
ccctcgggttgccaactggatgataatgacaaggaaacatcatccttgagagtccatata
ttgggtctaccactgatgagagaacagacatgaagcttgccctcgtaagagccccaagtcg
atccttgcgatctgctggtagaatagcaacagtgactcatgggcttacggatgatgat
agctcctggaacgaagcctgggtggttggttaggcaaaaggccaatgtgagcctggaggagc
taagggtgatcactcccactcaacttcgactaattagcgcatagggttgagggatcgtag
cactcaagtgaataactcaggtacatccctgtccgagtgggcaggtataaccacaatctcc
aacgacaatctctcatttgtcatatcagataagaaggttgataacttataataccaac
aaggaatgcttctaggggtgggtggttttagaaacattggttcgactcgagaaagataccgg
atcatctaacacgggtattacatcttcaagtcgaaacagattggtgctgatcccgatgata
gatcatcccaggataaccagctcccgcaagctagagctgagggcagagctatgtaccaacc
cattgatatatgataatgcaccttaattgacagagatgcaacaaggctatacacccagag
ccataggaggcaccttggtggaattggttacatgggtccacaccccaactatatacatttta
gctaagtccacagcactatctatgattgacctggtaacaaaatttgagaaggacatataga
atgaaatttcagctctcataggggatgacgatatacaatagtttcataactgagtttctgct
catagagccaagattattcactatctacttgggccagtggtgcccacatcaattgggcattt
gatgtacattatcatagaccatcagggaaatatacagatgggtgagctggtgtcatcgttcc
tttctagaatgagcaaggagtggttaaggtgcttgatcaatgctctaagccacccaaagat
ctacaagaaattctggcattgtggtattatagagcctatccatggctccttcaacttgatgct
caaaacttgacacaactgtgtgcaacatggtttacacatgctatatgacctacctcgacc
tggtgtggaatgaagagttagaagagttcacatttctcttggtgaaagcgacgaggatgt
agtaccggacagattcgacaacatccaggcaaaacacttatgtggtctggcagatttgtac
tgtcaaccaggacctgccaccaattcgaggtctaagaccggtagagaaatgtgcagttc
taaccgaccatatacaaggcagaggctatggtatctccagcaggatcttctggaacataaa
tccaattattgtagaccattactcatgctctctgacttatctccggcgaggatcgatcaaa
cagataagattgagagttgatccaggattcattttcgacgccctcgctgaggtaaatgtca
gtcagccaaagatcggcagcaacaacatctcaaatatgagcatcaaggcttccagaccccc
acacgatgatggtgcaaaaattgctcaaagatatcaacacaagcaagcacaatcttcccatt
tcagggggcaatctcgccaattatgaaatccatgcttccgcagaatcgggttgaactcat
ctgcttgctacaaagctggtgagatatcaacattaattaggagatgccttgagccagggga
ggacggcttggtcttgggtgagggatcgggttctatggtgatcattataaagagatactt
aaactaaacaagtgcttctataatagtggggttccgccaattctagatctggtcaaaggg
aattagcaccctatccctccgaagttggccttgctogaacacagaatgggagtaggtaatat
tgtcaaagtgctcttaacgggaggccccgaagtcaagtggttaggcagtgtagattgcttc
aatttcatagttagtaatatccctacctctagtgtggggtttatccattcagatatagaga

ccttgccctgacaaagatactatagagaagctagaggaattggcagccatcttatcgatggc
tctgctcctgggcaaaataggatcaatactggtgattaagcttatgcctttcagcgggat
tttgctcagggatttataagttatgtagggctcattatagagaagtgaaccttgtatacc
ctagatacagcaacttcatctctactgaatcttatttggttatgacagatctcaaggctaa
ccggctaataatcctgaaaagattaagcagcagataattgaatcatctgtgaggacttca
cctggacttataggtcacatcctatccattaagcaactaagctgcatacaagcaattgtgg
gagacgcagttagtagaggtgatatcaatcctactctgaaaaaacttacacctatagagca
gggtgctgatcaattgcggttggcaattaacggacctaagctgtgcaaagaattgatccac
catgatgcttgcctcagggcaagatggattgcttaattctatactcatcctctacagggagt
tggcaagattcaaagacaaccaagaagtcaacaagggatgttccacgcttaccocgatt
ggtaagtagcaggcaacgagaacttatacttaggatcaccocgcaattctgggggcacatt
cttctttactccgggaacaaaaagttgataaataagtttatccagaatctcaagtccgget
atctgatactagacttacaccagaatatcttctgtaagaatctatccaagtcaagagaaca
gattattatgacggggggttggaaacgtgagtggtttttaaggtaacagtcaggagacc
aaagaatggtataagttagtcggatacagtgccctgattaaggactaattggttgaactcc
ggaaccctaatacctgccctaggtggttaggcattatgtgcaatataatgaagaaactttg
aaaatacgaagtttctattcccagctttgtctggtggccgcatggtcccagcctcctcgc
tggcgccggctgggcaacattccgaggggaccgtcccctcggtaatggcgaatgggacgcg
gccgctcgatcgacgatccggctgctaacaaagcccgaaggaagctgagttggctgctgc
caccgctgagcaataactagcataacccttggggcctctaaacgggtcttgaggggtttt
ttgctgaaaggaggaactatccggatcgagatcaattctgtgagcgtatggcaaacgaa
ggaaaaatagttatagtagccgcactcgatgggacatttcaacgtaaacggttaataata
ttttgaatcttattccattatctgaaatggtggtaaaactaactgctgtgtgtatgaaatg
ctttaaggaggcttccctttctaaacgattgggtgaggaaaccgagatagaaataatagga
ggtaatgatatgtatcaatcggtgtgtagaaagtgttacatcgactcataatattatattt
tttatctaaaaaactaaaaataaacattgattaaattttaataataacttaaaaatggat
gttgtgtcgttagataaacgctttatgtattttgaggaaattgataatgagttagattacg
aaccagaaagtgcaaatgaggtcgcaaaaaaactgccgtatcaaggacagttaaaactatt
actaggagaattatTTTTTcttagtaagttacagcgacacgggtatattagatggtgccacc
gtagtgtataggtatctgctcccgggtacacatatacgttatttgagagatcatttctata
attaggagtgatcccgaaggaagctgagttggctgctgccaccgctgagcaataactag
cataacccttggggcctctaaacgggtcttgaggggttttttgctgaaaggaggaacgcg
cctgatgcggtatTTTctccttacgcactctgtgcggtatttcacaccgcatataggtgca
ctctcagtacaatctgctctgatgccgcatagttaagccagccccgacaccocccaacacc
cgctgacgcgcctgacgggcttgtctgctcccggcatccgcttacagacaagctgtgacc
gtctccgggagctgcatgtgtcagaggttttaccgctcatcaccgaaacgcgcgagacgaa
agggcctcgtgatacgcctatTTTTataggttaatgtcatgataataatgggtttcttagac
gtcaggtggcacttttcggggaaatgtgcgcggaaccctatttgtttatttttctaaata
cattcaaataatgtatccgctcatgagacaataaccctgataaatgcttcaataatattgaa
aaaggaagagtatgagtattcaacatttccgctgtcgccttattccctTTTTtgcggcatt
ttgecttctgtttttgctcaccagaaacgctgggtgaaagtaaaagatgctgaagatcag
ttgggtgcacgagtggttacatcgaactggatctcaacagcggtaagatccttgagagtt
ttcgcocccaagaacgttttccaatgatgagcacttttaagttctgctatgtggcgcggt
attatccgctattgacgcgggcaagagcaactcggctcgcgcatacactattctcagaat
gacttgggtgagtactcaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaagag
aattatgacagtgctgccataaccatgagtgataaactgcggccaacttacttctgacaac
gatcggaggaccgaaggagctaaccgctTTTTtgcaacatgggggatcatgtaactcgc
cttgatcgttgggaaccggagctgaatgaagccataccaaacgacgagcgtgacaccacga

tgccctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaaacctattaactggcgaactacttactctagc
 tccccggcaacaattaatagactggatggaggcggataaagttgcaggaccacttctgcg
 tccggccctccggctggctggtttattgctgataaatctggagccggtgagcgtgggtctc
 gcggtatcattgcagcactggggccagatggtaagccctcccgtatcgtagttatctacac
 gacggggagtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgctgagataggtgcctca
 ctgattaagcattggtaactgtcagaccaagtttactcatatatacttttagattgatttaa
 aacttcatttttaatttaaaggatctaggtgaagatcctttttgataatctcatgaccaa
 aatcccttaacgtgagttttcgttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaagga
 tcttcttgagatccttttttctgcgcgtaatctgctgcttgcaaacaaaaaaaccaccgc
 taccagcgggtggtttgtttgccggatcaagagctaccaactccttttccgaaggtaactgg
 cttcagcagagcgcagataaccaatactgtccttctagtgtagccgtagttaggccaccac
 ttcaagaactctgtagcaccgcctacatacctcgtctctgctaactcctggttaccagtggctg
 ctgccagtgggcataagtcgtgtcttaccgggttggaactcaagacgatagttaccggataa
 ggcgcagcggtcgggctgaacggggggttcgtgcacacagcccagcttggagcgaacgacc
 tacaccgaactgagatacctacagcgtgagcattgagaaagcggccacgcttcccgaagggg
 gaaaggcggacaggtatccggtaagcggcagggctcggaacaggagagcgcacgagggagct
 tccagggggaaacgcctggtatctttatagtcctgtcgggtttccgccacctctgacttgag
 cgtcgtattttgtgatgctcgtcagggggcggagcctatggaaaaacgccagcaacgcgg
 cctttttacgggttctggccttttgcctggccttttgcctcacatggtctttcctgcggtatc
 cctgattctgtggataaccgtattaccgcctttgagtgagctgataccgctcgcgcgagc
 cgaacgaccgagcgcagcagtcagtgagcaggaagcgggaagagcggccaatacgcacaac
 cgctctccccgcgctgggccgattcattaatgcagctggcacgcacaggtttcccgactg
 gaaagcgggcagtgagcgcacaacgcaattaatgtgagttagctcactcattaggcaccaccag
 gctttacactttatgcttccggctcgtatggtgtgtggaattgtgagcggataacaatttc
 acacaggaaacagctatgaccatgattacgccaaagcttacgcgtcctggcattatgccag
 tacatgacctatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtcacgcctatta
 ccatggatgatgcgggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcgggttgactcacgggg
 atttccaagctccacccattgacgtcaatgggagtttgttttggcaccaaaatcaacgg
 gactttccaaaatgtcgtacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtac
 ggtgggaggtctatataagcagagctcgttttagtgaaccgtgg