

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 554 752**

51 Int. Cl.:

C12N 15/86 (2006.01)

C12N 7/00 (2006.01)

A01K 67/033 (2006.01)

C12N 15/85 (2006.01)

C07K 14/005 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.12.2013** **PCT/EP2013/075812**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.06.2014** **WO14086981**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.12.2013** **E 13811407 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.05.2017** **EP 2928290**

54 Título: **Sistema de baculovirus para expresar proteínas que forman partículas de tipo virus**

30 Prioridad:

07.12.2012 EP 12196120

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
09.10.2017

73 Titular/es:

ALTERNATIVE GENE EXPRESSION, S.L. (100.0%)
Campus de Montegancedo
28223 Pozuelo de Alarcón, Madrid, ES

72 Inventor/es:

GOMEZ SEBASTIAN, SILVIA;
LOPEZ VIDAL, JAVIER y
MARTINEZ ESCRIBANO, JOSÉ ANGEL

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

ES 2 554 752 T3

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

DESCRIPCIÓN

Sistema de baculovirus para expresar proteínas que forman partículas de tipo virus

5 **Campo de la invención**

La presente invención puede incluirse en el campo de la biotecnología y cubre la producción mejorada de proteínas recombinantes en células de insectos o larvas de insectos como biofactorías mediante un casete de expresión novedoso. Este casete de expresión comprende secuencias de ácido nucleico tales como promotores, regiones homólogas (*hr*) como potenciadoras, y secuencias que codifican para reguladores transcripcionales, por ejemplo, el ADN de Ac-*ie*-01 de baculovirus, o cualquier combinación de los mismos, que sean capaces de aumentar la calidad y eficacia de producción de las proteínas recombinantes, en particular aquellas que forman partículas de tipo virus. Además, la presente invención también se refiere a los vectores, células o insectos que comprenden el casete de expresión mencionado anteriormente de la invención, y los métodos para producir las proteínas recombinantes usando el casete, vectores, células o insectos mencionados.

Estado de la técnica

El sistema de vector de expresión de baculovirus (BEVS) es un método bien establecido para la producción de proteínas recombinantes que se usan como vacunas, moléculas terapéuticas o reactivos de diagnóstico. Con su potencial para sobreexpresión y velocidad rápida de desarrollo, BEVS es una de las elecciones más atractivas para producir proteínas recombinantes para cualquier fin. El baculovirus más empleado usado en la industria para la expresión de proteína recombinante se basa en nucleopolihedrovirus múltiple de *Autographa californica* (AcMNPV) con células de insectos de *Spodoptera frugiperda* 9 (Sf9) o 21 (Sf21) como huéspedes de expresión adecuados (1), así como larvas de insectos *Trichoplusia ni* (*T. ni*) como biofactorías vivas (2). Puesto que el BEVS se desarrolló en los años 80 (3), cientos de proteínas recombinantes, que oscilan entre enzimas citosólicas y proteínas unidas a membrana, se han producido satisfactoriamente en células de insectos infectadas con baculovirus.

Se han realizado esfuerzos para aumentar la productividad de BEVS (4). Está disponible una variedad de vectores de transferencia para la construcción de baculovirus recombinantes, que codifican para proteínas de fusión residentes, que se ha notificado que mejoran la expresión de proteínas, incluyendo proteína de unión a maltosa, glutatión S transferasa, señal de retención SUMO y KDEL. Se han investigado otros intentos relacionados con la mejora de la estabilidad de proteínas expresadas que se centran en dos genes en el genoma de baculovirus, que no son esenciales para el crecimiento del virus en cultivo celular, concretamente *chiA* (quitinasa) y *cath* (cathepsina). La delección de *ChiA* parece que mejora la producción de proteínas secretadas mediante la acumulación de la proteína en el retículo endoplasmático y el procesamiento de las proteínas a través de la ruta secretora de las células. Adicionalmente, la prevención de la formación de cathepsina proteasa también puede contribuir a estabilidad de producto mejorada de virus ChiA. Líneas celulares de insectos novedosas, tales como líneas celulares High-Cinco™ (Hi-5) o BTI-TnAo38 de *T. ni*, se han desarrollado recientemente para aumentar la productividad de baculovirus con mejoras significativas en la cantidad final de recuperación de proteína heteróloga (5, 6).

La aceleración de expresión de proteína recombinante, de modo que la expresión de proteína tenga lugar antes de que la infección de baculovirus afecte gravemente a la maquinaria de células de insectos, sería una mejora importante de la BEVS. La expresión tardía, impulsada por los promotores de virus fuertes convencionales de genes *polihedrin* (*polh*) o *p10*, tiene serias desventajas en las modificaciones postraduccionales de proteínas foráneas. Senger T et al: Virology, 388(2) 1 de mayo 2009, págs. 344-353, en relación con la producción de proteína recombinante que forma partículas que forman tipo virus en un sistema de insecto de expresión baculoviral, da a conocer la expresión de HPV-L1 que forma VLP impulsada por p10 o bien por un casete solo o bien simultáneamente con un casete que impulsa la expresión de L1 en el promotor *polh* en Baculovirus a base de Multibac. Se han caracterizado promotores de baculovirus que permiten una expresión más temprana que los promotores *polh* o *p10* usados de manera convencional y se han usado para la producción de proteínas heterólogas, pero mostraron una productividad reducida (7).

Otra posibilidad para mejorar la BEVS sería aumentar la conservación de la integridad celular a tiempos tardíos tras la infección reduciendo la muerte celular inducida por virus. La reducción en la grave afección de la maquinaria celular del insecto a tiempos tardíos tras la infección provocada por BEVS no solo debería aumentar el marco temporal para producir y acumular proteínas recombinantes (secretadas o no), sino también permitir más tiempo para el plegado de proteínas complejas o cualquier modificación postraduccionales de las proteínas producidas.

Se ha determinado que algunos elementos de ADN de baculovirus están implicados en la activación de genes de factor de expresión tardía, que son necesarios para la propagación del virus. Uno de ellos es la proteína IE-1 temprana inmediata (*ie*) y su variante IE-0 de empalme de AcMNPV (8). La traducción de los ARNm de AcMNPV, codificados por el gen Ac-*ie*-01, da como resultado tanto expresión IE-0 como IE-1 debido al inicio de traducción interno. Se piensa que ambos son mediadores críticos de expresión de gen de baculovirus debido a su potencia como reguladores transcripcionales (9). Sintetizado muy tempranamente durante la infección, AcMNPV IE-1 es una proteína de unión de ADN dimerico de 67-kDa que estimula la transcripción en ensayos de transfección de plásmido

a través de la actividad de su dominio ácido N-terminal (10, 11). IE-1 acumula dentro del núcleo, donde se mantiene a través de tiempos tardíos (12). La transactivación por IE-1 se potencia mediante su unión como un homodímero a las secuencias de región de homólogo de baculovirus (*hr*), que funciona como potenciadores transcripcionales y origina la replicación de ADN viral. AcMNPV IE-0 es una proteína de 636 aminoácidos de 72,6- kDa compuesta por 38 aminoácidos codificados por *orf141* (*exon0*), 16 aminoácidos codificados por el líder no traducido en el sentido de 5' de *ie1*, y la proteína IE-1 de 582 aminoácidos completa. El producto final es por tanto idéntico a IE-1 excepto para los 54 aminoácidos adicionales fusionados al N-terminal. Presumiblemente debido a sus secuencias comunes, IE-0 y IE-1 comparten actividades bioquímicas, incluyendo unión potenciadora *hr* y regulación transcripcional.

10 Sumario de la invención

La presente invención se basa en una amplia gama de propiedades inesperadas del casete de expresión de la invención.

15 En particular, se descubre que el casete de expresión de la invención impulsa la expresión de proteínas recombinantes notablemente más altas que la expresión obtenida mediante promotores convencionales, tales como *polh*, y por tanto hasta niveles sin precedentes.

20 Además, las células e insectos infectados con un baculovirus recombinante que contiene un casete de expresión que expresa las proteínas IE-1/IE-0 por encima de niveles endógenos tienen una viabilidad aumentada y un aumento en la integridad de la maquinaria celular molecular y morfología celular.

Por tanto, la presente invención proporciona productos y métodos para la expresión mejorada de proteínas recombinantes que forman partículas de tipo virus.

25 Los siguientes puntos son parte de la presente divulgación:

1. Un casete de expresión que comprende secuencias de ácido nucleico que permiten la expresión de los reguladores transcripcionales IE-1 e/o IE-0 por encima de los niveles endógenos obtenidos durante la infección de baculovirus y la expresión de una proteína recombinante,

30 en el que la expresión de la proteína recombinante es impulsada por un promotor que comprende el promotor p10 baculoviral y en el que la proteína recombinante se selecciona del grupo que consiste en una proteína de partícula de tipo virus, proteína de vacuna, proteína de vacuna de subunidades monoméricas, proteína de vacuna de subunidades multiméricas, proteína terapéutica, anticuerpo, enzima, citocina, factor de coagulación sanguínea, anticoagulante, receptor, hormona y proteína de diagnóstico.

2. Un casete de expresión que comprende secuencias de ácido nucleico que permiten la expresión de los reguladores transcripcionales IE-1 e/o IE-0 por encima de los niveles endógenos obtenidos durante la infección de baculovirus y la expresión de una proteína recombinante, en el que la proteína recombinante se selecciona del grupo que consiste en proteína de partícula de tipo virus, proteína de vacuna, proteína de vacuna de subunidades monoméricas, proteína de vacuna de subunidades multiméricas, proteína terapéutica, anticuerpo, enzima, citocina, factor de coagulación sanguínea, anticoagulante, receptor, hormona y proteína de diagnóstico.

3. El casete de expresión según los puntos 1 ó 2, en el que la proteína recombinante es cualquier proteína de partícula de tipo virus seleccionado del grupo que consiste en:

- (a) Proteína de cápside de circovirus porcino,
- 50 (b) Proteína VP1, VP3 o VP0 de virus de fiebre aftosa,
- (c) Proteínas VP1 y VP2 de parvovirus canino,
- (d) Proteínas VP1 y VP2 de parvovirus porcino,
- 55 (e) Proteína de cápside de norovirus humano (genogrupo I o II),
- (f) Proteína de cápside de calcivirus,
- 60 (g) Proteína L1 de virus del papiloma,
- (h) Proteína E2 de hepatitis E,
- (i) Proteínas VP1, VP2 y VP3 del virus de bursitis infecciosa,
- 65 (j) Proteínas codificadas por ORF2 de astrovirus,

- (k) Proteínas HA, NA y M1 de virus de la gripe,
- (l) Antígenos de superficie y núcleo de hepatitis B,
- 5 (m) Proteínas VP1 y VP2 de parvovirus, y
- (n) Proteína VP60 de calicivirus de conejo.
- 10 4. El casete de expresión según el punto 3, en el que la proteína de cápside de circovirus porcino es la proteína de cápside del circovirus porcino de tipo 2, la proteína L1 de virus del papiloma humano es la proteína L1 de virus del papiloma humano 16 y la proteína VP60 de calicivirus de conejo es la proteína V60 virus de enfermedad hemorrágica de conejo.
- 15 5. El casete de expresión según los puntos 1 ó 2, en el que la proteína recombinante es cualquier proteína de partícula de tipo virus, proteína de vacuna o proteína de diagnóstico seleccionado del grupo que consiste en:
- (a) Proteína de cápside de circovirus porcino,
- 20 (b) Proteína VP1, VP3 o VP0 de virus de fiebre aftosa,
- (c) Proteínas VP1 y VP2 de parvovirus canino,
- (d) Proteínas VP1 y VP2 de parvovirus porcino,
- 25 (e) Proteínas VP1 y VP2 de parvovirus humano
- (f) Proteína de cápside de norovirus humano (genogrupo I o II),
- 30 (g) Proteína de cápside de calcivirus,
- (h) Proteína L1 de virus del papiloma humano,
- (i) Proteína E2 de hepatitis E,
- 35 (j) Proteína E2 de peste porcina clásica,
- (k) Proteína E2 de virus de diarrea viral bovina (BVDV),
- 40 (l) Proteínas HA, NA y M1 Virus de la gripe A,
- (m) Proteínas VP1, VP2 y VP3 del virus de bursitis infecciosa,
- (n) Proteínas codificadas por ORF2 de astrovirus,
- 45 (o) Antígenos de superficie y núcleo de hepatitis B,
- (p) Proteína E virus del Nilo Occidental,
- 50 (q) Proteínas de tipo p30, p54, p72 y CD2 virus de peste porcina africana,
- (r) Anticuerpo de dominio único (VHH) de camélidos,
- (s) Proteínas VP1 y VP2 de parvovirus,
- 55 (t) Proteína VP60 de calicivirus de conejo, y
- (u) Anticuerpos de mamífero de longitud completa o fragmentos derivados de los mismos.
- 60 6. El casete de expresión según cualquiera de los puntos 1-5, que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para las proteínas IE- 1 e/o IE seleccionado del grupo que consiste en:
- (a) secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 1-5;
- 65 (b) secuencia de ácido nucleico que tiene una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido

nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 1-5 y que codifica para una proteína que funciona como un regulador transcripcional en un baculovirus;

(c) secuencia de ácido nucleico que codifica para una proteína con la secuencia de aminoácidos indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 6-9; y

(d) secuencia de ácido nucleico que codifica para una proteína que funciona como un regulador transcripcional en un baculovirus y que tiene una similitud de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de aminoácidos indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 6-9.

7. El casete de expresión según cualquiera de los puntos 1-6, en el que el promotor que impulsa la expresión de la proteína recombinante comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en:

(a) secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 10-16; y

(b) secuencia de ácido nucleico que funciona como un promotor en un baculovirus y que tiene una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 10-16.

8. El casete de expresión según el punto 7, en el que el promotor que impulsa la expresión de la proteína recombinante comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en:

(a) secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 11, 12, 13, 15 y 16; y

(b) secuencia de ácido nucleico que funciona como un promotor en un baculovirus y que tiene una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 11, 12, 13, 15 y 16.

9. El casete de expresión según los puntos 7 u 8, en el que el promotor que impulsa la expresión de la proteína recombinante comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en:

(a) secuencia de ácido nucleico indicada en SEQ ID NO: 11; y

(b) secuencia de ácido nucleico que funciona como un promotor en un baculovirus y que tiene una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido nucleico indicada en SEQ ID NO: 11.

10. El casete de expresión según cualquiera de los puntos 1-9, que comprende al menos el una región homóloga recombinante (*hr*) como región potenciadora, unida operativamente al promotor que impulsa la expresión de la proteína recombinante.

11. El casete de expresión según el punto 10, en el que la región homóloga recombinante (*hr*) se selecciona del grupo de secuencias de ácido nucleico que consiste en:

(a) secuencia de ácido nucleico indicada en SEQ ID NO: 27; y

(b) secuencia de ácido nucleico que funciona como una región homóloga potenciadora en un baculovirus y que tiene una identidad de secuencia de al menos 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido nucleico indicada en SEQ ID NO: 27.

12. El casete de expresión según cualquiera de los puntos 1-11, que comprende una secuencia de ácido nucleico que se une operativamente a la expresión de la proteína recombinante y seleccionado del grupo que consiste en:

(a) secuencia de ácido nucleico que contiene la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 17-22, 25 y 26 y

(b) secuencia de ácido nucleico que conserva sustancialmente la actividad de los elementos funcionales y que tiene una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 17-22, 25 y 26.

13. El casete de expresión según el punto 12, que comprende una secuencia de ácido nucleico que se une operativamente a la expresión de la proteína recombinante y seleccionado del grupo que consiste en:

- (a) secuencia de ácido nucleico que contiene la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 17-19 y 25; y
- (b) secuencia de ácido nucleico que conserva sustancialmente la actividad de los elementos funcionales y que tiene una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 17-19 y 25.
14. El casete de expresión según cualquiera de los puntos 1-11, que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en:
- (a) secuencia de ácido nucleico que contiene la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 51-56; y
- (b) secuencia de ácido nucleico que conserva sustancialmente la actividad de los elementos funcionales y que tiene una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 51-56.
15. Un vector de clonación que comprende el casete de expresión de cualquiera de los puntos 1-14.
16. Un vector de transferencia que comprende el casete de expresión de cualquiera de los puntos 1-14 y además una secuencia de ácido nucleico adecuada para integración o transposición en un genoma de baculovirus.
17. El vector de transferencia según el punto 16, caracterizado porque el vector de transferencia se deriva de cualquiera de los sistemas de expresión de baculovirus "Bac-to-Bac®" (invitrogen™), "BacPAK™" (Clontech™), "FlashBAC™" (Oxford Expression Technologies™), "BacuVance™" (GenScript™), "Bac-N-Blue DNA™" (invitrogen™), "BaculoDirect™" (invitrogen™), "BacVector®" 1000, 2000, 3000 (Novagen®), "DiamondBac™" (Sigma-Aldrich®) o "BaculoGold™" (BD biosciences™).
18. Un bácmido que comprende el casete de expresión de cualquiera de los puntos 1-14.
19. Un baculovirus recombinante que comprende el casete de expresión de cualquiera de los puntos 1-14.
20. Una célula que comprende el casete de expresión de cualquiera de los puntos 1-14.
21. La célula según el punto 20, infectadas, transfectadas, transducidas o transformadas con el casete de expresión, vector de clonación, vector de transferencia, bácmido o baculovirus recombinante de cualquiera de los puntos 1-19.
22. La célula según los puntos 20 ó 21, caracterizada porque es de origen de insecto.
23. La célula según cualquiera de los puntos 20-22, caracterizado porque se deriva de un insecto que pertenece a al género Lepidoptera o Diptera.
24. La célula según cualquiera de los puntos 20-23, caracterizada porque se deriva de *Trichoplusia ni*, *Spodoptera frugiperda*, *Ascalapha odorata*, *Bombyx mori*, *Drosophila melanogaster*, *Stigmene acrea* o *Aedes aegypti*.
25. La célula según cualquiera de los puntos 20-24, caracterizada porque es una línea celular seleccionada del grupo que consiste en Hi-5™, Sf9, Sf21, BTI-Tn5B-1, Tn368, ExpresSf+®, BTI-TnAo38, ATC-10, Mimic™ Sf9, SfSWT-1, SfSWT-3, SfSWT-5, TriEX™ y línea 2 *Drosophila* Schneider.
26. Un insecto que comprende el casete de expresión de cualquiera de los puntos 1-14.
27. El insecto según el punto 26, infectado, transfectado, transducido o transformado con el casete de expresión, vector de clonación, vector de transferencia, bácmido o baculovirus recombinante de cualquiera de los puntos 1-19.
28. El insecto según los puntos 26 ó 27, en el que el insecto se deriva del género Lepidoptera.
29. El insecto según cualquiera de los puntos 26-28, en el que el insecto se selecciona del grupo que consiste en *Trichoplusia ni*, *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera exigua*, *Ascalapha odorata*, *Bombyx mori*, *Rachiplusia ni* y *Stigmene acrea*.
30. El insecto según cualquiera de los puntos 26-29, en el que el casete de expresión se introduce en el insecto mediante un baculovirus recombinante, preferiblemente AcMNPV, SeNPV o BmNPV.
31. Un medio de cultivo que comprende el casete de expresión, vector de clonación, vector de transferencia,

bácmido o baculovirus recombinante de cualquiera de los puntos 1-19.

32. Un método para producir una proteína recombinante que comprende el uso del casete de expresión, vector de clonación, vector de transferencia, bácmido, baculovirus recombinante, célula o insecto según cualquiera de los puntos 1-30 y la extracción y purificación de la proteína recombinante mediante medios convencionales.

33. Proteína recombinante obtenible mediante el método según el punto 32.

34. Proteína recombinante según el punto 33 para su uso en un método de tratamiento, terapia o diagnóstico.

35. Método de tratamiento, terapia o diagnóstico usando la proteína recombinante según el punto 33.

36. Un uso del casete de expresión según cualquiera de los puntos 1-14 para producir un vector de clonación, vector de transferencia, bácmido, baculovirus recombinante, célula, insecto o medio de cultivo según cualquiera de los puntos 15-31.

37. Un uso del vector de clonación según el punto 15 para producir un vector de transferencia, bácmido, baculovirus recombinante, célula, insecto o medio de cultivo según cualquiera de los puntos 16-31.

38. Un uso del vector de transferencia según cualquiera de los puntos 16-17 para producir un bácmido, baculovirus recombinante, célula, insecto o medio de cultivo según cualquiera de los puntos 18-31.

39. Un uso del bácmido según el punto 18 para producir un baculovirus recombinante, célula, insecto o medio de cultivo según cualquiera de los puntos 19-31.

40. Un uso del baculovirus recombinante según el punto 19 para producir una célula, insecto o medio de cultivo según cualquiera de los puntos 20-31.

Breve descripción de las figuras

Figura 1. Se cultivaron células de insectos Sf9 en suspensión y se infectaron con un baculovirus que sobreexpresa el ADNc de Ac-ie-01 bajo el control de *polh*. o mediante un baculovirus convencional que expresa la proteína GFP bajo el control de promotor *polh* para evaluar la densidad celular (A) y viabilidad (B) de estas células. Se infectaron las células de insectos en suspensión a una MOI de 0,1. (A) Se contaron las células a diferentes tiempos tras la infección (0, 24 y 48 horas) para calcular la densidad celular. Un análisis más detallado del momento preciso en el que se produce proliferación celular mediante la sobreexpresión del ADNc de Ac-ie-01 se muestra en el inserto para células infectadas con *polhGFP* o *polhAc-ie-01*. (B) Se evaluó la viabilidad celular mediante tinción de azul de tripano (dilución 1:1 de células suspendidas y colorante a tampón de PBS al 0,4%). Esta tinción permite la diferenciación entre células vivas y muertas. Se calculó la viabilidad celular mediante el porcentaje de células vivas con respecto al número total de células a diferentes tiempos tras la infección (desde 0 hasta 120 horas). Micrografías de monocapas de células de insecto Hi-5™ infectadas a una MOI de 5 con un baculovirus convencional de control que sobreexpresa la proteína GFP indicadora en el promotor *polh* (C) o con un baculovirus que sobreexpresa el ADNc de Ac-ie-01 bajo el control del promotor *polh* (D). Se obtuvieron micrografías a las 96 h tras la infección a un aumento de 20X en un microscopio invertido Leica™ DMIL™.

Figura 2: A) Porcentaje de larvas *T. ni* que sobreviven 96 h tras la infección usando 5×10^4 UFP como dosis infecciosa del baculovirus que sobreexpresa el ADNc de Ac-ie-01 en el promotor *polh* (*polhAc-ie-01*) o usando un baculovirus convencional que expresa GFP en el promotor *polh* (*polhGFP*). B) Biomasa de insecto en el tiempo de infección con los mismos baculovirus que en el panel A y la biomasa recubierta a las 96 h tras la infección. La dosis infecciosa fue de 5×10^4 UFP.

Figura 3: Se analizó el efecto del ADNc de Ac-ie-01 en combinación con promotores diferentes en la expresión de una proteína GFP indicadora. Se infectaron células de insectos Sf21 en monocapa a una MOI de 5 con los respectivos baculovirus recombinantes y se midió posteriormente el aumento o disminución de fluorescencia 96 h tras la infección. La fluorescencia obtenida con un baculovirus convencional que expresa la proteína GFP bajo el control de promotor *polh* se consideró como el valor del 100%.

Figura 4: Representación esquemática de elementos de ADN recombinante de proteína de la invención: una secuencia que codifica para reguladores transcripcionales (por ejemplo IE-0 y IE-1, por ejemplo, codificados por el ADNc de Ac-ie-01), cuya expresión es impulsada por un promotor (por ejemplo *polh*); una secuencia de región homóloga potenciadora (*hr*) (por ejemplo *hr1*) hacia el sentido 5' de los promotores (por ejemplo *p6,9p10*) que impulsan la expresión del gen foráneo, que codifica para una proteína de cápsida recombinante de un circovirus porcino de tipo 2 (ORF2 PCV2), o para la proteína de cápside de virus de enfermedad hemorrágica de conejo (VP60 RHDV), o para la proteína de cápside del virus del papiloma humano 16 (L1 HPV16).

Figura 5: A) SDS-PAGE y análisis de tinción con azul de Coomassie o análisis de inmunotransferencia de tipo

Western usando un anticuerpo monoclonal frente a la proteína Cap de los extractos de células *Sf9* cultivadas en suspensión e infectadas con un baculovirus convencional que expresa la proteína Cap de PCV2 bajo el control del promotor *polh* (*polhCap*) o con un vector de baculovirus modificado por ingeniería con el casete de expresión de la invención que contiene los elementos *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10Cap*. Se tomaron muestras de células a diferentes tiempos tras la infección (de 0 a 120 horas). B) Comparación de productividad de proteína Cap recombinante en mg/l en células de insectos *Sf9* que se hacen crecer en suspensión en el tiempo de expresión obtenida máxima mediante un baculovirus convencional modificado por ingeniería con el casete de expresión *polhCap* (gris claro) o mediante un baculovirus de la invención con el casete de expresión *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10Cap* (negro). Se determinaron los rendimientos de productividad de cada baculovirus mediante inmunotransferencia de tipo Western con un anticuerpo monoclonal específico para Cap y una curva patrón de proteína Cap purificada. Se llevó a cabo la cuantificación de reacción de inmunotransferencia de tipo Western mediante un sistema de obtención de imágenes XRS ChemiDoc™ (Bio-Rad™, EE.UU.). Se infectaron células a una MOI de 0,1 con cada virus. C) Micrografías electrónicas de VLP purificadas obtenidas de células de insectos infectadas en suspensión a una MOI de 0,1 con un baculovirus que expresa la proteína Cap bajo el control de promotor *polh* o mediante el casete de expresión *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10*. Se muestran VLP en dos aumentos. Los insertos en la esquina inferior izquierda de los paneles superiores muestran perfiles de proteínas que se tiñen con azul de Coomassie de preparaciones VLP purificadas reveladas por electroforesis SDS-PAGE.

Figura 6: A) SDS-PAGE y análisis de tinción con azul de Coomassie o análisis de inmunotransferencia de tipo Western usando un anticuerpo monoclonal frente a la proteína V60 de los extractos de células *Sf9* cultivadas en suspensión e infectadas con un baculovirus convencional que expresa la proteína V60 de RHDV bajo el control del promotor *polh* (*polhVP60*) o con un vector de baculovirus modificado por ingeniería con el casete de expresión de la invención que contiene los elementos *polhAc-ie-01/hrZp6,9p10VP60*. Se tomaron muestras de células a diferentes tiempos tras la infección (de 0 a 120 horas). B) Comparación de productividad de proteína VP6 recombinante en mg/l en *Sf9* células de insectos que se hacen crecer en suspensión en el tiempo de expresión obtenida máxima mediante un baculovirus convencional modificado por ingeniería con el casete de expresión *polhVP60* (gris claro) o mediante un baculovirus de la invención con el casete de expresión *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10VP60* (negro). Se determinaron los rendimientos de productividad de cada baculovirus mediante inmunotransferencia de tipo Western con un anticuerpo monoclonal específico para VP60 y una curva patrón de proteína VP60 purificada. Se llevó a cabo la cuantificación de reacción de inmunotransferencia de tipo Western mediante un sistema de obtención de imágenes XRS ChemiDoc™ (Bio-Rad™, EE.UU.). Se infectaron células a una MOI de 0,1 con cada virus. C) Micrografías electrónicas de VLP purificadas obtenidas de células de insectos infectadas en suspensión a una MOI de 0,1 con un baculovirus que expresa la proteína V60 bajo el control de promotor *polh* o mediante el casete de expresión *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10*. Se muestran VLP en dos aumentos. Los insertos en la esquina inferior izquierda de los paneles superiores muestran los perfiles de proteínas que se tiñen con azul de Coomassie de preparaciones VLP purificadas reveladas por electroforesis SDS-PAGE.

Figura 7: A) SDS-PAGE y análisis de tinción con azul de Coomassie o análisis de inmunotransferencia de tipo Western usando un anticuerpo monoclonal frente a la proteína L1 de los extractos de células *Sf9* cultivadas en suspensión e infectadas con un baculovirus convencional que expresa la proteína L1 del virus del papiloma humano 16 (HPV 16) bajo el control del promotor *polh* (*polhL1*) o con un vector de baculovirus modificado por ingeniería con el casete de expresión de la invención que contiene los elementos *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10L1*. Se tomaron muestras de células a diferentes tiempos tras la infección (de 0 a 120 horas). B) Comparación de la productividad de proteína L1 recombinante expresada en unidades arbitrarias en *Sf9* células de insectos que se hacen crecer en suspensión en el tiempo de expresión obtenida máxima mediante un baculovirus convencional modificado por ingeniería con el casete de expresión *polhL1* (gris claro) o mediante un baculovirus de la invención con el casete de expresión *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10L1* (negro). Se determinaron los rendimientos de productividad de cada baculovirus mediante cuantificación de reacción de inmunotransferencia de tipo Western mediante un sistema de obtención de imágenes XRS ChemiDoc™ (Bio-Rad™, EE.UU.). Se infectaron células a una MOI de 0,1 con cada virus. C) Inmunofluorescencia de células de insectos *Sf21* infectadas con cada uno de los baculovirus anteriores con un anticuerpo monoclonal frente a proteína L1 y un anticuerpo comercial de anti-IgG de ratón marcado con fluorescencia secundario. La intensidad de fluorescencia observada en cada caso tenía correlación con el nivel de proteína expresada detectada por otras técnicas.

Figura 8: Las diferencias en densidad y viabilidad celular a diferentes tiempos tras la infección observadas en células infectadas *Sf9* (MOI 0,1) por baculovirus diferentes que expresan proteínas recombinantes bajo el control de promotor *polh* o con vectores de baculovirus modificados por ingeniería con el casete de expresión de la invención que contiene los elementos *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10*. A) *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10Cap*, B) *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10VP60* y C) *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10L1*.

Figura 9: A) Comparación de la proteína Cap recombinante expresada por un baculovirus convencional bajo el control del promotor *polh* (*polhCap*) o por un baculovirus que contiene el casete de expresión de la presente invención *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10Cap*. Se obtuvieron extractos de proteína de larvas infectadas con 5×10^5 UFP de cada baculovirus a 72 y 96 h tras la infección y se analizaron mediante electroforesis SDS-PAGE y tinción con azul de Coomassie. Se analizaron los mismos extractos mediante inmunotransferencia de tipo Western y se cuantificaron bandas de reacción mediante un sistema de obtención de imágenes XRS ChemiDoc™ (Bio-Rad™, EE.UU.). B)

Representación de la cuantificación de inmunotransferencias de tipo Western. El baculovirus que contiene el casete de expresión *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10Cap* aumentó la productividad de proteína Cap en aproximadamente el 325% a 72 h tras la infección y en aproximadamente el 24% a 96 h tras la infección en comparación con la expresión mediante el baculovirus convencional.

Figura 10: Porcentaje de larvas que sobreviven a 96 h tras la infección con 5×10^5 UFP del baculovirus que contiene el casete de expresión de la presente invención *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10Cap* o el baculovirus convencional (*polhCap*).

Figura 11: Comparación de productividad de proteína Cap recombinante en mg en 100 larvas *Trichoplusia ni* 72 y 96 h tras la infección con un baculovirus convencional modificado por ingeniería con el casete de expresión *polhCap* (gris claro) o con un baculovirus de la invención con el casete de expresión *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10Cap* (gris oscuro). Se midieron productividades mediante análisis de proteínas de microfluidos (Experion™; BioRad™, EE.UU.). Se infectaron insectos con 5×10^5 UFP de cada baculovirus.

Descripción detallada de la invención

La presente invención mejora la expresión de proteínas recombinantes combinando los elementos de ADN recombinante de la invención en un casete de expresión novedoso.

Casete de expresión

Un "casete de expresión" comprende elementos de ADN recombinante que están implicados en la expresión de un determinado gen, tal como el propio gen y/o elementos que controlan la expresión de este gen (por ejemplo el promotor).

"ADN recombinante" se refiere a una forma de ADN artificial que se modifica por ingeniería mediante la combinación o inserción de una o más cadenas de ADN, combinando de este modo ADN que no se combinaría normalmente entre sí.

"Elemento de ADN recombinante" se refiere a un elemento funcional dentro del ADN recombinante, tal como un promotor, potenciador o gen (tal como un gen que codifica para una proteína recombinante o un regulador transcripcional). El casete de expresión de la invención comprende los siguientes elementos de ADN recombinante: [1] una copia del gen endógeno que codifica para el regulador transcripcional como transgén bajo el control de un promotor adecuado, en el que el regulador transcripcional es IE-1 e/o IE-0, que permite la expresión de las proteínas IE- 1 e/o IE-0 que funcionan como reguladores transcripcionales por encima de niveles endógenos obtenidos durante la infección de baculovirus, en el que el ácido nucleico se selecciona del grupo que consiste en:(a) secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 1-5;(b) secuencia de ácido nucleico que tiene una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 1-5 y que codifica para una proteína que funciona como un regulador transcripcional en un baculovirus; (c) secuencia de ácido nucleico que codifica para una proteína con la secuencia de aminoácidos indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 6-9; y (d) secuencia de ácido nucleico que codifica para una proteína que funciona como un regulador transcripcional en un baculovirus y que tiene una similitud de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de aminoácidos indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 6-9; [2] una secuencia de ácido nucleico que permite la expresión de una proteína recombinante, en el que la proteína recombinante es una proteína que forma partículas de tipo virus en el que la expresión de la proteína recombinante es impulsada por un promotor que comprende el promotor *p10* baculoviral, [3] al menos una región homóloga recombinante (*hr*) como región potenciadora, unida operativamente al promotor que impulsa la expresión de la proteína recombinante.

En un aspecto preferido, los elementos de ADN recombinante que forman parte del casete de expresión están presentes en una única molécula de ácido nucleico,

En otro aspecto preferido, los elementos de ADN recombinante que forman parte del casete de expresión están presentes en distintas moléculas de ácido nucleicos. Preferiblemente, las distintas moléculas de ácido nucleicos están presentes dentro de la misma célula.

Preferiblemente, la proteína recombinante se selecciona del siguiente grupo de proteínas de partícula de tipo virus:

- Proteína de cápside de circovirus porcino, que está representada, por ejemplo, por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 32 o codificados por la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 31.

- Proteínas VP1, VP3 y VP0 del virus de la enfermedad de fiebre aftosa (FMDV), cuyas secuencias se indican o pueden derivarse, por ejemplo, de las siguientes secuencias:

- Genoma completo de serotipo O de FMDV: GenBank JX570650.1
- Genoma completo de serotipo A de FMDV: GenBank HQ832592.1
- 5 - Genoma completo de serotipo C de FMDV: GenBank AY593810.1
- Genoma completo de serotipo SAT 1 de FMDV: GenBank AY593846.1
- Genoma completo de serotipo SAT 2 de FMDV: GenBank JX014256.1
- 10 - Genoma completo de serotipo ASIA 1 de FMDV: GenBank HQ631363.1
- Proteínas VP1 y VP2 de parvovirus humano, cuyas secuencias se indican o pueden derivarse, por ejemplo, de las siguientes secuencias:
- 15 - Aislado Vn115 de parvovirus humano B19. GenBank: DQ357065.1
- Aislado VES065 CSF de parvovirus humano 4. GenBank: HQ593532.1
- 20 • Proteínas VP1 y VP2 de parvovirus porcino, cuyas secuencias se indican o pueden derivarse, por ejemplo, de las siguientes secuencias:
- Cepa 693a de parvovirus porcino. GenBank: JN400519.1
- 25 - Cepa 8a de parvovirus porcino. GenBank: JN400517.1
- Proteínas VP1 y VP2 de parvovirus canino, cuyas secuencias se indican o pueden derivarse, por ejemplo, de las siguientes secuencias:
- 30 - Proteínas VP1 y VP2 de parvovirus canino de tipo 1: GenBank AB518883.1
- VP1 y VP2 de parvovirus canino de tipo 2a. GenBank: M24003.1
- VP2 de parvovirus canino de tipo 2b: GenBank FJ005265.1
- 35 - VP2 de parvovirus canino de tipo 2c: GenBank FJ005248.1
- Proteína de cápside de norovirus humano (genogrupo I o II), cuyas secuencias se indican o pueden derivarse, por ejemplo, de las siguientes secuencias:
- 40 - Virus Norwalk: GenBank M87661, NP056821
- Virus Southampton: GenBank L07418
- 45 - Virus Mexico: GenBank U22498
- Virus Seto: GenBank AB031013
- Virus Chiba: GenBank AB042808
- 50 - Virus Lordsdale: GenBank X86557
- Virus Snow Mountain: GenBank U70059
- 55 - Virus Hawaii: GenBank U07611
- Proteína VP60 del virus de la enfermedad hemorrágica del conejo, cuya secuencia se indica o puede derivarse, por ejemplo, de las siguientes secuencias:
- 60 - Secuencia de referencia de NCBI: NC_001543.1
- Proteína L1 de virus del papiloma humano, cuya secuencia se indica o puede derivarse, por ejemplo, de las siguientes secuencias:
- 65 - HPV 6: GenBank: JN252323.1

- HPV 11: GenBank : JQ773411.1

- HPV 16: GenBank DQ155283.1

5 - HPV 18: GenBank FJ528600.1

• Proteína E2 del virus de hepatitis E, cuya secuencia se indica o puede derivarse, por ejemplo, de las siguientes secuencias:

10 - Virus de hepatitis E, secuencia de referencia NCBI de genoma completo: NC_001434.1

- Gen de proteína de cápside del aislado ITFAE11 del virus de hepatitis E porcino. GenBank: JN861806.1

15 Preferiblemente, la proteína recombinante se selecciona del grupo anterior de proteínas de partícula de tipo virus excepto la proteína de cápside de circovirus porcino.

20 En un aspecto preferido alternativo, la proteína recombinante es la proteína de partícula de tipo virus seleccionado del grupo que consiste en la proteína de cápside de un circovirus porcino, la proteína L1 de virus del papiloma humano y la proteína V60 de calicivirus de conejo. Preferiblemente, la proteína de cápside es del circovirus porcino de tipo 2, la proteína L1 es de virus del papiloma humano 16 y la proteína V60 es virus de enfermedad hemorrágica del conejo.

25 Las proteínas recombinantes están preferiblemente codificadas por las secuencias de ácido nucleico indicadas anteriormente (o los respectivos ORF en caso de la secuencia genómica) o representadas por las respectivas secuencias de aminoácidos. Las proteínas recombinantes pueden estar también codificadas o representadas por variantes de dichas secuencias, por ejemplo, que representan diferentes tipos y subtipos de virus.

30 La secuencia de las variantes de secuencia de ácido nucleico es idéntica preferiblemente en al menos el 70%, más preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% a las respectivas secuencias de ácido nucleico (o los respectivos ORF en el caso de la secuencia genómica).

35 La secuencia de las variantes de secuencia de aminoácidos es similar preferiblemente en al menos el 70%, más preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% a las respectivas secuencias de aminoácidos.

40 "Promotor" se refiere a una secuencia de ADN a la que puede unirse ARN polimerasa para iniciar la transcripción. La secuencia puede contener además sitios de unión para diversas proteínas que regulan la transcripción, tal como factores de transcripción. La secuencia del promotor puede estar compuesta por diferentes fragmentos de promotor (fragmentos o bien diferentes o bien los mismos) que están localizados cerca en la secuencia de ADN y pueden separarse mediante ligadores o espaciadores. Tales promotores se denominan promotores quiméricos.

45 La expresión de la proteína recombinante de la invención está preferiblemente impulsada por un promotor seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 10-16 y variantes de la misma que todavía funcionan como un promotor en un baculovirus y tienen preferiblemente al menos el 70%, más preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% de identidad con la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 10-16.

50 En un aspecto preferido, la expresión de la proteína recombinante de la invención está impulsada por un promotor seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 11-13, 15-16 y variantes de la misma que todavía funcionan como un promotor en un baculovirus y tienen preferiblemente al menos el 70%, más preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% de identidad con la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 11-13, 15-16.

55 La expresión de la proteína recombinante está impulsada por un promotor que comprende SEQ ID NO: 11, es decir el promotor *p10*, o variantes del mismo que todavía funcionan como un promotor en un baculovirus y tienen preferiblemente al menos el 70%, más preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% de identidad con la secuencia de ácido nucleico indicada en SEQ ID NO: 11. El promotor que comprende SEQ ID NO: 11 puede comprender además fragmentos de promotor y por tanto formar un promotor quimérico.

60 El promotor que comprende SEQ ID NO: 11 se selecciona preferentemente del grupo que consiste en SEQ ID NO: 11, 12, 13, 15 y 16 y variantes de la misma que todavía funcionan como un promotor en un baculovirus y tienen preferiblemente al menos el 70%, más preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% de identidad con la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 11, 12, 13, 15 y 16.

65

En un aspecto preferido, la señal de poliadenilación del ácido nucleico que codifica para la proteína recombinante es la señal de poliadenilación *p10* o SV40. Lo más preferiblemente, es la señal de poliadenilación *p10*. Los casetes de expresión más preferidos que comprenden la señal de poliadenilación del ácido nucleico que codifica para la proteína recombinante están representados por SEQ ID NO: 51-56 (o variantes de estas secuencias que conservan la actividad de los elementos funcionales y que tienen una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 51-56).

Tal como se describió anteriormente, un elemento de ADN recombinante que está presente en el casete de expresión de la invención es una secuencia de ácido nucleico que permite la expresión por encima de niveles endógenos de baculovirus reguladores transcripcionales. Preferiblemente esta secuencia de ácido nucleico está unida operativamente a la expresión de la proteína recombinante.

“Regulador transcripcional” se refiere a una proteína reguladora que puede modular la transcripción de genes específicos mediante, por ejemplo, unión a regiones represoras o potenciadoras y/o captar proteínas que están implicadas en la transcripción.

“Nivel de expresión endógeno” se refiere al nivel base de expresión de una proteína que se obtiene durante la infección de una célula de insecto o insecto con un baculovirus que no se ha alterado en su expresión de dicha proteína mediante, por ejemplo, medios artificiales, tales como introducción de una secuencia de ADN recombinante.

La “expresión por encima de niveles endógenos” también se denomina “sobreexpresión”.

La expresión por encima de niveles endógenos se logra introduciendo copias adicionales del gen endógeno que codifica para el regulador transcripcional. Además, las copias del gen endógeno pueden introducirse como transgenes bajo el control de un promotor adecuado tal como *polh* o *pB2*.

El nivel de expresión puede determinarse a niveles tanto de ARNm como de proteína con métodos conocidos convencionalmente por el experto en la técnica, tal como PCR cuantitativa y análisis por inmunotransferencia de tipo Western.

“Que está unido operativamente” se refiere a dos secuencias de ácido nucleico que están conectadas de manera que una influye en la otra en términos de, por ejemplo, regulación transcripcional.

IE-1 y su variante IE-0 de empalme son reguladores transcripcionales que se expresan de manera endógena mediante baculovirus.

Los reguladores transcripcionales de baculovirus de la invención son IE-1 e/o IE-0.

En un aspecto preferido, el nivel de expresión de IE-1 e/o IE-0 alcanza niveles de expresión por encima de los obtenidos mediante AcMNPV de tipo natural, tal como el clon C6 de AcMNPV (secuencia genómica: GenBank n.º de registro NC_001623.1).

En otro aspecto preferido, el nivel de expresión de IE-1 e/o IE-0 alcanza más de dos veces la cantidad que puede obtenerse con el AcMNPV de tipo natural, tal como el clon C6 de AcMNPV. IE-1 e/o IE-0 están codificados preferiblemente por cualquiera de las secuencias de ácido nucleico de SEQ ID NO: 1-5 o representados por cualquiera de las secuencias de aminoácidos correspondientes de SEQ ID NO: 6-9. IE-1 e/o IE-0 pueden estar también codificadas o representadas por cualquiera de las variantes de dichas secuencias. SEQ ID NO: 1 es el ADNc de Ac-*ie-01* que codificada para tanto IE-1 como IE-0, SEQ ID NO: 2 es la secuencia codificante (CDS) de IE-1 y SEQ ID NO: 3 es la CDS de IE-0. SEQ ID NO: 4 y 5 son las CDS de los dominios N-terminales de IE-1 e IE-0 respectivamente que conserva sustancialmente la actividad de regulador transcripcional. Las proteínas que están codificadas por SEQ ID NO: 2-5 están representadas por SEQ ID NO: 6-9 respectivamente.

Las variantes de SEQ ID NO: 1-9 están codificadas o codifican para aminoácidos que conservan sustancialmente su función como regulador transcripcional.

La secuencia de las variantes de SEQ ID NO: 1-5 es idéntica preferiblemente en al menos el 70%, más preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% a las secuencias de SEQ ID NO: 1-5.

La secuencia de las variantes de SEQ ID NO: 6-9 es similar preferiblemente en al menos el 70%, más preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% a las secuencias de SEQ ID NO: 6-9.

En un aspecto preferido, las secuencias anteriores están limitadas a las que codifican para o representan la proteína IE-1, es decir SEQ ID NO: 1, 2, 4, 6 y 8 o variantes de la misma tal como se definió anteriormente.

En otro aspecto preferido, las secuencias anteriores están limitadas a las que codifican para o representan la proteína IE-0, es decir SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7 y 9 o variantes de la misma tal como se definió anteriormente.

- 5 En aún otro aspecto preferido, IE-1 e/o IE-0 están codificadas por la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 1.

Una región homóloga recombinante (*hr*) que puede potenciar la expresión de la proteína recombinante uniéndose operativamente al/los promotor(es) de la misma está presente además en el casete de expresión de la invención, además de las secuencias de ácido nucleico que permiten la expresión de la proteína recombinante y la expresión
10 por encima de niveles endógenos de los reguladores transcripcionales.

"Región potenciadora" se refiere a una secuencia de control, que uniéndose a reguladores transcripcionales aumenta el nivel de transcripción de genes asociados.

- 15 Las regiones homólogas, *hr*, están compuestas por unidades de repetición de aproximadamente 70-bp con un palíndromo de 30-bp imperfecto cerca de su centro. Las regiones homólogas se repiten en ocho ubicaciones en el genoma AcMNPV con de 2 a 8 repeticiones en cada lado. Las regiones homólogas se han implicado como tanto potenciadores transcripcionales como orígenes de replicación de ADN de baculovirus.

- 20 La secuencia de región homóloga potenciadora *hr* en el sentido de 5' del/los promotor(es) es preferiblemente *hr1* (SEQ ID NO: 27) o una secuencia que puede funcionar como una región homóloga potenciadora y tiene preferiblemente al menos el 70%, más preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% de identidad con la secuencia de ácido nucleico indicada en SEQ ID NO: 27.

- 25 En una realización preferida, el casete de expresión de la invención comprende combinaciones de promotores recombinantes, secuencias que codifican para reguladores transcripcionales y regiones potenciadoras, que están unidas operativamente a la expresión de la proteína recombinante, en el que estas combinaciones están representadas por cualquiera de SEQ ID NO: 17-22, 25 y 26 o variantes de la misma que conservan sustancialmente las actividades de los elementos funcionales y tienen preferiblemente al menos el 70%, más preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% de identidad con las secuencias de ácido nucleico indicadas en cualquiera de SEQ ID NO: 17-22, 25 y 26.

- 30 Más preferiblemente, las combinaciones mencionadas anteriormente están representadas por cualquiera de SEQ ID NO: 17-19 y 25 o variantes de la misma que conservan sustancialmente las actividades de los elementos funcionales y tienen preferiblemente al menos el 70%, más preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% de identidad con las secuencias de ácido nucleico indicadas en cualquiera de SEQ ID NO: 17-19 y 25.

- 40 El casete de expresión de la invención puede usarse preferiblemente para producir el vector de clonación, vector de transferencia, bácmido, baculovirus recombinante, célula, insecto o medio de cultivo de la invención.

Vector de clonación

- 45 "Vector de clonación" se refiere a cualquier vector que es adecuado para la clonación, que generalmente implica la presencia de sitios de restricción, un origen de replicación para la propagación bacteriana y un marcador seleccionable.

- 50 El vector de clonación de la invención comprende el casete de expresión de la invención y puede usarse preferiblemente para producir el vector de transferencia, bácmido, baculovirus recombinante, célula, insecto o medio de cultivo de la invención.

El vector de clonación que comprende un casete de expresión también se denomina "vector donador".

Vector de transferencia

- 55 "Vector de transferencia" (o "vector de transferencia de baculovirus") se refiere a un vector que es adecuado para la integración o transposición en un genoma de baculovirus. El vector de transferencia por tanto permite generalmente la inserción de información genética a un baculovirus.

- 60 El vector de transferencia de la invención comprende el casete de expresión de la invención y puede usarse preferiblemente para producir el bácmido, baculovirus recombinante, célula, insecto o medio de cultivo de la invención.

- 65 En un aspecto preferido, el vector de transferencia se deriva de cualquiera de los sistemas de expresión de baculovirus "Bac-to-Bac[®]" disponibles comercialmente (invitrogen[™]), "BacPAK[™]" (Clontech[™]), "FlashBAC[™]" (Oxford Expression Technologies[™]), "BacuVance[™]" (GenScript[™]), "Bac-N-Blue DNA[™]" (invitrogen[™]),

"BaculoDirect™" (invitrogen™), "BacVector®" 1000, 2000, 3000 (Novagen®), "DiamondBac™" (Sigma-Aldrich®) o "BaculoGold™" (BD biosciences™).

Bácmido

"Bácmido" se refiere a un constructo de plásmido que contiene la secuencia de ácido nucleico que es suficiente para generar un baculovirus cuando se transfecta en una célula.

El bácmido de la invención comprende el casete de expresión de la invención y puede usarse preferiblemente para producir el baculovirus recombinante, célula, insecto o medio de cultivo de la invención.

Baculovirus

"Baculovirus" se refiere a una familia de virus infecciosos para invertebrados, principalmente insectos y artrópodos infecciosos. Un "baculovirus recombinante" ha introducido además ADN recombinante mediante, por ejemplo, transposición o recombinación homóloga.

El baculovirus recombinante de la invención comprende el casete de expresión de la invención y puede usarse preferiblemente para producir la célula, insecto o medio de cultivo de la invención.

El baculovirus recombinante se origina preferiblemente de AcMNPV.

En otro aspecto preferido, el baculovirus recombinante se origina de nucleopolihedrovirus *Bombyx mori* (BmNPV) o nucleopolihedrovirus *Spodoptera exigua* (SeNPV).

Célula

La célula de la invención comprende el casete de expresión de la invención. Dentro de esta célula, los elementos de ADN recombinante del casete de expresión pueden estar presentes en diferentes moléculas.

En una realización preferida, la célula es infectada, transfectada, transducida o transformada con el casete de expresión, vector de clonación, vector de transferencia, bácmido o baculovirus recombinante de la invención, lo más preferiblemente con el baculovirus recombinante.

En un aspecto preferido, la célula se mantiene en cultivo celular.

La célula es preferiblemente una línea celular de insecto, más preferiblemente una línea celular derivada de un insecto que pertenece al género Lepidoptera o Diptera, más preferiblemente la célula se deriva del grupo que consiste en *Trichoplusia ni*, *Spodoptera frugiperda*, *Ascalapha odorata*, *Bombyx mori*, *Drosophila melanogaster*, *Estigmene acrea* y *Aedes aegypti* y lo más preferiblemente se selecciona del grupo de líneas celulares de insecto que consiste en Hi-5™, Sf9, Sf21, BTI-Tn5B-1, Tn368, ExpresSf+®, BTI-TnAo38, ATC-10, Mimic™ Sf9, SfSWT-1, SfSWT-3, SfSWT-5, TriEx™ y línea 2 de *Drosophila* de Schneider. La célula puede cultivarse en monocapa o en suspensión.

Insecto

El insecto de la invención comprende el casete de expresión de la invención. Dentro de este insecto, los elementos de ADN recombinante del casete de expresión pueden estar presentes en moléculas diferentes.

En un aspecto preferido, el insecto es infectado, transfectado, transducido o transformado con el casete de expresión, vector de clonación, vector de transferencia, bácmido o baculovirus recombinante de la invención. El casete de expresión de la invención se introduce preferiblemente en el insecto mediante un baculovirus recombinante. Preferiblemente, este baculovirus es AcMNPV, SeNPV o BmNPV y el insecto es un insecto larva o insecto pupa. Se administra el baculovirus al insecto mediante administración oral (p.o.) o más preferiblemente mediante inyección.

En un aspecto preferido adicional, el insecto es un insecto transgénico. El insecto es preferiblemente un lepidóptero y más preferiblemente un insecto seleccionado del grupo que consiste en *Trichoplusia ni*, *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera exigua*, *Ascalapha odorata*, *Bombyx mori*, *Rachiplusia ni* y *Estigmene acrea*. En un aspecto preferido, el insecto es una larva o una pupa. Las larvas de insectos pueden criarse en un módulo de cría, tal como el descrito en la solicitud de patente ES 2 232 308.

Medio de cultivo

El medio de cultivo de la invención comprende el casete de expresión, vector de clonación, vector de transferencia, bácmido o baculovirus recombinante de la invención.

En un aspecto preferido, el medio de cultivo comprende el baculovirus de la invención.

Métodos para producir la proteína recombinante

En un aspecto adicional, la invención da a conocer métodos para producir la proteína recombinante que forma partículas de tipo virus.

La producción de la proteína recombinante comprende el uso del casete de expresión, vector de clonación, vector de transferencia, bácmido, baculovirus recombinante, célula o insecto de la invención. Tras la expresión de la proteína recombinante, la extracción y purificación de dicha proteína se realiza mediante medios convencionales.

Preferiblemente, dicho método de producción comprende el uso de la célula o insecto de la invención. Las células de la invención pueden cultivarse en suspensión (biorreactores), a densidades entre 2×10^6 y 8×10^6 células por ml, dependiendo de la línea celular y el procedimiento de fermentación usado. Además, las células se infectaron preferiblemente a una MOI de 0,05 a 10.

Puede infectarse a las larvas de insectos o insecto pupa inyectando una alta dosis de virus (mayor de 10^4 unidades formadoras de placa) del baculovirus recombinante de la invención. 3-4 días tras la infección, se procesaron los insectos infectados y se obtuvo el extracto de proteína soluble completo mediante el uso de tampones de extracción apropiados. Se centrifugaron los extractos y se eliminó la fracción lipídica. Entonces, se purificó la proteína recombinante mediante medios convencionales.

Puede usarse la proteína recombinante en un método de tratamiento, terapia o diagnóstico, por ejemplo para vacunación.

Resumen de secuencias

SEQ ID NO:	Nombre:
1	ADNc de <i>Ac-ie-01</i> completo
2	Secuencia de ADN codificante (CDS) de IE-1
3	CDS de IE-0
4	CDS del dominio del N-terminal IE-1
5	CDS del dominio del N-terminal IE-0
6	proteína IE-1
7	proteína IE-0
8	proteína de dominio N-terminal IE-1
9	proteína de dominio N-terminal IE-0
10	<i>polh</i> (promotor)
11	<i>p10</i> (promotor)
12	<i>pB29p10</i> (promotor)
13	<i>p6,9p10</i> (promotor)
14	<i>pB29</i> (promotor)
15	<i>pB2p10</i> (promotor)
16	<i>polhp10</i> (promotor)
17	<i>polhAc-ie-01/hr1p10</i>
18	<i>polhAc-ie-01/hr1pB29p10</i>
19	<i>polhAc-ie-01/hr1p6,9p10</i>
20	<i>pB29Ac-ie-01/hr1p10</i>
21	<i>pB29Ac-ie-01/hr1pB29p10</i>
22	<i>pB29Ac-ie-01/hr1p6,9p10</i>
23	<i>polhAc-ie-01/hr1polh</i>
24	<i>pB29Ac-ie-01/hr1polh</i>
25	<i>polhAc-ie-01/hr1polhp10</i>
26	<i>pB29Ac-ie-01/hr1polhp10</i>
27	<i>hr1</i> potenciador de región homóloga
28	<i>polhAc-ie-01</i>
29	<i>polhGFP</i>
30	<i>polhAc-ie-01/hr1p6,9p10Cap</i>
31	ORF2 del circovirus porcino de tipo 2
32	Proteína de cápside (Cap) del circovirus porcino de tipo 2
33	<i>polhCap</i>
34	<i>polhAc-ie-01/hr1p6,9p10GFP</i>
35	<i>polhAc-ie-01/hr1polhp10GFP</i>

36	<i>polhAc-ie-01/hr1pB29p10GFP</i>
37	<i>polhAc-ie-01/hr1p6,9GFP</i>
38	<i>polhAc-ie-01/hr1p10GFP</i>
39	<i>polhAc-ie-01/hr1polhGFP</i>
40	<i>p6,9GFP</i>
41	<i>pB29GFP</i>
42	<i>p10GFP</i>
43	Secuencia de ácido nucleico que codifica para VHH 3B2
44	Secuencia de aminoácidos de VHH 3B2
45	Secuencia de ácido nucleico que codifica para VHH 2KD1
46	Secuencia de aminoácidos de VHH 2KD1
47	Secuencia de ácido nucleico que codifica para la proteína L1 del virus de papiloma humano 16
48	Secuencia aminoácida de la proteína L1 del virus de papiloma humano 16
49	Secuencia de ácido nucleico de la VP60 que codifica para gen de RHDV
50	Secuencia aminoácida de la proteína VP60 de RHDV
51	<i>polhAc-ie-01/hr1p6,9p10Cap</i> (señal de poliadenilación de gen p10)
52	<i>polhAc-ie-01/hr1p6,9p10L1</i> (señal de poliadenilación de gen p10)
53	<i>polhAc-ie-01/hr1p6,9p10VP60</i> (señal de poliadenilación de gen p10)
54	<i>polhAc-ie-01/hr1p6,9p10L1</i> (señal de poliadenilación SV40)
55	<i>polhAc-ie-01/hr1p6,9p10VP60</i> (señal de poliadenilación SV40)
56	<i>polhAc-ie-01/hr1p6,9p10Cap</i> (señal de poliadenilación SV40)

Todas las secuencias de la divulgación incluyen variantes de las mismas que conservan sustancialmente la actividad funcional de la secuencia parenteral. "Variantes" son aminoácidos o ácidos nucleicos cuya secuencia de ácidos nucleicos o secuencias difiere en una o más posiciones de la secuencia parenteral de ácidos nucleicos o secuencias, en la cual las diferencias podrían ser adiciones, deleciones y/o sustituciones de ácidos nucleicos o residuos de aminoácido.

Las variantes de la divulgación tienen preferiblemente identidad (secuencias de ácido nucleico) o similitud (secuencias de aminoácidos) de al menos el 70%, más preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia parenteral.

En otro aspecto preferido, las variantes son fragmentos de secuencia de ácido nucleico o de aminoácidos que conservan sustancialmente su actividad funcional.

Las secuencias de ácidos nucleicos y de aminoácidos de la presente divulgación pueden distinguirse de otras secuencias de ácidos nucleicos y de aminoácidos por el grado de identidad de secuencia o similitud respectivamente tal como se determinó usando, por ejemplo, EMBOSS Needle con los parámetros por defecto (http://www.ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss_needle/). Métodos para la generación de tales variantes incluyen mutagénesis al azar o dirigida al sitio, mutagénesis de saturación en el sitio, ensamblaje de fragmento basado en PCR, intercambio de ADN, recombinación homóloga *in vitro* o *in vivo*, y métodos de síntesis de genes.

Deposición de microorganismos según el tratado de Budapest

El plásmido que contiene el casete de expresión *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10Cap* se depositó en la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT) (www.cect.org); Universidad de Valencia, Parc Científic Universitat de València; Catedrático Agustín Escardino, 9; 46980 Paterna (Valencia), España, con el número de registro CECT 8228 el 6 de noviembre de 2012.

Ejemplos

Ejemplo 1. El casete de expresión de baculovirus de la invención induce la proliferación celular y aumenta la viabilidad celular a través de los reguladores transcripcionales codificados por el *ADNc de Ac-ie-01*.

Se observó por microscopio que los baculovirus recombinantes que incorporan un casete de expresión de baculovirus con el *ADNc de Ac-ie-01* tienen propiedades interesantes relacionadas con una disminución en los efectos citopáticos inducidos por virus y un aumento de la densidad celular en cultivos. Para cuantificar estos fenómenos y para determinar el/los elemento(s) de ADN responsable(s) de tales propiedades interesantes, se generó un baculovirus recombinante que expresa los reguladores transcripcionales codificados por el *ADNc de Ac-ie-01* bajo el control del promotor *polh*. Como control, se usó el baculovirus recombinante convencional que expresa la proteína GFP bajo el control del promotor *polh*. Estos baculovirus se usaron para infectar células Sf9 en suspensión a una baja multiplicidad de infección (MOI) de 0,1. Se estudió el aumento en el número de células hasta 48 h tras la infección y se estudió la viabilidad celular entre de 24 a 120 h tras la infección. A las 24 h tras la infección, células de insecto infectadas mediante el baculovirus que sobreexpresa el *ADNc de Ac-ie-01* codificaron

para reguladores transcripcionales, es decir IE-1 e IE-0, presentaron un aumento en el número de células mayor del 10% con respecto a cultivos infectados mediante el baculovirus recombinante control (figura 1A). Se observaron estas diferencias en el número de células tan pronto como a las 6 h tras la infección (figura 1A). Un análisis más detallado mediante citometría de flujo del tiempo requerido para que estos factores induzcan las diferencias observadas en la proliferación celular reveló un aumento de células de insecto en la fase S a las 3 h tras la infección y luego a las 6 h tras la infección se observó un aumento en el número de células de insecto en G1. Estos datos implican un incremento muy temprano de la mitosis en los cultivos infectados mediante el baculovirus que sobreexpresa el *ADNc de Ac-ie-01* que codifica para proteínas (datos no mostrados).

Se realizaron medidas de fluorescencia en un citómetro de flujo FACSCalibur™ (BD Biosciences™). Se fijaron las células en EtOH al 70%, se resuspendieron e incubaron en la disolución de tinción (yoduro de propidio 50 µg/ml en PBS, 5 µg /ml ARNse). Se controlaron los datos para eliminar partículas con un tamaño distinto a las células y se analizaron representando el número de células frente a la fluorescencia del rojo del yoduro de propidio. Se contaron 50.000 células por ensayo. Se realizó el análisis de datos del número total de células por fase de ciclo celular (G1, S y G2) usando el software Modfit.

También se analizaron cultivos celulares infectados con tinción de azul de tripano para determinar la viabilidad celular a diferentes tiempos tras la infección. De manera interesante, a tiempos muy tardíos tras la infección (96-120 horas), las células de insecto infectadas mediante el virus que sobreexpresa los reguladores transcripcionales mostró un aumento (el 50-60 % de aumento) de la viabilidad celular e integridad (figura 1B). Esto sugiere que la sobreexpresión de los reguladores transcripcionales de la presente invención protege las células del efecto citopático inducido por baculovirus, permitiendo expresión a largo plazo. Tanto la proliferación celular como la viabilidad celular aumentada tras la infección tienen consecuencias importantes en la productividad de proteína recombinante del BEVS. Se obtuvieron resultados similares cuando la sobreexpresión de los reguladores transcripcionales se conducía mediante tanto el promotor *pB29* como *polh* (datos no mostrados). Se confirmaron los resultados observados en células *Sf9* de insecto infectadas en suspensión en células *Sf21* cultivadas en monocapa (datos no mostrados) y también en células Hi-5™ cultivadas en monocapa (figuras 1C y D). Estas figuras demuestran cómo la sobreexpresión de los reguladores transcripcionales mejora la integridad celular a tiempos tardíos tras la infección (96 horas).

Ejemplo 2. El casete de expresión de baculovirus de la invención aumenta las tasas de supervivencia de larvas de insecto infectadas por baculovirus y biomasa de insecto recuperada usando dosis altamente infecciosas mediante los reguladores transcripcionales codificados por el *ADNc de Ac-ie-01*.

En el ejemplo anterior, se mostró una ventaja de los baculovirus que expresan proteína recombinante GFP en el contexto del casete de baculovirus que expresa los reguladores transcripcionales IE-1 e IE-0 por encima de niveles endógenos en términos de viabilidad y proliferación de células de insecto.

Usando los mismos constructos de baculovirus con el casete de expresión *polhAc-ie-01* o *polhGFP*, se infectaron larvas *T. ni* con una dosis altamente infecciosa de 5×10^4 unidades formadoras de placas (UFP). De manera similar a las células infectadas con baculovirus con estos casetes de expresión, las larvas infectadas con el baculovirus que sobreexpresa el *ADNc de Ac-ie-01* (*polhAc-ie-01*) también mostraron tasas de supervivencia aumentadas en comparación con larvas infectadas con un baculovirus convencional que expresa la proteína indicadora de GFP bajo el control del mismo promotor (*polhGFP*) (figura 2A). Esto sugiere fuertemente que la sobreexpresión de los reguladores transcripcionales usados en el casete de expresión de baculovirus de la presente invención reduce la mortalidad de larvas de insecto infectadas por baculovirus, permitiendo expresión a largo plazo (más producción de proteína recombinante) y aumentando la recuperación de biomasa de insecto usando dosis altamente infecciosas (productividad máxima) (figura 2B).

Ejemplo 3. La sobreexpresión de las proteínas de regulador transcripcional codificadas por *ADNc de Ac-ie-01* en un baculovirus aumenta los rendimientos de producción de proteína recombinantes cuando su expresión se conduce mediante el promotor *p10* o cualquier promotor quimérico que contiene *p10*

Para analizar el efecto de los reguladores transcripcionales IE-1/IE-0 en combinación con diferentes promotores en la expresión de proteínas, se prepararon baculovirus de AcMNPV recombinantes con los siguientes casetes de expresión:

- *polhAc-ie-01/hr1polhp10GFP*
- *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10GFP*
- *polhAc-ie-01/hr1pB29p10GFP*
- *polhAc-ie-01/hr1p6,9GFP*
- *polhAc-ie-01/hr1p10GFP*

- *polhAc-ie-01/hr1polhGFP*

- *p6.9GFP*

- *pB2₉GFP*

- *p10GFP*

- *polhGFP*

Como control, se usó un baculovirus de AcMNPV convencional sin gen foráneo alguno, denominado BacNi (sin inserto).

Se infectaron células Sf21 con los diferentes baculovirus a una MOI de 5 y se midió el aumento en fluorescencia a 96 h tras la infección. Se normalizaron los valores a la fluorescencia obtenida con un vector de baculovirus convencional que expresa la GFP bajo el control del promotor *polh*, que se consideró como el 100%.

Como puede observarse a partir de la Figura 3, la presencia del promotor *p10* (quimérico o no) es crucial para la expresión aumentada mediada por la sobreexpresión de *ADNc de Ac-ie-01*. Por el contrario, cuando el *ADNc de Ac-ie-01* se combina en el casete de expresión con los promotores *polh* o *p6,9* solo, se da o bien un aumento no significativo o bien incluso una disminución en la expresión.

Ejemplo 4. La sobreexpresión de reguladores transcripcionales de baculovirus IE-1 e IE-0 potencia la función potenciadora de una región homóloga *hr* unida funcionalmente a un promotor que aumenta la expresión de proteínas recombinantes que forman partículas de tipo virus en un sistema de expresión de vector de baculovirus (BEVS).

Se comparó la expresión de diferentes proteínas que forman partículas de tipo virus entre un baculovirus convencional y un baculovirus de la invención. El baculovirus convencional expresó las proteínas Cap, VP60 y L1 bajo el control del promotor *polh* (*polhCap*; *polhVP60* y *polhL1*). El baculovirus de la invención expresó las proteínas Cap, VP60 y L1 bajo el control del promotor quimérico *p6,9p10* que se sintetizó previamente. Este promotor quimérico estaba unido operativamente con la región homóloga de secuencia potenciadora *hr1*. El baculovirus de la invención contenía además el *ADNc de Ac-ie-01* clonado bajo el control del promotor *polh* para obtener los casetes de expresión de baculovirus *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10Cap*, *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10VP60* y *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10L1* (figura 4). Entonces se analizó la expresión de las proteínas Cap, VP60 y L1 en extractos de proteína de células Sf9 cultivadas en suspensión a diferentes tiempos tras la infección (MOI de 0,1) con estos baculovirus. Se sometieron los extractos a electroforesis SDS-PAGE y se tiñeron las proteínas reveladas mediante azul de Coomassie y/o se analizaron mediante inmunotransferencia de tipo Western.

Proteína Cap

Los resultados obtenidos para la proteína Cap fueron que se observó una banda de proteína teñida más intensamente que la correspondiente a la proteína Cap de circovirus porcino de tipo 2, expresada por el baculovirus modificado por el casete de expresión de la presente invención a los diferentes tiempos tras la infección (figura 5A). Esto demostró claramente que el casete de expresión novedoso es más eficaz en la expresión de la proteína Cap. Se encontró este resultado tanto en las células de monocapa (Sf21) como de suspensión (Sf9) independientemente de la multiplicidad de la infección usada (MOI 5 o MOI 0,1) (datos no mostrados).

Una inmunotransferencia de tipo Western con un anticuerpo monoclonal frente a la proteína Cap de los mismos extractos celulares infectados también corroboró una presencia más abundante de proteína Cap en células infectadas con el baculovirus de la invención (*polhAc-ie-01/hr1p6,9p10Cap*). Se analizó la cantidad de proteína usando un sistema de detección de inmunotransferencia de tipo Western ECL y un sistema de obtención de imágenes en gel XRS Chemi-Doc™ (Bio-Rad™, EE.UU.). Se estudiaron reacciones de inmunotransferencia de tipo Western a diferentes tiempos tras la infección en células Sf9 cultivadas en suspensión tal como se describió anteriormente.

Se expresaron los datos de cuantificación de este análisis con los diferentes baculovirus obtenidos mediante el sistema de obtención de imágenes en gel XRS ChemiDoc™ como unidades de expresión arbitrarias. A las 72 h tras la infección, en comparación con un baculovirus convencional que expresa la proteína Cap bajo el control del promotor *polh*, el nivel de expresión de Cap era aproximadamente de 4,8 veces y 3,5 veces mayor en cultivos Sf21 de monocapa (MOI de 5) y Sf9 de suspensión (MOI de 0,1) respectivamente con el baculovirus modificado por el casete de expresión de la invención (*polhAc-ie-01/hr1p6,9p10Cap*) (datos no mostrados). Estas diferencias en acumulación de proteínas también se observaron en células Hi-5™ (datos no mostrados), sugiriendo que el casete de expresión de baculovirus de la invención podría usarse para producir la proteína recombinante Cap en diferentes líneas celulares de insectos usadas en la investigación y la industria.

De manera importante, los niveles de expresión de proteína Cap recombinante mediada por el casete de expresión de baculovirus de la presente invención eran mayores en cualquiera de los tiempos tras la infección analizados (figura 5A). Los máximos niveles de expresión se detectaron a las 72 h tras la infección con el baculovirus modificado genéticamente con el casete de expresión de la presente invención, mientras que el máximo nivel de expresión con el baculovirus convencional (*polhCap*) era a las 48 h tras la infección (figura 5A).

Se realizó una cuantificación más precisa de la productividad de la proteína Cap mediante análisis de inmunotransferencia de tipo Western con un anticuerpo monoclonal específico para Cap de extractos de células Sf9 de insecto cultivadas en suspensión e infectadas mediante un baculovirus convencional (*polhCap*) o el baculovirus de la presente invención (*polhAc-ie-01/hr1p6,9p10Cap*). Se llevó a cabo la cuantificación con una curva patrón de proteína Cap purificada y posteriormente análisis mediante el sistema de obtención de imágenes en gel XRS ChemiDoc™ (Bio-Rad™, EE.UU.). Se cultivaron células de insecto en suspensión a una densidad de 2×10^6 células/ml y se infectaron a una MOI de 0,1 con cada baculovirus. Esto demostró que mientras que la productividad de la proteína Cap en células infectadas con el baculovirus convencional era aproximadamente de 57 mg/l, las células de insecto infectadas con el baculovirus de la invención podían producir aproximadamente 198 mg/l (figura 5B). Las productividades máximas de baculovirus recombinantes se obtuvieron a diferentes tiempos tras la infección (48 y 72 horas tras la infección respectivamente).

Se infectaron células Sf9 de insecto cultivadas en suspensión con un baculovirus convencional que expresa la proteína Cap (*polhCap*) o el baculovirus de la presente invención que expresa la proteína Cap (*polhAc-ie-01/hr1p6,9p10Cap*). Se purificaron las VLP que se formaron tras la expresión de la proteína Cap. Para este fin, se usaron volúmenes idénticos de cultivos celulares en ambos casos. Se alteraron las células mediante un tratamiento suave con un detergente no iónico y se sometieron después a aclaramiento a una alta velocidad de centrifugación en un gradiente de sacarosa para purificar las VLP. Entonces se analizaron las VLP mediante microscopía electrónica con tinción negativa. Las VLP formadas por ambos baculovirus eran idénticas en tamaño y forma, pero la concentración de pseudopartículas observadas reflejó las diferencias en los niveles de expresión de Cap detectados anteriormente entre los dos baculovirus. El número de VLP producidas por las células infectadas con el baculovirus modificado con el casete de expresión de la invención era mayor que para las células infectadas con el baculovirus que expresa la proteína Cap que usa el promotor *polh* (figura 5C). El mayor número de VLP producidas por las células infectadas con el baculovirus de la invención se correlacionaba con una expresión aumentada de proteína Cap en estas células, y la cantidad de proteína Cap detectada en VLP purificadas se analizó mediante electroforesis SDS-PAGE y tinción con azul de Coomassie (figura 5C, paneles superiores, insertos en las esquinas inferiores izquierdas).

Proteína VP60

Los resultados obtenidos para la proteína VP60 fueron que se observó una banda de proteína teñida más intensamente que corresponde a la proteína VP60 de virus de la enfermedad hemorrágica del conejo expresada por el baculovirus modificado por el casete de expresión de la presente invención a los diferentes tiempos tras la infección (figura 6A). Esto demostró claramente que el casete de expresión novedoso es más eficaz en la expresión de la proteína VP60. Se encontró este resultado tanto en las células de monocapa (Sf21) como de suspensión (Sf9) independientemente de la multiplicidad de la infección usada (MOI 5 o MOI 0,1) (datos no mostrados).

Una inmunotransferencia de tipo Western con un anticuerpo monoclonal frente a la proteína VP60 de los mismos extractos celulares infectados también corroboró una presencia más abundante de proteína VP60 en células infectadas con el baculovirus de la invención (*polhAc-ie-01/hr1p6,9p10VP60*). Se analizó la cantidad de proteína usando un sistema de detección de inmunotransferencia de tipo Western ECL y un sistema de obtención de imágenes en gel XRS ChemiDoc™ (Bio-Rad™, EE.UU.). Se estudiaron reacciones de inmunotransferencia de tipo Western a diferentes tiempos tras la infección en células Sf9 cultivadas en suspensión tal como se describió anteriormente.

Se expresaron los datos de cuantificación de este análisis con los diferentes baculovirus obtenidos mediante el sistema de obtención de imágenes en gel XRS ChemiDoc™ como unidades de expresión arbitrarias. A las 72 h tras la infección, en comparación con un baculovirus convencional que expresa la proteína VP60 bajo el control del promotor *polh*, el nivel de expresión de VP60 era más de 3 veces mayor en cultivos Sf21 de monocapa (MOI de 5) y Sf9 de suspensión (MOI de 0,1) respectivamente con el baculovirus modificado por el casete de expresión de la invención (*polhAc-ie-01/hr1p6,9p10VP60*) (datos no mostrados). Estas diferencias en acumulación de proteínas también se observaron en células Hi-5™ (datos no mostrados), sugiriendo que el casete de expresión de baculovirus de la invención podría usarse para producir la proteína recombinante VP60 en diferentes líneas celulares de insectos usadas en la investigación y la industria.

De manera importante, los niveles de expresión de proteínas VP60 recombinante mediada por el casete de expresión de baculovirus de la presente invención eran mayores en cualquiera de los tiempos tras la infección analizados (figura 6A). Los máximos niveles de expresión se detectaron a las 120 h tras la infección con el baculovirus modificado genéticamente con el casete de expresión de la presente invención, mientras que el máximo nivel de expresión con el baculovirus convencional (*polhCap*) era a las 72 h tras la infección (figura 6A).

Se realizó una cuantificación más precisa de la productividad de la proteína VP60 mediante análisis de inmunotransferencia de tipo Western con un anticuerpo monoclonal específico para VP60 de extractos de células Sf9 de insecto cultivadas en suspensión e infectadas mediante un baculovirus convencional (*polhVP60*) o el baculovirus de la presente invención (*polhAc-ie-01/hr1p6,9p10VP60*). Se llevó a cabo la cuantificación con una curva patrón de proteína VP60 purificada y posteriormente análisis mediante el sistema de obtención de imágenes en gel XRS ChemiDoc™ (Bio-Rad™, EE.UU.). Se cultivaron células de insecto en suspensión a una densidad de 2×10^6 células/ml y se infectaron a una MOI de 0,1 con cada baculovirus. Esto demostró que mientras que la productividad de proteína VP60 en células infectadas con el baculovirus convencional era aproximadamente de 630 mg/l, las células de insecto infectadas con el baculovirus de la invención podían producir aproximadamente 1.950 mg/l (figura 6B). Las productividades máximas de baculovirus recombinantes se obtuvieron a diferentes tiempos tras la infección (72 y 120 horas tras la infección respectivamente).

Se infectaron células Sf9 de insecto cultivadas en suspensión con un baculovirus convencional que expresa la proteína VP60 (*polhVP60*) o el baculovirus de la presente invención que expresa la proteína VP60 (*polhAc-ie-01/hr1p6,9p10VP60*). Se purificaron las VLP que se formaron tras la expresión de la proteína VP60. Para este fin, se usaron volúmenes idénticos de cultivos celulares en ambos casos. Se alteraron las células mediante un tratamiento suave con un detergente no iónico y se sometieron después a aclaramiento a una alta velocidad de centrifugación en un gradiente de sacarosa para purificar las VLP. Entonces se analizaron las VLP mediante microscopía electrónica con tinción negativa. Las VLP formadas por ambos baculovirus eran idénticas en tamaño y forma pero la concentración de pseudopartículas observadas reflejó las diferencias en los niveles de expresión de VP60 detectados anteriormente entre los dos baculovirus. El número de VLP producidas por células infectadas con el baculovirus modificado con el casete de expresión de la invención era mayor que para las células infectadas con el baculovirus que expresa la proteína VP60 que usa el promotor *polh* (figura 6C). El mayor número de VLP producidas por las células infectadas con el baculovirus de la invención se correlacionaba con una expresión aumentada de proteína VP60 en estas células, y la cantidad de proteína VP60 detectada en VLP purificadas se analizó mediante electroforesis SDS-PAGE y tinción con azul de Coomassie (figura 6C, paneles superiores, insertos en las esquinas inferiores izquierdas).

Proteína L1

Los resultados obtenidos para la proteína L1 mediante análisis de inmunotransferencia de tipo Western con un anticuerpo monoclonal frente a L1 eran que se encontraron bandas que reaccionan más intensamente que corresponden a la proteína L1 del virus de papiloma humano (HPV16) en células infectadas mediante el baculovirus modificado por el casete de expresión de la presente invención a los diferentes tiempos tras la infección (figura 7A). Esto demostró claramente que el casete de expresión novedoso (*polhAc-ie-01/hr1p6,9p10L1*) es más eficaz en la expresión de la proteína L1. Se encontró este resultado tanto en células de monocapa (Sf21) como de suspensión (Sf9) independientemente de la multiplicidad de la infección usada (MOI 5 o MOI 0,1) (datos no mostrados).

Se analizó la cantidad de proteína L1 usando un sistema de detección de inmunotransferencia de tipo Western ECL y un sistema de obtención de imágenes en gel XRS ChemiDoc™ (Bio-Rad™, EE.UU.). Se estudiaron reacciones de inmunotransferencia de tipo Western a diferentes tiempos tras la infección en células Sf9 cultivadas en suspensión tal como se describió anteriormente. Se expresaron los datos de cuantificación de este análisis con los diferentes baculovirus obtenidos mediante el sistema de obtención de imágenes en gel XRS ChemiDoc™ como unidades de expresión arbitrarias. En el momento de máximos niveles de expresión de L1 de diferentes baculovirus analizados (96 y 120 hpi respectivamente), el nivel de expresión de L1 VP60 era más de 3,5 veces mayor en cultivos Sf9 de suspensión (MOI de 0,1) con el baculovirus modificado por el casete de expresión de la invención (*polhAc-ie-01/hr1p6,9p10L1*) (figura 7B). Estas diferencias en acumulación de proteínas también se observaron en células Hi-5™ (datos no mostrados), sugiriendo que el casete de expresión de baculovirus de la invención podría usarse para producir la proteína recombinante L1 en diferentes líneas celulares de insectos usadas en la investigación y la industria.

De manera importante, los niveles de expresión de proteína L1 recombinante mediada por el casete de expresión de baculovirus de la presente invención eran mayores en cualquiera de los tiempos tras la infección analizados (figura 7A). Los máximos niveles de expresión se detectaron a las 120 h tras la infección con el baculovirus modificado genéticamente con el casete de expresión de la presente invención, mientras que el máximo nivel de expresión con el baculovirus convencional (*polhCap*) era a las 96 h tras la infección (figuras 7A y B).

La tinción por inmunotransferencia con un anticuerpo monoclonal específico para L1 de células Sf21 infectadas en monocapa a una MOI de 5 por ambos baculovirus reveló claras diferencias en la intensidad de fluorescencia de las células infectadas. Se encontraron intensidades de inmunofluorescencia mayores en células infectadas mediante el baculovirus modificado por el casete de expresión de la invención (*polhAc-ie-01/hr1p6,9p10L1*), indicando mayores niveles de expresión de L1 (figura 7C).

Ejemplo 5. El casete de expresión de baculovirus de la invención induce la proliferación celular y el aumento de la viabilidad celular.

Se evaluaron los baculovirus del ejemplo 4 que contenían los casetes de expresión *polhCap*, *polhVP60*, *polhL1*, *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10Cap*, *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10VP60* y *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10L1* en términos de su efecto en el crecimiento celular y viabilidad.

Se realizó el experimento tal como se describe en el ejemplo 1 y pudo observarse de manera similar un aumento en el número de células, así como un aumento en la viabilidad para las células infectadas con el baculovirus que contenía el casete de expresión de la invención, es decir *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10Cap* (figura 8A), *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10VP60* (figura 8B) y *polhAcie-01/hr1p6,9p10L1* (figura 8C).

Ejemplo 6. El casete de expresión de la presente invención potencia la productividad de proteínas recombinantes que forman partículas de tipo virus en larvas de insecto *Trichoplusia ni* infectadas por baculovirus.

Se analizó la expresión de proteína Cap mediada por los diferentes baculovirus (con el casete de expresión convencional y con el casete de expresión de la presente invención) en larvas *Trichoplusia ni* infectadas. Para este fin, se infectó a las larvas con 5×10^4 UFP del baculovirus con el casete de expresión *polhCap* o *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10Cap* y se analizaron los extractos a las 72 y 96 h tras la infección mediante tinción con azul de Coomassie y análisis de inmunotransferencia de tipo Western usando un anticuerpo monoclonal frente a la proteína Cap (figura 9A). También se cuantificó la proteína Cap expresada en los diferentes extractos mediante el sistema de obtención de imágenes en gel XRS ChemiDoc™ (Bio-Rad™, EE.UU.) (figura 9B). El nivel de expresión de Cap aumentó en extractos de larvas mediante el baculovirus que contenía el casete de expresión de la presente invención mencionado anteriormente en aproximadamente el 325% a las 72 h tras la infección y en el 24% a las 96 h tras la infección (figura 9B).

Adicionalmente, las larvas infectadas con el baculovirus modificado por el casete de expresión de la presente invención presentaron un aumento del 30% en la supervivencia (figura 10). Esto representa un aumento significativo en la recuperación de biomasa de insecto durante el procedimiento de producción.

Posteriormente, se estudió la productividad de 100 larvas infectadas con el baculovirus convencional anterior y el baculovirus de la invención considerando tanto el rendimiento de producción de Cap determinado mediante análisis de proteínas microfluídico (Experion™; BioRad™, EE.UU.) y la biomasa de insecto recuperada tras la infección. Se estudió la productividad a las 72 y 96 h tras la infección con 5×10^5 UFP del respectivo baculovirus. El baculovirus que contenía el casete de expresión de la invención, es decir *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10Cap*, aumentó la productividad de la proteína Cap en larvas de insecto infectadas con respecto al baculovirus convencional en aproximadamente 3,5 veces a las 72 h tras la infección y 2 veces a las 96 h tras la infección (figura 11). Cien larvas infectadas con el baculovirus que contenía el casete de expresión *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10Cap* podían producir aproximadamente 300 mg de proteína Cap recombinante a las 96 h tras la infección, mientras que las larvas infectadas con el baculovirus convencional solo producían 150 mg (figura 11).

Ejemplo 7. Virus y cultivos celulares.

Las líneas celulares de *Spodoptera frugiperda* Sf21 o Sf9 se cultivaron en placas de cultivo tisulares de 6 pocillos (1×10^6 células/pocillo) en medio de insecto TNM-FH (Pan Biotech™, Alemania) que contenía el 10% suero bovino fetal inactivado por calor (Pan Biotech™, Alemania) a 27°C.

Se infectaron las células confluentes Sf9 o Sf21 en monocapa (1×10^6 células/pocillo) con el baculovirus a diferentes multiplicidades de infección (desde 0,01 hasta 10). En suspensión, se infectaron células Sf9 (2×10^6 células/ml) igualmente a diferentes multiplicidades de infección. Se analizaron las células infectadas a desde 16 hasta 120 h tras la infección.

Ejemplo 8. Generación de los vectores donadores y de clonación de la invención

Se usó un plásmido pUC57 que contenía el casete de expresión de baculovirus de la presente invención como vector de clonación. Se clonaron el gen que codifica para la proteína Cap (ORF2 a partir de circovirus porcino de tipo 2), el gen que codifica para la proteína VP60 (virus de la enfermedad hemorrágica del conejo) o el gen que codifica para la proteína L1 (virus de papiloma humano 16) en el MCS de un plásmido de clonación usando los sitios de restricción Xho I y Nco I. Tras la introducción de la proteína que forma VLP que codifica para genes, el vector de clonación pasar a ser el vector donador.

El casete de expresión de baculovirus en el vector donador está bordeado por sitios de restricción específicos (por ejemplo BglII y BstZ17I en el extremo 5'-terminal y BglII y SgfI en el extremo 3'-terminal) para facilitar la subclonación a un vector de transferencia de un sistema de generación de baculovirus comercial (por ejemplo, basándose en la transposición tal como el sistema "Bac-to-Bac®"; invitrogen™).

Ejemplo 9. Generación del vector de transferencias de la invención

Se generaron los vectores de transferencia digiriendo los vectores donadores anteriores con *Bst*Z17I en el extremo 5'-terminal del casete de expresión y con *Hind* III en el extremo 3'-terminal del casete de expresión. En este caso, como resultado de la subclonación, la señal SV40 de poliadenilación del casete de expresión de baculovirus se intercambia por la señal SV40 de poliadenilación del vector de transferencia. Se clonaron en el vector de transferencia pFastBac™1 que se digirió también con las mismas enzimas. Aparte de esto, todos los elementos del casete de expresión se incluyen en el vector de transferencia pFastBac, que sustituye el promotor *polh* y MCS del vector de transferencia comercial original.

Ejemplo 10. Generación de vectores de expresión de baculovirus de la invención usando el sistema "Bac-to-Bac®"

Se usaron los vectores de transferencia pFastBac™1 modificados del ejemplo 9 para generar baculovirus recombinantes mediante el sistema de expresión de baculovirus "Bac-to-Bac®". Más específicamente, se usaron los vectores de transferencia modificados para transformar la cepa de huésped de *E. coli* DH10Bac™ que contiene un vector transportador de baculovirus (bácmido) y un plásmido auxiliar, y permite la generación de los bácmidos recombinantes tras la transposición del casete de expresión. Entonces se usó el ADN de los bácmidos recombinantes que contenía el casete de expresión de baculovirus de la presente invención para transfectar células Sf21 de insecto usando Cellfectin®. 72 h tras la transfección, se recogieron las células y se obtuvo la primera generación de baculovirus recombinantes. Estos baculovirus recombinantes podían entonces ampliarse adicionalmente y/o valorarse según protocolos convencionales.

Para los baculovirus de la invención que se usaron en los ejemplos 4, 5 y 6, es decir *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10Cap*, *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10VP60* y *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10L1*, se clonó el ADNc de *Ac-ie-01* bajo el control del promotor *polh*. En el mismo baculovirus, pero en otro locus, se clonaron las *Cap*, *VP60* o *L1* que codifican para genes en el sentido de 3' del promotor quimérico *hr1p6,9p10* que se sintetizó previamente y contiene la región homóloga *hr1* unida operativamente a los promotores *p6,9* y *p10*. Una representación esquemática del casete de expresión resultante de baculovirus de la presente invención se muestra en la figura 4. El casete de expresión de este baculovirus, es decir *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10Cap*, está representado por SEQ ID NO: 30. Específicamente, se usó una versión de este casete de expresión con una señal de poliadenilación génica de *Cap* de SV40 en los ejemplos (SEQ ID NO: 56). También se usaron los casetes de expresión *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10VP60* y *polhAc-ie-01/hr1p6,9p10L1* de los ejemplos con una señal SV40 de poliadenilación y están representados por SEQ ID NO: 55 y 54, respectivamente.

De manera similar, se generaron los otros baculovirus mediante la misma metodología de los ejemplos 8-10.

Ejemplo 11. Preparación de muestra de proteína.

Se recogieron células infectadas de cada punto de tiempo (1×10^6) y se centrifugaron a 14000 x g durante 5 min a 4°C. Se retiraron los sobrenadantes y se resuspendieron los granulados celulares en PBS y se sometieron a tres ciclos de congelación (-196°C) y descongelación (37°C). Se retiraron los desechos celulares mediante centrifugación.

Ejemplo 12. Estudio de transcurso de tiempo de expresión de proteínas.

Se infectaron células Sf9, Sf21 o Hi-5™ con los diferentes baculovirus recombinantes que expresaban proteína *Cap* bajo el control de diferentes elementos regulatorios, potenciadores y promotores, usando una MOI de 5 o 0,1 tal como se indica. Se recogieron cultivos celulares a diversos puntos de tiempo (24, 48, 72, 96 y 120 h tras la infección) y se analizó la expresión de proteínas recombinantes mediante SDS-PAGE seguida por tinción con azul de Coomassie y/o inmunotransferencia de tipo Western.

Se llevó a cabo la cuantificación de las proteínas recombinantes mediante dos metodologías. Una implicaba el uso de inmunotransferencia de tipo Western cuantitativa con un anticuerpo monoclonal específico y posterior análisis mediante el sistema de obtención de imágenes en gel XRS ChemiDoc™ (Bio-Rad™, EE.UU.) usando proteínas complementarias purificadas para llevar a cabo una curva de cuantificación patrón. Una segunda técnica implicaba el uso de perlas Pro260 (Bio-Rad™) y electroforesis capilar usando el sistema Experion™ (Bio-Rad™), según las instrucciones del fabricante. Se realizó la electroforesis de las muestras a través de microcanales controlando el voltaje aplicado y la energía eléctrica. Las perlas microfluidicas permitían varios procedimientos secuenciales incluyendo separación, tinción, decoloración, detección y análisis básico de datos sin necesidad alguna de la intervención del usuario. El sistema Experion™ revelaba y cuantificaba muestras de proteína de desde 10 hasta 260 kDa en tamaño, con una alta sensibilidad, comparable a la tinción en gel SDS-PAGE con azul de Coomassie coloidal. Para la cuantificación, se usó una escala Pro260 en el sistema Experion™, que es una versión modificada del patrón Precision Plus Protein™ que se ha optimizado para su uso en este sistema.

Ejemplo 13. Crianza e infección de larvas de insecto.

Se criaron larvas de *Trichoplusia ni* (falso medidor) en condiciones de bioseguridad de nivel 2. Se colocaron los huevos en jaulas de desarrollo de larvas diseñadas especialmente que contenían una dieta de insecto artificiales

mantuvieron en cámaras de crecimiento a 22°C bajo humedad controlada (50%) y condiciones periódicas de luz (8 h/día).

Se usaron para todos los experimentos larvas de *Trichoplusia ni* (falso medidor) de quinta fase (larvas de última fase antes de la pupación). El peso estándar de cada larva era de aproximadamente 120-130 mg y se inyectaron larvas cerca de las falsas patas (anterior a la cavidad corporal) con 5 µl de baculovirus recombinantes diluidos para alcanzar el número de UFP por dosis seleccionada. Se procesaron las larvas a 72 o 96 h tras la infección. Se congelaron las larvas recogidas inmediatamente para almacenarlas a -20°C hasta que se procesaran para la cuantificación de proteína recombinante. Se obtuvieron las proteínas totales solubles, no desnaturalizadas (TSNDP) de las larvas *T. ni* congeladas infectadas mediante el baculovirus mediante homogenización usando una mezcladora Bag Mixer® (Interscience™, Francia) durante 2 min. El tampón de extracción estaba compuesto por PBS 1x, Triton X-100 al 0,01%, cóctel inhibidor de proteasa completo (Roche™, Alemania), y DTT 25 mM.

Ejemplo 14. Análisis de inmunotransferencia de tipo Western.

Se revelaron las fracciones de proteína soluble total (10 µg) de células infectadas con los baculovirus recombinantes en geles SDS-PAGE al 15%. Se tiñeron los geles mediante el método de tinción con azul de Coomassie o se transfirieron a membranas nitrocelulosa. Se probaron las inmunotransferencias de tipo Western con el anticuerpo monoclonal anti-Cap (I36A; Ingenasa™, España) a 1:1000 o con el anticuerpo monoclonal anti L1 HPV16 (Camvir1; AbCam, EE.UU.) a 1:1000, y se visualizaron los inmunocomplejos con el conjugado marcado con peroxidasa de rábano (HRP)-anti-IgG de ratón (KPL™, R.U.), diluido a 1:2.000 o mediante un conjugado marcado con peroxidasa de rábano (HRP)-anti-IgG de conejo (KPL™, UK), diluido 1:2.000 respectivamente como anticuerpo secundario. Se detectaron bandas de proteína usando un sistema de detección de inmunotransferencia de tipo Western ECL y se analizó mediante el sistema de obtención de imágenes en gel XRS ChemiDoc™ (Bio-Rad™, EE.UU.).

Bibliografía

1. Nettleship, J.E., Assenberg, R., Diprose, J.M., Rahman-Huq, N., Owens, R.J. Recent advances in the production of proteins in insect and mammalian cells for structural biology. *J. Struct. Biol.* 2010,172, 55-65.
2. Gomez-Casado E, Gomez-Sebastian S, Núñez MC, Lasa-Covarrubias R, Martínez-Pulgarín S, Escribano JM. Insect larvae biofactories as a platform for influenza vaccine production. *Protein Expr Purif.* 79: 35-43. 2011.
3. Smith, G.E., M.D. Summers, and M.J. Fraser. 1983. Production of human beta interferon in insect cells infected with a baculovirus expression vector. *Mol. Cell. Biol.* 3: 2156-21 65.
4. Hitchman RB, Possee RD, King LA. Baculovirus expression systems for recombinant protein production in insect cells. *Recent Pat Biotechnol.* 2009;3(1):46-54.
5. Hashimoto, Y., S. Zhang, Y. R. Chen and G. W. Blissard (2012). "BTI-Tnao38, a new cell line derived from *Trichoplusia ni*, is permissive for AcMNPV infection and produces high levels of recombinant proteins." *BMC Biotechnol* 12: 12.
6. Taticek RA, Choi C, Phan SE, Palomares LA, Shuler ML. Comparison of growth and recombinant protein expression in two different insect cell lines in attached and suspension culture. *Biotechnol. Prog.* 2001, 17 (4), 676-684.
7. Hill-Perkins MS, Possee RD. A baculovirus expression vector derived from the basic protein promotor of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus. *J Gen Virol.* 1990, 71 (Pt 4):971-6.
8. Taryn MS, Huijskens I, Willis LG, Theilmann DA. The *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus ie0- ie1 gen complex is essential for wild-type virus replication, but either IE0 or IE1 can support virus growth. *Journal of Virology*, 2005, Vol. 79 (No. 8): 4619-4629
9. Passarelli, A. L., and L. K. Miller. Three baculovirus genes involved in late and very late gen expression: ie-1, ie-n, and lef-2. *J. Virol.* 1993, 67:2149-2158.
10. Rodems, S. M., S. S. Pullen, and P. D. Friesen. ADN-dependent transregulation by IE1 of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus: IE1 domains required for transactivation and ADN binding. *J. Virol.* 1997, 71: 9270-9277.
11. Lin X, Chen Y, Yi Y, Zhang Z: Baculovirus immediately early 1, a mediator for homologous regions potenciador function in trans. *Virol J* 2010, 7:32.
12. Okano K, Mikhailov VS, Maeda S: Colocalization of baculovirus IE-1 and two ADN-binding proteins, DBP and LEF-3, to viral replication factories. *Journal of virology* 1999, 73(1):110-119.

Lista de secuencias

<110> ALTERNATIVE GEN EXPRESSION S.L.

5 <120> SISTEMA DE EXPRESIÓN DE VECTOR DE BACULOVIRUS PARA LA EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES (EN PARTICULAR, LAS QUE FORMAN PARTÍCULAS DE TIPO VIRUS)

<130> 169 570

10 <150> EP 12 196 120.5
<151> 07-12-2012

<160> 56

15 <170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1911

<212> ADN

20 <213> Nucleopolihedrovirus *Autographa californica*

<400> 1

atgatccgta catccagcca cgtcctgaac gtccaagaaa acatcatgac ttccaactgt	60
gcttccagcc cctactcctg tgaggccact tcagcctgcg ctgaggccca gcaactgcag	120
gtggacacag gtggcgataa gatcgtgaac aaccaggtca ccatgactca aatcaacttc	180
aacgcttcct acacctctgc cagcactccc tctcgtgcta gcttcgacaa ctcatactcg	240
gagttctgcg acaagcaacc taacgattac ttgtcttact acaaccaccc aacccccggac	300
ggagctgata ctgtcatctc cgactctgaa accgctgccc ctagcaactt cctcgcctca	360
gttaactcgc tcaactgacaa cgatttggtg gagtgtctgc tcaagaccac tgacaacctg	420
gaggaagctg tgtcctctgc ctactacagc gagtcactcg aacagccagt ggtcgaacaa	480
ccctctccta gctcagctta ccacgccgag tccttcgaac actctgctgg tgtcaaccag	540
ccgtcggcca caggcaccaa gaggaagttg gacgagtacc tggataactc ccagggagtt	600
gtgggtcaat tcaacaagat caagttgaga cctaagtaca agaagagcac catccagtca	660
tgcgctacac tggaacaaac catcaaccac aacactaaca tctgtacagt ggcttccacc	720
caggagatca ctcaactact cacaacgac ttcgccccct acctgatgag gttcgacgat	780
aacgactaca actcgaacag attctccgat cacatgtctg aaaccggtta ctacatgttc	840
gtcgttaaga agtccgaggt gaagcctttc gaaatcatct tcgccaagta cgtctctaac	900
gtgggtctacg agtacacaaa caactactac atggttgaca accgtgtgtt cgttgtgacc	960
ttcgataaga tccgcttcat gatcagctac aacctgggta aggagactgg catcgaaatc	1020
ccacactcac aggacgtctg caacgatgag accgccgctc aaaactgcaa gaagtgtcac	1080
ttcgtggacg tccaccacac attcaaggcc gctctgacct cctacttcaa cctcgatatg	1140
tactacgctc agacaacctt cgtgaccttg ctgcaatcac tcggcgagcg taagtgtgga	1200

ttcctcttgt cgaagttgta cgagatgtac caggacaaga acctcttcac tttgcccatac 1260
atgctgagcc gcaaggaatc aaacgagatc gaaaccgcct ctaacaactt ctctgtctcg 1320
ccatacgttt cccagatcct caagtactcg gagtccgtcc aattcccga caaccctccc 1380
aacaagtacg tcgttgataa cctgaacctc atcgtgaaca agaagagcac tctgacatac 1440
aagtactcgt ccgtcgctaa cctgctcttc aacaactaca agtaccacga caacatcgct 1500
tctaacaaca acgccgagaa cctcaagaag gtcaagaagg aagacggaag catgcacatc 1560
gttgagcagt acttgactca aaacgtcgat aacgttaagg gtcacaactt catcgtgttg 1620
tccttcaaga acgaggaaa gctgaccatc gctaagaaga acaaggagtt ctactggatc 1680
tctggcgaaa tcaaggacgt tgatgtgagc caggatcatc aaaagtacaa cagattcaag 1740
caccacatgt tcgtgatcgg caaggtcaac cgtcgcgagt caactacact gcacaacaac 1800
ttgctgaagc tcttggcctt gatcctgcag ggactgggtgc cactctccga cgccatcaca 1860
ttcgccgagc aaaagctcaa ctgcaagtac aagaagttcg agttcaacta a 1911

<210> 2

<211> 1749

<212> ADN

<213> Nucleopolihedrovirus *Autographa californica*

<400> 2

atgactcaaa tcaacttcaa cgcttcctac acctctgccg gcactccctc tcgtgctagc 60
ttcgacaact catactcgga gttctgcgac aagcaacctc acgattactt gtcttactac 120
aaccacccaa ccccgacgag agctgatact gtcactctccg actctgaaac cgctgccgct 180
agcaacttcc tcgcctcagt taactcgctc actgacaacg atttgggtgga gtgtctgctc 240
aagaccactg acaacctgga ggaagctgtg tcctctgcct actacagcga gtcactcgaa 300
cagccagtgg tcgaacaacc ctctcctagc tcagcttacc acgccgagtc ctctgaacac 360
tctgctggtg tcaaccagcc gtcggccaca ggcaccaaga ggaagttgga cgagtacctg 420
gataactccc agggagttgt gggctcaattc aacaagatca agttgagacc taagtacaag 480
aagagcacca tccagtcagt cgctacactg gaacaaacca tcaaccacaa cactaacatc 540
tgtacagtgg ctccacccca ggagatcact cactacttca caaacgactt cgccccctac 600
ctgatgaggt tcgacgataa cgactacaac tcgaacagat tctccgatca catgtctgaa 660
accggttact acatgttcgt cgtaagaag tccgaggtga agcctttcga aatcatcttc 720
gccaaagtacg tctctaactg ggtctacgag tacacaaaca actactacat ggttgacaac 780
cgtgtgttcg ttgtgacctt cgataagatc cgcttcatga tcagctacaa cctgggttaag 840
gagactggca tcgaaatccc acactcacag gacgtctgca acgatgagac cgccgctcaa 900
aactgcaaga agtgtcactt cgtggacgct caccacacat tcaaggccgc tctgacctcc 960

tacttcaacc	tcgatatgta	ctacgctcag	acaaccttcg	tgaccttgct	gcaatcactc	1020
ggcgagcgta	agtgtggatt	cctcttgtcg	aagttgtacg	agatgtacca	ggacaagaac	1080
ctcttcactt	tgcccatcat	gctgagccgc	aaggaatcaa	acgagatcga	aaccgcctct	1140
aacaacttct	tcgtctcgcc	atacgtttcc	cagatcctca	agtactcgga	gtccgtccaa	1200
ttcccgga	accctcccaa	caagtacgtc	gttgataacc	tgaacctcat	cgtgaacaag	1260
aagagcactc	tgacatacaa	gtactcgtcc	gtcgctaacc	tgctcttcaa	caactacaag	1320
taccacgaca	acatcgcttc	taacaacaac	gccgagaacc	tcaagaaggt	caagaaggaa	1380
gacggaagca	tgcacatcgt	tgagcagtac	ttgactcaaa	acgtcgataa	cgttaagggt	1440
cacaacttca	tcgtgttgtc	cttcaagaac	gaggaaaggc	tgacctcgc	taagaagaac	1500
aaggagtctc	actggatctc	tggcgaaatc	aaggacgttg	atgtgagcca	ggtcatccaa	1560
aagtacaaca	gattcaagca	ccacatgttc	gtgatcggca	aggtcaaccg	tcgcgagtca	1620
actacactgc	acaacaactt	gctgaagctc	ttggccttga	tcttcgaggg	actggtgcc	1680
ctctccgacg	ccatcacatt	cgccgagcaa	aagctcaact	gcaagtacaa	gaagttcgag	1740
ttcaactaa						1749

<210> 3

<211> 1911

<212> ADN

<213> Nucleopolihedrovirus *Autographa californica*

<400> 3

atgatccgta	catccagcca	cgctcctgaac	gtccaagaaa	acatcatgac	ttccaactgt	60
gcttccagcc	cctactcctg	tgaggccact	tcagcctgcg	ctgaggccca	gcaactgcag	120
gtggacacag	gtggcgataa	gatcgtgaac	aaccaggtca	ccatgactca	aatcaacttc	180
aacgcttcct	acacctctgc	cagcactccc	tctcgtgcta	gcttcgacaa	ctcactactcg	240
gagttctgcg	acaagcaacc	taacgattac	ttgtcttact	acaaccaccc	aaccccgagc	300
ggagctgata	ctgtcatctc	cgactctgaa	accgctgccc	ctagcaactt	cctcgcctca	360
gttaactcgc	tactgacaa	cgatttggtg	gagtgtctgc	tcaagaccac	tgacaacctg	420
gaggaagctg	tgtcctctgc	ctactacagc	gagtcactcg	aacagccagt	ggtcgaacaa	480
ccctctccta	gctcagctta	ccacgccgag	tccttcgaac	actctgctgg	tgtcaaccag	540
ccgtcggcca	caggcaccaa	gaggaagttg	gacgagtacc	tggataactc	ccagggagtt	600
gtgggtcaat	tcaacaagat	caagttgaga	cctaagtaca	agaagagcac	catccagtca	660
tgcgctacac	tgaacaaaac	catcaaccac	aacactaaca	tctgtacagt	ggcttccacc	720
caggagatca	ctcactactt	cacaaacgac	ttcgccccct	acctgatgag	gttcgacgat	780
aacgactaca	actcgaacag	attctccgat	cacatgtctg	aaaccggtta	ctacatgttc	840

gtcgttaaga agtccgaggt gaagcctttc gaaatcatct tcgccaagta cgtctctaac	900
gtggtctacg agtacacaaa caactactac atggttgaca accgtgtgtt cgttgtgacc	960
ttcgataaga tccgcttcat gatcagctac aacctgggta aggagactgg catcgaaatc	1020
ccacactcac aggacgtctg caacgatgag accgccgctc aaaactgcaa gaagtgtcac	1080
ttcgtggacg tccaccacac attcaaggcc gctctgacct cctacttcaa cctcgatatg	1140
tactacgctc agacaacctt cgtgaccttg ctgcaatcac tcggcgagcg taagtgtgga	1200
ttcctcttgt cgaagttgta cgagatgtac caggacaaga acctcttcac tttgcccac	1260
atgctgagcc gcaaggaatc aaacgagatc gaaaccgcct ctaacaactt cttcgtctcg	1320
ccatacgttt cccagatcct caagtactcg gagtccgtcc aattcccgga caaccctccc	1380
aacaagtacg tcgttgataa cctgaacctc atcgtgaaca agaagagcac tctgacatac	1440
aagtactcgt ccgtcgctaa cctgctcttc aacaactaca agtaccacga caacatcgct	1500
tctaacaaca acgccgagaa cctcaagaag gtcaagaagg aagacggaag catgcacatc	1560
gttgagcagt acttgactca aaacgtcgat aacgttaagg gtcacaactt catcgtgttg	1620
tccttcaaga acgaggaaaag gctgaccatc gctaagaaga acaaggagtt ctactggatc	1680
tctggcgaaa tcaaggacgt tgatgtgagc caggatcatcc aaaagtacaa cagattcaag	1740
caccacatgt tcgtgatcgg caagggtcaac cgtcgagagt caactacact gcacaacaac	1800
ttgctgaagc tcttggcctt gatcctgcag ggactgggtgc cactctccga cgccatcaca	1860
ttcgccgagc aaaagctcaa ctgcaagtac aagaagttcg agttcaacta a	1911

<210> 4

<211> 666

<212> ADN

<213> Nucleopolihedrovirus *Autographa californica*

<400> 4

atgactcaaa tcaacttcaa cgcttcctac acctctgcca gcactccctc tcgtgctagc	60
ttcgacaact catactcgga gttctgagc aagcaacctt acgattactt gtcttactac	120
aaccacccaa ccccgagcgg agctgatact gtcactctccg actctgaaac cgctgccgct	180
agcaacttcc tcgcctcagt taactcgctc actgacaacg atttgggtgga gtgtctgctc	240
aagaccactg acaacctgga ggaagctgtg tcctctgcct actacagcga gtcactcgaa	300
cagccagtgg tcgaacaacc ctctcctagc tcagcttacc acgccgagtc cttcgaacac	360
tctgctggtg tcaaccagcc gtcggccaca ggcaccaaga ggaagttgga cgagtacctg	420
gataactccc agggagttgt ggggtcaattc aacaagatca agttgagacc taagtacaag	480
aagagcacca tccagtcatg cgctacactg gaacaaacca tcaaccacaa cactaacatc	540
tgtacagtgg cttccacca ggagatcact cactacttca caaacgactt cgccccctac	600

ctgatgaggt tcgacgataa cgactacaac tcgaacagat tctccgatca catgtctgaa 660
 accggt 666
 <210> 5
 <211> 828
 5 <212> ADN
 <213> Nucleopolihedrovirus *Autographa californica*
 <400> 5
 atgatccgta catccagcca cgtcctgaac gtccaagaaa acatcatgac ttccaactgt 60
 gcttccagcc cctactcctg tgaggccact tcagcctgcg ctgaggccca gcaactgcag 120
 gtggacacag gtggcgataa gatcgtgaac aaccaggtca ccatgactca aatcaacttc 180
 aacgcttcct acacctctgc cagcactccc tctcgtgcta gcttcgacaa ctcatactcg 240
 gagttctgcg acaagcaacc taacgattac ttgtcttact acaaccaccc aaccccgagc 300
 ggagctgata ctgtcatctc cgactctgaa accgctgccc ctagcaactt cctcgccctca 360
 gttaactcgc tcaactgacaa cgatttggtg gagtgtctgc tcaagaccac tgacaacctg 420
 gaggaagctg tgtcctctgc ctactacagc gagtcactcg aacagccagt ggtcgaacaa 480
 ccctctccta gctcagctta ccacgccgag tccttcgaac actctgctgg tgtcaaccag 540
 ccgtcggcca caggcaccaa gaggaagttg gacgagtacc tggataactc ccaggaggtt 600
 gtgggtcaat tcaacaagat caagttgaga cctaagtaca agaagagcac catccagtca 660
 tgcgctacac tggaacaaac catcaaccac aacactaaca tctgtacagt ggcttccacc 720
 caggagatca ctcaactact cacaacgac ttcgccccct acctgatgag gttcgacgat 780
 aacgactaca actcgaacag attctccgat cacatgtctg aaaccggt 828
 10 <210> 6
 <211> 582
 <212> PRT
 15 <213> Nucleopolihedrovirus *Autographa californica*
 <400> 6
 Met Thr Gln Ile Asn Phe Asn Ala Ser Tyr Thr Ser Ala Ser Thr Pro
 1 5 10 15
 Ser Arg Ala Ser Phe Asp Asn Ser Tyr Ser Glu Phe Cys Asp Lys Gln
 20 25 30
 Pro Asn Asp Tyr Leu Ser Tyr Tyr Asn His Pro Thr Pro Asp Gly Ala
 35 40 45
 Asp Thr Val Ile Ser Asp Ser Glu Thr Ala Ala Ala Ser Asn Phe Leu
 50 55 60

ES 2 554 752 T3

Ala	Ser	Val	Asn	Ser	Leu	Thr	Asp	Asn	Asp	Leu	Val	Glu	Cys	Leu	Leu	65	70	75	80
Lys	Thr	Thr	Asp	Asn	Leu	Glu	Glu	Ala	Val	Ser	Ser	Ala	Tyr	Tyr	Ser	85	90	95	
Glu	Ser	Leu	Glu	Gln	Pro	Val	Val	Glu	Gln	Pro	Ser	Pro	Ser	Ser	Ala	100	105	110	
Tyr	His	Ala	Glu	Ser	Phe	Glu	His	Ser	Ala	Gly	Val	Asn	Gln	Pro	Ser	115	120	125	
Ala	Thr	Gly	Thr	Lys	Arg	Lys	Leu	Asp	Glu	Tyr	Leu	Asp	Asn	Ser	Gln	130	135	140	
Gly	Val	Val	Gly	Gln	Phe	Asn	Lys	Ile	Lys	Leu	Arg	Pro	Lys	Tyr	Lys	145	150	155	160
Lys	Ser	Thr	Ile	Gln	Ser	Cys	Ala	Thr	Leu	Glu	Gln	Thr	Ile	Asn	His	165	170	175	
Asn	Thr	Asn	Ile	Cys	Thr	Val	Ala	Ser	Thr	Gln	Glu	Ile	Thr	His	Tyr	180	185	190	
Phe	Thr	Asn	Asp	Phe	Ala	Pro	Tyr	Leu	Met	Arg	Phe	Asp	Asp	Asn	Asp	195	200	205	
Tyr	Asn	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser	Asp	His	Met	Ser	Glu	Thr	Gly	Tyr	Tyr	210	215	220	
Met	Phe	Val	Val	Lys	Lys	Ser	Glu	Val	Lys	Pro	Phe	Glu	Ile	Ile	Phe	225	230	235	240
Ala	Lys	Tyr	Val	Ser	Asn	Val	Val	Tyr	Glu	Tyr	Thr	Asn	Asn	Tyr	Tyr	245	250	255	
Met	Val	Asp	Asn	Arg	Val	Phe	Val	Val	Thr	Phe	Asp	Lys	Ile	Arg	Phe	260	265	270	
Met	Ile	Ser	Tyr	Asn	Leu	Val	Lys	Glu	Thr	Gly	Ile	Glu	Ile	Pro	His	275	280	285	
Ser	Gln	Asp	Val	Cys	Asn	Asp	Glu	Thr	Ala	Ala	Gln	Asn	Cys	Lys	Lys	290	295	300	
Cys	His	Phe	Val	Asp	Val	His	His	Thr	Phe	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Ser	305	310	315	320

ES 2 554 752 T3

Tyr Phe Asn Leu Asp Met Tyr Tyr Ala Gln Thr Thr Phe Val Thr Leu
325 330 335

Leu Gln Ser Leu Gly Glu Arg Lys Cys Gly Phe Leu Leu Ser Lys Leu
340 345 350

Tyr Glu Met Tyr Gln Asp Lys Asn Leu Phe Thr Leu Pro Ile Met Leu
355 360 365

Ser Arg Lys Glu Ser Asn Glu Ile Glu Thr Ala Ser Asn Asn Phe Phe
370 375 380

Val Ser Pro Tyr Val Ser Gln Ile Leu Lys Tyr Ser Glu Ser Val Gln
385 390 395 400

Phe Pro Asp Asn Pro Pro Asn Lys Tyr Val Val Asp Asn Leu Asn Leu
405 410 415

Ile Val Asn Lys Lys Ser Thr Leu Thr Tyr Lys Tyr Ser Ser Val Ala
420 425 430

Asn Leu Leu Phe Asn Asn Tyr Lys Tyr His Asp Asn Ile Ala Ser Asn
435 440 445

Asn Asn Ala Glu Asn Leu Lys Lys Val Lys Lys Glu Asp Gly Ser Met
450 455 460

His Ile Val Glu Gln Tyr Leu Thr Gln Asn Val Asp Asn Val Lys Gly
465 470 475 480

His Asn Phe Ile Val Leu Ser Phe Lys Asn Glu Glu Arg Leu Thr Ile
485 490 495

Ala Lys Lys Asn Lys Glu Phe Tyr Trp Ile Ser Gly Glu Ile Lys Asp
500 505 510

Val Asp Val Ser Gln Val Ile Gln Lys Tyr Asn Arg Phe Lys His His
515 520 525

Met Phe Val Ile Gly Lys Val Asn Arg Arg Glu Ser Thr Thr Leu His
530 535 540

Asn Asn Leu Leu Lys Leu Leu Ala Leu Ile Leu Gln Gly Leu Val Pro
545 550 555 560

Leu Ser Asp Ala Ile Thr Phe Ala Glu Gln Lys Leu Asn Cys Lys Tyr
565 570 575

Lys Lys Phe Glu Phe Asn

ES 2 554 752 T3

580

<210> 7

<211> 636

5 <212> PRT

<213> Nucleopolihedrovirus *Autographa californica*

<400> 7

Met Ile Arg Thr Ser Ser His Val Leu Asn Val Gln Glu Asn Ile Met
1 5 10 15

Thr Ser Asn Cys Ala Ser Ser Pro Tyr Ser Cys Glu Ala Thr Ser Ala
20 25 30

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

Val Asn Asn Gln Val Thr Met Thr Gln Ile Asn Phe Asn Ala Ser Tyr
50 55 60

Thr Ser Ala Ser Thr Pro Ser Arg Ala Ser Phe Asp Asn Ser Tyr Ser
65 70 75 80

Glu Phe Cys Asp Lys Gln Pro Asn Asp Tyr Leu Ser Tyr Tyr Asn His
85 90 95

Pro Thr Pro Asp Gly Ala Asp Thr Val Ile Ser Asp Ser Glu Thr Ala
100 105 110

Ala Ala Ser Asn Phe Leu Ala Ser Val Asn Ser Leu Thr Asp Asn Asp
115 120 125

Leu Val Glu Cys Leu Leu Lys Thr Thr Asp Asn Leu Glu Glu Ala Val
130 135 140

Ser Ser Ala Tyr Tyr Ser Glu Ser Leu Glu Gln Pro Val Val Glu Gln
145 150 155 160

Pro Ser Pro Ser Ser Ala Tyr His Ala Glu Ser Phe Glu His Ser Ala
165 170 175

Gly Val Asn Gln Pro Ser Ala Thr Gly Thr Lys Arg Lys Leu Asp Glu
180 185 190

Tyr Leu Asp Asn Ser Gln Gly Val Val Gly Gln Phe Asn Lys Ile Lys
195 200 205

ES 2 554 752 T3

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

ES 2 554 752 T3

450 455 460
 Val Asp Asn Leu Asn Leu Ile Val Asn Lys Lys Ser Thr Leu Thr Tyr
 465 470 475 480
 Lys Tyr Ser Ser Val Ala Asn Leu Leu Phe Asn Asn Tyr Lys Tyr His
 485 490 495
 Asp Asn Ile Ala Ser Asn Asn Asn Ala Glu Asn Leu Lys Lys Val Lys
 500 505 510
 Lys Glu Asp Gly Ser Met His Ile Val Glu Gln Tyr Leu Thr Gln Asn
 515 520 525
 Val Asp Asn Val Lys Gly His Asn Phe Ile Val Leu Ser Phe Lys Asn
 530 535 540
 Glu Glu Arg Leu Thr Ile Ala Lys Lys Asn Lys Glu Phe Tyr Trp Ile
 545 550 555 560
 Ser Gly Glu Ile Lys Asp Val Asp Val Ser Gln Val Ile Gln Lys Tyr
 565 570 575
 Asn Arg Phe Lys His His Met Phe Val Ile Gly Lys Val Asn Arg Arg
 580 585 590
 Glu Ser Thr Thr Leu His Asn Asn Leu Leu Lys Leu Leu Ala Leu Ile
 595 600 605
 Leu Gln Gly Leu Val Pro Leu Ser Asp Ala Ile Thr Phe Ala Glu Gln
 610 615 620
 Lys Leu Asn Cys Lys Tyr Lys Lys Phe Glu Phe Asn
 625 630 635
 <210> 8
 <211> 222
 5 <212> PRT
 <213> Nucleopolihedrovirus *Autographa californica*
 <400> 8
 Met Thr Gln Ile Asn Phe Asn Ala Ser Tyr Thr Ser Ala Ser Thr Pro
 1 5 10 15
 Ser Arg Ala Ser Phe Asp Asn Ser Tyr Ser Glu Phe Cys Asp Lys Gln
 20 25 30
 Pro Asn Asp Tyr Leu Ser Tyr Tyr Asn His Pro Thr Pro Asp Gly Ala

ES 2 554 752 T3

35					40					45						
Asp	Thr	Val	Ile	Ser	Asp	Ser	Glu	Thr	Ala	Ala	Ala	Ala	Ser	Asn	Phe	Leu
50					55					60						
Ala	Ser	Val	Asn	Ser	Leu	Thr	Asp	Asn	Asp	Leu	Val	Glu	Cys	Leu	Leu	
65					70					75					80	
Lys	Thr	Thr	Asp	Asn	Leu	Glu	Glu	Ala	Val	Ser	Ser	Ala	Tyr	Tyr	Ser	
				85					90					95		
Glu	Ser	Leu	Glu	Gln	Pro	Val	Val	Glu	Gln	Pro	Ser	Pro	Ser	Ser	Ala	
			100					105						110		
Tyr	His	Ala	Glu	Ser	Phe	Glu	His	Ser	Ala	Gly	Val	Asn	Gln	Pro	Ser	
		115					120					125				
Ala	Thr	Gly	Thr	Lys	Arg	Lys	Leu	Asp	Glu	Tyr	Leu	Asp	Asn	Ser	Gln	
		130					135					140				
Gly	Val	Val	Gly	Gln	Phe	Asn	Lys	Ile	Lys	Leu	Arg	Pro	Lys	Tyr	Lys	
145						150					155				160	
Lys	Ser	Thr	Ile	Gln	Ser	Cys	Ala	Thr	Leu	Glu	Gln	Thr	Ile	Asn	His	
				165					170					175		
Asn	Thr	Asn	Ile	Cys	Thr	Val	Ala	Ser	Thr	Gln	Glu	Ile	Thr	His	Tyr	
			180					185					190			
Phe	Thr	Asn	Asp	Phe	Ala	Pro	Tyr	Leu	Met	Arg	Phe	Asp	Asp	Asn	Asp	
		195					200					205				
Tyr	Asn	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser	Asp	His	Met	Ser	Glu	Thr	Gly			
	210					215					220					
<210> 9																
<211> 276																
<212> PRT																
<213> Nucleopolihedrovirus <i>Autographa californica</i>																
<400> 9																
Met	Ile	Arg	Thr	Ser	Ser	His	Val	Leu	Asn	Val	Gln	Glu	Asn	Ile	Met	
1				5					10					15		
Thr	Ser	Asn	Cys	Ala	Ser	Ser	Pro	Tyr	Ser	Cys	Glu	Ala	Thr	Ser	Ala	
			20					25					30			
Cys Ala Glu Ala Gln Gln Leu Gln Val Asp Thr Gly Gly Asp Lys Ile																

5

ES 2 554 752 T3

35					40					45					
Val	Asn	Asn	Gln	Val	Thr	Met	Thr	Gln	Ile	Asn	Phe	Asn	Ala	Ser	Tyr
50						55					60				
Thr	Ser	Ala	Ser	Thr	Pro	Ser	Arg	Ala	Ser	Phe	Asp	Asn	Ser	Tyr	Ser
65					70					75					80
Glu	Phe	Cys	Asp	Lys	Gln	Pro	Asn	Asp	Tyr	Leu	Ser	Tyr	Tyr	Asn	His
				85					90					95	
Pro	Thr	Pro	Asp	Gly	Ala	Asp	Thr	Val	Ile	Ser	Asp	Ser	Glu	Thr	Ala
			100					105					110		
Ala	Ala	Ser	Asn	Phe	Leu	Ala	Ser	Val	Asn	Ser	Leu	Thr	Asp	Asn	Asp
			115					120					125		
Leu	Val	Glu	Cys	Leu	Leu	Lys	Thr	Thr	Asp	Asn	Leu	Glu	Glu	Ala	Val
	130					135					140				
Ser	Ser	Ala	Tyr	Tyr	Ser	Glu	Ser	Leu	Glu	Gln	Pro	Val	Val	Glu	Gln
145					150					155					160
Pro	Ser	Pro	Ser	Ser	Ala	Tyr	His	Ala	Glu	Ser	Phe	Glu	His	Ser	Ala
				165					170					175	
Gly	Val	Asn	Gln	Pro	Ser	Ala	Thr	Gly	Thr	Lys	Arg	Lys	Leu	Asp	Glu
			180					185					190		
Tyr	Leu	Asp	Asn	Ser	Gln	Gly	Val	Val	Gly	Gln	Phe	Asn	Lys	Ile	Lys
		195					200					205			
Leu	Arg	Pro	Lys	Tyr	Lys	Lys	Ser	Thr	Ile	Gln	Ser	Cys	Ala	Thr	Leu
	210					215					220				
Glu	Gln	Thr	Ile	Asn	His	Asn	Thr	Asn	Ile	Cys	Thr	Val	Ala	Ser	Thr
225					230					235					240
Gln	Glu	Ile	Thr	His	Tyr	Phe	Thr	Asn	Asp	Phe	Ala	Pro	Tyr	Leu	Met
				245					250					255	
Arg	Phe	Asp	Asp	Asn	Asp	Tyr	Asn	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser	Asp	His	Met
			260					265					270		
Ser	Glu	Thr	Gly												
			275												

<210> 10

	<211> 128		
	<212> ADN		
	<213> Nucleopolihedrovirus <i>Autographa californica</i>		
5	<400> 10		
	atcatggaga taattaaaat gataaccatc tcgcaaataa ataagtatct tactgttttc	60	
	gtaacagttt tgtaataaaa aaacctataa atattccgga ttattcatac cgtcccacca	120	
	tcgggccc	128	
	<210> 11		
	<211> 122		
10	<212> ADN		
	<213> Nucleopolihedrovirus <i>Autographa californica</i>		
	<400> 11		
	atacggacct ttaattcaac ccaacacaat atattatagt taaataagaa ttattatcaa	60	
	atcatttgta tattaattaa aatactatac tgtaaattac attttattta caatcactcg	120	
	ac	122	
15	<210> 12		
	<211> 571		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
20	<220>		
	<223> Promotor quimérico recombinante		
	<400> 12		
	aaaaacatcg attaggggtga ctgaagggtta cattgggggtta gggttatgggt aatacgtaat	60	
	ggtttaacac caaaacgata tcatggattt tatataaggt gtaataatat ttttaatgag	120	
	tggacgcgctc ggggtcaatgt cctgcctatt gacgtcataa catattaggt gattatatta	180	
	aaaatagttt aaactcaaat attacttgca agtttaagtt tcatcataat ctgatcataa	240	
	gtttcaccaca aacagaaacc aaaagcataa ctatcgaata tcttttagctt cccatgaaga	300	
	aagattaccg taaccatcac taggatttta tacgattgta gaaaataaag tattctcagt	360	
	ctcttttcag agcgctataa aaaggggtgc attctcggta agagtacagt tgaactcaca	420	
	tcgagttaac tccacgctgc agtctcgaga tacggacctt taattcaacc caacacaata	480	
	tattatagtt aaataagaat tattatcaaa tcatttgtat attaatataa atactatact	540	
25	gtaaattaca ttttatttac aatcactcga c	571	
	<210> 13		
	<211> 465		
	<212> ADN		
30	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Promotor quimérico recombinante		
35	<400> 13		

	ggtacccaaat tccgttttgc gacgatgcag agtttttgaa caggctgctc aaacacatag	60
	atccgtaccc gctcagtcgg atgtattaca atgcagccaa taccatgttt tacacgacta	120
	tggaaaacta tgccgtgtcc aattgcaagt tcaacattga ggattacaat aacatattta	180
	aggtgatgga aaatattagg aaacacagca acaaaaattc aaacgaccaa gacgagttaa	240
	acatatatattt gggagttcag tcgtcgaatg caaagcgtaa aaaatattaa taaggtaaaa	300
	attacagcta cataaattac acaatttaaa ctgcagtctg gagatacgga cctttaattc	360
	aacccaacac aatatattat agttaataa gaattattat caaatcattt gtatattaat	420
	taaaatacta tactgtaaat tacattttat ttacaatcac tcgac	465
	<210> 14	
	<211> 436	
5	<212> ADN	
	<213> Nucleopolihedrovirus <i>Autographa californica</i>	
	<400> 14	
	aaaaacatcg attaggggtga ctgaagggtta cattgggggta ggttatgggtt aatacgtaat	60
	ggtttaacac caaaacgata tcatggattt tatataaggt gtaataatat ttttaatgag	120
	tggacgcgctc ggggtcaatgt cctgcctatt gacgtcataa catattaggt gattatatta	180
	aaaatagttt aaactcaaatt attacttgca agtttaagtt tcatcataat ctgatcataa	240
	gtttcaccca aacagaaacc aaaagcataa ctatcgaata tctttagctt cccatgaaga	300
	aagattaccg taaccatcac taggatttta tacgattgta gaaaataaag tattctcagt	360
	ctcttttcag agcgctataa aaaggggtgc attctcggtg agagtacagt tgaactcaca	420
	tcgagttaac tccacg	436
10	<210> 15	
	<211> 1199	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Promotor quimérico recombinante	
	<400> 15	
	cttgaatggt agtgaaaccc cctgcgacac aagtattaca ttccttagtg cttgaatcct	60
	ttaggaaaga aaagccaatt ttcaaaatct tagcacttgt taactcgga aaaagaccaa	120
	cagatttccc atactacaat tcgacattag aaatgtaaac ccattatcat tatttacgcc	180
	tcattttccat ccaataataa gttaagtac gttgagataa aactggctta cctagaactt	240
	gacatggcga cctcttgac tctgtatctc aagtcaactt tctctatcca aatatttgat	300
20	aacatttgac atgatattga agtaagattg ttactaaggc ttacattgta atattactga	360

	cgcaagttct ttatcaataa aatagctgaa aacaaaaaaaa aaaacatcga ttaggggtgac	420
	tgaagggttac attggggtag gttatgggta atacgtaatg gtttaacacc aaaacgatata	480
	catggattga ctttataaat tttatataag gtgtaataat atttttaatg agtggacgcg	540
	tcgggtcaat gtcctgccta ttgacgtcat aacatattag gtgattatat taaaaatact	600
	caaatattac ttgcaagttt aagtttcatc ataactctgat cataagtttc acccaaacag	660
	aaaccaaag cataactatc tgctatttga atatctttag cttcccatga agaaagatta	720
	ccgtaaccat cactaggatt ttatacgatt gtagaaaata aagtattctc agtctctttt	780
	cagtttaaaa tctgctggca tttttacaag tcgctgtatc agtcaatggt tatacaatat	840
	gtcaatgtac tttcgtatta atcagaaaaa aatattctac tagttttgat aagctatcac	900
	ttttgttaca ttgtactgcc ctttacagtt catcaggtat ttatgaatga catattggag	960
	aaacatcgta atcagtccag tataaaaagg ggtgcattct cggtaagagt acagttgaac	1020
	tcacatcgag ttaactccac gaatcactag tgaattcgcg gccgctgcag tctcgagata	1080
	cggaccttta attcaaccca acacaatata ttatagttaa ataagaatta ttatcaaata	1140
	atttgtatat taattaaaaat actatactgt aaattacatt ttatttaca tcaactcgac	1199
5	<210> 16 <211> 250 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Promotor quimérico recombinante	
	<400> 16 atcatggaga taattaaaaat gataaccatc tcgcaaataa ataagtattt tactgttttc	60
	gtaacagttt tgtaataaaa aaacctataa atattccgga ttattcatac cgtcccacca	120
	tcgggacgcat acggaccttt aattcaaccc aacacaatat attatagtta aataagaatt	180
	attatcaaata catttgtata ttaattaaaa tactatactg taaattacat tttatttaca	240
	atcactcgac	250
15	<210> 17 <211> 3163 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
20	<220> <223> Casete de expresión recombinante	
	<400> 17 ttagttgaac tcgaacttct tgtacttgca gttgagcttt tgctcggcga atgtgatggc	60
	gtcggagagt ggcaccagtc cctgcaggat caaggccaag agcttcagca agttgttgtg	120
	cagtgtagtt gactcgcgac ggttgacctt gccgatcacg aacatgtggt gcttgaatct	180

gttgtacttt tggatgacct ggctcacatc aacgtccttg atttcgccag agatccagta	240
gaactccttg ttcttcttag cgatgggtcag cctttcctcg ttcttgaagg acaacacgat	300
gaagtttgtga cccttaacgt tatcgacgtt ttgagtcag tactgctcaa cgatgtgcat	360
gcttcogtct tccttcttga ccttcttgag gttctcggcg ttgttggttag aagcgatgtt	420
gtcgtggtac ttgtagtgtg tgaagagcag gttagcgacg gacgagtact tgtatgtcag	480
agtgtctcttc ttgttcacga tgagggttcag gttatcaacg acgtacttgt tgggaggggtt	540
gtccgggaat tggacggact ccgagtactt gaggatctgg gaaacgtatg gcgagacgaa	600
gaagttgtta gaggcgggtt cgatctcgtt tgattccttg cggctcagca tgatgggcaa	660
agtgaagagg ttcttgtcct ggtacatctc gtacaacttc gacaagagga atccacactt	720
acgctcgccg agtgattgca gcaaggtcac gaaggttgtc tgagcgtagt acatatcgag	780
gttgaagtag gaggtcagag cggccttgaa tgtgtggtgg acgtccacga agtgacactt	840
cttgcagttt tgagcggcggt tctcatcgtt gcagacgtcc tgtgagtgtg ggatttcgat	900
gccagtctcc ttaaccaggt tgtagctgat catgaagcgg atcttatcga aggtcacaac	960
gaacacacgg ttgtcaacca tgtagtagtt gtttgtgtac tcgtagacca cgttagagac	1020
gtacttggcg aagatgattt cgaaaggctt cacctcggac ttcttaacga cgaacatgta	1080
gtaaccgggt tcagacatgt gatcggagaa tctgttcgag ttgtagtcgt tatcgtcgaa	1140
cctcatcagg tagggggcga agtcgtttgt gaagtagtga gtgatctcct ggggtggaagc	1200
cactgtacag atgttagtgt tgtggttgat ggtttgttcc agtgtagcgc atgactggat	1260
gggtgtcttc ttgtacttag gtctcaactt gatcttggtt aattgacca caactccctg	1320
ggagttatcc aggtactcgt ccaacttcct cttggtgcct gtggccgacg gctggttgac	1380
accagcagag tgttcgaagg actcggcgtg gtaagctgag ctaggagagg gttgttcgac	1440
cactggctgt tcgagtgact cgctgtagta ggcagaggac acagcttcct ccaggttgtc	1500
agtggtcttg agcagacact ccaccaaatac gttgtcagtg agcgagttaa ctgaggcgag	1560
gaagttgcta gcggcagcgg ttccagagtc ggagatgaca gtatcagctc cgtccgggggt	1620
tgggtggttg tagtaagaca agtaatcgtt aggttgcttg tcgcagaact ccgagtatga	1680
gttgtcgaag ctagcacgag agggagtgtt ggcagagggt taggaagcgt tgaagttgat	1740
ttgagtcag gtgacctggt tgttcacgat cttatcgcca cctgtgtcca cctgcagttg	1800
ctgggcctca gcgcaggctg aagtggcctc acaggagtag gggctggaag cacagttgga	1860
agtcagtgat ttttcttgga cgttcaggac gtggctggat gtacggatca tagatctatt	1920
gggtcatcta gattcgaaag cggccgcgac tagtgagctc gtcgacgtag gcctttgaat	1980
tccgcgcgct tcggaccggg atccgcgccc gatggtggga cggtatgaat aatccggaat	2040

atttataggt	ttttttatta	caaaactggt	acgaaaacag	taaaatactt	atttatttgc	2100
gagatggtta	tcattttaat	tatctccatg	atctattaat	attccggagt	atacatcgat	2160
gttgacccca	acaaaagatt	tataattaat	cataatcacg	aacaacaaca	agtcaatgaa	2220
acaaataaac	aagttgtcga	taaaacattc	ataaatgaca	cagcaacata	caattcttgc	2280
ataataaaaa	tttaaatgac	atcatatttg	agaataacaa	atgacattat	ccctcgattg	2340
tgttttacaa	gtagaattct	acccgtaaag	cgagtttagt	tttgaaaaac	aatgacatc	2400
atttgtataa	tgacatcatc	ccctgattgt	gttttacaa	tagaattcta	tccgtaaagc	2460
gagttcagtt	ttgaaaacaa	atgagtcata	cctaaacacg	ttaataatct	tctgatatca	2520
gcttatgact	caagttatga	gccgtgtgca	aaacatgaga	taagtttatg	acatcatcca	2580
ctgatcgtgc	gttacaagta	gaattctact	cgtaaagcca	gttcggttat	gagccgtgtg	2640
caaaacatga	catcagctta	tgactcatac	ttgattgtgt	tttacgcgta	gaattctact	2700
cgtaaagcga	gttcggttat	gagccgtgtg	caaaacatga	catcagctta	tgagtcataa	2760
ttaatcgtgc	gttacaagta	gaattctact	cgtaaagcga	gttgaaggat	catatttagt	2820
tgcgtttatg	agataagatt	gaaagcacgt	gtaaaatggt	tcccgcgcgt	tggcacaact	2880
atttacaatg	cggccaagtt	ataaaaagatt	ctaactctgat	atgtttttaa	acacctttgc	2940
ggccccgagtt	gtttgcgtac	gtgactagcg	aagaagatgt	gtggaccgca	gaacagatag	3000
taaaacaaaa	ccctagtatt	ggagcaataa	tcgatgagct	catacggacc	tttaattcaa	3060
cccaacacaa	tatattatag	ttaaataaga	attattatca	aatcatttgt	atattaatta	3120
aaatactata	ctgtaaatta	cattttattt	acaatcactc	gac		3163

<210> 18
 <211> 3656
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Casete de expresión recombinante

ttagttgaac	tcgaacttct	tgtacttgca	gttgagcttt	tgctcggcga	atgtgatggc	60
gtcggagagt	ggcaccagtc	cctgcaggat	caaggccaag	agcttcagca	agttgttgtg	120
cagtgtagtt	gactcgcgac	ggttgacctt	gccgatcacg	aacatgtggt	gcttgaatct	180
gttgtacttt	tggatgacct	ggctcacatc	aacgtccttg	atttcgccag	agatccagta	240
gaactccttg	ttcttcttag	cgatggtcag	cctttcctcg	ttcttgaagg	acaacacgat	300
gaagttgtga	cccttaacgt	tatcgacgtt	ttgagtcaag	tactgctcaa	cgatgtgcat	360
gcttcogtct	tccttcttga	ccttcttgag	gttctcggcg	ttgttggttag	aagcgatggt	420
gtcgtgggtac	ttgtagttgt	tgaagagcag	gttagcgacg	gacgagtact	tgtatgtcag	480

agtgtctcttc ttgtttcacga tgagggttcag gttatcaacg acgtacttgt tgggaggggtt	540
gtccgggaat tggacggact ccgagtactt gaggatctgg gaaacgtatg gcgagacgaa	600
gaagttgtta gagggcggttt cgatctcggt tgattccttg cggctcagca tgatgggcaa	660
agtgaagagg ttcttgtcct ggtacatctc gtacaacttc gacaagagga atccacactt	720
acgctcgccg agtgattgca gcaaggtcac gaaggttgtc tgagcgtagt acatatcgag	780
gttgaagtag gaggtcagag cggccttgaa tgtgtggtgg acgtccacga agtgacactt	840
cttgcagttt tgagcggcgg tctcatcggt gcagacgtcc tgtgagtgtg ggatttcgat	900
gccagtctcc ttaaccagggt tgtagctgat catgaagcgg atcttatcga aggtcacaac	960
gaacacacgg ttgtcaacca tgtagtagtt gtttgtgtac tcgtagacca cgtagagac	1020
gtacttggcg aagatgattt cgaaaggctt cacctcggac ttcttaacga cgaacatgta	1080
gtaaccgggt tcagacatgt gatcggagaa tctgttcgag ttgtagtcgt tatcgtcgaa	1140
cctcatcagg tagggggcga agtcgtttgt gaagtagtga gtgatctcct gggtggaagc	1200
cactgtacag atgttagtgt tgtggttgat ggtttgttcc agtgtagcgc atgactggat	1260
gggtgtcttc ttgtacttag gtctcaactt gatcttgttg aattgacca caactccctg	1320
ggagttatcc aggtactcgt ccaacttcct cttggtgcct gtggccgacg gctggttgac	1380
accagcagag tgttcgaagg actcggcgtg gtaagctgag ctaggagagg gttgttcgac	1440
cactggctgt tcgagtgact cgctgtagta ggcagaggac acagcttcct ccaggttgtc	1500
agtggctcttg agcagacact ccaccaaatc gttgtcagtg agcgagttaa ctgaggcgag	1560
gaagttgcta gcggcagcgg ttccagagtc ggagatgaca gtatcagctc cgtccgggggt	1620
tgggtggttg tagtaagaca agtaatcggt aggttgcttg tcgcagaact ccgagtatga	1680
gttgtcgaag ctagcacgag agggagtgtt ggcagagggt taggaagcgt tgaagttgat	1740
ttgagtcagtg gtgacctggt tgttcacgat cttatcgcca cctgtgtcca cctgcagttg	1800
ctgggcctca gcgcaggctg aagtggcctc acaggagtag gggctggaag cacagttgga	1860
agtcagtgatg ttttcttgga cgttcaggac gtggctggat gtacggatca tagatctatt	1920
gggtcatcta gattcgaaag cggccgcgac tagtgagctc gtcgacgtag gcctttgaat	1980
tccgcgcgct tcggaccggg atccgcgccc gatggtggga cggtatgaat aatccggaat	2040
atttataggt ttttttatta caaaactgtt acgaaaacag taaaataactt atttatttgc	2100
gagatggtta tcattttaat tatctccatg atctattaat attccggagt atacatcgat	2160
gttgacccca acaaaagatt tataattaat cataatcacg aacaacaaca agtcaatgaa	2220
acaaataaac aagttgtcga taaaacattc ataaatgaca cagcaacata caattcttgc	2280
ataataaaaa tttaaagac atcatatttg agaataacaa atgacattat ccctcgattg	2340

tgtttttacaa gtagaattct acccgtaaag cgagtttagt tttgaaaaac aaatgacatc	2400
atttggtataa tgacatcatc ccctgattgt gttttacaag tagaattcta tccgtaaagc	2460
gagttcagtt ttgaaaacaa atgagtcata cctaaacacg ttaataatct tctgatataca	2520
gcttatgact caagttatga gccgtgtgca aaacatgaga taagtttatg acatcatcca	2580
ctgatcgtgc gttacaagta gaattctact cgtaaagcca gttcggttat gagccgtgtg	2640
caaaacatga catcagctta tgactcatac ttgattgtgt tttacgcgta gaattctact	2700
cgtaaagcga gttcggttat gagccgtgtg caaaacatga catcagctta tgagtcataa	2760
ttaatcgtgc gttacaagta gaattctact cgtaaagcga gttgaaggat catatttagt	2820
tgcgtttatg agataagatt gaaagcacgt gtaaaatgtt tcccgcgcgt tggcacaact	2880
atttacaatg cggccaagtt ataaaagatt ctaatctgat atgtttttaa acacctttgc	2940
ggcccgagtt gtttgcgtag gtgactagcg aagaagatgt gtggaccgca gaacagatag	3000
taaaacaaaa ccctagtatt ggagcaataa tcgatgagct cgtcgacgta ggcctttgaa	3060
ttccgcgcgcg ttcggaccgg gatccaaaaa catcgattag ggtgactgaa gggtacattg	3120
gggtaggtta tggttaatac gtaatggttt aacaccaaaa cgatatcatg gattttatat	3180
aaggtgtaat aatattttta atgagtggac gcgctcgggtc aatgtcctgc ctattgacgt	3240
cataacatat taggtgatta tattaaaaat agttttaaact caaatattac ttgcaagttt	3300
aagtttcatc ataatctgat cataagtttc acccaaacag aaacccaaaag cataactatc	3360
gaatatcttt agcttcccat gaagaaagat taccgtaacc atcactagga ttttatacga	3420
ttgtagaaaa taaagtattc tcagtctctt ttcagagcgc tataaaaagg ggtgcattct	3480
cggtaagagt acagttgaac tcacatcgag ttaactccac gctgcagtct cgagatacgg	3540
acctttaatt caaccaca caatatatta tagttaata agaattatta tcaaatcatt	3600
tgtatattaa ttaaaatact atactgtaaa ttacatttta tttacaatca ctcgac	3656

<210> 19
 <211> 3541
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Casete de expresión recombinante

ttagttgaac tcgaaacttct tgtacttgca gttgagcttt tgctcggcga atgtgatggc	60
gtcggagaggt ggcaccagtc cctgcaggat caaggccaag agcttcagca agttgttgtg	120
cagtgtagtt gactcgcgac gggtgacctt gccgatcacg aacatgtggg gcttgaatct	180
gttggtacttt tggatgacct ggctcacatc aacgtccttg atttcgccag agatccagta	240
gaactccttg ttcttcttag cgatggtcag cctttcctcg ttcttgaagg acaacacgat	300

gaagtttgtga cccttaacgt tatcgacggt ttgagtcaag tactgctcaa cgatgtgcat	360
gcttccgtct tcttctttga ccttcttgag gttctcggcg ttgtttgttag aagcgatggt	420
gtcgtggtac ttgtagttgt tgaagagcag gttagcgacg gacgagtact tgtatgtcag	480
agtgtctctt ttgttcacga tgagggttcag gttatcaacg acgtacttgt tgggaggggt	540
gtccgggaat tggacggact ccgagtactt gaggatctgg gaaacgtatg gcgagacgaa	600
gaagttgtta gaggcgggtt cgatctcgtt tgattccttg cggctcagca tgatgggcaa	660
agtgaagagg ttcttgtcct ggtacatctc gtacaacttc gacaagagga atccacactt	720
acgctcgccg agtgattgca gcaaggtcac gaaggttgtc tgagcgtagt acatatcgag	780
gttgaagtag gaggtcagag cggccttgaa tgtgtggtgg acgtccacga agtgacactt	840
cttgcagttt tgagcggcgg tctcatcgtt gcagacgtcc tgtgagtgtg ggatttcgat	900
gccagtctcc ttaaccagggt tgtagctgat catgaagcgg atcttatcga aggtcacaac	960
gaacacacgg ttgtcaacca tgtagtagtt gtttgtgtac tcgtagacca cgtagagac	1020
gtacttggcg aagatgattt cgaaaggctt cacctcggac ttcttaacga cgaacatgta	1080
gtaaccgggt tcagacatgt gatcggagaa tctgttcgag ttgtagtcgt tatcgtcgaa	1140
cctcatcagg tagggggcga agtcgtttgt gaagtagtga gtgatctcct gggtggaagc	1200
cactgtacag atgttagtgt tgtggttgat ggtttgttcc agtgtagcgc atgactggat	1260
ggtgtctctt ttgtacttag gtctcaactt gatcttggtg aattgacca caactccctg	1320
ggagttatcc aggtactcgt ccaacttcct cttggtgcct gtggccgacg gctggttgac	1380
accagcagag tgttcgaagg actcggcgtg gtaagctgag ctaggagagg gttgttcgac	1440
cactggctgt tcgagtgact cgctgtagta ggcagaggac acagcttcct ccaggttgtc	1500
agtggctctg agcagacact ccaccaaatac gttgtcagtg agcgagttaa ctgaggcgag	1560
gaagttgcta gcggcagcgg tttcagagtc ggagatgaca gtatcagctc cgtccgggggt	1620
tgggtggttg tagtaagaca agtaatcgtt aggttgcttg tcgcagaact ccgagtatga	1680
gttgtcgaag ctagcacgag agggagtgct ggcagagggt taggaagcgt tgaagttgat	1740
ttgagtcatg gtgacctgggt tgttcacgat cttatcgcca cctgtgtcca cctgcagttg	1800
ctgggcctca gcgcaggctg aagtggcctc acaggagtag gggctggaag cacagttgga	1860
agtcatgatg ttttcttgga cgttcaggac gtggctggat gtacggatca tagatctatc	1920
tagattcgaa agcggccgcg actagtgagc tcgtcgacgt aggcctttga attccgcgcg	1980
cttcggaccg ggatccgcgc ccgatggtgg gacggtatga ataaccgga atatttatag	2040
gtttttttat tacaaaactg ttacgaaaac agtaaaatac ttattttattt gcgagatggt	2100
tatcatttta attatctcca tgatctatta atattccgga gtatacatcg atgttgacct	2160

ES 2 554 752 T3

caacaaaaga	tttataatta	atcataatca	cgaacaacaa	caagtcaatg	aaacaaataa	2220
acaagttgtc	gataaaacat	tcataaatga	cacagcaaca	tacaattctt	gcataataaa	2280
aattttaaatg	acatcatatt	tgagaataac	aatgacatt	atccctcgat	tgtgttttac	2340
aagtagaatt	ctacccgtaa	agcgagttta	gttttgaaaa	acaaatgaca	tcatttgtat	2400
aatgacatca	tcccctgatt	gtgtttttaca	agtagaattc	tatccgtaaa	gcgagttcag	2460
ttttgaaaac	aatgagtc	tacctaataa	cgtaataat	cttctgatat	cagcttatga	2520
ctcaagttat	gagccgtgtg	caaaacatga	gataagttta	tgacatcatc	cactgatcgt	2580
gcgttacaag	tagaattcta	ctcgtaaagc	cagttcgggt	atgagccgtg	tgcaaaacat	2640
gacatcagct	tatgactcat	acttgattgt	gttttacgcg	tagaattcta	ctcgtaaagc	2700
gagttcgggt	atgagccgtg	tgcaaaacat	gacatcagct	tatgagtc	aatgaatcgt	2760
gcgttacaag	tagaattcta	ctcgtaaagc	gagttgaagg	atcatattta	gttgcgttta	2820
tgagataaga	ttgaaagcac	gtgtaaaatg	tttccgcgcg	gttggcacia	ctattttaca	2880
tgcggccaaag	ttataaaaaga	ttctaattctg	atatgtttta	aaacaccttt	gcggcccgag	2940
ttgtttgcgt	acgtgactag	cgaagaagat	gtgtggaccg	cagaacagat	agtaaaacaa	3000
aaccctagta	ttggagcaat	aatcgatgag	ctcgtcgacg	taggcctttg	aattccgcgc	3060
gcttcggacc	gggatcggta	ccaaattccg	ttttgcgacg	atgcagagtt	tttgaacagg	3120
ctgctcaaac	acatagatcc	gtacccgctc	agtcggatgt	attacaatgc	agccaatacc	3180
atgtttttaca	cgactatgga	aaactatgcc	gtgtccaatt	gcaagttcaa	cattgaggat	3240
tacaataaca	tattttaaggt	gatggaaaat	attaggaaac	acagcaacaa	aaattcaaac	3300
gaccaagacg	agttaaacad	atatttgga	gttcagtcgt	cgaatgcaaa	gcgtaaaaaa	3360
tattaataag	gtaaaaatta	cagctacata	aattacacia	tttaaactgc	agtctggaga	3420
tacggacctt	taattcaacc	caacacaata	tattatagtt	aaataagaat	tattatcaaa	3480
tcatttgtat	attaattaaa	atactatact	gtaaattaca	ttttattttac	aatcactcga	3540
c						3541

<210> 20
 <211> 3512
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Casete de expresión recombinante

ttagttgaac	tcgaacttct	tgtacttgca	gttgagcttt	tgctcggcga	atgtgatggc	60
gtcggagagt	ggcaccagtc	cctgcaggat	caaggccaag	agcttcagca	agttgttgtg	120
cagtgtagtt	gactcgcgac	ggttgacctt	gccgatcacg	aacatgtggt	gcttgaatct	180

gttgtacttt tggatgacct ggctcacatc aacgtccttg atttcgccag agatccagta	240
gaactccttg ttcttcttag cgatgggtcag cctttcctcg ttcttgaagg acaacacgat	300
gaagtttgtga cccttaacgt tatcgacgtt ttgagtcaag tactgctcaa cgatgtgcat	360
gcttccgtct tccttcttga ccttcttgag gttctcggcg ttgtttgttag aagcgatgtt	420
gtcgtggtac ttgtagtgtg tgaagagcag gttagcgacg gacgagtact tgtatgtcag	480
agtgtctcttc ttgttcacga tgagggttcag gttatcaacg acgtacttgt tgggaggggtt	540
gtccgggaat tggacggact ccgagtactt gaggatctgg gaaacgtatg gcgagacgaa	600
gaagttgtta gaggcgggtt cgatctcgtt tgattccttg cggctcagca tgatgggcaa	660
agtgaagagg ttcttgtcct ggtacatctc gtacaacttc gacaagagga atccacactt	720
acgctcgccg agtgattgca gcaaggtcac gaaggttgtc tgagcgtagt acatatcgag	780
gttgaagtag gaggtcagag cggccttgaa tgtgtggtgg acgtccacga agtgacactt	840
cttgcagttt tgagcggcggt tctcatcgtt gcagacgtcc tgtgagtgtg ggatttcgat	900
gccagtctcc ttaaccaggt tgtagctgat catgaagcgg atcttatcga aggtcacaac	960
gaacacacgg ttgtcaacca tgtagtagtt gtttgtgtac tcgtagacca cgttagagac	1020
gtacttggcg aagatgattt cgaaaggctt cacctcggac ttcttaacga cgaacatgta	1080
gtaaccgggt tcagacatgt gatcggagaa tctgttcgag ttgtagtcgt tatcgtcgaa	1140
cctcatcagg tagggggcga agtcgtttgt gaagtagtga gtgatctcct ggggtggaagc	1200
cactgtacag atgttagtgt tgtggttgat ggtttgttcc agtgtagcgc atgactggat	1260
gggtgtcttc ttgtacttag gtctcaactt gatcttggtt aattgacca caactccctg	1320
ggagtatatc aggtactcgt ccaacttcct cttggtgcct gtggccgacg gctggttgac	1380
accagcagag tgttcgaagg actcggcgtg gtaagctgag ctaggagagg gttgttcgac	1440
cactggctgt tcgagtgact cgctgtagta ggcagaggac acagcttcct ccaggttgtc	1500
agtggtcttg agcagacact ccaccaaatac gttgtcagtg agcgagttaa ctgaggcgag	1560
gaagttgcta gcggcagcgg tttcagagtc ggagatgaca gtatcagctc cgtccgggggt	1620
tgggtggttg tagtaagaca agtaatcgtt aggttgcttg tcgcagaact ccgagtatga	1680
gttgtcgaag ctagcacgag agggagtgtt ggcagagggt taggaagcgt tgaagttgat	1740
ttgagtcatg gtgacctggt tgttcacgat cttatcgcca cctgtgtcca cctgcagttg	1800
ctgggcctca gcgcaggctg aagtggcctc acaggagtag gggctggaag cacagttgga	1860
agtcatgatg ttttcttgga cgttcaggac gtggctggat gtacggatca tagatctatc	1920
tagatgcatt cgcgaggtag cgagctcgaa ttactggcc gtcgttttac aacgtcgtga	1980
ctgggaaaac cctggcggtta cccaacttaa tcgccttgca gcacatcccc ctttcgccag	2040

ctgctagcac catggctcga gcgtggagtt aactcgatgt gagttcaact gtactcttac 2100
cgagaatgca ccccttttta tagcgctctg aaaagagact gagaatactt tttttctac 2160
aatcgtataa aatcctagtg atggttacgg taatctttct tcatgggaag ctaaagatat 2220
tcgatagtta tgcttttggg ttctgtttgg gtgaaactta tgatcagatt atgatgaaac 2280
ttaaacttgc aagtaatatt tgagtttaaa ctatttttaa tataatcacc taatatgtta 2340
tgacgtcaat aggcaggaca ttgacccgac gcgtccactc attaaaaata ttattacacc 2400
ttatataaaa tccatgatat cgttttgggtg ttaaaccatt acgtattaac cataacctac 2460
cccaatgtaa ccttcagtca ccctaatacga tgtttttgta tacatcgatg ttgaccccaa 2520
caaaagattt ataattaatc ataatcacga acaacaacaa gtcaatgaaa caaataaaca 2580
agttgtcgat aaaacattca taaatgacac agcaacatac aattcttgca taataaaaat 2640
ttaaatgaca tcatatttga gaataacaaa tgacattatc cctcgattgt gttttacaag 2700
tagaattcta cccgtaaagc gagtttagtt ttgaaaaaca aatgacatca tttgtataat 2760
gacatcatcc cctgattgtg ttttacaagt agaattctat ccgtaaagcg agttcagttt 2820
tgaaaacaaa tgagtcatac ctaaacacgt taataatctt ctgatatcag cttatgactc 2880
aagttatgag ccgtgtgcaa aacatgagat aagtttatga catcatccac tgatcgtgcg 2940
ttacaagtag aattctactc gtaaagccag ttcggttatg agccgtgtgc aaaacatgac 3000
atcagcttat gactcatact tgattgtgtt ttacgcgtag aattctactc gtaaagcgag 3060
ttcggttatg agccgtgtgc aaaacatgac atcagcttat gagtacataat taatcgtgcg 3120
ttacaagtag aattctactc gtaaagcgag ttgaaggatc atatttagtt gcgtttatga 3180
gataagattg aaagcacgtg taaaatgttt cccgcgcgtt ggcacaacta tttacaatgc 3240
ggccaagtta taaaagattc taatctgata tgttttaaaa cacctttgcg gcccgagttg 3300
tttgcgtacg tgactagcga agaagatgtg tggaccgcag aacagatagt aaaacaaaac 3360
cctagtattg gagcaataat cgatgagctc atacggacct ttaattcaac ccaacacaat 3420
atattatagt taaataagaa ttattatcaa atcatttgta tattaattaa aatactatac 3480
tgtaaattac attttattta caatcactcg ac 3512

<210> 21
<211> 4005
5 <212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
10 <223> Casete de expresión recombinante

<400> 21
ttagttgaac tcgaacttct tgtacttgca gttgagcttt tgctcggcga atgtgatggc 60
gtcggagagt ggcaccagtc cctgcaggat caaggccaag agcttcagca agttgttgtg 120

cagtgtagtt gactcgcgac ggttgacctt gccgatcacg aacatgtggt gcttgaatct	180
gttgtacttt tggatgacct ggctcacatc aacgtccttg atttcgccag agatccagta	240
gaactccttg ttcttcttag cgatggtcag cctttcctcg ttcttgaagg acaacacgat	300
gaagttgtga cccttaacgt tatcgacgtt ttgagtcaag tactgctcaa cgatgtgcat	360
gcttcogtct tcttcttga ccttcttgag gttctcggcg ttgttgtag aagcgatgtt	420
gtcgtggtac ttgtagttgt tgaagagcag gttagcgacg gacgagtact tgtatgtcag	480
agtgtctctc ttgttcacga tgaggttcag gttatcaacg acgtacttgt tgggagggtt	540
gtccgggaat tggacggact ccgagtactt gaggatctgg gaaacgtatg gcgagacgaa	600
gaagttgtta gaggcgggtt cgatctcgtt tgattccttg cggctcagca tgatgggcaa	660
agtgaagagg ttcttgtcct ggtacatctc gtacaacttc gacaagagga atccacactt	720
acgtcgcgcg agtgattgca gcaaggtcac gaaggttgtc tgagcgtagt acatatcgag	780
gttgaagtag gaggtcagag cggccttgaa tgtgtggtgg acgtccacga agtgacactt	840
cttgcagttt tgagcggcgg tctcatcgtt gcagacgtcc tgtgagtgtg ggatttcgat	900
gccagtctcc ttaaccaggt tgtagctgat catgaagcgg atcttatcga aggtcacaaac	960
gaacacacgg ttgtcaacca tgtagtagtt gtttgtgtac tcgtagacca cgttagagac	1020
gtacttggcg aagatgattt cgaaaggctt cacctcggac ttcttaacga cgaacatgta	1080
gtaaccgggt tcagacatgt gatcggagaa tctgttcgag ttgtagtcgt tatcgtcgaa	1140
cctcatcagg tagggggcga agtcgtttgt gaagtagtga gtgatctcct ggggtggaagc	1200
cactgtacag atgttagtgt tgtggtgat ggtttgttcc agtgtagcgc atgactggat	1260
ggtgctcttc ttgtacttag gtctcaactt gatcttgttg aattgacca caactccctg	1320
ggagttatcc aggtactcgt ccaacttcct cttggtgcct gtggccgacg gctggttgac	1380
accagcagag tgttcgaagg actcggcgtg gtaagctgag ctaggagagg gttgttcgac	1440
cactggctgt tcgagtgact cgctgtagta ggcagaggac acagcttcct ccaggttgtc	1500
agtggctctg agcagacact ccaccaaatac gttgtcagtg agcgagttaa ctgaggcgag	1560
gaagttgcta gcggcagcgg tttcagagtc ggagatgaca gtatcagctc cgtccggggt	1620
tgggtggttg tagtaagaca agtaatcgtt aggttgcttg tcgcagaact ccgagtatga	1680
gttgtcgaag ctagcacgag agggagtgtt ggcagagggt taggaagcgt tgaagttgat	1740
ttgagtcatg gtgacctggt tgttcacgat cttatcgcca cctgtgtcca cctgcagttg	1800
ctgggcctca gcgcaggctg aagtggcctc acaggagtag gggctggaag cacagttgga	1860
agtcatgatg ttttcttgga cgttcaggac gtggctggat gtacggatca tagatctatc	1920
tagatgcatt cgcgaggtag cgagctcgaa ttcactggcc gtcgttttac aacgtcgtga	1980

ES 2 554 752 T3

ctgggaaaac	cctggcggtta	cccaacttaa	tcgccttgca	gcacatcccc	ctttcgccag	2040
ctgctagcac	catggctcga	gcgtggagtt	aactcgatgt	gagttcaact	gtactcttac	2100
cgagaatgca	ccccttttta	tagcgctctg	aaaagagact	gagaatactt	tattttctac	2160
aatcgtataa	aatcctagt	atggttacgg	taatctttct	tcatgggaag	ctaaagatat	2220
tcgatagtta	tgcttttgg	ttctgtttgg	gtgaaactta	tgatcagatt	atgatgaaac	2280
ttaaacttgc	aagtaatatt	tgagttttaa	ctatttttaa	tataatcacc	taatatgtta	2340
tgacgtcaat	aggcaggaca	ttgaccogac	gcgtccactc	attaaaaata	ttattacacc	2400
ttatataaaa	tccatgat	cgttttggtg	ttaaaccatt	acgtattaac	cataacctac	2460
cccaatgtaa	ccttcagtca	ccctaatacg	tgtttttgta	tacatcgatg	ttgaccccaa	2520
caaaagattt	ataattaatc	ataatcacga	acaacaacaa	gtcaatgaaa	caaataaaca	2580
agttgtcgat	aaaacattca	taaatgacac	agcaacatac	aattcttgca	taataaaaat	2640
ttaaatgaca	tcatatttga	gaataacaaa	tgacattatc	cctcgattgt	gttttacaag	2700
tagaattcta	cccgtaaaagc	gagtttagtt	ttgaaaaaca	aatgacatca	tttgtataat	2760
gacatcatcc	cctgattgtg	ttttacaagt	agaattctat	ccgtaaagcg	agttcagttt	2820
tgaaaacaaa	tgagtcatac	ctaaacacgt	taataatctt	ctgatatcag	cttatgactc	2880
aagttatgag	ccgtgtgcaa	aacatgagat	aagtttatga	catcatccac	tgatcgtgcg	2940
ttacaagtag	aattctactc	gtaaagccag	ttcggttatg	agccgtgtgc	aaaacatgac	3000
atcagcttat	gactcatact	tgattgtggt	ttacgcgtag	aattctactc	gtaaagcgag	3060
ttcggttatg	agccgtgtgc	aaaacatgac	atcagcttat	gagtcataat	taatcgtgcg	3120
ttacaagtag	aattctactc	gtaaagcgag	ttgaaggatc	atatttagtt	gcgtttatga	3180
gataagattg	aaagcacgtg	taaaatgttt	ccgcgcggtt	ggcacaacta	tttacaatgc	3240
ggccaagtta	taaaagattc	taatctgata	tgtttttaaa	cacctttgcg	gcccagagttg	3300
tttgcgtagc	tgactagcga	agaagatgtg	tggaccgcag	aacagatagt	aaaacaaaac	3360
cctagtattg	gagcaataat	cgatgagctc	gtcgacgtag	gcctttgaat	tccgcgcgct	3420
tcggaccggg	atccaaaaac	atcgattagg	gtgactgaag	gttacattgg	ggtaggttat	3480
ggttaatacg	taatggttta	acacccaaaac	gatatcatgg	attttatata	aggtgtaata	3540
atatttttaa	tgagtggacg	cgtcgggtca	atgtcctgcc	tattgacgtc	ataacatatt	3600
aggtgattat	attaaaaata	gtttaaactc	aaatattact	tgcaagttta	agtttcatca	3660
taatctgatc	ataagtttca	cccaaacaga	aacccaaagc	ataactatcg	aatatcttta	3720
gcttcccatg	aagaaagatt	accgtaacca	tcactaggat	tttatacgat	tgtagaaaat	3780
aaagtattct	cagtctcttt	tcagagcgct	ataaaaaggg	gtgcattctc	ggtaagagta	3840
cagttgaact	cacatcgagt	taactccacg	ctgcagtctc	gagatacgga	cctttaattc	3900

ES 2 554 752 T3

	aacccaacac aatatattat agttaaataa gaattattat caaatcattt gtatattaat	3960
	taaaatacta tactgtaaat tacattttat ttacaatcac tcgac	4005
5	<210> 22 <211> 3898 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Casete de expresión recombinante	
	<400> 22	
	ttagttgaac tcgaacttct tgtacttgca gttgagcttt tgctcggcga atgtgatggc	60
	gtcggagagt ggcaccagtc cctgcaggat caaggccaag agcttcagca agttgttgtg	120
	cagtgtagtt gactcgcgac ggttgacctt gccgatcacg aacatgtggt gcttgaatct	180
	gttgtacttt tggatgacct ggctcacatc aacgtccttg atttcgccag agatccagta	240
	gaactccttg ttcttcttag cgatggctcag cctttcctcg ttcttgaagg acaacacgat	300
	gaagtttgtga cccttaacgt tatcgacgtt ttgagtcaag tactgctcaa cgatgtgcat	360
	gcttccgtct tccttcttga ccttcttgag gttctcggcg ttgttggttag aagcgatgtt	420
	gtcgtggtac ttgtagttgt tgaagagcag gttagcgacg gacgagtact tgtatgtcag	480
	agtgtctcttc ttgttcacga tgagggttcag gttatcaacg acgtacttgt tgggaggggtt	540
	gtccgggaat tggacggact ccgagtactt gaggatctgg gaaacgtatg gcgagacgaa	600
	gaagttgtta gaggcggttt cgatctcgtt tgattccttg cggctcagca tgatgggcaa	660
	agtgaagagg ttcttgtcct ggtacatctc gtacaacttc gacaagagga atccacactt	720
	acgctcgccg agtgattgca gcaaggtcac gaaggttgtc tgagcgtagt acatatcgag	780
	gttgaagtag gaggtcagag cggccttgaa tgtgtggttg acgtccacga agtgacactt	840
	cttgcagttt tgagcggcgg tctcatcgtt gcagacgtcc tgtgagtgtg ggatttcgat	900
	gccagtctcc ttaaccaggt tgtagctgat catgaagcgg atcttatcga aggtcacaac	960
	gaacacacgg ttgtcaacca tgtagtagtt gtttgtgtac tcgtagacca cgtagagac	1020
	gtacttggcg aagatgattt cgaaaggctt cacctcggac ttcttaacga cgaacatgta	1080
	gtaaccgggtt tcagacatgt gatcggagaa tctgttcgag ttgtagtcgt tatcgtcgaa	1140
	cctcatcagg tagggggcga agtcgtttgt gaagtagtga gtgatctcct ggggtggaagc	1200
	cactgtacag atgttagtgt tgtggttgat ggtttgttcc agtgtagcgc atgactggat	1260
	ggtgctcttc ttgtacttag gtctcaactt gatcttggtt aattgaccca caactccctg	1320
	ggagttatcc aggtactcgt ccaacttcct cttggtgcct gtggccgacg gctggttgac	1380
	accagcagag tgttcgaagg actcggcgtg gtaagctgag ctaggagagg gttgttcgac	1440

ES 2 554 752 T3

cactggctgt	tcgagtgact	cgctgtagta	ggcagaggac	acagcttcct	ccaggttgtc	1500
agtggctcttg	agcagacact	ccaccaaatc	gttgctcagt	agcgagttaa	ctgaggcgag	1560
gaagttgcta	gcggcagcgg	tttcagagtc	ggagatgaca	gtatcagctc	cgtccggggg	1620
tgggtgggtg	tagtaagaca	agtaatcggt	aggttgcttg	tcgcagaact	ccgagtatga	1680
gttgctgaag	ctagcacgag	agggagtgct	ggcagagggt	taggaagcgt	tgaagttgat	1740
ttgagtcatt	gtgacctggt	tggtcacgat	cttatcgcca	cctgtgtcca	cctgcagttg	1800
ctgggcctca	gcgcaggctg	aagtggcctc	acaggagtag	gggctggaag	cacagttgga	1860
agtcattgat	ttttcttgga	cggtcaggac	gtggctggat	gtacggatca	tagatctatc	1920
tagatgcatt	cgcgaggtag	cgagctcgaa	ttcactggcc	gtcgttttac	aacgtcgtga	1980
ctgggaaaac	cctggcggtt	cccaacttaa	tcgccttgca	gcacatcccc	ctttcgccag	2040
ctgctagcac	catggctcga	gcgtggagtt	aactcgatgt	gagttcaact	gtactcttac	2100
cgagaatgca	ccccttttta	tagcgcctctg	aaaagagact	gagaatactt	tattttctac	2160
aatcgtataa	aatcctagt	atgggttacg	taatctttct	tcattgggaag	ctaaagatat	2220
tcgatagtta	tgcttttggg	ttctgtttgg	gtgaaactta	tgatcagatt	atgatgaaac	2280
ttaaacttgc	aagtaatatt	tgagttttaa	ctatttttaa	tataatcacc	taatattgta	2340
tgacgtcaat	aggcaggaca	ttgacctgac	gcgtccactc	attaaaaata	ttattacacc	2400
ttatataaaa	tccatgatat	cgttttgggt	ttaaaccatt	acgtattaac	cataacctac	2460
cccaatgtaa	ccttcagtca	ccctaatacg	tgtttttgta	tacatcgatg	ttgaccccaa	2520
caaaagattt	ataattaatc	ataatcacga	acaacaacaa	gtcaatgaaa	caaataaaca	2580
agttgtcgat	aaaacattca	taaatgacac	agcaacatac	aattcttgca	taataaaaat	2640
ttaaatgaca	tcatttttga	gaataacaaa	tgacattatc	cctcgattgt	gtttttacaag	2700
tagaattcta	cccgtaaaag	gagtttagtt	ttgaaaaaca	aatgacatca	tttgtataat	2760
gacatcatcc	cctgattgtg	ttttacaagt	agaattctat	ccgtaaaagc	agttcagttt	2820
tgaaaacaaa	tgagtcatac	ctaaacacgt	taataatctt	ctgatatcag	cttatgactc	2880
aagttatgag	ccgtgtgcaa	aacatgagat	aagtttatga	catcatccac	tgatcgtgcg	2940
ttacaagtag	aattctactc	gtaaagccag	ttcggttatg	agccgtgtgc	aaaacatgac	3000
atcagcttat	gactcatact	tgattgtggt	ttacgcgtag	aattctactc	gtaaagcgag	3060
ttcggttatg	agccgtgtgc	aaaacatgac	atcagcttat	gagtcataat	taatcgtgcg	3120
ttacaagtag	aattctactc	gtaaagcgag	ttgaaggatc	atatttagtt	gcgttttatga	3180
gataagattg	aaagcacgtg	taaaatgttt	cccgcgcggt	ggcacaacta	tttacaatgc	3240
ggccaagtta	taaaagattc	taatctgata	tgtttttaaa	cacctttgcg	gcccagattg	3300
tttgcgtagc	tgactagcga	agaagatgtg	tggaaccgag	aacagatagt	aaaacaaaac	3360

ES 2 554 752 T3

cctagtattg	gagcaataat	cgatgagctc	gtcgacgtag	gcctttgaat	tccgcgcgct	3420
tcggaccggg	atcggtacca	aattccgttt	tgcgacgatg	cagagttttt	gaacaggctg	3480
ctcaaacaca	tagatccgta	cccgcctcagt	cggatgtatt	acaatgcagc	caataccatg	3540
ttttacacga	ctatggaaaa	ctatgccgtg	tccaattgca	agttcaacat	tgaggattac	3600
aataacatat	ttaaggtgat	ggaaaatatt	aggaaacaca	gcaacaaaaa	ttcaaacgac	3660
caagacgagt	taaacatata	tttgggagtt	cagtcgtcga	atgcaaagcg	taaaaaatat	3720
taataaggta	aaaattacag	ctacataaat	tacacaattt	aaactgcagt	ctggagatac	3780
ggacctttta	ttcaacccaa	cacaatatat	tatagttaaa	taagaattat	tatcaaatac	3840
tttgtatatt	aattaaata	ctatactgta	aattacattt	tatttacaat	cactcgac	3898

<210> 23

<211> 3179

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de expresión recombinante

<400> 23

ttagttgaac	tcgaacttct	tgtacttgca	gttgagcttt	tgctcggcga	atgtgatggc	60
gtcggagagt	ggcaccagtc	cctgcaggat	caaggccaag	agcttcagca	agttgttgtg	120
cagtgtagtt	gactcgcgac	ggttgacctt	gccgatcacg	aacatgtggt	gcttgaatct	180
gttgtacttt	tggatgacct	ggctcacatc	aacgtccttg	atttcgccag	agatccagta	240
gaactccttg	ttcttcttag	cgatggtcag	cctttcctcg	ttcttgaagg	acaacacgat	300
gaagtttgtga	cccttaacgt	tatcgacggt	ttgagtcaag	tactgctcaa	cgatgtgcat	360
gcttcctgtct	tccttcttga	ccttcttgag	gttctcggcg	ttgttggttag	aagcgatggt	420
gtcgtggtac	ttgtagttgt	tgaagagcag	gttagcgacg	gacgagtact	tgtatgtcag	480
agtgtctcttc	ttgttcacga	tgaggttcag	gttatcaacg	acgtacttgt	tgggaggggt	540
gtccgggaat	tggacggact	ccgagtactt	gaggatctgg	gaaacgtatg	gcgagacgaa	600
gaagttgtta	gaggcggttt	cgatctcggt	tgattccttg	cggctcagca	tgatgggcaa	660
agtgaagagg	ttcttgtcct	ggtacatctc	gtacaacttc	gacaagagga	atccacactt	720
acgtcgcgag	agtgattgca	gcaaggtcac	gaaggttgtc	tgagcgtagt	acatatcgag	780
gttgaagtag	gaggtcagag	cggccttgaa	tgtgtggtgg	acgtccacga	agtgacactt	840
cttgcagttt	tgagcggcgg	tctcatcggt	gcagacgtcc	tgtgagtggt	ggatttcgat	900
gccagtctcc	ttaaccaggt	tgtagctgat	catgaagcgg	atcttatcga	aggtcacaac	960
gaacacacgg	ttgtcaacca	tgtagtagtt	gtttgtgtac	tcgtagacca	cgttagagac	1020

ES 2 554 752 T3

gtacttggcg aagatgattt cgaaaggctt cacctcggac ttcttaacga cgaacatgta	1080
gtaaccgggtt tcagacatgt gatcggagaa tctgttcgag ttgtagtcgt tatcgtcgaa	1140
cctcatcagg tagggggcga agtcgtttgt gaagtagtga gtgatctcct gggtggaagc	1200
cactgtacag atgttagtgt tgtggttgat ggtttgttcc agtgtagcgc atgactggat	1260
ggtgctcttc ttgtacttag gtctcaactt gatcttggtg aattgaccca caactccctg	1320
ggagttatcc aggtactcgt ccaacttcct cttgggtgcct gtggccgacg gctgggtgac	1380
accagcagag tgttcgaagg actcggcgtg gtaagctgag ctaggagagg gttgttcgac	1440
cactggctgt tcgagtgact cgctgtagta ggcagaggac acagcttcct ccaggttgtc	1500
agtggctctt agcagacact ccaccaaatac gttgtcagtg agcgagttaa ctgaggcgag	1560
gaagttgcta gcggcagcgg ttccagagtc ggagatgaca gtatcagctc cgtccggggt	1620
tgggtgggtt tagtaagaca agtaatcgtt aggttgcttg tcgcagaact ccgagtatga	1680
gttgtcgaag ctagcacgag agggagtgtt ggcagagggt taggaagcgt tgaagttgat	1740
ttgagtcatg gtgacctggt tggtcacgat cttatcgcca cctgtgtcca cctgcagttg	1800
ctgggcctca gcgcaggctg aagtggcctc acaggagtag gggctggaag cacagttgga	1860
agtcatgatg ttttcttga cggtcaggac gtggctggat gtacggatca tagatctatt	1920
gggtcatcta gattcgaaag cggccgcgac tagtgagctc gtcgacgtag gcctttgaat	1980
tccgcgcgct tcggaccggg atccgcgccc gatgggtgga cggtatgaat aatccggaat	2040
atttataggt ttttttatta caaaactgtt acgaaaacag taaaatactt atttatttgc	2100
gagatggtta tcattttaat tatctccatg atctattaat attccggagt atacatcgat	2160
gttgaccca acaaaagatt tataattaat cataatcacg aacaacaaca agtcaatgaa	2220
acaaataaac aagttgtcga taaaacattc ataaatgaca cagcaacata caattcttgc	2280
ataataaaaa tttaaagac atcatatttg agaataacaa atgacattat ccctcgattg	2340
tgttttacaa gtagaattct acccgtaaag cgagtttagt ttgaaaaaac aaatgacatc	2400
atttgtataa tgacatcatc ccctgattgt gttttacaag tagaattcta tccgtaaagc	2460
gagttcagtt ttgaaaacaa atgagtcata cctaaacacg ttaataatct tctgatatca	2520
gcttatgact caagttatga gccgtgtgca aaacatgaga taagtttatg acatcatcca	2580
ctgatcgtgc gttacaagta gaattctact cgtaaagcca gttcggttat gagccgtgtg	2640
caaaacatga catcagctta tgactcatac ttgatttgtt tttacgcgta gaattctact	2700
cgtaaagcga gttcggttat gagccgtgtg caaaacatga catcagctta tgagtcataa	2760
ttaatcgtgc gttacaagta gaattctact cgtaaagcga gttgaaggat catatttagt	2820
tgcgtttatg agataagatt gaaagcacgt gtaaaatgtt tcccgcgcgt tggcacaact	2880
atttacaatg cggccaagtt ataaaagatt ctaatctgat atgtttttaa acacctttgc	2940

ES 2 554 752 T3

ggccccgagtt gtttgcgtac gtgactagcg aagaagatgt gtggaccgca gaacagatag	3000
taaaacaaaa ccctagtagtatt ggagcaataa tgcattccgg aatattaata gatcatggag	3060
ataattaaaa tgataaccat ctgcgcaata aataagtatt ttactgtttt cgtaacagtt	3120
ttgtaataaaa aaaacctata aatattccgg attattcata ccgtcccacc atcggggcgc	3179

<210> 24

<211> 3528

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de expresión recombinante

<400> 24

ttagttgaac tcgaacttct tgtacttgca gttgagcttt tgctcggcga atgtgatggc	60
gtcggagagt ggcaccagtc cctgcaggat caaggccaag agcttcagca agttgttgtg	120
cagtgtagtt gactcgcgac gggtgacctt gccgatcacg aacatgtggt gcttgaatct	180
gttgtagcttt tggatgacct ggctcacatc aacgtccttg atttcgccag agatccagta	240
gaactccttg ttcttcttag cgatggtcag cctttcctcg ttcttgaagg acaacacgat	300
gaagtttgtga cccttaacgt tatcgacgtt ttgagtcaag tactgctcaa cgatgtgcat	360
gcttcogtct tccttcttga ccttcttgag gttctcggcg ttgttggttag aagcgatgtt	420
gtcgtggtac ttgtagttgt tgaagagcag gttagcgacg gacgagtact tgtatgtcag	480
agtgtctctt ttgttcacga tgagggttcag gttatcaacg acgtacttgt tgggaggggtt	540
gtccgggaat tggacggact ccgagtactt gaggatctgg gaaacgtatg gcgagacgaa	600
gaagttgtta gaggcggttt cgatctcggt tgattccttg cggctcagca tgatgggcaa	660
agtgaagagg ttcttgtcct ggtacatctc gtacaacttc gacaagagga atccacactt	720
acgctcgccg agtgattgca gcaaggcac gaaggttgtc tgagcgtagt acatatcgag	780
gttgaagtag gaggtcagag cggccttgaa tgtgtggtgg acgtccacga agtgacactt	840
cttgtagttt tgagcggcgg tctcatcggt gcagacgtcc tgtgagtgtg ggatttcgat	900
gccagtctcc ttaaccaggt ttagtagtgat catgaagcgg atcttatcga aggtcacaac	960
gaacacacgg ttgtcaacca ttagtagtatt gtttgtgtac tcgtagacca cgtagagac	1020
gtacttggcg aagatgattt cgaaaggctt cacctcggac ttcttaacga cgaacatgta	1080
gtaaccgggt tcagacatgt gatcggagaa tctgttcgag ttgtagtcgt tatcgtcgaa	1140
cctcatcagg tagggggcga agtcgtttgt gaagtagtga gtgatctcct ggggtggaagc	1200
cactgtacag atgttagtgt tgtggttgat gggttggtcc agtgtagcgc atgactggat	1260
ggtgctcttc ttgtacttag gtctcaactt gatcttggtt aattgaccca caactccctg	1320

ES 2 554 752 T3

ggagttatcc aggtactcgt ccaacttcct cttggtgcct gtggccgacg gctggttgac	1380
accagcagag tgttcgaagg actcggcgtg gtaagctgag ctaggagagg gttgttcgac	1440
cactggctgt tcgagtgact cgctgtagta ggcagaggac acagcttcct ccaggttgtc	1500
agtggctcttg agcagacact ccaccaaadc gttgtcagtg agcgagttaa ctgaggcgag	1560
gaagttgcta gcggcagcgg ttccagagtc ggagatgaca gtatcagctc cgtccggggg	1620
tgggtgggtg tagtaagaca agtaatcgtt aggttgcttg tcgcagaact ccgagtatga	1680
gttgctgaag ctagcacgag agggagtgtt ggcagagggt taggaagcgt tgaagttgat	1740
ttgagtcatt gtgacctgtt tgttcacgat cttatcgcca cctgtgtcca cctgcagttg	1800
ctgggcctca gcgcaggctg aagtggcctc acaggagtag gggctggaag cacagttgga	1860
agtcattgat ttttcttga cgttcaggac gtggctggat gtacggatca tagatctatc	1920
tagatgcatt cgcgaggtag cgagctcgaa ttcactggcc gtcgttttac aacgtcgtga	1980
ctgggaaaac cctggcgtta cccaacttaa tcgccttgca gcacatcccc ctttcgccag	2040
ctgctagcac catggctcga gcgtggagtt aactcgatgt gatttcaact gtactcttac	2100
cgagaatgca ccccttttta tagcgtctctg aaaagagact gagaatactt tattttctac	2160
aatcgtataa aatcctagtg atggttacgg taatctttct tcatgggaag ctaaagatat	2220
tcgatagtta tgcttttggg ttctgtttgg gtgaaactta tgatcagatt atgatgaaac	2280
ttaaacttgc aagtaatatt tgagttttaa ctatttttaa tataatcacc taatatgtta	2340
tgacgtcaat aggcaggaca ttgacccgac gcgtccactc attaaaaata ttattacacc	2400
ttatataaaa tccatgatat cgttttgggtg ttaaaccatt acgtattaac cataacctac	2460
cccaatgtaa ccttcagtca ccctaatacga tgtttttgta tacatcgatg ttgaccccaa	2520
caaaagattt ataattaatc ataatacaga acaacaacaa gtcaatgaaa caaataaaca	2580
agttgtcgat aaaacattca taaatgacac agcaacatac aattcttgca taataaaaat	2640
ttaaatgaca tcatatttga gaataacaaa tgacattatc cctcgattgt gttttacaag	2700
tagaattcta cccgtaaagc gagtttagtt ttgaaaaaca aatgacatca tttgtataat	2760
gacatcatcc cctgattgtg ttttacaagt agaattctat ccgtaaagcg agttcagttt	2820
tgaaaacaaa tgagtcatac ctaaacacgt taataatctt ctgatatcag cttatgactc	2880
aagttatgag ccgtgtgcaa aacatgagat aagtttatga catcatccac tgatcgtgcg	2940
ttacaagtag aattctactc gttaaagccag ttcggttatg agccgtgtgc aaaacatgac	3000
atcagcttat gactcactat tgattgtgtt ttacgcgtag aattctactc gtaaagcgag	3060
ttcggttatg agccgtgtgc aaaacatgac atcagcttat gattcataat taatcgtgcg	3120
ttacaagtag aattctactc gtaaagcgag ttgaaggatc atatttagtt gcgtttatga	3180
gataagattg aaagcacgtg taaaatgttt cccgcgcgtt ggcacaacta tttacaatgc	3240

ggccaagtta taaaagattc taatctgata tgttttaaaa cacctttgcg gcccgagttg 3300
 ttgcgtagc tgactagcga agaagatgtg tggaccgcag aacagatagt aaaacaaaac 3360
 cctagtattg gagcaataat cgattccgga atattaatag atcatggaga taattaaaat 3420
 gataaccatc tcgcaaataa ataagtattt tactgttttc gtaacagttt tgtaataaaa 3480
 aaacctataa atattccgga ttattcatac cgtcccacca tcggggcg 3528

<210> 25
 <211> 3291
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Casete de expresión recombinante

<400> 25
 ttagttgaac tcgaacttct tgtacttgca gttgagcttt tgctcggcga atgtgatggc 60
 gtcggagagt ggcaccagtc cctgcaggat caaggccaag agcttcagca agttgtttgtg 120
 cagtgtagtt gactcgcgac gggtgacctt gccgatcacg aacatgtggt gcttgaatct 180
 gttgtacttt tggatgacct ggctcacatc aacgtccttg atttcgccag agatccagta 240
 gaactccttg ttcttcttag cgatggtcag cctttcctcg ttcttgaagg acaacacgat 300
 gaagtttgtga cccttaacgt tatcgacgtt ttgagtcaag tactgctcaa cgatgtgcat 360
 gcttccgtct tccttcttga ccttcttgag gttctcggcg ttgttggttag aagcgatgtt 420
 gtcgtggtac ttgtagttgt tgaagagcag gttagcgacg gacgagtact tgtatgtcag 480
 agtgctcttc ttgttcacga tgagggttcag gttatcaacg acgtacttgt tgggaggggtt 540
 gtccgggaat tggacggact ccgagtactt gaggatctgg gaaacgtatg gcgagacgaa 600
 gaagttgtta gaggcggttt cgatctcggt tgattccttg cggctcagca tgatgggcaa 660
 agtgaagagg ttcttgtcct ggtacatctc gtacaacttc gacaagagga atccacactt 720
 acgctcgccg agtgattgca gcaaggcac gaaggttgtc tgagcgtagt acatatcgag 780
 gttgaagtag gaggtcagag cggccttgaa tgtgtggtgg acgtccacga agtgacactt 840
 cttgcagttt tgagcggcgg tctcatcggt gcagacgtcc tgtgagtgtg ggatttcgat 900
 gccagtctcc ttaaccaggt tgtagctgat catgaagcgg atcttatcga aggtcacaac 960
 gaacacacgg ttgtcaacca tgtagtagtt gtttgtgtac tcgtagacca cgtagagac 1020
 gtacttggcg aagatgattt cgaaaggctt cacctcggac ttcttaacga cgaacatgta 1080
 gtaaccgggt tcagacatgt gatcggagaa tctgttcgag ttgtagtcgt tatcgtcgaa 1140
 cctcatcagg tagggggcga agtcgtttgt gaagtagtga gtgatctcct ggggtggaagc 1200
 cactgtacag atgttagtgt tgtggttgat ggtttggtcc agtgtagcgc atgactggat 1260

ES 2 554 752 T3

ggtgctcttc	ttgtacttag	gtctcaactt	gatcttggtg	aattgaccca	caactccctg	1320
ggagttatcc	aggtactcgt	ccaacttcct	cttggtgcct	gtggccgacg	gctgggtgac	1380
accagcagag	tggtcgaagg	actcggcgtg	gtaagctgag	ctaggagagg	gttggttcgac	1440
cactggctgt	tcgagtgact	cgctgtagta	ggcagaggac	acagcttcct	ccaggttgtc	1500
agtggctctt	agcagacact	ccaccaaatc	gttgtcagtg	agcgagttaa	ctgaggcgag	1560
gaagttgcta	gcggcagcgg	tttcagagtc	ggagatgaca	gtatcagctc	cgtccggggg	1620
tgggtgggtg	tagtaagaca	agtaatcggt	aggttgcttg	tcgcagaact	ccgagtatga	1680
gttgtcgaag	ctagcacgag	agggagtgtc	ggcagagggt	taggaagcgt	tgaagttgat	1740
ttgagtcgat	gtgacctggt	tggtcacgat	cttatcgcca	cctgtgtcca	cctgcagttg	1800
ctgggcctca	gcgcaggctg	aagtggcctc	acaggagtag	gggctggaag	cacagttgga	1860
agtcgatgat	ttttcttggg	cggttcaggac	gtggctggat	gtacggatca	tagatctatt	1920
gggtcatcta	gattcgaagg	cgccgcgcgac	tagtgagctc	gtcgacgtag	gcctttgaat	1980
tccgcgcgct	tcggaccggg	atccgcgcgcc	gatgggtggg	cggtatgaat	aatccggaat	2040
atttataggt	ttttttatta	caaaactggt	acgaaaacag	taaaatactt	atttatattgc	2100
gagatggtta	tcattttaat	tatctccatg	atctattaat	attccggagt	atacatcgat	2160
gttgacccca	acaaaagatt	tataattaat	cataatcacg	aacaacaaca	agtcaatgaa	2220
acaaataaac	aagttgtcga	taaaacattc	ataaatgaca	cagcaacata	caattcttgc	2280
ataataaaaa	tttaaagac	atcatatttg	agaataacaa	atgacattat	ccctcgattg	2340
tgttttacaa	gtagaattct	acccgtaaag	cgagtttagt	tttgaaaaac	aaatgacatc	2400
atttgtataa	tgacatcatc	ccctgattgt	gtttttacaag	tagaattcta	tccgtaaagc	2460
gagttcagtt	ttgaaaacaa	atgagtcata	cctaaacacg	ttaataatct	tctgatatca	2520
gcttatgact	caagttatga	gccgtgtgca	aaacatgaga	taagtttatg	acatcatcca	2580
ctgatcgtgc	gttacaagta	gaattctact	cgtaaagcca	gttcggttat	gagccgtgtg	2640
caaaacatga	catcagctta	tgactcatac	ttgattgtgt	tttacgcgta	gaattctact	2700
cgtaaagcga	gttcggttat	gagccgtgtg	caaaacatga	catcagctta	tgagtcataa	2760
ttaatcgtgc	gttacaagta	gaattctact	cgtaaagcga	gttgaaggat	catatttagt	2820
tgcgtttatg	agataagatt	gaaagcacgt	gtaaaatggt	tcccgcgcgt	tggcacaact	2880
atttacaatg	cggccaagtt	ataaaagatt	ctaactctgat	atgtttttaa	acacctttgc	2940
ggcccgagtt	gtttgcgtac	gtgactagcg	aagaagatgt	gtggaccgca	gaacagatag	3000
taaaacaaaa	ccctagtatt	ggagcaataa	tcgatgagct	catcatggag	ataattaaaa	3060
tgataaccat	ctcgcaaata	aataagtatt	ttactgtttt	cgtaacagtt	ttgtaataaa	3120
aaaacctata	aatattccgg	attattcata	ccgtcccacc	atcgggcgca	tacggacctt	3180

ES 2 554 752 T3

taattcaacc caacacaata tattatagtt aaataagaat tattatcaaa tcatttgtat 3240

attaattaaa atactatact gtaaattaca ttttatttac aatcactcga c 3291

<210> 26

<211> 3640

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de expresión recombinante

10

<400> 26

ttagttgaac tcgaacttct tgtacttgca gttgagcttt tgctcggcga atgtgatggc 60

gtcggagagt ggcaccagtc cctgcaggat caaggccaag agcttcagca agttgttgtg 120

cagtgtagtt gactcgcgac gggtgacctt gccgatcacg aacatgtggt gcttgaatct 180

gttgtacttt tggatgacct ggctcacatc aacgtccttg atttcgccag agatccagta 240

gaactccttg ttcttcttag cgatggtcag cctttcctcg ttcttgaagg acaacacgat 300

gaagttgtga cccttaacgt tatcgacgtt ttgagtcaag tactgctcaa cgatgtgcat 360

gcttccgtct tccttcttga ccttcttgag gttctcggcg ttgttggttag aagcgatgtt 420

gtcgtggtac ttgtagttgt tgaagagcag gttagcgacg gacgagtact tgtatgtcag 480

agtgtctcttc ttgttcacga tgagggtcag gttatcaacg acgtacttgt tgggaggggtt 540

gtccgggaat tggacggact ccgagtactt gaggatctgg gaaacgtatg gcgagacgaa 600

gaagttgtta gaggcggttt cgatctcgtt tgattccttg cggctcagca tgatgggcaa 660

agtgaagagg ttcttgtcct ggtacatctc gtacaacttc gacaagagga atccacactt 720

acgtcgcgag agtgattgca gcaaggtcac gaaggttgtc tgagcgtagt acatatcgag 780

gttgaagtag gaggtcagag cggccttgaa tgtgtggttg acgtccacga agtgacactt 840

cttgcagttt tgagcggcgg tctcatcgtt gcagacgtcc tgtgagtgtg ggatttcgat 900

gccagtctcc ttaaccagggt tgtagctgat catgaagcgg atcttatcga aggtcacaac 960

gaacacacgg ttgtcaacca tgtagtagtt gtttgtgtac tcgtagacca cgtagagac 1020

gtacttggcg aagatgattt cgaaaggctt cacctcggac ttcttaacga cgaacatgta 1080

gtaaccgggt tcagacatgt gatcgagaa tctgttcgag ttgtagtcgt tatcgtcgaa 1140

cctcatcagg tagggggcga agtcgtttgt gaagtagtga gtgatctcct ggggtggaagc 1200

cactgtacag atgttagtgt tgtggttgat ggtttgttcc agtgtagcgc atgactggat 1260

ggtgctcttc ttgtacttag gtctcaactt gatcttgttg aattgaccca caactccctg 1320

ggagttatcc aggtactcgt ccaacttcct cttgggtgcct gtggccgacg gctgggtgac 1380

accagcagag tgttcgaagg actcggcgtg gtaagctgag ctaggagagg gttgttcgac 1440

ES 2 554 752 T3

cactggctgt	tcgagtgact	cgctgtagta	ggcagaggac	acagcttcct	ccaggttgtc	1500
agtggctcttg	agcagacact	ccaccaaatc	gttgctcagt	agcgagttaa	ctgaggcgag	1560
gaagttgcta	gcggcagcgg	tttcagagtc	ggagatgaca	gtatcagctc	cgtccggggg	1620
tgggtgggtg	tagtaagaca	agtaatcggt	aggttgcttg	tcgcagaact	ccgagtatga	1680
gttgctgaag	ctagcacgag	agggagtgct	ggcagagggt	taggaagcgt	tgaagttgat	1740
ttgagtcatt	gtgacctggt	tgttcacgat	cttatcgcca	cctgtgtcca	cctgcagttg	1800
ctgggcctca	gcgcaggctg	aagtggcctc	acaggagtag	gggctggaag	cacagttgga	1860
agtcattgat	ttttcttgga	cggttcaggac	gtggctggat	gtacggatca	tagatctatc	1920
tagatgcatt	cgcgaggtag	cgagctcgaa	ttcactggcc	gtcgttttac	aacgtcgtga	1980
ctgggaaaac	cctggcggtt	cccaacttaa	tcgccttgca	gcacatcccc	ctttcgccag	2040
ctgctagcac	catggctcga	gcgtggagtt	aactcgatgt	gagttcaact	gtactcttac	2100
cgagaatgca	ccccttttta	tagcgcctctg	aaaagagact	gagaatactt	tattttctac	2160
aatcgtataa	aatcctagt	atgggttacgg	taatctttct	tcattgggaag	ctaaagatat	2220
tcgatagtta	tgcttttggt	ttctgtttgg	gtgaaactta	tgatcagatt	atgatgaaac	2280
ttaaacttgc	aagtaatatt	tgagttttaa	ctatttttaa	tataatcacc	taatattgta	2340
tgacgtcaat	aggcaggaca	ttgacctgac	gcgtccactc	attaaaaata	ttattacacc	2400
ttatataaaa	tccatgatat	cgttttgggt	ttaaaccatt	acgtattaac	cataacctac	2460
cccaatgtaa	ccttcagtca	ccctaatacg	tgtttttgta	tacatcgatg	ttgaccccaa	2520
caaaagattt	ataattaatc	ataatcacga	acaacaacaa	gtcaatgaaa	caaataaaca	2580
agttgtcgat	aaaacattca	taaatgacac	agcaacatac	aattcttgca	taataaaaat	2640
ttaaatgaca	tcatttttga	gaataacaaa	tgacattatc	cctcgattgt	gtttttacaag	2700
tagaattcta	cccgtaaaag	gagtttagtt	ttgaaaaaca	aatgacatca	tttgtataat	2760
gacatcatcc	cctgattgtg	ttttacaagt	agaattctat	ccgtaaaagc	agttcagttt	2820
tgaaaacaaa	tgagtcatac	ctaaacacgt	taataatctt	ctgatatcag	cttatgactc	2880
aagttatgag	ccgtgtgcaa	aacatgagat	aagtttatga	catcatccac	tgatcgtgcg	2940
ttacaagtag	aattctactc	gtaaagccag	ttcggttatg	agccgtgtgc	aaaacatgac	3000
atcagcttat	gactcatact	tgattgtggt	ttacgcgtag	aattctactc	gtaaagcgag	3060
ttcggttatg	agccgtgtgc	aaaacatgac	atcagcttat	gagtcataat	taatcgtgcg	3120
ttacaagtag	aattctactc	gtaaagcgag	ttgaaggatc	atatttagtt	gcgtttatga	3180
gataagattg	aaagcacgtg	taaaatgttt	cccgcgcgtt	ggcacaacta	tttacaatgc	3240
ggccaagtta	taaaagattc	taatctgata	tgttttaaaa	cacctttgcg	gcccagattg	3300
tttgcgtacg	tgactagcga	agaagatgtg	tggaccgcag	aacagatagt	aaaacaaaac	3360

ES 2 554 752 T3

	cctagtattg gagcaataat cgatgagctc atcatggaga taattaaaat gataaccatc	3420
	tcgcaaataa ataagtattt tactgttttc gtaacagttt tgtaataaaa aaacctataa	3480
	atattccgga ttattcatac cgtcccacca tcgggcgcat acggaccttt aattcaaccc	3540
	aacacaatat attatagtta aataagaatt attatcaaat catttgtata ttaattaaaa	3600
	tactatactg taaattacat tttatttaca atcactcgac	3640
	<210> 27	
	<211> 881	
5	<212> ADN	
	<213> Nucleopolihedrovirus <i>Autographa californica</i>	
	<400> 27	
	atcgatgttg accccaacaa aagatttata attaatcata atcacgaaca acaacaagtc	60
	aatgaaacaa ataaacaagt tgtcgataaa acattcataa atgacacagc aacatacaat	120
	tcttgcataa taaaaattta aatgacatca ttttggaga taacaaatga cattatccct	180
	cgatttgttt ttacaagtag aattctaccc gtaaagcgag tttagttttg aaaaacaaat	240
	gacatcattt gtataatgac atcatcccct gatttgtttt tacaagtaga attctatccg	300
	taaagcgagt tcagttttga aaacaaatga gtcataccta aacacgttaa taatcttctg	360
	atatcagctt atgactcaag ttatgagccg tgtgcaaac atgagataag tttatgacat	420
	catccactga tcgtgcgta caagtagaat tctactcgta aagccagttc ggttatgagc	480
	cgtgtgcaaa acatgacatc agcttatgac tcatacttga ttgtgtttta cgcgtagaat	540
	tctactcgta aagcgagttc ggttatgagc cgtgtgcaaa acatgacatc agcttatgag	600
	tcataattaa tcgtgcgta caagtagaat tctactcgta aagcgagttg aaggatcata	660
	tttagttgag tttatgagat aagattgaaa gcacgtgtaa aatgtttccc gcgcgttggc	720
	acaactattt acaatgcggc caagttataa aagattctaa tctgatatgt tttaaaacac	780
	ctttgcggcc cgagttgttt gcgtacgtga ctagcgaaga agatgtgtgg accgcagaac	840
10	agatagtaaa acaaaaccct agtattggag caataatcga t	881
	<210> 28	
	<211> 2124	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Constructo de ADN recombinante que fusiona el ADNc de Ac-ie-01 al promotor polh	
	<400> 28	
	atcatggaga taattaaaat gataaccatc tcgcaaataa ataagtattt tactgttttc	60
20	gtaacagttt tgtaataaaa aaacctataa atattccgga ttattcatac cgtcccacca	120

ES 2 554 752 T3

tggggcgcg	atcccggtcc	gaagcgcgcg	gaattcaaag	gcctacgtcg	acgagctcac	180
tagtcgcg	cgctttcgaa	tctagataga	tctatgatcc	gtacatccag	ccacgtcctg	240
aacgtccaag	aaaacatcat	gacttccaac	tgtgcttcca	gccctactc	ctgtgaggcc	300
acttcagcct	gcgctgaggc	ccagcaactg	caggtggaca	caggtggcga	taagatcgtg	360
aacaaccagg	tcaccatgac	tcaaatcaac	ttcaacgctt	cctacacctc	tgccagcact	420
ccctctcgtg	ctagcttcga	caactcatac	tgggagttct	gcgacaagca	acctaacgat	480
tacttgtctt	actacaacca	cccaaccccg	gacggagctg	atactgtcat	ctccgactct	540
gaaaccgctg	ccgctagcaa	cttcctcgcc	tcagttaact	cgctcactga	caacgatttg	600
gtggagtgtc	tgctcaagac	cactgacaac	ctggaggaag	ctgtgtcctc	tgccactac	660
agcgagtcac	tcgaacagcc	agtggtcgaa	caaccctctc	ctagctcagc	ttaccacgcc	720
gagtccttcg	aacactctgc	tggtgtcaac	cagccgtcgg	ccacaggcac	caagaggaag	780
ttggacgagt	acctggataa	ctcccaggga	gttgtgggtc	aattcaacaa	gatcaagttg	840
agacctaagt	acaagaagag	caccatccag	tcatgcgcta	cactggaaca	aaccatcaac	900
cacaacacta	acatctgtac	agtggcttcc	accaggaga	tcactcacta	cttcacaaac	960
gacttcgccc	cctacctgat	gaggttcgac	gataacgact	acaactcgaa	cagattctcc	1020
gatcacatgt	ctgaaaccgg	ttactacatg	ttcgtcgtta	agaagtccga	ggtgaagcct	1080
ttcgaaatca	tcttcgccaa	gtacgtctct	aacgtggctc	acgagtacac	aaacaactac	1140
tacatggttg	acaaccgtgt	gttcgttgtg	accttcgata	agatccgctt	catgatcagc	1200
tacaacctgg	ttaaggagac	tggcacgaa	atcccacact	cacaggacgt	ctgcaacgat	1260
gagaccgccc	ctcaaaactg	caagaagtgt	cacttcgtgg	acgtccacca	cacattcaag	1320
gccgctctga	cctcctactt	caacctcgat	atgtactacg	ctcagacaac	cttcgtgacc	1380
ttgctgcaat	cactcggcga	gcgtaagtgt	ggattcctct	tgtcgaagtt	gtacgagatg	1440
taccaggaca	agaacctctt	cactttgccc	atcatgctga	gccgcaagga	atcaaacgag	1500
atcgaaaccg	cctctaacaa	cttcctcgtc	tcgccatacg	tttcccagat	cctcaagtac	1560
tgggagtcgg	tccaattccc	ggacaaccct	ccaacaagt	acgtcgttga	taacctgaac	1620
ctcatcgtga	acaagaagag	cactctgaca	tacaagtact	cgtccgtcgc	taacctgctc	1680
ttcaacaact	acaagtacca	cgacaacatc	gcttctaaca	acaacgccga	gaacctcaag	1740
aaggtaaga	aggaagacgg	aagcatgcac	atcgttgagc	agtacttgac	tcaaaacgtc	1800
gataacgtta	agggtcacaa	cttcacgtg	ttgtccttca	agaacgagga	aaggctgacc	1860
atcgctaaga	agaacaagga	gttctactgg	atctctggcg	aatcaagga	cgttgatgtg	1920
agccaggtca	tccaaaagta	caacagattc	aagcaccaca	tgttcgtgat	cggcaaggtc	1980
aaccgtcgcg	agtcaactac	actgcacaac	aacttgctga	agctcttggc	cttgatcctg	2040

ES 2 554 752 T3

	caggggactgg tgccactctc cgacgccatc acattcgccg agcaaaagct caactgcaag	2100
	tacaagaagt tcgagttcaa ctaa	2124
5	<210> 29 <211> 911 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Constructo de ADN recombinante que fusiona el ADNc de GFP al promotor polh	
	<400> 29 atcatggaga taattaaaaat gataaccatc tcgcaaataa ataagtatct tactgttttc	60
	gtaacagttt tgtaataaaa aaacctataa atattccgga ttattcatac cgtcccacca	120
	tcgggcgcgg atccaaggcc actagtgcg cgcctctgca gtctcgagca tgcggtacca	180
	agcttgaatt catggtgagc aagggcgagg agctgttcac cggggtggtg cccatcctgg	240
	tcgagctgga cggcgacgta aacggccaca agttcagcgt gtccggcgag ggcgagggcg	300
	atgccacctc cggcaagctg accctgaagt tcctctgcac caccggcaag ctgcccgtgc	360
	cctggcccac cctcgtgacc accctgacct acggcgtgca gtgcttcagc cgtacccccg	420
	accacatgaa gcagcacgac ttcttcaagt ccgccatgcc cgaaggctac gtccaggagc	480
	gcaccatctt cttcaaggac gacggcaact acaagacccg cgccgaggtg aagttcgagg	540
	gcgacaccct ggtgaaccgc atcgagctga agggcatcga cttcaaggag gacggcaaca	600
	tcctggggca caagctggag tacaactaca acagccacaa cgtctatata atggccgaca	660
	agcagaagaa cggcatcatg gtgaacttca agatccgcca caacatcgag gacggcagcg	720
	tgcagctcgc cgaccactac cagcagaaca ccccatcgg cgacggcccc gtgctgctgc	780
	ccgacaacca ctacctgagc acccagtcgg ccctgagcaa agaccccaac gagaagcgcg	840
	atcacatggt cctgctggag ttcgtgaccg ccgccgggat cactctcggc atggacgagc	900
	tgtacaagta a	911
15	<210> 30 <211> 3873 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
20	<220> <223> Casete de expresión recombinante	
	<400> 30 ttagttgaac tcgaacttct tgtacttgca gttgagcttt tgctcggcga atgtgatggc	60
	gtcggagagt ggcaccagtc cctgcaggat caaggccaag agcttcagca agttgttgtg	120
	cagtgtagtt gactcgcgac ggttgacctt gccgatcacg aacatgtggt gcttgaatct	180

gttgtacttt tggatgacct ggctcacatc aacgtccttg atttcgccag agatccagta	240
gaactccttg ttcttcttag cgatggtcag cctttcctcg ttcttgaagg acaacacgat	300
gaagtttgtga cccttaacgt tatcgacgtt ttgagtcag tactgctcaa cgatgtgcat	360
gcttcogtct tccttcttga ccttcttgag gttctcggcg ttgttgtag aagcgatgtt	420
gtcgtggtac ttgtagtgt tgaagagcag gttagcgacg gacgagtact tgtatgtcag	480
agtgtctcttc ttgttcacga tgagggttcag gttatcaacg acgtacttgt tgggaggggtt	540
gtccgggaat tggacggact ccgagtactt gaggatctgg gaaacgtatg gcgagacgaa	600
gaagttgtta gaggcgggtt cgatctcgtt tgattccttg cggctcagca tgatgggcaa	660
agtgaagagg ttcttgtcct ggtacatctc gtacaacttc gacaagagga atccacactt	720
acgctcgccg agtgattgca gcaaggtcac gaaggttgtc tgagcgtagt acatatcgag	780
gttgaagtag gaggtcagag cggccttgaa tgtgtggtgg acgtccacga agtgacactt	840
cttgcagttt tgagcggcggt tctcatcgtt gcagacgtcc tgtgagtgtg ggatttcgat	900
gccagtctcc ttaaccagggt tgtagctgat catgaagcgg atcttatcga aggtcacaac	960
gaacacacgg ttgtcaacca tgtagtagtt gtttgtgtac tcgtagacca cgtagagac	1020
gtacttggcg aagatgattt cgaaaggctt cacctcggac ttcttaacga cgaacatgta	1080
gtaaccgggt tcagacatgt gatcggagaa tctgttcgag ttgtagtcgt tatcgtcgaa	1140
cctcatcagg tagggggcga agtcgtttgt gaagtagtga gtgatctcct gggtggaagc	1200
cactgtacag atgttagtgt tgtggttgat ggtttgttcc agtgtagcgc atgactggat	1260
gggtgtcttc ttgtacttag gtctcaactt gatcttggtt aattgacca caactccctg	1320
ggagttatcc aggtactcgt ccaacttcct cttggtgcct gtggccgacg gctgggtgac	1380
accagcagag tggtcgaagg actcggcgtg gtaagctgag ctaggagagg gttgttcgac	1440
cactggctgt tcgagtgact cgctgtagta ggcagaggac acagcttcct ccaggttgtc	1500
agtggtcttg agcagacact ccaccaaatac gttgtcagtg agcgagttaa ctgaggcgag	1560
gaagttgcta gcggcagcgg ttccagagtc ggagatgaca gtatcagctc cgtccgggggt	1620
tgggtggttg tagtaagaca agtaatcgtt aggttgcttg tcgcagaact ccgagtatga	1680
gttgtcgaag ctagcacgag agggagtgtt ggcagagggt taggaagcgt tgaagttgat	1740
ttgagtcag gtgacctggt tgttcacgat cttatcgcca cctgtgtcca cctgcagttg	1800
ctgggcctca gcgcaggctg aagtggcctc acaggagtag gggctggaag cacagttgga	1860
agtcagtgat ttttcttgga cgttcaggac gtggctggat gtacggatca tagatctatc	1920
tagattcgaa agcggccgcg actagtgagc tcgtcgacgt aggcctttga attccgcgcg	1980
cttcggaccg ggatccgcgc ccgatggtgg gacggtatga ataaccgga atatttatag	2040

gtttttttat	tacaaaactg	ttacgaaaac	agtaaaatac	ttattttattt	gcgagatggt	2100
tatcatttta	attatctcca	tgatctatta	atattccgga	gtatacctac	ccgtaaagcg	2160
agtttagttt	tgaaaaacaa	atgacatcat	ttgtataatg	acatcatccc	ctgatttgtgt	2220
tttacaagta	gaattctatc	cgtaaagcga	gttcagtttt	gaaaacaaat	gagtcatacc	2280
taaacacggt	aataatcttc	tgatatcagc	ttatgactca	agttatgagc	cgtgtgcaaa	2340
acatgagata	agtttatgac	atcatccact	gatcgtgcgt	tacaagtaga	attctactcg	2400
taaagccagt	tcggttatga	gccgtgtgca	aaacatgaca	tcagcttatg	actcatactt	2460
gattgtgttt	tacgcgtaga	attctactcg	taaagcgagt	tcgggttatga	gccgtgtgca	2520
aaacatgaca	tcagcttatg	agtcataatt	aatcgtgcgt	tacaagtaga	attctactcg	2580
taaagcgagt	tgaaggatca	tatttagttg	cgtttatgag	ataagattga	aagcacgtgt	2640
aaaatgtttc	cgagctcgtc	gacgtaggcc	tttgaattcc	gcgcgcttcg	gaccgggac	2700
ggtaccaa	at	tcggttttgc	gacgatgcag	agtttttgaa	caggctgctc	2760
atccgtaccc	gctcagtcgg	atgtattaca	atgcagccaa	taccatgttt	tacacgacta	2820
tggaaaaacta	tgccgtgtcc	aattgcaagt	tcaacattga	ggattacaat	aacatattta	2880
aggtgatgga	aaatattagg	aaacacagca	acaaaaattc	aaacgaccaa	gacgagttaa	2940
acatatat	ttt	gggagttcag	tcgtcgaatg	caaagcgtaa	aaaatattaa	3000
attacagcta	cataaattac	acaattttaa	ctgcagtctg	gagatacgga	cctttaattc	3060
aaaccaacac	aatatattat	agttaaataa	gaattattat	caaatcattt	gtatattaat	3120
taaaatacta	tactgtaa	at	tacattttat	ttacaatcac	tcgacctga	3180
ccaaggaggc	gtttccgcag	acgaagacac	cgcgcccgca	gccatcttgg	ccagatcctc	3240
cgccgcgcgc	cctggctcgt	ccacccccgc	caccgttacc	gctggagaag	gaaaaatggc	3300
atcttcaaca	ccgcctctc	ccgcaccttc	ggatatactg	tcaaggctac	cacagtcaca	3360
acgccctcct	gggcggtgga	catgatgaga	tttaatatta	acgactttgt	tcccccgga	3420
ggggggacca	acaaaatctc	tatacccttt	gaatactaca	gaataagaaa	ggttaagggt	3480
gaattctggc	cctgctcccc	aatcaccacg	ggtgacaggg	gagtgggctc	cactgctggt	3540
attctagatg	ataactttgt	aacaaaggcc	acagccctaa	cctatgaccc	ctatgtaaac	3600
tactcctccc	gccatacaat	cccccaaccc	ttctcctacc	actcccgtaa	cttcacaccc	3660
aaacctgtac	tggatagaac	tattgattac	ttccagccaa	acaacaaaaa	aaatcagctt	3720
tggtgagggc	tacaaacctc	tgcaaatgta	gaccacgtag	gcctcggcac	tgcggttcgaa	3780
aacagtaaat	acgaccagga	ctacaatatc	cgtgtaacca	tgtatgtaca	attcagagaa	3840
tttaatctta	aagaccccc	acttaaacc	taa			3873

ES 2 554 752 T3

<211> 702
 <212> ADN
 <213> Circovirus porcino de tipo 2

5 <400> 31
 atgacgtatc caaggaggcg tttccgcaga cgaagacacc gcccccgag ccatcttggc 60
 cagatcctcc gccgccgccc ctggctcgtc ccccccgcc accgttaccg ctggagaagg 120
 aaaaatggca tcttcaacac ccgcctctcc cgcaccttcg gatatactgt caaggctacc 180
 acagtcacaa cgccctcctg ggcggtggac atgatgagat ttaatatataa cgactttgtt 240
 cccccgggag gggggaccaa caaaatctct ataccctttg aatactacag aataagaaag 300
 gttaagggtg aattctggcc ctgctcccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc 360
 actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca cagccctaac ctatgacccc 420
 tatgtaaact actcctcccg ccatacaatc cccaaccct tctcctacca ctcccgttac 480
 ttcacaccca aacctgtact ggatagaact attgattact tccagccaaa caacaaaaaa 540
 aatcagcttt ggctgaggct acaaacctct gcaaagttag accacgtagg cctcggcact 600
 gcgttcgaaa acagtaaata cgaccaggac tacaatatcc gtgtaacat gtatgtacaa 660
 ttcagagaat ttaatcttaa agacccccca cttaaaccct aa 702

<210> 32
 <211> 233
 <212> PRT
 <213> Circovirus porcino de tipo 2

10 <400> 32
 Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Phe Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg
 1 5 10 15
 Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro
 20 25 30
 Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg
 35 40 45
 Leu Ser Arg Thr Phe Gly Tyr Thr Val Lys Ala Thr Thr Val Thr Thr
 50 55 60
 Pro Ser Trp Ala Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Val
 65 70 75 80
 Pro Pro Gly Gly Gly Thr Asn Lys Ile Ser Ile Pro Phe Glu Tyr Tyr
 85 90 95
 Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr

ES 2 554 752 T3

100	105	110
Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn		
115	120	125
Phe Val Thr Lys Ala Thr Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr		
130	135	140
Ser Ser Arg His Thr Ile Pro Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr		
145	150	155
		160
Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro		
165	170	175
Asn Asn Lys Lys Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Ser Ala Asn		
180	185	190
Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala Phe Glu Asn Ser Lys Tyr Asp		
195	200	205
Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Val Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe		
210	215	220
Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Lys Pro		
225	230	

<210> 33
 <211> 836
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Constructo de ADN recombinante que fusiona el ADNc de Cap al promotor polh

<400> 33	
atcatggaga taattaaaat gataaccatc tcgcaaataa ataagtattt tactgttttc	60
gtaacagttt tgtaataaaa aaacctataa atattccgga ttattcatac cgtcccacca	120
tcgggcgcg atccatgacg tatccaagga ggcgtttccg cagacgaaga caccgcccc	180
gcagccatct tggccagatc ctccgccgcc gccctggct cgtccacccc cgccaccgtt	240
accgctggag aaggaaaaat ggcattctca acaccgcct ctccgcacc ttccgatata	300
ctgtcaaggc taccacagtc acaacgccct cctgggcggg ggacatgatg agatttaata	360
ttaacgactt tggtcccccg ggagggggga ccaacaaaat ctctataccc tttgaatact	420
acagaataag aaagggttaag gttgaattct ggccctgctc cccaatcacc cagggtgaca	480
ggggagtggt ctccactgct gttattctag atgataactt tgtaacaaag gccacagccc	540

ES 2 554 752 T3

taacctatga cccctatgta aactactcct cccgccatac aatcccccaa cccttctcct	600
accactcccg ttacttcaca cccaaacctg tactggatag aactattgat tacttccagc	660
caaacaacaa aaaaaatcag ctttggctga ggctacaaac ctctgcaa at gtagaccacg	720
taggcctcgg cactgcgttc gaaaacagta aatacgacca ggactacaat atccgtgtaa	780
ccatgtatgt acaattcaga gaatttaatc ttaaagaccc cccacttaaa ccctaa	836

<210> 34

<211> 3891

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de expresión recombinante

<400> 34

ttagttgaac tcgaacttct tgtacttgca gttgagcttt tgctcggcga atgtgatggc	60
gtcggagagt ggcaccagtc cctgcaggat caaggccaag agcttcagca agttgttgtg	120
cagtgtagtt gactcgcgac gggtgacctt gccgatcacg aacatgtggt gcttgaatct	180
gttgtacttt tggatgacct ggctcacatc aacgtccttg atttcgccag agatccagta	240
gaactccttg ttcttcttag cgatggtcag cctttcctcg ttcttgaagg acaacacgat	300
gaagtttgtga cccttaacgt tatcgacgtt ttgagtcaag tactgctcaa cgatgtgcat	360
gcttccgtct tccttcttga ccttcttgag gttctcggcg ttgttgttag aagcgatgtt	420
gtcgtggtac ttgtagttgt tgaagagcag gttagcgacg gacgagtact tgtatgtcag	480
agtgtctcttc ttgttcacga tgagggttcag gttatcaacg acgtacttgt tgggaggggtt	540
gtccgggaat tggacggact ccgagtactt gaggatctgg gaaacgtatg gcgagacgaa	600
gaagttgtta gaggcggttt cgatctcgtt tgattccttg cggctcagca tgatgggcaa	660
agtgaagagg ttcttgtcct ggtacatctc gtacaacttc gacaagagga atccacactt	720
acgtcgcgag agtgattgca gcaaggtcac gaaggttgtc tgagcgtagt acatatcgag	780
gttgaagtag gaggtcagag cggccttgaa tgtgtggtgg acgtccacga agtgacactt	840
cttgcagttt tgagcggcgg tctcatcgtt gcagacgtcc tgtgagtgtg ggatttcgat	900
gccagtctcc ttaaccagggt ttagctgat catgaagcgg atcttatcga aggtcacaac	960
gaacacacgg ttgtcaacca ttagtagttt gtttgtgtac tcgtagacca cgttagagac	1020
gtacttggcg aagatgattt cgaaaggctt cacctcggac ttcttaacga cgaacatgta	1080
gtaaccggtt tcagacatgt gatcggagaa tctgttcgag ttgtagtcgt tatcgtcgaa	1140
cctcatcagg tagggggcga agtcgtttgt gaagtagtga gtgatctcct ggggtggaagc	1200
cactgtacag atgttagtgt tgtggttgat ggtttgttcc agtgtagcgc atgactggat	1260
ggtgtctcttc ttgtacttag gtctcaactt gatcttgttg aattgaccca caactccctg	1320

ggagttatcc aggtactcgt ccaacttcct cttggtgcct gtggccgacg gctggttgac	1380
accagcagag tgttcgaagg actcggcgtg gtaagctgag ctaggagagg gttgttcgac	1440
cactggctgt tcgagtgact cgctgtagta ggcagaggac acagcttcct ccaggttgtc	1500
agtggctcttg agcagacact ccaccaaatac gttgtcagtg agcgagttaa ctgaggcgag	1560
gaagttgcta gcggcagcgg ttccagagtc ggagatgaca gtatcagctc cgtccgggggt	1620
tgggtgggttg tagtaagaca agtaatcgtt aggttgcttg tcgcagaact ccgagtatga	1680
gttgtcgaag ctagcacgag agggagtgct ggcagagggtg taggaagcgt tgaagttgat	1740
ttgagtcattg gtgacctggg tgttcacgat cttatcgcca cctgtgtcca cctgcagttg	1800
ctgggcctca gcgcaggctg aagtggcctc acaggagtag gggctggaag cacagttgga	1860
agtcattgatg ttttcttgga cgttcaggac gtggctggat gtacggatca tagatctatc	1920
tagattcgaa agcggccgcg actagtgagc tcgtcgacgt aggcctttga attccgcgcg	1980
cttcggaccg ggatccgcgc ccgatgggtg gacggtatga ataatacgga atatttatag	2040
gtttttttat taaaaactg ttacgaaaac agtaaaatac ttattttattt gcgagatggg	2100
tatcatttta attatctcca tgatctatta atattccgga gtataacctac ccgtaaagcg	2160
agtttagttt tgaanaacaa atgacatcat ttgtataatg acatcatccc ctgatttgtgt	2220
tttacaagta gaattctatc cgtaaagcga gttcagtttt gaaaacaaat gagtcatacc	2280
taaacacggt aataatcttc tgatatcagc ttatgactca agttatgagc cgtgtgcaaa	2340
acatgagata agtttatgac atcatccact gatcgtgcgt tacaagtaga attctactcg	2400
taaagccagt tcggttatga gccgtgtgca aaacatgaca tcagcttatg actcatactt	2460
gattgtgttt tacgcgtaga attctactcg taaagcgagt tcggttatga gccgtgtgca	2520
aaacatgaca tcagcttatg agtcataatt aatcgtgcgt tacaagtaga attctactcg	2580
taaagcgagt tgaaggatca tatttagttg cgtttatgag ataagattga aagcacgtgt	2640
aaaatgtttc cgagctcgtc gacgtaggcc tttgaattcc gcgcgcttcg gaccgggac	2700
ggtagcaaat tccgttttgc gacgatgcag agtttttgaa caggctgctc aaacacatag	2760
atccgtaccc gctcagtcgg atgtattaca atgcagccaa taccatgttt tacacgacta	2820
tggaaaacta tgccgtgtcc aattgcaagt tcaacattga ggattacaat aacatattta	2880
aggtgatgga aaatattagg aaacacagca acaaaaattc aaacgaccaa gacgagttaa	2940
acatatattt gggagttcag tcgtcgaatg caaagcgtaa aaaatattaa taaggtaaaa	3000
attacagcta cataaattac acaatttaaa ctgcagctctg gagatacgga cctttaattc	3060
aaccaaacac aatatattat agttaaataa gaattattat caaatcattt gtatattaat	3120
taaaatacta tactgtaaat tacattttat ttacaatcac tcgacctcga gatggtgagc	3180

aagggcgagg agctgttcac cgggggtggtg cccatcctgg tcgagctgga cggcgacgta 3240
aacggccaca agttcagcgt gtccggcgag ggcgagggcg atgccaccta cggcaagctg 3300
accctgaagt tcattctgcac caccggcaag ctgcccgtgc cctggcccac cctcgtgacc 3360
accctgacct acggcgtgca gtgcttcagc cgctaccccg accacatgaa gcagcacgac 3420
ttcttcaagt ccgccatgcc cgaaggctac gtccaggagc gcaccatctt cttcaaggac 3480
gacggcaact acaagacccg cgccgaggtg aagttcgagg gcgacaccct ggtgaaccgc 3540
atcgagctga agggcatcga cttcaaggag gacggcaaca tcctggggca caagctggag 3600
tacaactaca acagccacaa cgtctatatc atggccgaca agcagaagaa cggcatcatg 3660
gtgaacttca agatccgcca caacatcgag gacggcagcg tgcagctcgc cgaccactac 3720
cagcagaaca ccccatcgg cgacggcccc gtgctgctgc ccgacaacca ctacctgagc 3780
accagtcgg ccctgagcaa agaccccaac gagaagcgcg atcacatggt cctgctggag 3840
ttcgtgaccg ccgccgggat cactctcggc atggacgagc tgtacaagta a 3891

<210> 35

<211> 3618

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de expresión recombinante

<400> 35

ttagttgaac tcgaacttct tgtacttgca gttgagcttt tgctcggcga atgtgatggc 60
gtcggagagt ggcaccagtc cctgcaggat caaggccaag agcttcagca agttgttgtg 120
cagtgtagtt gactcgcgac ggttgacctt gccgatcacg aacatgtggt gcttgaatct 180
gttgtacttt tggatgacct ggctcacatc aacgtccttg atttcgccag agatccagta 240
gaactccttg ttcttcttag cgatggtcag cctttcctcg ttcttgaagg acaacacgat 300
gaagtttgtga cccttaacgt tatcgacgtt ttgagtcaag tactgctcaa cgatgtgcat 360
gcttccgtct tccttcttga ccttcttgag gttctcggcg ttgttggttag aagcgatggt 420
gtcgtggtac ttgtagttgt tgaagagcag gttagcgacg gacgagtact tgtatgtcag 480
agtgcctctc ttgttcacga tgaggttcag gttatcaacg acgtacttgt tgggaggggt 540
gtccgggaat tggacggact ccgagtactt gaggatctgg gaaacgtatg gcgagacgaa 600
gaagttgtta gaggcggttt cgatctcgtt tgattccttg cggctcagca tgatgggcaa 660
agtgaagagg ttcttgtcct ggtacatctc gtacaacttc gacaagagga atccacactt 720
acgctcgcgg agtgattgca gcaaggctac gaagggtgtc tgagcgtagt acatatcgag 780
gttgaagtag gaggtcagag cggccttgaa tgtgtggttg acgtccacga agtgacactt 840
cttgcagttt tgagcggcgg tctcatcgtt gcagacgtcc tgtgagtgtg ggatttcgat 900

gccagtctcc ttaaccaggt tgtagctgat catgaagcgg atcttatcga aggtcacaaac	960
gaacacacgg ttgtcaacca tgtagtagtt gtttgtgtac tcgtagacca cgtagagac	1020
gtacttggcg aagatgattt cgaaaggctt cacctcggac ttcttaacga cgaacatgta	1080
gtaaccgggtt tcagacatgt gatcggagaa tctgttcgag ttgtagtcgt tatcgtcgaa	1140
cctcatcagg tagggggcga agtcgtttgt gaagtagtga gtgatctcct gggtggaagc	1200
cactgtacag atgttagtgt tgtggttgat ggtttgttcc agtgtagcgc atgactggat	1260
ggtgctcttc ttgtacttag gtctcaactt gatcttggtg aattgacca caactccctg	1320
ggagttatcc aggtactcgt ccaacttcct cttggtgcct gtggccgacg gctggttgac	1380
accagcagag tggtcgaagg actcggcgtg gtaagctgag ctaggagagg gttgttcgac	1440
cactggctgt tcgagtgact cgctgtagta ggcagaggac acagcttcct ccaggttgtc	1500
agtggctctg agcagacact ccaccaaatac gttgtcagtg agcgagttaa ctgaggcgag	1560
gaagttgcta gcggcagcgg tttcagagtc ggagatgaca gtatcagctc cgtccggggt	1620
tgggtggttg tagtaagaca agtaatcgtt aggttgcttg tcgcagaact ccgagtatga	1680
gttgtcgaag ctagcacgag agggagtgtt ggcagagggt taggaagcgt tgaagttgat	1740
ttgagtcatt gtgacctggt tgttcacgat cttatcgcca cctgtgtcca cctgcagttg	1800
ctgggcctca gcgcaggctg aagtggcctc acaggagtag gggctggaag cacagttgga	1860
agtcattgat ttttcttgga cgttcaggac gtggctggat gtacggatca tagatccgag	1920
cccgatggtg ggacgggatg aataatccgg aatatttata ggttttttta ttacaaaact	1980
gttacgaaaa cagtaaaata cttattttatt tgcgagatgg ttatcatttt aattatctcc	2040
atgatctatt aatattccgg agtatacctt cccgtaaagc gagtttagtt ttgaaaaaca	2100
aatgacatca tttgtataat gacatcatcc cctgattgtg ttttacaagt agaattctat	2160
ccgtaaagcg agttcagttt tgaaaacaaa tgagtcatac ctaaacacgt taataatctt	2220
ctgatatacag cttatgactc aagttatgag ccgtgtgcaa aacatgagat aagtttatga	2280
catcatccac tgatcgtgag ttacaagtag aattctactc gtaaagccag ttcggttatg	2340
agccgtgtgc aaaacatgac atcagcttat gactcatact tgatttgtgt ttacgcgtag	2400
aattctactc gtaaagcgag ttcggttatg agccgtgtgc aaaacatgac atcagcttat	2460
gagtcataat taatcgtgag ttacaagtag aattctactc gtaaagcgag ttgaaggatc	2520
atatttagtt gcgtttatga gataagattg aaagcacgtg taaaatgttt ccgagctcat	2580
catggagata attaaaatga taaccatctc gcaaataaat aagtatttta ctgttttcgt	2640
aacagttttg taataaaaaa acctataaat attccggatt attcataccg tcccaccatc	2700
gggcgcgagc tcatacggac ctttaattca acccaacaca atatattata gttaaataag	2760

aattattatc	aaatcatttg	tatattaatt	aaaatactat	actgtaaatt	acattttatt	2820
tacaatcact	cgacctcgag	ccatggttct	agacagctga	tgcatactag	agcctgcagt	2880
ctcgacaagc	ttgaattcat	ggtgagcaag	ggcgaggagc	tgttcaccgg	ggtggtgccc	2940
atcctgggtcg	agctggacgg	cgacgtaaac	ggccacaagt	tcagcgtgtc	cggcgagggc	3000
gagggcgatg	ccacctacgg	caagctgacc	ctgaagttca	tctgcaccac	cggcaagctg	3060
cccgtgccct	ggcccaccct	cgtgaccacc	ctgacctacg	gcgtgcagtg	cttcagccgc	3120
taccccgacc	acatgaagca	gcacgacttc	ttcaagtccg	ccatgcccgga	aggctacgtc	3180
caggagcgca	ccatcttctt	caaggacgac	ggcaactaca	agaccgcgc	cgaggtgaag	3240
ttcgagggcg	acaccctggt	gaaccgcatc	gagctgaagg	gcatcgactt	caaggaggac	3300
ggcaacatcc	tggggcacia	gctggagtac	aactacaaca	gccacaacgt	ctatatcatg	3360
gccgacaagc	agaagaacgg	catcatggtg	aacttcaaga	tccgccacia	catcgaggac	3420
ggcagcgtgc	agctcgccga	ccactaccag	cagaacaccc	ccatcggcga	cggccccgtg	3480
ctgctgcccc	acaaccacta	cctgagcacc	cagtccgcc	tgagcaaaga	ccccaacgag	3540
aagcgcgatc	acatggtcct	gctggagttc	gtgaccgccg	ccgggatcac	tctcggcagt	3600
gacgagctgt	acaagtaa					3618

<210> 36

<211> 3950

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de expresión recombinante

10

<400> 36

ttagttgaac	tcgaacttct	tgtacttgca	gttgagcttt	tgctcggcga	atgtgatggc	60
gtcggagagt	ggcaccagtc	cctgcaggat	caaggccaag	agcttcagca	agttgttgtg	120
cagtgtagtt	gactcgcgac	ggttgacctt	gccgatcacg	aacatgtggt	gcttgaatct	180
gttgtacttt	tggatgacct	ggctcacatc	aacgtccttg	atttcgccag	agatccagta	240
gaactccttg	ttcttcttag	cgatggtcag	cctttcctcg	ttcttgaagg	acaacacgat	300
gaagtttgtga	cccttaacgt	tatcgacgtt	ttgagtcaag	tactgctcaa	cgatgtgcat	360
gcttccgtct	tccttcttga	ccttcttgag	gttctcggcg	ttgttggttag	aagcgatggt	420
gtcgtgggtac	ttgtagttgt	tgaagagcag	gttagcgacg	gacgagtact	tgtatgtcag	480
agtgtctcttc	ttgttcacga	tgaggttcag	gttatcaacg	acgtacttgt	tgggaggggtt	540
gtccgggaat	tggacggact	ccgagtactt	gaggatctgg	gaaacgtatg	gcgagacgaa	600
gaagttgtta	gaggcggttt	cgatctcggt	tgattccttg	cggctcagca	tgatgggcaa	660
agtgaagagg	ttcttgtcct	ggtacatctc	gtacaacttc	gacaagagga	atccacactt	720

acgctcgccg agtgattgca gcaaggtcac gaaggttgtc tgagcgtagt acatatcgag	780
gttgaagtag gaggtcagag cggccttgaa tgtgtggtgg acgtccacga agtgacactt	840
cttgcagttt tgagcggcgg tctcatcggt gcagacgtcc tgtgagtgtg ggatttcgat	900
gccagtctcc ttaaccaggt tgtagctgat catgaagcgg atcttatcga aggtcacaac	960
gaacacacgg ttgtcaacca tgtagtagtt gtttgtgtac tcgtagacca cgtagagac	1020
gtacttggcg aagatgattt cgaaaggctt cacctcggac ttcttaacga cgaacatgta	1080
gtaaccgggt tcagacatgt gatcggagaa tctgttcgag ttgtagtcgt tatcgtcgaa	1140
cctcatcagg tagggggcga agtcgtttgt gaagtagtga gtgatctcct gggtggaagc	1200
cactgtacag atgttagtgt tgtggttgat ggtttgttcc agtgtagcgc atgactggat	1260
ggtgctcttc ttgtacttag gtctcaactt gatcttgttg aattgacca caactcctg	1320
ggagttatcc aggtactcgt ccaacttcct cttggtgcct gtggccgacg gctggttgac	1380
accagcagag tgttcgaagg actcggcgtg gtaagctgag ctaggagagg gttgttcgac	1440
cactggctgt tcgagtgact cgctgtagta ggcagaggac acagcttcct ccaggttgtc	1500
agtggctctg agcagacact ccaccaaatac gttgtcagtg agcgagttaa ctgaggcgag	1560
gaagttgcta gcggcagcgg tttcagagtc ggagatgaca gtatcagctc cgtccggggt	1620
tgggtggttg tagtaagaca agtaatcggt aggttgcttg tcgcagaact ccgagtatga	1680
gttgtcgaag ctagcacgag agggagtgtt ggcagagggt taggaagcgt tgaagttgat	1740
ttgagtcattg gtgacctggt tgttcacgat cttatcgcca cctgtgtcca cctgcagttg	1800
ctgggcctca gcgcaggctg aagtggcctc acaggagtag gggctggaag cacagttgga	1860
agtcattgatg ttttcttgga cgttcaggac gtggctggat gtacggatca tagatctatc	1920
tagattcgaa agcggccgcg actagtgagc tcgtcgacgt aggcctttga attccgcgcg	1980
cttcggaccg ggatccgcgc ccgatggtgg gacggtatga ataatacgga atatttatag	2040
gtttttttat taaaaactg ttacgaaaac agtaaaatac ttatttattt gcgagatggt	2100
tatcatttta attatctcca tgatctatta atattccgga gtatacctac ccgtaaagcg	2160
agtttagttt tgaaaaacaa atgacatcat ttgtataatg acatcatccc ctgatttgtt	2220
tttacaagta gaattctatc cgtaaagcga gttcagtttt gaaaacaaat gagtcatacc	2280
taaacacggt aataatcttc tgatatcagc ttatgactca agttatgagc cgtgtgcaaa	2340
acatgagata agtttatgac atcatccact gatcgtgcgt tacaagtaga attctactcg	2400
taaagccagt tcggttatga gccgtgtgca aaacatgaca tcagcttatg actcatactt	2460
gattgtgttt tacgcgtaga attctactcg taaagcgagt tcggttatga gccgtgtgca	2520
aaacatgaca tcagcttatg agtcataatt aatcgtgcgt tacaagtaga attctactcg	2580

taaagcgagt tgaaggatca tatttagttg cgtttatgag ataagattga aagcacgtgt	2640
aaaatgtttc caaaaacatc gattaggggtg actgaagggtt acattgggggt aggttatggt	2700
taatacgtaa tggtttaaca ccaaaacgat atcatggatt ttatataagg tgtaataata	2760
tttttaatga gtggacgcgt cgggtcaatg tcctgcctat tgacgtcata acatattagg	2820
tgattatatt aaaaatagtt taaactcaaa tattacttgc aagtttaagt ttcatacataa	2880
tctgatcata agtttcaccc aaacagaaac caaaagcata actatcgaat atcttttagct	2940
tcccatgaag aaagattacc gtaaccatca ctaggatttt atacgattgt agaaaataaa	3000
gtattctcag tctcttttca gagcgctata aaaaggggtg cattctcggt aagagtacag	3060
ttgaactcac atcgagttaa ctccacgctg caggaccttt aattcaaccc aacacaatat	3120
attatagtta aataagaatt attatcaaat catttgtata ttaattaaaa tactatactg	3180
taaattacat tttatttaca atcactcgac ggatcccccg ggatctcgag atggtgagca	3240
agggcgagga gctgttcacc ggggtggtgc ccatcctggt cgagctggac ggcgacgtaa	3300
acggccacaa gttcagcgtg tccggcgagg gcgagggcga tgccacctac ggcaagctga	3360
ccctgaagtt catctgcacc accggcaagc tgcccgtgcc ctggcccacc ctctgaccca	3420
ccctgacctc cggcgtgcag tgcttcagcc gctaccccga ccacatgaag cagcacgact	3480
tcttcaagtc cgccatgccc gaaggctacg tccaggagcg caccatcttc ttcaaggacg	3540
acggcaacta caagacccgc gccgaggtga agttcgaggg cgacaccctg gtgaaccgca	3600
tcgagctgaa gggcatcgac ttcaaggagg acggcaacat cctggggcac aagctggagt	3660
acaactacaa cagccacaac gtctatatca tggccgacaa gcagaagaac ggcatcatgg	3720
tgaacttcaa gatccgccac aacatcgagg acggcagcgt gcagctcgcc gaccactacc	3780
agcagaacac ccccatcggc gacggccccg tgctgctgcc cgacaaccac tacctgagca	3840
cccagtccgc cctgagcaaa gaccccaacg agaagcgcgga tcacatggtc ctgctggagt	3900
tcgtgaccgc cgccgggatc actctcgga tggacgagct gtacaagtaa	3950

<210> 37
 <211> 3791
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Casete de expresión recombinante

<400> 37	
ttagttgaac tcgaacttct tgtacttgca gttgagcttt tgctcggcga atgtgatggc	60
gtcggagaggt ggcaccagtc cctgcaggat caaggccaag agcttcagca agttgtttgtg	120
cagtgtagtt gactcgcgac ggttgacctt gccgatcacg aacatgtgggt gcttgaatct	180
gttgtacttt tggatgacct ggctcacatc aacgtccttg atttcgccag agatccagta	240

gaactccttg ttcttcttag cgatggtcag cctttcctcg ttcttgaagg acaacacgat	300
gaagtttgtga cccttaacgt tatcgacgtt ttgagtcaag tactgctcaa cgatgtgcat	360
gcttcogtct tcccttcttga ccttcttgag gttctcggcg ttgttggttag aagcgatgtt	420
gtcgtggtac ttgtagttgt tgaagagcag gttagcgacg gacgagtact tgtatgtcag	480
agtgtctcttc ttgttcacga tgagggttcag gttatcaacg acgtacttgt tgggaggggtt	540
gtccgggaat tggacggact ccgagtactt gaggatctgg gaaacgtatg gcgagacgaa	600
gaagttgtta gaggcgggtt cgatctcggt tgattccttg cggctcagca tgatgggcaa	660
agtgaagagg ttcttgtcct ggtacatctc gtacaacttc gacaagagga atccacactt	720
acgtctgcgc agtgattgca gcaaggtcac gaaggttgtc tgagcgtagt acatatcgag	780
gttgaagtag gaggtcagag cggccttgaa tgtgtggtgg acgtccacga agtgacactt	840
cttgcagttt tgagcggcgg tctcatcggt gcagacgtcc tgtgagtgtg ggatttcgat	900
gccagtctcc ttaaccagggt tgtagctgat catgaagcgg atcttatcga aggtcacaac	960
gaacacacgg ttgtcaacca tgtagtagtt gtttgtgtac tcgtagacca cgttagagac	1020
gtacttggcg aagatgattt cgaaaggctt cacctcggac ttcttaacga cgaacatgta	1080
gtaaccgggt tcagacatgt gatcggagaa tctgttcgag ttgtagtcgt tatcgtcgaa	1140
cctcatcagg tagggggcga agtcgtttgt gaagtagtga gtgatctcct gggtggaagc	1200
cactgtacag atgttagtgt tgtggttgat ggtttgttcc agtgtagcgc atgactggat	1260
ggtgtctcttc ttgtacttag gtctcaactt gatcttggtg aattgacca caactccctg	1320
ggagttatcc aggtactcgt ccaacttcct cttggtgcct gtggccgacg gctggttgac	1380
accagcagag tgttcgaagg actcggcgtg gtaagctgag ctaggagagg gttgttcgac	1440
cactggctgt tcgagtgact cgctgtagta ggcagaggac acagcttcct ccaggttgtc	1500
agtggctctg agcagacact ccaccaaatac gttgtcagtg agcgagttaa ctgaggcgag	1560
gaagttgcta gcggcagcgg tttcagagtc ggagatgaca gtatcagctc cgtccgggggt	1620
tgggtgggtt tagtaagaca agtaatcggt aggttgcttg tcgcagaact ccgagtatga	1680
gttgtcgaag ctagcacgag agggagtgtt ggcagagggt taggaagcgt tgaagttgat	1740
ttgagtcatg gtgacctggt tgttcacgat cttatcgcca cctgtgtcca cctgcagttg	1800
ctgggcctca gcgcaggctg aagtggcctc acaggagtag gggctggaag cacagttgga	1860
agtcatgatg ttttcttgga cgttcaggac gtggctggat gtacggatca tagatctatc	1920
tagattcgaa agcggccgcg actagtgagc tcgtcgacgt aggcctttga attccgcgcg	1980
cttcggaccg ggatccgcgc ccgatggtgg gacggtatga ataaccgga atatttatag	2040
gtttttttat taaaaactg ttacgaaaac agtaaaatac ttatttattt gcgagatggt	2100

ES 2 554 752 T3

tatcatttta attatctcca tgatctatta atattccgga gtatacctac ccgtaaagcg	2160
agtttagttt tgaaaaacaa atgacatcat ttgtataatg acatcatccc ctgattgtgt	2220
tttacaagta gaattctatc cgtaaagcga gttcagtttt gaaaacaaat gagtcatacc	2280
taaacacggt aataatcttc tgatatcagc ttatgactca agttatgagc cgtgtgcaaa	2340
acatgagata agtttatgac atcatccact gatcgtgcbt tacaagtaga attctactcg	2400
taaagccagt tcggttatga gccgtgtgca aaacatgaca tcagcttatg actcatactt	2460
gattgtgttt tacgcgtaga attctactcg taaagcgagt tcggttatga gccgtgtgca	2520
aaacatgaca tcagcttatg agtcataatt aatcgtgcbt tacaagtaga attctactcg	2580
taaagcgagt tgaaggatca tatttagttg cgtttatgag ataagattga aagcacgtgt	2640
aaaatgtttc cgagctcgtc gacgtaggcc tttgaattcc gcgcgcttcg gaccgggac	2700
ggtaccaaatt tccgttttgc gacgatgcag agtttttgaa caggctgctc aaacacatag	2760
atccgtaccc gctcagtcgg atgtattaca atgcagccaa taccatgttt tacacgacta	2820
tggaaaacta tgccgtgtcc aattgcaagt tcaacattga ggattacaat aacatattta	2880
aggtgatgga aaatattag aaacacagca acaaaaattc aaacgaccaa gacgagttaa	2940
acatatattt gggagttcag tcgtcgaatg caaagcgtaa aaaatattaa taaggtaaaa	3000
attacagcta cataaattac acaatttaaa ctgcagtctg gagatacgtc cgagcatgca	3060
agcttgaatt catggtgagc aagggcgagg agctgttcac cggggtggtg cccatcctgg	3120
tcgagctgga cggcgacgta aacggccaca agttcagcgt gtccggcgag ggcgagggcg	3180
atgccaccta cggcaagctg accctgaagt tcatctgcac caccggcaag ctgccgtgc	3240
cctggccccc cctcgtgacc accctgacct acggcgtgca gtgcttcagc cgctaccccg	3300
accacatgaa gcagcacgac ttcttcaagt ccgcatgcc cgaaggctac gtccaggagc	3360
gcaccatctt cttcaaggac gacggcaact acaagacccg cgcgaggtg aagttcgagg	3420
gcgacaccct ggtgaaccgc atcgagctga agggcatcga cttcaaggag gacggcaaca	3480
tcctggggca caagctggag tacaactaca acagccacaa cgtctatatc atggccgaca	3540
agcagaagaa cggcatcatg gtgaacttca agatccgcca caacatcgag gacggcagcg	3600
tgcagctcgc cgaccactac cagcagaaca ccccatcgg cgacggcccc gtgctgctgc	3660
ccgacaacca ctacctgagc acccagtcgg ccctgagcaa agaccccaac gagaagcgcg	3720
atcacatggt cctgctggag ttcgtgaccg ccgcccggat cactctcggc atggacgagc	3780
tgtacaagta a	3791

<210> 38

<211> 3530

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

$\langle 220 \rangle$

<223> Casete de expresión recombinante

5	<400> 38								
	ttagttgaac	tcgaacttct	tgtacttgca	gttgagcttt	tgctcggcga	atgtgatggc		60	
	gtcggagagt	ggcaccagtc	cctgcaggat	caaggccaag	agcttcagca	agttgttgtg		120	
	cagtgtagtt	gactcgcgac	ggttgacctt	gccgatcacg	aacatgtggt	gcttgaatct		180	
	gttgtacttt	tggaatgacct	ggctcacatc	aacgtccttg	atttcgccag	agatccagta		240	
	gaactccttg	ttcttcttag	cgatggtcag	cctttcctcg	ttcttgaagg	acaacacgat		300	
	gaagttgtga	cccttaacgt	tatcgacgtt	ttgagtcaag	tactgctcaa	cgatgtgcat		360	
	gcttccgtct	tccttcttga	ccttcttgag	gttctcggcg	ttgttggttag	aagcgatggt		420	
	gtcgtggtac	ttgtagttgt	tgaagagcag	gttagcgacg	gacgagtact	tgtatgtcag		480	
	agtgtctctc	ttgttcacga	tgagggttcag	gttatcaacg	acgtacttgt	tgggaggggt		540	
	gtccgggaat	tggaacggact	ccgagtactt	gaggatctgg	gaaacgtatg	gcgagacgaa		600	
	gaagttgtta	gaggcgggtt	cgatctcggt	tgattccttg	cggctcagca	tgatgggcaa		660	
	agtgaagagg	ttcttgtcct	ggtacatctc	gtacaacttc	gacaagagga	atccacactt		720	
	acgctcgccg	agtgattgca	gcaaggctac	gaagggtgtc	tgagcgtagt	acatatcgag		780	
	gttgaagtag	gaggtcagag	cggccttgaa	tgtgtggtgg	acgtccacga	agtgacactt		840	
	cttgcagttt	tgagcggcgg	tctcatcggt	gcagacgtcc	tgtgagtgtg	ggatttcgat		900	
	gccagtctcc	ttaaccaggt	tgtagctgat	catgaagcgg	atcttatcga	aggtcacaac		960	
	gaacacacgg	ttgtcaacca	tgtagtagtt	gtttgtgtac	tcgtagacca	cgttagagac		1020	
	gtacttggcg	aagatgattt	cgaaaggctt	cacctcggac	ttcttaacga	cgaacatgta		1080	
	gtaaccgggt	tcagacatgt	gatcggagaa	tctgttcgag	ttgtagtcgt	tatcgtcgaa		1140	
	cctcatcagg	tagggggcga	agtcgtttgt	gaagtagtga	gtgatctcct	gggtggaagc		1200	
	cactgtacag	atgttagtgt	tgtggttgat	ggtttgttcc	agtgtagcgc	atgactggat		1260	
	ggtgctcttc	ttgtacttag	gtctcaactt	gatcttggtg	aattgacca	caactccctg		1320	
	ggagttatcc	aggtactcgt	ccaacttcct	cttgggtgcct	gtggccgacg	gctgggttgac		1380	
	accagcagag	tgttcgaagg	actcggcgtg	gtaagctgag	ctaggagagg	gttggttcgac		1440	
	cactggctgt	tcgagtgact	cgctgtagta	ggcagaggac	acagcttcct	ccaggttgtc		1500	
	agtggctctg	agcagacact	ccaccaaata	gttgctcagt	agcgagttaa	ctgaggcgag		1560	
	gaagttgcta	gcggcagcgg	tttcagagtc	ggagatgaca	gtatcagctc	cgtccgggggt		1620	
	tgggtggttg	tagtaagaca	agtaatcggt	aggttgcttg	tcgcagaact	ccgagtatga		1680	
	gttgctgaag	ctagcacgag	agggagtgc	ggcagaggtg	taggaagcgt	tgaagttgat		1740	

ES 2 554 752 T3

ttgagtcatg	gtgacctggt	tgttcacgat	cttatcgcca	cctgtgtcca	cctgcagttg	1800	
ctgggcctca	gcgcaggctg	aagtggcctc	acaggagtag	gggctggaag	cacagttgga	1860	
agtcatgatg	ttttcttggg	cgttcaggac	gtggctggat	gtacggatca	tagatctatt	1920	
gggtcatcta	gattcgaaaag	cggccgcgac	tagtgagctc	gtcgacgtag	gcctttgaat	1980	
tccgcgcgct	tcggaccggg	atccgcgccc	gatgggtggg	cggatgaat	aatccggaat	2040	
atttataggt	ttttttatta	caaaactggt	acgaaaacag	taaaatactt	atttatttgc	2100	
gagatgggtta	tcattttta	tatctccatg	atctattaat	attccggagt	atacctaccc	2160	
gtaaagcgag	tttagttttg	aaaaacaaat	gacatcattt	gtataatgac	atcatcccct	2220	
gattgtgttt	tacaagtaga	attctatccg	taaagcgagt	tcagttttga	aaacaaatga	2280	
gtcataccta	aacacgttaa	taatcttctg	atatcagctt	atgactcaag	ttatgagccg	2340	
tgtgcaaaac	atgagataag	tttatgacat	catccactga	tcgtgcgtta	caagtagaat	2400	
tctactcgta	aagccagttc	ggttatgagc	cgtgtgcaaa	acatgacatc	agcttatgac	2460	
tcataacttga	ttgtgtttta	cgcgtagaat	tctactcgta	aagcgagttc	ggttatgagc	2520	
cgtgtgcaaa	acatgacatc	agcttatgag	tcataattaa	tcgtgcgtta	caagtagaat	2580	
tctactcgta	aagcgagttg	aaggatcata	tttagttgcg	tttatgagat	aagattgaaa	2640	
gcacgtgtaa	aatgtttccg	agctcatacg	gacctttaat	tcaaccacaac	acaatatatt	2700	
atagttaa	aagaattatt	atcaa	atcat	ttgtatatta	attaaaatac	tatactgtaa	2760
attacatttt	atttacaatc	actcgacctc	gagcatgcaa	gcttgaattc	atgggtgagca	2820	
agggcgagga	gctgttcacc	ggggtgggtg	ccatcctggg	cgagctggac	ggcgacgtaa	2880	
acggccacaa	gttcagcgtg	tccggcgagg	gcgagggcga	tgccacctac	ggcaagctga	2940	
ccctgaagtt	catctgcacc	accggcaagc	tgcccgtgcc	ctggcccacc	ctcgtgacca	3000	
ccctgacct	cggcgtgcag	tgcttcagcc	gctaccccg	ccacatgaag	cagcacgact	3060	
tcttcaagtc	cgccatgccc	gaaggctacg	tccaggagcg	caccatcttc	ttcaaggacg	3120	
acggcaacta	caagaccgcg	gccgaggtga	agttcgaggg	cgacaccctg	gtgaaccgca	3180	
tcgagctgaa	gggcatcgac	ttcaaggagg	acggcaacat	cctggggcac	aagctggagt	3240	
acaactacaa	cagccacaac	gtctatatca	tggccgacaa	gcagaagaac	ggcatcatgg	3300	
tgaacttcaa	gatccgccac	aacatcgagg	acggcagcgt	gcagctcgcc	gaccactacc	3360	
agcagaacac	ccccatcggc	gacggccccg	tgctgctgcc	cgacaaccac	tacctgagca	3420	
cccagtccgc	cctgagcaaa	gaccccaacg	agaagcgcg	tcacatgggtc	ctgctggagt	3480	
tcgtgaccgc	cgccgggatc	actctcgga	tggacgagct	gtacaagtaa		3530	

<210> 39

<211> 3515

<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Casete de expresión recombinante

<400> 39

ttagttgaac tcgaacttct tgtacttgca gttgagcttt tgctcggcga atgtgatggc	60
gtcggagaggt ggcaccagtc cctgcaggat caaggccaag agcttcagca agttgttgtg	120
cagtgtagtt gactcgcgac gggtgacctt gccgatcacg aacatgtggg gcttgaatct	180
gttgtacttt tggatgacct ggctcacatc aacgtccttg atttcgccag agatccagta	240
gaactccttg ttcttcttag cgatggtcag cctttcctcg ttcttgaagg acaacacgat	300
gaagttgtga cccttaacgt tatcgacgtt ttgagtcaag tactgctcaa cgatgtgcat	360
gcttccgtct tccttcttga ccttcttgag gttctcggcg ttgttggttag aagcgatgtt	420
gtcgtggtac ttgtagttgt tgaagagcag gtttagcgacg gacgagtact tgtatgtcag	480
agtgtctcttc ttgttcacga tgagggttcag gttatcaacg acgtacttgt tgggaggggtt	540
gtccgggaat tggacggact ccgagtactt gaggatctgg gaaacgtatg gcgagacgaa	600
gaagttgtta gaggcggttt cgatctcggt tgattccttg cggctcagca tgatgggcaa	660
agtgaagagg ttcttgtcct ggtacatctc gtacaacttc gacaagagga atccacactt	720
acgctcgccg agtgattgca gcaaggtcac gaaggttgtc tgagcgtagt acatatcgag	780
gttgaagtag gaggtcagag cggccttgaa tgtgtggttg acgtccacga agtgacactt	840
cttgcagttt tgagcggcgg tctcatcggt gcagacgtcc tgtgagtgtg ggatttcgat	900
gccagtctcc ttaaccaggt tgtagctgat catgaagcgg atcttatcga aggtcacaac	960
gaacacacgg ttgtcaacca tgtagtagtt gtttgtgtac tcgtagacca cgtagagac	1020
gtacttggcg aagatgattt cgaaaggctt cacctcggac ttcttaacga cgaacatgta	1080
gtaaccgggt tcagacatgt gatcggagaa tctgttcgag ttgtagtcgt tatcgtcgaa	1140
cctcatcagg tagggggcga agtcgtttgt gaagtagtga gtgatctcct ggggtggaagc	1200
cactgtacag atgttagtgt tgtggttgat ggtttgttcc agtgtagcgc atgactggat	1260
gggtgctcttc ttgtacttag gtctcaactt gatcttgttg aattgaccca caactccctg	1320
ggagttatcc aggtactcgt ccaacttcct cttggtgcct gtggccgacg gctgggtgac	1380
accagcagag tgttcgaagg actcggcgtg gtaagctgag ctaggagagg gttgttcgac	1440
cactggctgt tcgagtgact cgctgtagta ggcagaggac acagcttcct ccaggttgtc	1500
agtggctctg agcagacact ccaccaaatac gttgtcagtg agcgagttaa ctgaggcgag	1560
gaagttgcta gcggcagcgg tttcagagtc ggagatgaca gtatcagctc cgtccgggggt	1620
tgggtggttg tagtaagaca agtaatcggt aggttgcttg tcgcagaact ccgagtatga	1680

ES 2 554 752 T3

gttgtogaag ctagcacgag agggagtgct ggcagaggtg taggaagcgt tgaagttgat	1740
ttgagtcattg gtgacctggt tgttcacgat cttatcgcca cctgtgtcca cctgcagttg	1800
ctgggcctca ggcagggctg aagtggcctc acaggagtag gggctggaag cacagttgga	1860
agtcattgatg ttttcttgga cgttcaggac gtggctggat gtacggatca tagatccgcg	1920
cccgatggtg ggacgggatg aataatccgg aatatttata ggttttttta ttacaaaact	1980
gttacgaaaa cagtaaaata cttattttatt tgcgagatgg ttatcatttt aattatctcc	2040
atgatctatt aatattccgg agtactgcta ccgtaaaagc gagtttagtt ttgaaaaaca	2100
aatgacatca tttgtataat gacatcatcc cctgattgtg ttttacaagt agaattctat	2160
ccgtaaaagc agttcagttt tgaaaacaaa tgagtcatac ctaaacacgt taataatctt	2220
ctgatatcag cttatgactc aagttatgag ccgtgtgcaa aacatgagat aagtttatga	2280
catcatccac tgatcgtgcg ttacaagtag aattctactc gtaaagccag ttcggttatg	2340
agccgtgtgc aaaacatgac atcagcttat gactcatact tgattgtgtt ttacgcgtag	2400
aattctactc gtaaagcgag ttcggttatg agccgtgtgc aaaacatgac atcagcttat	2460
gagtcataat taatcgtgcg ttacaagtag aattctactc gtaaagcgag ttgaaggatc	2520
atatttagtt gcgtttatga gataagattg aaagcacgtg taaaatgttt cctccggaat	2580
attaatagat catggagata attaaaatga taaccatctc gcaaataaat aagtatttta	2640
ctgttttcgt aacagttttg taataaaaaa acctataaat attccggatt attcataccg	2700
tcccaccatc gggcgcgga tcccccgga tctcgagcca tggttctaga cagctgatgc	2760
atactagagc ctgcagtctc gacaagcttg aattcatggt gagcaagggc gaggagctgt	2820
tcaccggggt ggtgccatc ctggtcgagc tggacggcga cgtaaacggc cacaagttca	2880
gcgtgtccgg cgagggcgag ggcgatgcca cctacggcaa gctgaccctg aagttcatct	2940
gcaccaccgg caagctgcc gtgccctggc ccaccctcgt gaccaccctg acctacggcg	3000
tgcagtgtct cagccgctac ccgaccaca tgaagcagca cgacttcttc aagtccgcca	3060
tgcccgagg ctacgtccag gagcgacca tcttcttcaa ggacgacggc aactacaaga	3120
cccgcgcca ggtgaagttc gagggcgaca ccctggtgaa ccgcatcgag ctgaagggca	3180
tgcacttcaa ggaggacggc aacatcctgg ggcacaagct ggagtacaac tacaacagcc	3240
acaacgtcta tatcatggcc gacaagcaga agaacggcat catggtgaac ttcaagatcc	3300
gccacaacat cgaggacggc agcgtgcagc tcgccgacca ctaccagcag aacaccccca	3360
tggcgacgg ccccgctgtg ctgcccgaca accactacct gagcaccag tccgccctga	3420
gcaaagaccc caacgagaag cgcgatcaca tggctctgct ggagttcgtg accgccgccg	3480
ggatcactct cggcatggac gagctgtaca agtaa	3515

<210> 40

<211> 1097
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> Constructo de ADN recombinante que fusiona el ADNc de GFP al promotor p6.9

<400> 40
ggtagcaaat tccgttttgc gacgatgcag agtttttgaa caggctgctc aaacacatag 60
atccgtaccc gctcagtcgg atgtattaca atgcagccaa taccatgttt tacacgacta 120
tggaataacta tgccgtgtcc aattgcaagt tcaacattga ggattacaat aacatattta 180
aggtgatgga aaatatttagg aaacacagca acaaaaattc aaacgaccaa gacgagttaa 240
acatatattt gggagttcag tcgtcgaatg caaagcgtaa aaaatattaa taaggtaaaa 300
attacagcta cataaattac acaatttaaa ctgcagtctg gagatacgct cgagcatgcg 360
gtaccaagct tgaattcatg gtgagcaagg gcgaggagct gttcacgggg gtggtgcccc 420
tcctggtcga gctggacggc gacgtaaacg gccacaagtt cagcgtgtcc ggcgagggcg 480
agggcgatgc cacctacggc aagctgacct tgaagttcat ctgcaccacc ggcaagctgc 540
ccgtgccctg gccaccctc gtgaccacct tgacctacgg cgtgcagtgc ttcagccgct 600
accccgacca catgaagcag cagcacttct tcaagtccgc catgcccga ggctacgtcc 660
aggagcgcac catcttcttc aaggacgacg gcaactacaa gaccgcgcgc gaggtgaagt 720
tcgagggcga caccctggtg aaccgcatcg agctgaaggg catcgacttc aaggaggacg 780
gcaacatcct ggggcacaag ctggagtaca actacaacag ccacaacgtc tatatcatgg 840
ccgacaagca gaagaacggc atcatggtga acttcaagat ccgccacaac atcgaggacg 900
gcagcgtgca gctcgccgac cactaccagc agaacacccc catcggcgac ggccccgtgc 960
tgctgcccga caaccactac ctgagcacc agtccgccct gagcaaagac cccaacgaga 1020
agcgcgatca catggtcctg ctggagttcg tgaccgccgc cgggatcact ctcggcattg 1080
acgagctgta caagtaa 1097

10 <210> 41
<211> 1211
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Constructo de ADN recombinante que fusiona el ADNc de GFP al promotor pB29

20 <400> 41
aaaaacatcg attaggtga ctgaaggta cattgggga ggtaggtt aatacgtat 60
gtttaacac caaacgata tcatgattt tatataaggt gtaataatat tttaatgag 120

tggacgcgctc	gggtcaatgt	cctgcctatt	gacgtcataa	catattaggt	gattatatta	180
aaaatagttt	aaactcaa	attacttgca	agtttaagtt	tcatcataat	ctgatcataa	240
gtttcaccca	aacagaaacc	aaaagcataa	ctatcgata	tcttttagctt	cccatgaaga	300
aagattaccg	taaccatcac	taggatttta	tacgattgta	gaaaataaag	tattctcagt	360
ctcttttcag	agcgctataa	aaaggggtgc	attctcggta	agagtacagt	tgaactcaca	420
tcgagttaac	tccacgctcg	agccatgggtg	ctagcagctg	atgcatagca	tgcggtacca	480
agcttgaatt	catggtgagc	aagggcgagg	agctgttcac	cgggggtggtg	cccatcctgg	540
tcgagctgga	cggcgacgta	aacggccaca	agttcagcgt	gtccggcgag	ggcgagggcg	600
atgccacct	cggcaagctg	accctgaagt	tcatctgcac	caccggcaag	ctgcccgtgc	660
cctggcccac	cctcgtgacc	accctgacct	acggcggtgca	gtgcttcagc	cgctaccccg	720
accacatgaa	gcagcacgac	ttcttcaagt	ccgccatgcc	cgaaggctac	gtccaggagc	780
gcaccatctt	cttcaaggac	gacggcaact	acaagaccg	cgccgaggtg	aagttcgagg	840
gcgacaccct	ggtgaaccgc	atcgagctga	agggcatcga	cttcaaggag	gacggcaaca	900
tcctggggca	caagctggag	tacaactaca	acagccacaa	cgtctatata	atggccgaca	960
agcagaagaa	cggcatcatg	gtgaacttca	agatccgcca	caacatcgag	gacggcagcg	1020
tgcagctcgc	cgaccactac	cagcagaaca	cccccatcgg	cgacggcccc	gtgctgctgc	1080
ccgacaacca	ctacctgagc	acccagtccg	ccctgagcaa	agaccccaac	gagaagcgcg	1140
atcacatggt	cctgctggag	ttcgtgaccg	ccgccgggat	cactctcggc	atggacgagc	1200
tgtacaagta	a					1211

<210> 42

<211> 865

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Constructo de ADN recombinante que fusiona el ADNc de GFP al promotor p10

<400> 42

atacggacct	ttaattcaac	ccaacacaat	atattatagt	taaataagaa	ttattatcaa	60
atcatttgta	tattaattaa	aatactatac	tgtaaattac	atattattta	caatcactcg	120
acctcgagca	tgcaagcttg	aattcatggt	gagcaagggc	gaggagctgt	tcaccgggggt	180
ggtgcccata	ctggctcagc	tggacggcga	cgtaaaccggc	cacaagttca	gcgtgtccgg	240
cgagggcgag	ggcgatgcca	cctacggcaa	gctgaccctg	aagttcatct	gcaccaccgg	300
caagctgccc	gtgccctggc	ccaccctcgt	gaccaccctg	acctacggcg	tgcagtgett	360
cagccgctac	cccgaccaca	tgaagcagca	cgacttcttc	aagtccgcca	tgcccgagg	420
ctacgtccag	gagcgcacca	tcttcttcaa	ggacgacggc	aactacaaga	cccgcgccga	480

ggtgaagttc gagggcgaca ccctggtgaa ccgcatcgag ctgaagggca tcgacttcaa 540
ggaggacggc aacatcctgg ggcacaagct ggagtacaac tacaacagcc acaacgtcta 600
tatcatggcc gacaagcaga agaacggcat catggtgaac ttcaagatcc gccacaacat 660
cgaggacggc agcgtgcagc tcgccgacca ctaccagcag aacaccccca tcggcgacgg 720
ccccgtgctg ctgcccgaca accactacct gagcaccag tccgccctga gcaaagaccc 780
caacgagaag cgcgatcaca tggtcctgct ggagttcgtg accgccgccg ggatcaactct 840
cggcatggac gagctgtaca agtaa 865

<210> 43
<211> 387
5 <212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
10 <223> Secuencia de ácido nucleico que codifica para el anticuerpo de dominio único (VHH) 3B2 de camélidos, que es específico para la proteína VP6 de rotavirus A

<400> 43
atggctgatg tgcagctgca ggcgtctggg ggaggtttgg cgcaggctgg ggactctctg 60
acactctcct gtgcagcctc tggacgcacc ttcagtgggt atgtcgtggg ctggttccgc 120
caggctccag gggcggagcg tgagtttgta ggagctatta gatggtcaga agatagcaca 180
tggatatggag actccatgaa gggccgaatt ctcatctcca gaaacaatat caagaacacg 240
gtgaatctgc aaatgttcaa tctaaaacct gaagacacgg ccgtgtacgt ctgtgcagca 300
ggggccgggg atatagtgac tactgagact tcttataatt actggggccg ggggacccag 360
gtcaccgtct cctcacgcgg ccgctaa 387

15 <210> 44
<211> 128
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Anticuerpo de dominio único (VHH) 3B2 de camélidos, que es específico para la proteína VP6 de rotavirus A

<400> 44
Met Ala Asp Val Gln Leu Gln Ala Ser Gly Gly Gly Leu Ala Gln Ala
1 5 10 15

Gly Asp Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser
20 25 30

Gly Tyr Val Val Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Ala Glu Arg Glu
35 40 45

ES 2 554 752 T3

Phe Val Gly Ala Ile Arg Trp Ser Glu Asp Ser Thr Trp Tyr Gly Asp
50 55 60

Ser Met Lys Gly Arg Ile Leu Ile Ser Arg Asn Asn Ile Lys Asn Thr
65 70 75 80

Val Asn Leu Gln Met Phe Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Val Cys Ala Ala Gly Ala Gly Asp Ile Val Thr Thr Glu Thr Ser Tyr
100 105 110

Asn Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Arg Gly Arg
115 120 125

<210> 45

<211> 381

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de ácido nucleico que codifica para el anticuerpo de dominio único (VHH) 2KD1 de camélidos, que es específica para la proteína VP6 de rotavirus A

<400> 45

atggctgatg tgcagctgca ggcgtctggg ggaggatttg tgcagcctgg agattctctg 60

agtctctcct gtgcagcctc tggaggcacc ttttagtagct attccattgg ctggttccgc 120

caggggtccag ggaaggagcg tgagttcgtg gctactatca gttcgagtga tagtccgtgg 180

tatggagagc ccgcgaaggg ccgattcacc gtcgccagag ttaacgcaa gaatacggcg 240

tatctgcact tgaacaggtt gaaacctgag gacacggcca cttattattg tgcagccggt 300

agtgtacaac acatggcgaa tgagaatgag tatgtctatt ggggccaggg gacccaggtc 360

accgtctcca gcggccgcta a 381

<210> 46

<211> 126

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Anticuerpo de dominio único (VHH) 2KD1 de camélidos, que es específica para la proteína VP6 de rotavirus A

<400> 46

Met Ala Asp Val Gln Leu Gln Ala Ser Gly Gly Gly Phe Val Gln Pro

1 5 10 15

ES 2 554 752 T3

Gly Asp Ser Leu Ser Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser
20 25 30

Ser Tyr Ser Ile Gly Trp Phe Arg Gln Gly Pro Gly Lys Glu Arg Glu
35 40 45

Phe Val Ala Thr Ile Ser Ser Ser Asp Ser Pro Trp Tyr Gly Glu Pro
50 55 60

Ala Lys Gly Arg Phe Thr Val Ala Arg Val Asn Ala Lys Asn Thr Ala
65 70 75 80

Tyr Leu His Leu Asn Arg Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Ala Gly Ser Val Gln His Met Ala Asn Glu Asn Glu Tyr Val
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Arg
115 120 125

<210> 47

<211> 1518

<212> ADN

<213> Virus de papiloma humano de tipo 16

<400> 47

atgtctctttt ggctgcctag cgaggccact gtctacttgc ctctgtgcc agtatctaaa	60
gttgtaagca cggatgaata tgttgcacgc acaaacatat attatcatgc aggaacatcc	120
agactacttg cagttggaca tccctatfff cctattaaaa aacctaacaa taacaaaata	180
ttagttccta aagtatcagg attacaatac agggatatta gaatatattt acctgacccc	240
aataagtttg gttttcctga cacctcattt tacaatccag atacacagcg gctggtttg	300
gcctgtgtag gtgttgaggt aggccgtggt cagccattag gtgtgggcat tagtggccat	360
cctttattaa ataaattgga tgacacagaa aatgctagt cttatgcagc aatgcaggt	420
gtggataata gagaatgtat atctatggat tacaacaaa cacaattgtg ttttaattggt	480
tgcaaaccac ctatagggga aactggggc aaaggatccc catgtaacaa tgttgcagta	540
aatccaggtg attgtccacc attagagtta ataaacacag ttattcagga tggatgatg	600
gttgataccg gctttggtgc tatggacttt actacattac aggctaacaa aagtgaagtt	660
ccactggata tttgtacgtc tatttgcaaa tatccagatt atattaaaat ggtgtcagaa	720
ccatatggcg acagcttatt tttttattta cgaagggaac aaatgtttgt tagacattta	780
tttaataggg ctggtgctgt tggtgaaaat gtaccagacg atttatacat taaaggctct	840
gggtctactg caaatttagc cagttcaaat tttttccta cacctagtgg ttctatggtt	900

ES 2 554 752 T3

acctctgatg cccaaatatt taataaacca tattgggttac aacgagcaca gggccacaat 960
aatggtatatt gttggggtaa ccaactatatt gttactgttg ttgatactac acgcagtaca 1020
aatatgtcat tatgtgctgc catatctact tcagaaacta catataaaaa tactaacttt 1080
aaagagtacc tacgacatgg ggaggaatat gatttacagt ttatTTTTca actgtgcaaa 1140
ataaccttaa ctgcagacgt tatgacatac atacattcta tgaattccac tattttggag 1200
gactggaatt ttgggtttaca acctccccca ggaggcacac tagaagatac ttataggttt 1260
gtaacatccc aggcaattgc ttgtcaaaaa catacacctc cagcacctaa agaagatccc 1320
cttaaaaaat atactTTTTg ggaagtaa ataaaaagaaa agTTTTctgc agacctagat 1380
cagtttccct taggacgcaa atttttacta caagcaggat ttaaggccaa accaaaattt 1440
acattaggaa aacgaaaagc tacaccacc acctcatcta cctctacaac tgctaaacgc 1500
aaaaaacgta agctgtaa 1518

<210> 48

<211> 505

<212> PRT

<213> Virus de papiloma humano de tipo 16

<400> 48

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

Pro Val Ser Lys Val Val Ser Thr Asp Glu Tyr Val Ala Arg Thr Asn
20 25 30

Ile Tyr Tyr His Ala Gly Thr Ser Arg Leu Leu Ala Val Gly His Pro
35 40 45

Tyr Phe Pro Ile Lys Lys Pro Asn Asn Asn Lys Ile Leu Val Pro Lys
50 55 60

Val Ser Gly Leu Gln Tyr Arg Val Phe Arg Ile Tyr Leu Pro Asp Pro
65 70 75 80

Asn Lys Phe Gly Phe Pro Asp Thr Ser Phe Tyr Asn Pro Asp Thr Gln
85 90 95

Arg Leu Val Trp Ala Cys Val Gly Val Glu Val Gly Arg Gly Gln Pro
100 105 110

Leu Gly Val Gly Ile Ser Gly His Pro Leu Leu Asn Lys Leu Asp Asp
115 120 125

ES 2 554 752 T3

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

ES 2 554 752 T3

Ala Asp Val Met Thr Tyr Ile His Ser Met Asn Ser Thr Ile Leu Glu
385 390 395 400

Asp Trp Asn Phe Gly Leu Gln Pro Pro Pro Gly Gly Thr Leu Glu Asp
405 410 415

Thr Tyr Arg Phe Val Thr Ser Gln Ala Ile Ala Cys Gln Lys His Thr
420 425 430

Pro Pro Ala Pro Lys Glu Asp Pro Leu Lys Lys Tyr Thr Phe Trp Glu
435 440 445

Val Asn Leu Lys Glu Lys Phe Ser Ala Asp Leu Asp Gln Phe Pro Leu
450 455 460

Gly Arg Lys Phe Leu Leu Gln Ala Gly Phe Lys Ala Lys Pro Lys Phe
465 470 475 480

Thr Leu Gly Lys Arg Lys Ala Thr Pro Thr Thr Ser Ser Thr Ser Thr
485 490 495

Thr Ala Lys Arg Lys Lys Arg Lys Leu
500 505

<210> 49

<211> 2133

<212> ADN

<213> Virus de la enfermedad hemorrágica del conejo

<400> 49

atggagggca aagcccgcac agcgccgcaa ggcgaagcag caggcactgc caccacagca	60
tcagtccctg gaaccacaac cgatggcatg gaccccggcg ttgtggccac taccagcgtg	120
gtcactgcag agaattcatc cgcatcgatt gcaacggcag ggattggcgg accaccccaa	180
caggtggacc aacaagagac atggagaacg aacttttatt ataatgacgt tttcacttgg	240
tcagtcgcgg atgcccttg cagcatactt tacaccgttc aacattctcc acagaacaac	300
ccattcacag ccgtgctgag ccagatgtat gctggctggg ctggtggcat gcagtttcgc	360
ttcatagttg ccggatcggg tgtgtttggt gggcggttgg ttgcggccgt gataccaccg	420
ggcatcgaga ttggaccagg gctggaggtc aggcaattcc cccatgttgt catcgacgct	480
cgttcacttg aacctgtcac catcaccatg ccagacttgc gtcccaacat gtaccatcca	540
actggtgacc ctggccttgt tcccacacta gtccttagtg tttataacaa cctcatcaac	600
ccgtttggtg ggtccaccag cgcaatccag gtgacagtgg aaacaaggcc aagtgaagat	660
tttgagttcg tgatgattcg agccccctcc agcaagactg ttgactcaat ttcacccgca	720

ES 2 554 752 T3

```

ggcctcctca cgaccccagt cctcactggg gttggcaatg acaacaggtg gaatggccaa      780
atagtgggac tgcaaccagt acctggaggg ttctctacgt gcaacaggca ttggaacttg      840
aatggcagca catatggctg gtcaagcccc cggtttgccg acattgacca tcgaagaggc      900
agtgcaagtt accctggatc caacgcaacc aacgtgcttc agttttggta tgccaatgct      960
gggtctgcaa tcgacaatcc catctcccag gttgcaccag acggctttcc tgatatgtcg     1020
ttcgtgccct ttaacggccc tggcattcca gccgcggggg gggtcggatt tgggtgcaatc     1080
tggaacagta acagcgggtg ccccaacggt acgactgtgc aggcttatga gttaggtttt     1140
gccactgggg caccaggcaa cctccagccc accaccaaca cttcaggttc acagactgtc     1200
gccaagtcca tatatgccgt ggtaactggc acagcccaa accccgccgg attgtttgtg     1260
atggcctcgg gtgttatctc caccccaagt gccaacgcca tcacatacac gccccaacca     1320
gacagaattg taaccacacc cggcactcct gccgctgcac ctgtgggtaa gaacacaccc     1380
atcatgttcg cgtctgtcgt caggcgcacc ggtgacgtca acgccacagc tgggtcagct     1440
aacgggaccc agtacggcac aggctctcaa cactgccag taacaattgg actttcgctc     1500
aacaactact cgtcagcact tatgcccgga cagtttttcg tttggcagtt aacctttgca     1560
tctggtttca tggagattgg tttaagtgtg gacgggtatt tttatgcagg aacaggagcc     1620
tcaaccacac tcattgactt gactgaactc attgacgtac gccctgtggg acccaggcca     1680
tccaagagca cactcgtgtt caacctgggg ggcacagcca atggcttttc ttatgtctga     1740
attcatcgga ctgggacttg caggtgccag cgttttgagc aatgcattgc tccgcaggca     1800
agagctgcaa ctacaaagac aagctttgga gaatggggtg gttttgaaag ccgaccaatt     1860
aggtaggtta ggttttaatc caaatgaagt taagaatgtg attgtaggta atagttttag     1920
tagtaatggt agattaagta atatgcataa tgatgctagt gtagttaatg cttataatgt     1980
gtataatcct gccagcaatg gcatcagaaa gaaaattaag agtttgaata atagtgttaa     2040
gatttataac accactgggg agtccagtgt ttaatttgat tttattgggt ttgaaatttg     2100
gtttaattgg gtttatagtt taaagtaagc tat                                     2133

```

<210> 50

<211> 579

5 <212> PRT

<213> Virus de la enfermedad hemorrágica del conejo

<400> 50

```

Met Glu Gly Lys Ala Arg Thr Ala Pro Gln Gly Glu Ala Ala Gly Thr
1           5           10          15

```

```

Ala Thr Thr Ala Ser Val Pro Gly Thr Thr Thr Asp Gly Met Asp Pro
20          25          30

```

ES 2 554 752 T3

Gly Val Val Ala Thr Thr Ser Val Val Thr Ala Glu Asn Ser Ser Ala
 35 40 45
 Ser Ile Ala Thr Ala Gly Ile Gly Gly Pro Pro Gln Gln Val Asp Gln
 50 55 60
 Gln Glu Thr Trp Arg Thr Asn Phe Tyr Tyr Asn Asp Val Phe Thr Trp
 65 70 75 80
 Ser Val Ala Asp Ala Pro Gly Ser Ile Leu Tyr Thr Val Gln His Ser
 85 90 95
 Pro Gln Asn Asn Pro Phe Thr Ala Val Leu Ser Gln Met Tyr Ala Gly
 100 105 110
 Trp Ala Gly Gly Met Gln Phe Arg Phe Ile Val Ala Gly Ile Gly Val
 115 120 125
 Phe Gly Gly Arg Leu Val Ala Ala Val Ile Pro Pro Gly Ile Glu Ile
 130 135 140
 Gly Pro Gly Leu Glu Val Arg Gln Phe Pro His Val Val Ile Asp Ala
 145 150 155 160
 Arg Ser Leu Glu Pro Val Thr Ile Thr Met Pro Asp Leu Arg Pro Asn
 165 170 175
 Met Tyr His Pro Thr Gly Asp Pro Gly Leu Val Pro Thr Leu Val Leu
 180 185 190
 Ser Val Tyr Asn Asn Leu Ile Asn Pro Phe Gly Gly Ser Thr Ser Ala
 195 200 205
 Ile Gln Val Thr Val Glu Thr Arg Pro Ser Glu Asp Phe Glu Phe Val
 210 215 220
 Met Ile Arg Ala Pro Ser Ser Lys Thr Val Asp Ser Ile Ser Pro Ala
 225 230 235 240
 Gly Leu Leu Thr Thr Pro Val Leu Thr Gly Val Gly Asn Asp Asn Arg
 245 250 255
 Trp Asn Gly Gln Ile Val Gly Leu Gln Pro Val Pro Gly Gly Phe Ser
 260 265 270
 Thr Cys Asn Arg His Trp Asn Leu Asn Gly Ser Thr Tyr Gly Trp Ser
 275 280 285

ES 2 554 752 T3

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

ES 2 554 752 T3

530

535

540

Ile Asp Leu Thr Glu Leu Ile Asp Val Arg Pro Val Gly Pro Arg Pro
545 550 555 560

Ser Lys Ser Thr Leu Val Phe Asn Leu Gly Gly Thr Ala Asn Gly Phe
565 570 575

Ser Tyr Val

<210> 51

<211> 4550

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de expresión recombinante

<400> 51

ttagttgaac	tcgaacttct	tgtacttgca	gttgagcttt	tgctcggcga	atgtgatggc	60
gtcggagagt	ggcaccagtc	cctgcaggat	caaggccaag	agcttcagca	agttgttgtg	120
cagtgtagtt	gactcgcgac	ggttgacctt	gccgatcacg	aacatgtggt	gcttgaatct	180
gttgtacttt	tggatgacct	ggctcacatc	aacgtccttg	atttcgccag	agatccagta	240
gaactccttg	ttcttcttag	cgatggtcag	cctttcctcg	ttcttgaagg	acaacacgat	300
gaagtttgtga	cccttaacgt	tatcgacgtt	ttgagtcaag	tactgctcaa	cgatgtgcat	360
gcttccgtct	tccttcttga	ccttcttgag	gttctcggcg	ttgttggttag	aagcgatggt	420
gtcgtgggtac	ttgtagttgt	tgaagagcag	gtagcgacg	gacgagtact	tgtatgtcag	480
agtgtctctt	ttgttcacga	tgagggttcag	gttatcaacg	acgtacttgt	tgggaggggt	540
gtccgggaat	tggacggact	ccgagtactt	gaggatctgg	gaaacgtatg	gcgagacgaa	600
gaagttgtta	gaggcgggtt	cgatctcggt	tgattccttg	cggctcagca	tgatgggcaa	660
agtgaagagg	ttcttgtcct	ggtacatctc	gtacaacttc	gacaagagga	atccacactt	720
acgctcgccg	agtgattgca	gcaaggtcac	gaaggttgtc	tgagcgtagt	acatatcgag	780
gttgaagtag	gaggtcagag	cggccttgaa	tgtgtggtgg	acgtccacga	agtgacactt	840
cttgcagttt	tgagcggcgg	tctcatcggt	gcagacgtcc	tgtgagtgtg	ggatttcgat	900
gccagtctcc	ttaaccaggt	tgtagctgat	catgaagcgg	atcttatcga	aggtcacaac	960
gaacacacgg	ttgtcaacca	tgtagtagtt	gtttgtgtac	tcgtagacca	cgttagagac	1020
gtacttggcg	aagatgattt	cgaaaggctt	cacctcggac	ttcttaacga	cgaacatgta	1080
gtaaccgggt	tcagacatgt	gatcggagaa	tctgttcgag	ttgtagtcgt	tatcgtcgaa	1140
cctcatcagg	tagggggcga	agtcgtttgt	gaagtagtga	gtgatctcct	gggtggaagc	1200

cactgtacag atgttagtgt tgtggttgat ggtttgttcc agtgtagcgc atgactggat	1260
ggtgctcttc ttgtacttag gtctcaactt gatcttggtg aattgacca caactccctg	1320
ggagttatcc aggtactcgt ccaacttcct cttggtgcct gtggccgacg gctgggtgac	1380
accagcagag tgttcgaagg actcggcgtg gtaagctgag ctaggagagg gttgttcgac	1440
cactggctgt tcgagtgact cgctgtagta ggcagaggac acagcttcct ccaggttgtc	1500
agtggctcttg agcagacact ccaccaaatac gttgtcagtg agcgagttaa ctgaggcgag	1560
gaagttgcta gcggcagcgg tttcagagtc ggagatgaca gtatcagctc cgtccggggt	1620
tgggtggttg tagtaagaca agtaatcgtt aggttgcttg tcgcagaact ccgagtatga	1680
gttgtcgaag ctagcacgag agggagtgtt ggcagagggt taggaagcgt tgaagttgat	1740
ttgagtcattg gtgacctggt tgttcacgat cttatcgcca cctgtgtcca cctgcagttg	1800
ctgggcctca gcgcaggctg aagtggcctc acaggagtag gggctggaag cacagttgga	1860
agtcattgatg ttttcttgga cgttcaggac gtggctggat gtacggatca tagatctatc	1920
tagattcgaa agcggccgcg actagtgagc tcgtcgacgt aggcctttga attccgcgcg	1980
cttcggaccg ggatccgcgc ccgatggtgg gacggtatga ataaccgga atatttatag	2040
gtttttttat taaaaactg ttacgaaaac agtaaaatac ttatttattt gcgagatggt	2100
tatcatttta attatctcca tgatctatta atattccgga gtataacctac ccgtaaagcg	2160
agtttagttt tgaaaaacaa atgacatcat ttgtataatg acatcatccc ctgatttgtt	2220
tttacaagta gaattctatc cgtaaagcga gttcagtttt gaaaacaaat gagtcatacc	2280
taaacacgtt aataatcttc tgatatacgc ttatgactca agttatgagc cgtgtgcaaa	2340
acatgagata agtttatgac atcatccact gatcgtgcgt tacaagtaga attctactcg	2400
taaagccagt tcggttatga gccgtgtgca aaacatgaca tcagcttatg actcatactt	2460
gatttgtgtt tacgcgtaga attctactcg taaagcgagt tcggttatga gccgtgtgca	2520
aaacatgaca tcagcttatg agtcataatt aatcgtgcgt tacaagtaga attctactcg	2580
taaagcgagt tgaaggatca tatttagttg cgtttatgag ataagattga aagcacgtgt	2640
aaaatgtttc cgagctcgtc gacgtaggcc tttgaattcc gcgcgcttcg gaccgggac	2700
ggtaccaaata tccgttttgc gacgatgcag agtttttgaa caggctgctc aaacacatag	2760
atccgtaccc gtcagtcgg atgtattaca atgcagccaa taccatgttt tacacgacta	2820
tggaaaacta tgccgtgtcc aattgcaagt tcaacattga ggattacaat aacatattta	2880
aggtgatgga aatatttagg aaacacagca acaaaaattc aaacgaccaa gacgagttaa	2940
acatatattt gggagttcag tcgtcgaatg caaagcgtaa aaaatattaa taaggtaaaa	3000
attacagcta cataaattac acaatttaaa ctgcagtcgt gagatacgga cctttaattc	3060

ES 2 554 752 T3

aacccaacac aatatattat agttaataa gaattattat caaatcattt gtatattaat 3120
 taaaataacta tactgtaaat tacattttat ttacaatcac tcgacctoga gatgacgtat 3180
 ccaaggaggc gtttccgcag acgaagacac cgccccgcga gccatcttgg ccagatcctc 3240
 cgccgcccgc cctggctcgt ccacccccgc caccgttacc gctggagaag gaaaaatggc 3300
 atcttcaaca cccgcctctc ccgcaccttc ggatatactg tcaaggctac cacagtcaca 3360
 acgcccctcct gggcggtgga catgatgaga tttaatatta acgactttgt tcccccgga 3420
 ggggggacca acaaaatctc tatacccttt gaatactaca gaataagaaa ggttaagggtt 3480
 gaattctggc cctgctcccc aatcacccag ggtgacaggg gagtgggctc cactgctggt 3540
 attctagatg ataactttgt aacaaaggcc acagccctaa cctatgaccc ctatgtaaac 3600
 tactcctccc gccatacaat cccccaaccc ttctcctacc actcccgtta cttcacaccc 3660
 aaacctgtac tggatagaac tattgattac ttccagccaa acaacaaaaa aaatcagctt 3720
 tggctgaggc tacaaacctc tgcaaagtga gaccacgtag gcctcggcac tgcgttcgaa 3780
 aacagtaaatt acgaccagga ctacaatatc cgtgtaacca tgtatgtaca attcagagaa 3840
 tttaatctta aagaccccc acttaaacc taaccatgga agcttatgaa tcgtttttaa 3900
 aataacaaat caattgtttt ataatttcg tacgattctt tgattatgta ataaaatgtg 3960
 atcattagga agattacgaa aaatataaaa aatatgagtt ctgtgtgtat aacaaatgct 4020
 gtaaacgcca caattgtgtt tgttgcaaat aaacccatga ttatttgatt aaaattgttg 4080
 ttttctttgt tcatagacaa tagtgtgttt tgcctaaacg tgtactgcat aaactccatg 4140
 cgagtgtata gcgagctagt ggctaacgct tgccccacca aagtagattc gtcaaaatcc 4200
 tcaatttcat caccctcctc caagttaaac atttggccgt cggaattaac ttctaaagat 4260
 gccacataat ctaataaatg aaatagagat tcaaacgtgg cgtcatcgtc cgtttcgacc 4320
 atttccgaaa agaactcggg cataaactct atgatttctc tggacgtggt gttgtcgaaa 4380
 ctctcaaagt acgcagtcag gaacgtgcgc gacatgtcgt cgggaaactc gcgcggaaac 4440
 atgttggtgt aaccgaacgg gtcccatagc gccaaaacca aatctgccag cgtcaataga 4500
 atgagcacga tgccgacaat ggagctggct tggatagcga ttcgagttaa 4550

<210> 52

<211> 5366

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de expresión recombinante

<400> 52

ttagttgaac tcgaacttct tgtacttgca gttgagcttt tgctcggcga atgtgatggc 60

gtcggagagt ggcaccagtc cctgcaggat caaggccaag agcttcagca agttgttgtg 120

cagtgtagtt gactcgcgac gggtgacct gccgatcacg aacatgtggt gcttgaatct	180
gttgtacttt tggatgacct ggctcacatc aacgtccttg atttcgccag agatccagta	240
gaactccttg ttcttcttag cgatggtcag cctttcctcg ttcttgaagg acaacacgat	300
gaagttgtga cccttaacgt tatcgacgtt ttgagtcaag tactgctcaa cgatgtgcat	360
gcttcogtct tcttcttga ccttcttgag gttctcggcg ttgttgtag aagcgatgtt	420
gtcgtggtac ttgtagttgt tgaagagcag gttagcgacg gacgagtact tgtatgtcag	480
agtgtctctc ttgttcacga tgagggttcag gttatcaacg acgtacttgt tgggagggtt	540
gtccgggaat tggacggact ccgagtactt gaggatctgg gaaacgtatg gcgagacgaa	600
gaagttgtta gaggcgggtt cgatctcgtt tgattccttg cggctcagca tgatgggcaa	660
agtgaagagg ttcttgtcct ggtacatctc gtacaacttc gacaagagga atccacactt	720
acgtcgcgcg agtgattgca gcaaggtcac gaaggttgtc tgagcgtagt acatatcgag	780
gttgaagtag gaggtcagag cggccttgaa tgtgtggtgg acgtccacga agtgacactt	840
cttgcagttt tgagcggcgg tctcatcgtt gcagacgtcc tgtgagtgtg ggatttcgat	900
gccagtctcc ttaaccaggt tgtagctgat catgaagcgg atcttatcga aggtcacaaac	960
gaacacacgg ttgtcaacca tgtagtagtt gtttgtgtac tcgtagacca cgttagagac	1020
gtacttggcg aagatgattt cgaaaggctt cacctcggac ttcttaacga cgaacatgta	1080
gtaaccgggt tcagacatgt gatcggagaa tctgttcgag ttgtagtctg tatcgtcgaa	1140
cctcatcagg tagggggcga agtcgtttgt gaagtagtga gtgatctcct ggggtggaagc	1200
cactgtacag atgttagtgt tgtggttgat ggtttgttcc agtgtagcgc atgactggat	1260
ggtgctcttc ttgtacttag gtctcaactt gatcttgttg aattgacca caactccctg	1320
ggagttatcc aggtactcgt ccaacttcct cttggtgcct gtggccgacg gctggttgac	1380
accagcagag tgttcgaagg actcggcgtg gtaagctgag ctaggagagg gttgttcgac	1440
cactggctgt tcgagtgact cgctgtagta ggcagaggac acagcttcct ccaggttgtc	1500
agtggctctg agcagacact ccaccaaatac gttgtcagtg agcgagttaa ctgaggcgag	1560
gaagttgcta gcggcagcgg tttcagagtc ggagatgaca gtatcagctc cgtccgggggt	1620
tgggtggttg tagtaagaca agtaatcgtt aggttgcttg tcgcagaact ccgagtatga	1680
gttgtcgaag ctagcacgag agggagtgtt ggcagagggt taggaagcgt tgaagttgat	1740
ttgagtcatt gtgacctggt tgttcacgat cttatcgcca cctgtgtcca cctgcagttg	1800
ctgggcctca gcgcaggctg aagtggcctc acaggagtag gggctggaag cacagttgga	1860
agtcattgat ttttcttgga cgttcaggac gtggctggat gtacggatca tagatctatc	1920
tagattcgaa agcggccgcg actagtgagc tcgtcgacgt aggcctttga attccgcgcg	1980

cttcggaccg	ggatccgcgc	ccgatggtgg	gacggtatga	ataatccgga	atatttatag	2040
gtttttttat	tacaaaactg	ttacgaaaac	agtaaaatac	ttattttattt	gcgagatggg	2100
tatcatttta	attatctcca	tgatctatta	atattccgga	gtatacctac	ccgtaaagcg	2160
agtttagttt	tgaaaaacaa	atgacatcat	ttgtataatg	acatcatccc	ctgatttgtgt	2220
tttacaagta	gaattctatc	cgtaaagcga	gttcagtttt	gaaaacaaat	gagtcatacc	2280
taaacacggt	aataatcttc	tgatatcagc	ttatgactca	agttatgagc	cgtgtgcaaa	2340
acatgagata	agtttatgac	atcatccact	gatcgtgctg	tacaagtaga	attctactcg	2400
taaagccagt	tcggttatga	gccgtgtgca	aaacatgaca	tcagcttatg	actcatactt	2460
gatttgtgtt	tacgcgtaga	attctactcg	taaagcgagt	tcggttatga	gccgtgtgca	2520
aaacatgaca	tcagcttatg	agtcataatt	aatcgtgctg	tacaagtaga	attctactcg	2580
taaagcgagt	tgaaggatca	tatttagttg	cgtttatgag	ataagattga	aagcacgtgt	2640
aaaatgtttc	cgagctcgtc	gacgtagggc	tttgaattcc	gcgcgcttcg	gaccgggac	2700
ggtagcaaat	tccgttttgc	gacgatgcag	agtttttgaa	caggctgctc	aaacacatag	2760
atccgtaccc	gctcagtcgg	atgtattaca	atgcagccaa	taccatgttt	tacacgacta	2820
tggaaaacta	tgccgtgtcc	aattgcaagt	tcaacattga	ggattacaat	aacatattta	2880
aggtgatgga	aaatattagg	aaacacagca	acaaaaattc	aaacgaccaa	gacgagttaa	2940
acatatattt	gggagttcag	tcgtcgaatg	caaagcgtaa	aaaatattaa	taaggtaaaa	3000
attacagcta	cataaattac	acaatttaaa	ctgcagtctg	gagatacggg	cctttaattc	3060
aaccaaacac	aatatattat	agttaataaa	gaattattat	caaatcattt	gtatattaat	3120
taaaatacta	tactgtaaat	tacattttat	ttacaatcac	tcgacctcga	gatgtctctt	3180
tggctgccta	gcgaggccac	tgtctacttg	cctcctgtcc	cagtatctaa	agttgtaagc	3240
acggatgaat	atgttgacg	cacaaacata	tattatcatg	caggaacatc	cagactactt	3300
gcagttggac	atccctattt	tcctattaaa	aaacctaaca	ataacaaaat	attagttcct	3360
aaagtatcag	gattacaata	cagggatatt	agaatatatt	tacctgacct	caataagttt	3420
ggttttcctg	acacctcatt	ttacaatcca	gatacacagc	ggctggtttg	ggcctgtgta	3480
gggtgtgagg	taggccgtgg	tcagccatta	gggtgtgggca	ttagtggcca	tcctttatta	3540
aataaattgg	atgacacaga	aaatgctagt	gcttatgcag	caaatgcagg	tgtggataat	3600
agagaatgta	tatctatgga	ttacaaacaa	acacaattgt	gtttaattgg	ttgcaaacca	3660
cctatagggg	aacactgggg	caaaggatcc	ccatgtaaca	atgttgacgt	aaatccaggt	3720
gattgtccac	cattagagtt	aataaacaca	gttatccagg	atggtgatat	ggttgatacc	3780
ggctttggtg	ctatggactt	tactacatta	caggctaaca	aaagtgaagt	tcactggat	3840
atttgtacgt	ctatttgcaa	atatccagat	tatattaaaa	tggtgtcaga	accatatggc	3900

gacagcttat ttttttattt acgaagggaa caaatgtttg ttagacattt atttaatagg 3960
gctggtgctg ttggtgaaaa tgtaccagac gatttataca ttaaaggctc tgggtctact 4020
gcaaatttag ccagttcaaa ttattttcct acacctagtg gttctatggt tacctctgat 4080
gccccaaatat ttaataaacc atattgggta caacgagcac agggccacaa taatggtatt 4140
tggtggggta accaactatt tgttactgtt gttgatacta cacgcagtac aaatatgtca 4200
ttatgtgctg ccatatctac ttcagaaact acatataaaa atactaactt taaagagtac 4260
ctacgacatg gggaggaata tgatttacag tttatttttc aactgtgcaa aataacctta 4320
actgcagacg ttatgacata catacattct atgaattcca ctattttgga ggactggaat 4380
tttggtttac aacctcccc aggaggcaca ctagaagata cttatagggt tgtaacatcc 4440
caggcaattg cttgtcaaaa acatacacct ccagcaccta aagaagatcc ccttaaaaaa 4500
tatacttttt gggaagtaaa tttaaaagaa aagttttctg cagacctaga tcagtttcct 4560
ttaggacgca aatttttact acaagcagga ttttaaggcca aaccaaatt tacattagga 4620
aaacgaaaag ctacaccac cacctcatct acctctacaa ctgctaaacg caaaaaacgt 4680
aagctgtaac catggaagct tatgaatcgt ttttaaaata acaaatcaat tgttttataa 4740
tattcgtacg attctttgat tatgtaataa aatgtgatca ttaggaagat tacgaaaaat 4800
ataaaaaata tgagttctgt gtgtataaca aatgctgtaa acgccacaat tgtgtttggt 4860
gcaaataaac ccatgattat ttgattaaaa ttggtgtttt ctttgttcat agacaatagt 4920
gtgttttgcc taaacgtgta ctgcataaac tccatgagag tgtatagcga gctagtggct 4980
aacgcttgcc ccaccaaagt agattcgtca aaatcctcaa tttcatcacc ctctccaag 5040
tttaacattt ggccgtcgga attaacttct aaagatgcca cataatctaa taaatgaaat 5100
agagattcaa acgtggcgct atcgctccgt tcgaccattt ccgaaaagaa ctggggcata 5160
aactctatga tttctctgga cgtggtggtg tcgaaactct caaagtacgc agtcaggaac 5220
gtgcgcgaca tgctgctcgg aaactcgcgc ggaaacatgt tgttgtaacc gaacgggtcc 5280
catagcgcca aaaccaaatt tgccagcgct aatagaatga gcacgatgcc gacaatggag 5340
ctggcttgga tagcgattcg agttaa 5366

<210> 53

<211> 5981

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de expresión recombinante

<400> 53

ttagttgaac tcgaacttct tgtacttgca gttgagcttt tgctcggcga atgtgatggc 60

ES 2 554 752 T3

gtcggagagt ggcaccagtc cctgcaggat caaggccaag agcttcagca agttgttgtg	120
cagtgtagtt gactcgcgac ggttgacctt gccgatcacg aacatgtggg gcttgaatct	180
gttgtacttt tggatgacct ggctcacatc aacgtccttg atttcgccag agatccagta	240
gaactccttg ttcttcttag cgatggtcag cctttcctcg ttcttgaagg acaacacgat	300
gaagttgtga cccttaacgt tatcgacgtt ttgagtcagg tactgctcaa cgatgtgcat	360
gcttccgtct tccttcttga ccttcttgag gttctcggcg ttgttgtag aagcgatgtt	420
gtcgtggtag ttgtagttgt tgaagagcag gttagcgacg gacgagtact tgtatgtcag	480
agtgtctctt ttgttcacga tgaggttcag gttatcaacg acgtacttgt tgggaggggt	540
gtccgggaat tggacggact ccgagtactt gaggatctgg gaaacgtatg gcgagacgaa	600
gaagttgtta gaggcgggtt cgatctcgtt tgattccttg cggctcagca tgatgggcaa	660
agtgaagagg ttcttgcctt ggtacatctc gtacaacttc gacaagagga atccacactt	720
acgctcgccg agtgattgca gcaaggtcac gaaggttgtc tgagcgtagt acatatcgag	780
gttgaagtag gaggtcagag cggccttgaa tgtgtgggtg acgtccacga agtgacactt	840
cttcagttt tgagcggcgg tctcatcgtt gcagacgtcc tgtgagtgtg ggatttcgat	900
gccagtctcc ttaaccaggt tgtagctgat catgaagcgg atcttatcga aggtcacaa	960
gaacacacgg ttgtcaacca tgtagtagtt gtttgtgtac tcgtagacca cgtagagac	1020
gtacttggcg aagatgattt cgaaaggctt cacctcggac ttcttaacga cgaacatgta	1080
gtaaccgggt tcagacatgt gatcggagaa tctgttcgag ttgtagtcgt tatcgtcgaa	1140
cctcatcagg tagggggcga agtcgtttgt gaagtagtga gtgatctcct ggggtggaagc	1200
cactgtacag atgttagtgt tgtggttgat ggtttgttcc agtgtagcgc atgactggat	1260
ggtgctcttc ttgtacttag gtctcaactt gatcttggtg aattgacca caactccctg	1320
ggagttatcc aggtactcgt ccaacttcct cttgggtgcct gtggccgacg gctgggtgac	1380
accagcagag tggtcgaagg actcggcgtg gtaagctgag ctaggagagg gttgttcgac	1440
cactggctgt tcgagtgact cgctgtagta ggcagaggac acagcttcct ccaggttgtc	1500
agtggctctg agcagacact ccaccaaatac gttgtcagtg agcgagttaa ctgagggcag	1560
gaagttgcta gcggcagcgg ttccagagtc ggagatgaca gtatcagctc cgtccgggggt	1620
tgggtgggtt tagtaagaca agtaatcgtt aggttgcttg tcgcagaact ccgagtatga	1680
gttgtcgaag ctagcacgag agggagtgtt ggcagaggtg taggaagcgt tgaagttgat	1740
ttgagtcatg gtgacctggt tgttcacgat cttatcgcca cctgtgtcca cctgcagttg	1800
ctgggcctca gcgcaggctg aagtggcctc acaggagtag gggctggaag cacagttgga	1860
agtcatgatg ttttcttgga cggtcaggac gtggctggat gtacggatca tagatctatc	1920
tagattcgaa agcggccgcg actagtgage tcgtcgacgt aggcctttga attccgcgcg	1980

cttcggaccg ggatccgcgc ccgatggtgg gacggtatga ataatccgga atatttatag	2040
gtttttttat tacaaaactg ttacgaaaac agtaaaatac ttattttattt gcgagatggt	2100
tatcatttta attatctcca tgatctatta atattccgga gtataacctac ccgtaaagcg	2160
agtttagttt tgaaaaacaa atgacatcat ttgtataatg acatcatccc ctgatttgtgt	2220
tttacaagta gaattctatc cgtaaagcga gttcagtttt gaaaacaaat gaggcatacc	2280
taaacacggt aataatcttc tgatatcagc ttatgactca agttatgagc cgtgtgcaaa	2340
acatgagata agtttatgac atcatccact gatcgtgcgt tacaagtaga attctactcg	2400
taaagccagt tcggttatga gccgtgtgca aaacatgaca tcagcttatg actcatactt	2460
gatttgtgtt tacgcgtaga attctactcg taaagcgagt tcggttatga gccgtgtgca	2520
aaacatgaca tcagcttatg agtcataatt aatcgtgcgt tacaagtaga attctactcg	2580
taaagcgagt tgaaggatca tatttagttg cgtttatgag ataagattga aagcacgtgt	2640
aaaatgtttc cgagctcgtc gacgtaggcc ttngaattcc gcgcgcttcg gaccgggac	2700
ggtaccaa at tccgttttgc gacgatgcag agtttttgaa caggctgctc aaacacatag	2760
atccgtaccc gtcagtcgg atgtattaca atgcagccaa taccatgtt tacacgacta	2820
tggaaaacta tgccgtgtcc aattgcaagt tcaacattga ggattacaat aacatattta	2880
aggtgatgga aaatattagg aaacacagca acaaaaattc aaacgaccaa gacgagttaa	2940
acatatattt gggagttcag tcgtcgaatg caaagcgtaa aaaatattaa taaggtaaaa	3000
attacagcta cataaattac acaattttaa ctgcagctcg gagatacggga cttttaattc	3060
aaccaaacac aatatattat agttaaataa gaattattat caaatcattt gtatattaat	3120
taaaatacta tactgtaaat tacattttat ttacaatcac tcgacctcga gatggagggc	3180
aaagcccgca cagcgccgca aggcgaagca gcaggcactg ccaccacagc atcagtcctt	3240
ggaaccacaa ccgatggcat ggaccccggc gttgtggcca ctaccagcgt ggtcactgca	3300
gagaattcat ccgcacgat tgcaacggca gggattggcg gaccaccca acaggtggac	3360
caacaagaga catggagAAC gaacttttat tataatgacg ttttcacttg gtcagtcgcg	3420
gatgcccctg gcagcactt ttacaccgtt caacattctc cacagaacaa cccattcaca	3480
gccgtgctga gccagatgta tgctggctgg gctggtggca tgagtttcg cttcatagtt	3540
gccggatcgg gtgtgttttg tgggcggttg gttgcggcgg tgataccacc gggcatcgag	3600
attggaccag ggctggaggt caggcaattc ccccatgttg tcatcgacgc tcgttcactt	3660
gaacctgtca ccatcaccat gccagacttg cgtcccaaca tgtaccatcc aactggtgac	3720
cctggccttg ttcccacact agtccttagt gtttataaca acctcatcaa cccgtttggt	3780
gggtccacca gcgcaatcca ggtgacagt gaaacaaggc caagtgaaga ttttgagttc	3840

ES 2 554 752 T3

gtgatgattc gagccccctc cagcaagact gttgactcaa tttcacccgc aggcctcctc	3900
acgaccccag tcctcactgg ggttggcaat gacaacaggt ggaatggcca aatagtggga	3960
ctgcaaccag tacctggagg gttctctacg tgcaacaggc attggaactt gaatggcagc	4020
acatatggct ggtcaagccc ccggtttgcc gacattgacc atcgaagagg cagtgcgaagt	4080
taccctggat ccaacgcaac caacgtgctt cagttttggg atgccaatgc tgggtctgca	4140
atcgacaatc ccatctccca ggttgcacca gacggctttc ctgatatgtc gttcgtgccc	4200
tttaacggcc ctggcattcc agccgcgggg tgggtcggat ttggtgcaat ctggaacagt	4260
aacagcgggtg cccccaacgt tacgactgtg caggcttatg agttaggttt tgccactggg	4320
gcaccaggca acctccagcc caccaccaac acttcagggt cacagactgt cgccaagtcc	4380
atatatgccg tggtaactgg cacagcccaa aaccccgccg gattgtttgt gatggcctcg	4440
ggtgttatct ccacccaag tgccaacgcc atcacatata cgccccaacc agacagaatt	4500
gtaaccacac ccggcactcc tgccgctgca cctgtgggta agaacacacc catcatgttc	4560
gcgtctgtcg tcaggcgcac cggtgacgtc aacgccacag ctgggtcagc taacgggacc	4620
cagtacggca caggctctca accactgcc a gtaacaattg gactttcgtc caacaactac	4680
tcgtcagcac ttatgcccg acagtttttc gtttggcagt taacctttgc atctggtttc	4740
atggagattg gtttaagtgt ggacgggtat ttttatgcag gaacaggagc ctcaaccaca	4800
ctcattgact tgactgaact cattgacgta cgccctgtgg gaccaggcc atccaagagc	4860
acactcgtgt tcaacctggg gggcacagcc aatggctttt cttatgtctg aattcatcgg	4920
actgggactt gcagggtgcc a gcgttttgag caatgcattg ctccgcaggc aagagctgca	4980
actacaaaga caagctttgg agaatgggtt ggttttgaaa gccgaccaat taggtaggtt	5040
aggttttaat ccaaatgaag ttaagaatgt gattgtaggt aatagtttta gtagtaatgt	5100
tagattaagt aatatgcata atgatgctag tgtagttaat gcttataatg tgtataatcc	5160
tgccagcaat ggcacagaa agaaaattaa gagtttgaat aatagtgtta agatttataa	5220
caccactggg gagtccagt ttttaatttga ttttattggg tttgaaattt ggtttaattg	5280
ggtttatagt ttaaagtaag ctatccatgg aagcttatga atcgttttta aaataacaaa	5340
tcaattgttt tataatatc gtacgattct ttgattatgt aataaaatgt gatcattagg	5400
aagattacga aaaatataaa aaatatgagt tctgtgtgta taacaaatgc tgtaaacgcc	5460
acaattgtgt ttgttgcaaa taaacccatg attatttgat taaaattggt gttttctttg	5520
ttcatagaca atagtgtgtt ttgcctaaac gtgtactgca taaactccat gcgagtgtat	5580
agcgagctag tggctaacgc ttgccccacc aaagtagatt cgtcaaaatc ctcaatttca	5640
tcaccctcct ccaagtttaa catttggccg tcggaattaa cttctaaaga tgccacataa	5700
tctaataaat gaaatagaga ttcaaacgtg gcgtcatcgt ccgtttcgac catttccgaa	5760

ES 2 554 752 T3

aagaactcgg gcataaactc tatgatttct ctggacgtgg tgttgtcgaa actctcaaag 5820
 tacgcagtca ggaacgtgcg cgacatgtcg tcgggaaact cgcgcggaaa catgttggtg 5880
 taaccgaacg ggtcccatag cgccaaaacc aaatctgccca gcgtcaatag aatgagcacg 5940
 atgccgacaa tggagctggc ttggatagcg attcgagtta a 5981

<210> 54

<211> 4961

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de expresión recombinante

<400> 54

ttagttgaac tcgaacttct tgtacttgca gttgagcttt tgctcggcga atgtgatggc 60
 gtcggagagt ggcaccagtc cctgcaggat caaggccaag agcttcagca agttgttgtg 120
 cagtgtagtt gactcgcgac ggttgacctt gccgatcacg aacatgtggt gcttgaatct 180
 gttgtacttt tggatgacct ggctcacatc aacgtccttg atttcgccag agatccagta 240
 gaactccttg ttcttcttag cgatggtcag cctttcctcg ttcttgaagg acaacacgat 300
 gaagttgtga cccttaacgt tatcgacgtt ttgagtcaag tactgctcaa cgatgtgcat 360
 gcttcogtct tccttcttga ccttcttgag gttctcggcg ttgttggttag aagcgatggt 420
 gtcgtggtac ttgtagttgt tgaagagcag gttagcgacg gacgagtact tgtatgtcag 480
 agtgctcttc ttgttcacga tgagggttcag gttatcaacg acgtacttgt tgggaggggtt 540
 gtccgggaat tggacggact ccgagtactt gaggatctgg gaaacgtatg gcgagacgaa 600
 gaagttgtta gaggcggttt cgatctcggt tgattccttg cggctcagca tgatgggcaa 660
 agtgaagagg ttcttgtcct ggtacatctc gtacaacttc gacaagagga atccacactt 720
 acgctcgccg agtgattgca gcaaggtcac gaaggttgtc tgagcgtagt acatatcgag 780
 gttgaagtag gaggtcagag cggccttgaa tgtgtggtgg acgtccacga agtgacactt 840
 cttgcagttt tgagcggcgg tctcatcggt gcagacgtcc tgtgagtgtg ggatttcgat 900
 gccagtctcc ttaaccaggt ttagctgat catgaagcgg atcttatcga aggtcacaac 960
 gaacacacgg ttgtcaacca tgtagtagtt gtttgtgtac tcgtagacca cgtagagac 1020
 gtacttggcg aagatgattt cgaaaggctt cacctcggac ttcttaacga cgaacatgta 1080
 gtaaccgggt tcagacatgt gatcggagaa tctgttcgag ttgtagtcgt tatcgtcgaa 1140
 cctcatcagg tagggggcga agtcgtttgt gaagtagtga gtgatctcct ggggtggaagc 1200
 cactgtacag atgttagtgt tgtggttgat ggtttggtcc agtgtagcgc atgactggat 1260
 ggtgctcttc ttgtacttag gtctcaactt gatcttggtg aattgaccca caactccctg 1320

ES 2 554 752 T3

ggagttatcc	aggtactcgt	ccaacttcct	cttgggtgcct	gtggccgacg	gctggttgac	1380
accagcagag	tgttcgaag	actcggcgtg	gtaagctgag	ctaggagagg	gttgttcgac	1440
cactggctgt	tcgagtgact	cgctgtagta	ggcagaggac	acagcttcct	ccaggttgtc	1500
agtggctctt	agcagacact	ccaccaaata	gttgctcagt	agcgagttaa	ctgaggcgag	1560
gaagttgcta	gcggcagcgg	tttcagagtc	ggagatgaca	gtatcagctc	cgtccggggg	1620
tgggtgggtt	tagtaagaca	agtaatcggt	aggttgcttg	tcgcagaact	ccgagtatga	1680
gttgctgaag	ctagcacgag	agggagtgtt	ggcagagggt	taggaagcgt	tgaagttgat	1740
ttgagtcatt	gtgacctggt	tgttcacgat	cttatcgcca	cctgtgtcca	cctgcagttg	1800
ctgggcctca	gcgcaggctg	aagtggcctc	acaggagtag	gggctggaag	cacagttgga	1860
agtcattgat	ttttcttga	cggtcaggac	gtggctggat	gtacggatca	tagatctatc	1920
tagattcgaa	agcggccgcg	actagtgage	tcgtcgacgt	aggcctttga	attccgcgcg	1980
cttcggaccg	ggatccgcgc	ccgatggtgg	gacggtagta	ataatccgga	atatttatag	2040
gtttttttat	tacaaaactg	ttacgaaaac	agtaaaatac	ttatttattt	gcgagatggg	2100
tatcatttta	attatctcca	tgatctatta	atattccgga	gtataacctac	ccgtaaagcg	2160
agtttagttt	tgaaaaacaa	atgacatcat	ttgtataatg	acatcatccc	ctgattgtgt	2220
tttacaagta	gaattctatc	cgtaaagcga	gttcagtttt	gaaaacaaat	gagtcatacc	2280
taaacacgtt	aataatcttc	tgatatcagc	ttatgactca	agttatgagc	cgtgtgcaaa	2340
acatgagata	agtttatgac	atcatccact	gatcgtgctg	tacaagtaga	attctactcg	2400
taaagccagt	tcggttatga	gccgtgtgca	aaacatgaca	tcagcttatg	actcatactt	2460
gattgtgttt	tacgcgtaga	attctactcg	taaagcgagt	tcggttatga	gccgtgtgca	2520
aaacatgaca	tcagcttatg	agtcataatt	aatcgtgctg	tacaagtaga	attctactcg	2580
taaagcgagt	tgaaggatca	tatttagttg	cgtttatgag	ataagattga	aagcacgtgt	2640
aaaatgtttc	cgagctcgtc	gacgtaggcc	tttgaattcc	gcgcgcttcg	gaccgggata	2700
ggtagccaat	tccgtttttg	gacgatgcag	agtttttgaa	caggctgctc	aaacacatag	2760
atccgtaccc	gctcagtcgg	atgtattaca	atgcagccaa	taccatgttt	tacacgacta	2820
tggaaaacta	tgccgtgtcc	aattgcaagt	tcaacattga	ggattacaat	aacatattta	2880
aggtgatgga	aatatttagg	aaacacagca	acaaaaattc	aaacgaccaa	gacgagttaa	2940
acatatattt	gggagttcag	tcgtcgaatg	caaagcgtaa	aaaatattaa	taaggtaaaa	3000
attacagcta	cataaattac	acaatttaaa	ctgcagtcct	gagatacgga	cctttaattc	3060
aaccaaacac	aatatattat	agttaaataa	gaattattat	caaatcattt	gtatattaat	3120
taaaatacta	tactgtaaat	tacattttat	ttacaatcac	tcgacctcga	gatgtctctt	3180
tggctgccta	gcgaggccac	tgtctacttg	cctcctgtcc	cagtatctaa	agttgtaagc	3240

acggatgaat atgttgcacg cacaacata tattatcatg caggaacatc cagactactt 3300
gcagttggac atccctattt tcctattaaa aaacctaaca ataacaaaat attagttcct 3360
aaagtatcag gattacaata cagggtattt agaatatatt tacctgaccc caataagttt 3420
ggttttcctg acacctcatt ttacaatcca gatacacagc ggctggtttg ggctgtgta 3480
ggtgttgagg taggccgtgg tcagccatta ggtgtgggca ttagtggcca tcctttatta 3540
aataaattgg atgacacaga aaatgctagt gcttatgcag caaatgcagg tgtggataat 3600
agagaatgta tatctatgga ttacaaacaa acacaattgt gtttaattgg ttgcaaacca 3660
cctatagggg aacactgggg caaaggatcc ccatgtaaca atgttgcagt aaatccaggt 3720
gattgtccac cattagagtt aataaacaca gttattcagg atggtgatat gggtgatacc 3780
ggcttttggtg ctatggactt tactacatta caggctaaca aaagtgaagt tccactggat 3840
atttgtagct ctatttgcaa atatccagat tatattaaaa tgggtgtcaga accatatggc 3900
gacagcttat ttttttattt acgaaggga caaatgtttg ttagacattt atttaatagg 3960
gctgggtgctg ttgggtgaaaa tgtaccagac gatttataca ttaaaggctc tgggtctact 4020
gcaaatttag ccagttcaaa ttattttcct acacctagtg gttctatggt tacctctgat 4080
gccccaatat ttaataaacc atattgggta caacgagcac agggccacaa taatggtatt 4140
tggtggggta accaactatt tgttactgtt gttgatacta cagcgagtac aaatatgtca 4200
ttatgtgctg ccatatctac ttcagaaact acatataaaa atactaactt taaagagtac 4260
ctacgacatg gggaggaata tgatttacag tttatttttc aactgtgcaa aataacctta 4320
actgcagacg ttatgacata catacattct atgaattcca ctattttgga ggactggaat 4380
tttggtttac aacctcccc aggaggcaca ctagaagata cttatagggt tgtaacatcc 4440
caggcaattg cttgtcaaaa acatacacct ccagcaccta aagaagatcc ccttaaaaaa 4500
tatacttttt gggaagtaaa tttaaaagaa aagttttctg cagacctaga tcagtttcct 4560
ttaggacgca aatttttact acaagcagga ttttaaggcca aaccaaatt tacattagga 4620
aaacgaaaag ctacaccac cacctcatct acctctacaa ctgctaaacg caaaaaacgt 4680
aagctgtaaa agcttcagct ggtcgagaag tactagagga tcataatcag ccataccaca 4740
tttgtagagg ttttacttgc tttaaaaaac ctccacacc tccccctgaa cctgaaacat 4800
aaaatgaatg caattgttgt tgtaacttg tttattgcag cttataatgg ttacaaataa 4860
agcaatagca tcacaaattt cacaataaa gcattttttt cactgcattc tagttgtggt 4920
ttgtccaaac tcatcaatgt atcttatcat gtctggatct g 4961

<210> 55
<211> 5576
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

$\langle 220 \rangle$

<223> Casete de expresión recombinante

5	<400>	55				
ttagttgaac	tcgaacttct	tgtacttgca	g ttgagcttt	tgc tggcgca	atgtgatggc	60
gtcggagagt	ggcaccagtc	cctgcaggat	caaggccaag	agcttcagca	agttgttgtg	120
cagtgtagtt	gactcgcgac	ggttgacctt	gccgatcacg	aacatgtggt	gcttgaatct	180
gttgtacttt	tg gatgacct	ggctcacatc	aacgtccttg	atttcgccag	agatccagta	240
gaactccttg	ttcttcttag	cgatggtcag	cctttcctcg	ttcttgaagg	acaacacgat	300
gaagtttgtga	cccttaacgt	tatcgacgtt	ttgagtc aag	tactgctcaa	cgatgtgcat	360
gcttccgtct	tccttcttga	ccttcttgag	gttctcggcg	ttgtttgttag	aagcgatg tt	420
gtcgtgg tac	ttgt agttgt	tgaagagcag	gttagcgacg	gacgagtact	tgtatgtcag	480
agt gctcttc	ttgttcacga	tgagggttcag	gttatcaacg	acgtacttgt	tgggaggggtt	540
gtccgggaat	tggacggact	ccgagtactt	gaggatctgg	gaaacgtatg	gcgagacgaa	600
gaagttgtta	gaggcggttt	cgatctcg tt	tgattccttg	cggctcagca	tgatgggcaa	660
agtgaagagg	ttcttgtcct	ggtacatctc	gtacaacttc	gacaagagga	atccacactt	720
acgctcgccg	agt gattgca	gcaagg tcac	gaagg ttgtc	tgagcgtagt	acatatcgag	780
gttgaagtag	gaggtcagag	cggccttgaa	tgtgtgg tgg	acgtccacga	agt gacactt	840
cttgcagttt	tgagcggcg	tctcatcg tt	gcagacgtcc	tgtgagtg tg	ggatttcgat	900
gccagtctcc	ttaaccaggt	tgtagctgat	catgaagcgg	atcttatcga	aggtcacaac	960
gaacacacgg	ttgtcaacca	tgtagtagtt	gtttgtgtac	tcgtagacca	cgttagagac	1020
gtacttggcg	aagatgattt	cgaaaggctt	cacctcggac	ttcttaacga	cgaacatgta	1080
gtaaccgggt	tcagacatgt	gatcggagaa	tctgttcgag	ttgtagtcgt	tatcgtcgaa	1140
cctcatcagg	tagggggcga	agtcgtttgt	gaagtagtga	gtgatctcct	gggtggaagc	1200
cactgtacag	atgttagtgt	tgtggttgat	ggtttgttcc	agtgtagcgc	atgactggat	1260
ggtgctcttc	ttgtacttag	gtctcaactt	gatcttg ttg	aattgaccca	caactccctg	1320
ggagttatcc	aggtactcgt	ccaacttcct	cttgggtgcct	gtggccgacg	gctgggttgac	1380
accagcagag	tg ttcgaagg	actcggcgtg	gtaagctgag	ctaggagagg	gttgttcgac	1440
cactggctgt	tcgagtgact	cgctgtagta	ggcagaggac	acagcttcct	ccaggttgtc	1500
agtgg tcttg	agcagacact	ccaccaa atc	gttgtcagtg	agcgagtt aa	ctgaggcgag	1560
gaagttgcta	gcggcagcgg	tttcagagtc	ggagatgaca	gtatcagctc	cgtccgggggt	1620
tgggtggttg	tagtaagaca	agtaatcg tt	aggttgcttg	tcgcagaact	ccgagtatga	1680
gttgtcgaag	ctagcacgag	agggagtgct	ggcagaagtg	taggaaqcgt	tgaagttgat	1740

ttgagtcgatg	gtgacctggt	tgttcacgat	cttatcgcca	cctgtgtcca	cctgcagttg	1800	
ctgggcctca	gcgcaggctg	aagtggcctc	acaggagtag	gggctggaag	cacagttgga	1860	
agtcatgatg	ttttcttgga	cgttcaggac	gtggctggat	gtacggatca	tagatctatc	1920	
tagattcgaa	agcggccgcg	actagtgage	tcgtcgacgt	aggcctttga	attccgcgcg	1980	
cttcggaccg	ggatccgcgc	ccgatggtgg	gacggtatga	ataatccgga	atatttatag	2040	
gtttttttat	tacaaaactg	ttacgaaaac	agtaaaatac	ttattttattt	gcgagatggt	2100	
tatcatttta	attatctcca	tgatctatta	atattccgga	gtatacctac	ccgtaaagcg	2160	
agtttagttt	tgaaaaacaa	atgacatcat	ttgtataatg	acatcatccc	ctgattgtgt	2220	
tttacaagta	gaattctatc	cgtaaagcga	gttcagtttt	gaaaacaaat	gagtcatacc	2280	
taaacacgtt	aataatcttc	tgatatcagc	ttatgactca	agttatgagc	cgtgtgcaaa	2340	
acatgagata	agtttatgac	atcatccact	gatcgtgcgt	tacaagtaga	attctactcg	2400	
taaagccagt	tcggttatga	gccgtgtgca	aaacatgaca	tcagcttatg	actcatactt	2460	
gattgtgttt	tacgcgtaga	attctactcg	taaagcgagt	tcggttatga	gccgtgtgca	2520	
aaacatgaca	tcagcttatg	agtcataatt	aatcgtgcgt	tacaagtaga	attctactcg	2580	
taaagcgagt	tgaaggatca	tatttagttg	cgtttatgag	ataagattga	aagcacgtgt	2640	
aaaatgtttc	cgagctcgtc	gacgtaggcc	tttgaattcc	gcgcgcttcg	gaccgggac	2700	
ggtaccaa	at	tcggttttgc	gacgatgcag	agtttttgaa	caggctgctc	aaacacatag	2760
atccgtaccc	gctcagtcgg	atgtattaca	atgcagccaa	taccatgttt	tacacgacta	2820	
tggaatacta	tgccgtgtcc	aattgcaagt	tcaacattga	ggattacaat	aacatattta	2880	
aggtgatgga	aaatattagg	aaacacagca	acaaaaattc	aaacgaccaa	gacgagttaa	2940	
acatatattt	gggagttcag	tcgtcgaatg	caaagcgtaa	aaaatattaa	taaggtaaaa	3000	
attacagcta	cataaattac	acaattttaa	ctgcagtcgt	gagatacggg	cctttaattc	3060	
aaccaaacac	aatatattat	agttaaataa	gaattattat	caaatcattt	gtatattaat	3120	
taaaatacta	tactgtaaat	tacattttat	ttacaatcac	tcgacctcga	gatggagggc	3180	
aaagcccgca	cagcgccgca	aggcgaagca	gcaggcactg	ccaccacagc	atcagtcctt	3240	
ggaaccacaa	ccgatggcat	ggaccccggc	gttgtggcca	ctaccagcgt	ggtcactgca	3300	
gagaattcat	ccgcacgat	tgcaacggca	gggattggcg	gaccacccca	acaggtggac	3360	
caacaagaga	catggagAAC	gaacttttat	tataatgacg	ttttcacttg	gtcagtcgcg	3420	
gatgcccctg	gcagcatact	ttacaccgtt	caacattctc	cacagaacaa	cccattcaca	3480	
gccgtgctga	gccagatgta	tgctggctgg	gctggtggca	tgagttttcg	cttcatagtt	3540	
gccggatcgg	gtgtgttttg	tgggcgggtt	gttgccggcc	tgataccacc	gggcatcgag	3600	

ES 2 554 752 T3

attggaccag	ggctggaggt	caggcaattc	cccatgttg	tcacgacgc	togttcactt	3660
gaacctgtca	ccatcaccat	gccagacttg	cgtcccaaca	tgtaccatcc	aactgggtgac	3720
cctggccttg	ttcccacact	agtccttagt	gtttataaca	acctcatcaa	cccgtttggg	3780
gggtccacca	gcgcaatcca	ggtgacagt	gaaacaaggc	caagtgaaga	ttttgagttc	3840
gtgatgattc	gagccccctc	cagcaagact	gttgactcaa	tttcacccgc	aggcctcctc	3900
acgaccccag	tcctcactgg	ggttggcaat	gacaacaggt	ggaatggcca	aatagtggga	3960
ctgcaaccag	tacctggagg	gttctctacg	tgcaacaggc	attggaactt	gaatggcagc	4020
acatatggct	ggtcaagccc	ccggtttgcc	gacattgacc	atcgaagagg	cagtgcgaagt	4080
taccctggat	ccaacgcaac	caacgtgctt	cagttttggg	atgccaatgc	tgggtctgca	4140
atcgacaatc	ccatctccca	ggttgcacca	gacggctttc	ctgatatgtc	gttcgtgccc	4200
tttaacggcc	ctggcattcc	agccgcgggg	tgggtcggat	ttggtgcaat	ctggaacagt	4260
aacagcgggt	cccccaacgt	tacgactgtg	caggcttatg	agttaggttt	tgcactggg	4320
gcaccaggca	acctccagcc	caccaccaac	acttcagggt	cacagactgt	cgccaagtcc	4380
atatatgccg	tggttaactg	cacagcccaa	aaccccgccg	gattgtttgt	gatggcctcg	4440
ggtgttatct	ccacccaag	tgccaacgcc	atcacataca	cgccccaacc	agacagaatt	4500
gtaaccacac	ccggcactcc	tgccgctgca	cctgtgggta	agaacacacc	catcatgttc	4560
gcgtctgtcg	tcaggcgcac	cggtgacgtc	aacgccacag	ctgggtcagc	taacgggacc	4620
cagtacggca	caggctctca	accactgcca	gtaacaattg	gactttcgct	caacaactac	4680
togtcagcac	ttatgcccgg	acagtttttc	gtttggcagt	taacctttgc	atctggtttc	4740
atggagattg	gtttaagtgt	ggacgggtat	ttttatgcag	gaacaggagc	ctcaaccaca	4800
ctcattgact	tgactgaact	cattgacgta	cgccctgtgg	gacccaggcc	atccaagagc	4860
acactcgtgt	tcaacctggg	gggcacagcc	aatggctttt	cttatgtctg	aattcatcgg	4920
actgggactt	gcaggtgccca	gcgttttgag	caatgcattg	ctccgcaggc	aagagctgca	4980
actacaaaga	caagctttgg	agaatgggtt	ggttttgaaa	gccgaccaat	taggtaggtt	5040
aggttttaat	ccaaatgaag	ttaagaatgt	gattgtaggt	aatagtttta	gtagtaatgt	5100
tagattaagt	aatatgcata	atgatgctag	tgtagttaat	gcttataatg	tgtataatcc	5160
tgccagcaat	ggcatcagaa	agaaaattaa	gagtttgaat	aatagtgtta	agatttataa	5220
caccactggg	gagtccagt	tttaatttga	ttttattggg	tttgaaattt	ggtttaattg	5280
ggtttatagt	ttaaagtaag	ctataagctt	cagctggctg	agaagtacta	gaggatcata	5340
atcagccata	ccacatttgt	agagggtttta	cttgctttta	aaaacctccc	acacctcccc	5400
ctgaacctga	aacataaaat	gaatgcaatt	gttggtgtta	acttgtttat	tgcagcttat	5460
aatggttaca	aataaagcaa	tagcatcaca	aatttcacaa	ataaagcatt	tttttactg	5520

cattctagtt gtggtttgtc caaactcatc aatgtatctt atcatgtctg gatctg 5576

<210> 56

<211> 4145

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de expresión recombinante

10

<400> 56

ttagttgaac tcgaacttct tgtacttgca gttgagcttt tgctcggcga atgtgatggc	60
gtcggagagt ggcaccagtc cctgcaggat caaggccaag agcttcagca agttgttgtg	120
cagtgtagtt gactcgcgac ggttgacctt gccgatcacg aacatgtggt gcttgaatct	180
gttgtacttt tggatgacct ggctcacatc aacgtccttg atttcgccag agatccagta	240
gaactccttg ttcttcttag cgatggtcag cctttcctcg ttcttgaagg acaacacgat	300
gaagtttgtga cccttaacgt tatcgacgtt ttgagtcaag tactgctcaa cgatgtgcat	360
gcttccgtct tccttcttga ccttcttgag gttctcggcg ttgttgtag aagcgatgtt	420
gtcgtggtac ttgtagttgt tgaagagcag gttagcgacg gacgagtact tgtatgtcag	480
agtgtctcttc ttgttcacga tgaggttcag gttatcaacg acgtacttgt tgggaggggtt	540
gtccgggaat tggacggact ccgagtactt gaggatctgg gaaacgtatg gcgagacgaa	600
gaagttgtta gaggcggttt cgatctcggt tgattccttg cggctcagca tgatgggcaa	660
agtgaagagg ttcttgtcct ggtacatctc gtacaacttc gacaagagga atccacactt	720
acgctcgccg agtgattgca gcaaggtcac gaaggttgtc tgagcgtagt acatatcgag	780
gttgaagtag gaggtcagag cggccttgaa tgtgtggtgg acgtccacga agtgacactt	840
cttgacgttt tgagcggcgg tctcatcggt gcagacgtcc tgtgagtgtg ggatttcgat	900
gccagtctcc ttaaccaggt tgtagctgat catgaagcgg atcttatcga aggtcacaac	960
gaacacacgg ttgtcaacca tgtagtagtt gtttgtgtac tcgtagacca cgtagagac	1020
gtacttggcg aagatgattt cgaaaggcct cacctcggac ttcttaacga cgaacatgta	1080
gtaaccggtt tcagacatgt gatcggagaa tctgttcgag ttgtagtcgt tatcgtcgaa	1140
cctcatcagg tagggggcga agtcgtttgt gaagtagtga gtgatctcct gggtggaagc	1200
cactgtacag atgttagtgt tgtggttgat ggtttgttcc agtgtagcgc atgactggat	1260
ggtgctcttc ttgtacttag gtctcaactt gatcttggtg aattgaccca caactccctg	1320
ggagttatcc aggtactcgt ccaacttcct cttggtgcct gtggccgacg gctggttgac	1380
accagcagag tgttcgaagg actcggcgtg gtaagctgag ctaggagagg gttgttcgac	1440
cactggctgt tcgagtgact cgctgtagta ggcagaggac acagcttcct ccagggtgtc	1500

ES 2 554 752 T3

agtgggtcttg agcagacact ccaccaaadc gttgtcagtg agcgagttaa ctgaggcgag	1560
gaagttgcta gcgccagcgg ttccagagtc ggagatgaca gtatcagctc cgtccgggggt	1620
tgggtgggttg tagtaagaca agtaatcgtt aggttgcttg tcgcagaact ccgagtatga	1680
gttgtcgaag ctagcacgag agggagtgtt ggcagaggtg taggaagcgt tgaagttgat	1740
ttgagtcattg gtgacctggg tgttcacgat cttatcgcca cctgtgtcca cctgcagttg	1800
ctggggcctca ggcgaggctg aagtggcctc acaggagtag gggctggaag cacagttgga	1860
agtcattgatg ttttcttgga cgttcaggac gtggctggat gtacggatca tagatctatc	1920
tagattcgaa agcggccgag actagttagc tcgtcgacgt aggcctttga attccgcgcg	1980
cttcgggaccg ggatccgcgc ccgatgggtg gacgggatga ataaccgga atatttatag	2040
gttttttttat tacaactg ttacgaaac agtaaaatac ttattttatt gcgagatggg	2100
tatcattttta attatctcca tgatctatta atattccgga gtatacctac ccgtaaagcg	2160
agtttagttt tgaataaaca atgacatcat ttgtataatg acatcatccc ctgatttgtt	2220
tttacaagta gaattctatc cgtaaagcga gttcagtttt gaaaacaaat gattcatacc	2280
taaacacgtt aataatcttc tgatatcagc ttatgactca agttatgagc cgtgtgcaaa	2340
acatgagata agtttatgac atcatccact gatcgtgcgt tacaagtaga attctactcg	2400
taaagccagt tcggttatga gccgtgtgca aaacatgaca tcagcttatg actcatactt	2460
gatttgtgtt tacgcgtaga attctactcg taaagcgagt tcggttatga gccgtgtgca	2520
aaacatgaca tcagcttatg agtcataatt aatcgtgcgt tacaagtaga attctactcg	2580
taaagcgagt tgaaggatca tatttagttg cgtttatgag ataagattga aagcacgtgt	2640
aaaatgtttc cgagctcgtc gacgtaggcc tttgaattcc gcgcgcttcg gaccgggac	2700
ggtaccaaact tccgttttgc gacgatgcag agtttttgaa caggctgctc aaacacatag	2760
atccgtaccc gctcagtcgg atgtattaca atgcagccaa taccatgttt tacacgacta	2820
tggaaaacta tgccgtgtcc aattgcaagt tcaacattga ggattacaat aacatatatta	2880
aggtgatgga aaatattagg aaacacagca acaaaaattc aaacgaccaa gacgagttaa	2940
acatatattt gggagttcag tcgtcgaatg caaagcgtaa aaaatattaa taaggtaaaa	3000
attacagcta cataaattac acaattttaa ctgcagtcctg gagatacga cctttaattc	3060
aacccaacac aatatattat agttaataa gaattattat caaatcattt gtatattaat	3120
taaaatacta tactgtaaat tacattttat ttacaatcac tcgacctcga gatgacgtat	3180
ccaaggaggc gtttccgcag acgaagacac cgcggcgca gccatcttgg ccagatcctc	3240
cgccgccgcc cctggctcgt ccaccccgcc caccgttacc gctggagaag gaaaaatggc	3300
atcttcaaca cccgcctctc ccgcacctc ggatatactg tcaaggctac cacagtcaca	3360
acgccctcct gggcggtgga catgatgaga tttaatatta acgactttgt tccccggga	3420

ES 2 554 752 T3

ggggggacca acaaaatctc tataacccttt gaataactaca gaataagaaa ggttaaggtt	3480
gaattctggc cctgctcccc aatcaccag ggtgacaggg gagtgggctc cactgctggt	3540
attctagatg ataactttgt aacaaaggcc acagccctaa cctatgaccc ctatgtaaac	3600
tactcctccc gccatacaat cccccaaccc ttctcctacc actcccgtta cttcacaccc	3660
aaacctgtac tggatagaac tattgattac ttccagccaa acaacaaaaa aaatcagctt	3720
tggctgaggc taaaaacctc tgcaaagtga gaccacgtag gcctcggcac tgcgttcgaa	3780
aacagtaa at acgaccagga ctacaatatc cgtgtaacca tgtatgtaca attcagagaa	3840
tttaatctta aagacccccc acttaaacc taaaagcttc agctggtcga gaagtactag	3900
aggatcataa tcagccatac cacatttgta gaggttttac ttgctttaaa aaacctccca	3960
cacctcccc tgaacctgaa acataaaatg aatgcaattg ttgttggttaa cttgtttatt	4020
gcagcttata atgggttaca ataaagcaat agcatcacia atttcacaaa taaagcattt	4080
ttttactgc attctagttg tggtttgtcc aaactcatca atgtatctta tcatgtctgg	4140
atctg	4145

REIVINDICACIONES

1. Casete de expresión que comprende

[1] una copia del gen endógeno que codifica para el regulador transcripcional como transgén bajo el control de un promotor adecuado, en el que el regulador transcripcional es IE-1 e/o IE-0, que permite la expresión de las proteínas IE-1 e/o IE-0 que funcionan como reguladores transcripcionales por encima de niveles endógenos obtenidos durante la infección de baculovirus, en el que el ácido nucleico se selecciona del grupo que consiste en:

(a) secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 1-5;

(b) secuencia de ácido nucleico que tiene una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 1-5 y que codifica para una proteína que funciona como un regulador transcripcional en un baculovirus;

(c) secuencia de ácido nucleico que codifica para una proteína con la secuencia de aminoácidos indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 6-9; y

(d) secuencia de ácido nucleico que codifica para una proteína que funciona como un regulador transcripcional en un baculovirus y que tiene una similitud de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de aminoácidos indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 6-9;

[2] una secuencia de ácido nucleico que permite la expresión de una proteína recombinante, en el que la proteína recombinante es una proteína que forma partículas de tipo virus en el que la expresión de la proteína recombinante es impulsada por un promotor que comprende el promotor *p10* baculoviral,

[3] al menos una región homóloga recombinante (hr) como región potenciadora, unida operativamente al promotor que impulsa la expresión de la proteína recombinante.

2. Casete de expresión según la reivindicación 1, en el que la proteína recombinante es cualquier proteína que forma partículas de tipo virus seleccionadas del grupo que consiste en:

(a) Proteína de cápside de circovirus porcino, preferiblemente de circovirus porcino de tipo 2,

(b) Proteína VP1, VP3 o VP0 de virus de fiebre aftosa,

(c) Proteínas VP1 y VP2 de parvovirus canino,

(d) Proteínas VP1 y VP2 de parvovirus porcino,

(e) Proteína de cápside de norovirus humano (genogrupo I o II),

(f) Proteína de cápside de calcivirus,

(g) Proteína L1 de virus del papiloma humano, preferiblemente de virus del papiloma humano 16,

(h) Proteína E2 de hepatitis E,

(i) Proteínas VP1, VP2 y VP3 del virus de bursitis infecciosa,

(j) Proteínas codificadas por ORF2 de astrovirus,

(k) Proteínas HA, NA y M1 de virus de la gripe,

(l) Antígenos de superficie y núcleo de hepatitis B,

(m) Proteínas VP1 y VP2 de parvovirus, y

(n) Proteína VP60 de calcivirus de conejo, preferiblemente de virus de enfermedad hemorrágica de conejo.

3. Casete de expresión según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en el que el promotor que impulsa la expresión de la proteína recombinante comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en:

- (a) secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 10-16; y
- 5 (b) secuencia de ácido nucleico que funciona como un promotor en un baculovirus y que tiene una identidad de secuencia de al menos 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 10-16.
- 10 4. Casete de expresión según la reivindicación 3, en el que el promotor que impulsa la expresión de la proteína recombinante comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en:
- (a) secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 11, 12, 13, 15 y 16; y
- 15 (b) secuencia de ácido nucleico que funciona como un promotor en un baculovirus y que tiene una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 11, 12, 13, 15 y 16.
- 20 5. Casete de expresión según la reivindicación 3 ó 4, en el que el promotor que impulsa la expresión de la proteína recombinante comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en:
- (a) secuencia de ácido nucleico indicada en SEQ ID NO: 11; y
- 25 (b) secuencia de ácido nucleico que funciona como un promotor en un baculovirus y que tiene una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido nucleico indicada en SEQ ID NO: 11.
- 30 6. Casete de expresión según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la región homóloga recombinante (*hr*) se selecciona del grupo de secuencias de ácido nucleico que consiste en:
- (a) secuencia de ácido nucleico indicada en SEQ ID NO: 27; y
- 35 (b) secuencia de ácido nucleico que funciona como una región homóloga potenciadora en un baculovirus y que tiene una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido nucleico indicada en SEQ ID NO: 27.
- 40 7. Casete de expresión según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, que comprende una secuencia de ácido nucleico que se une operativamente a la expresión de la proteína recombinante y se selecciona del grupo que consiste en:
- (a) secuencia de ácido nucleico que contiene la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 17-22, 25 y 26 y
- 45 (b) secuencia de ácido nucleico que conserva sustancialmente la actividad de los elementos funcionales y que tiene una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 17-22, 25 y 26.
- 50 8. Casete de expresión según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en:
- (a) secuencia de ácido nucleico que contiene la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 51-56; y
- 55 (b) secuencia de ácido nucleico que conserva sustancialmente la actividad de los elementos funcionales y que tiene una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 51-56.
- 60 9. Vector de clonación, vector de transferencia, bácmido, baculovirus recombinante, célula o insecto que comprende el casete de expresión de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que el vector de transferencia comprende además una secuencia de ácido nucleico adecuada para integración o transposición en un genoma de baculovirus.
- 65

10. Medio de cultivo que comprende el casete de expresión, vector de clonación, vector de transferencia, bácmido o baculovirus recombinante de cualquiera de las reivindicaciones 1-9.
- 5 11. Método para producir una proteína recombinante que comprende el uso del casete de expresión, vector de clonación, vector de transferencia, bácmido, baculovirus recombinante, célula o insecto según cualquiera de las reivindicaciones 1-9 y la extracción y purificación de la proteína recombinante mediante medios convencionales.

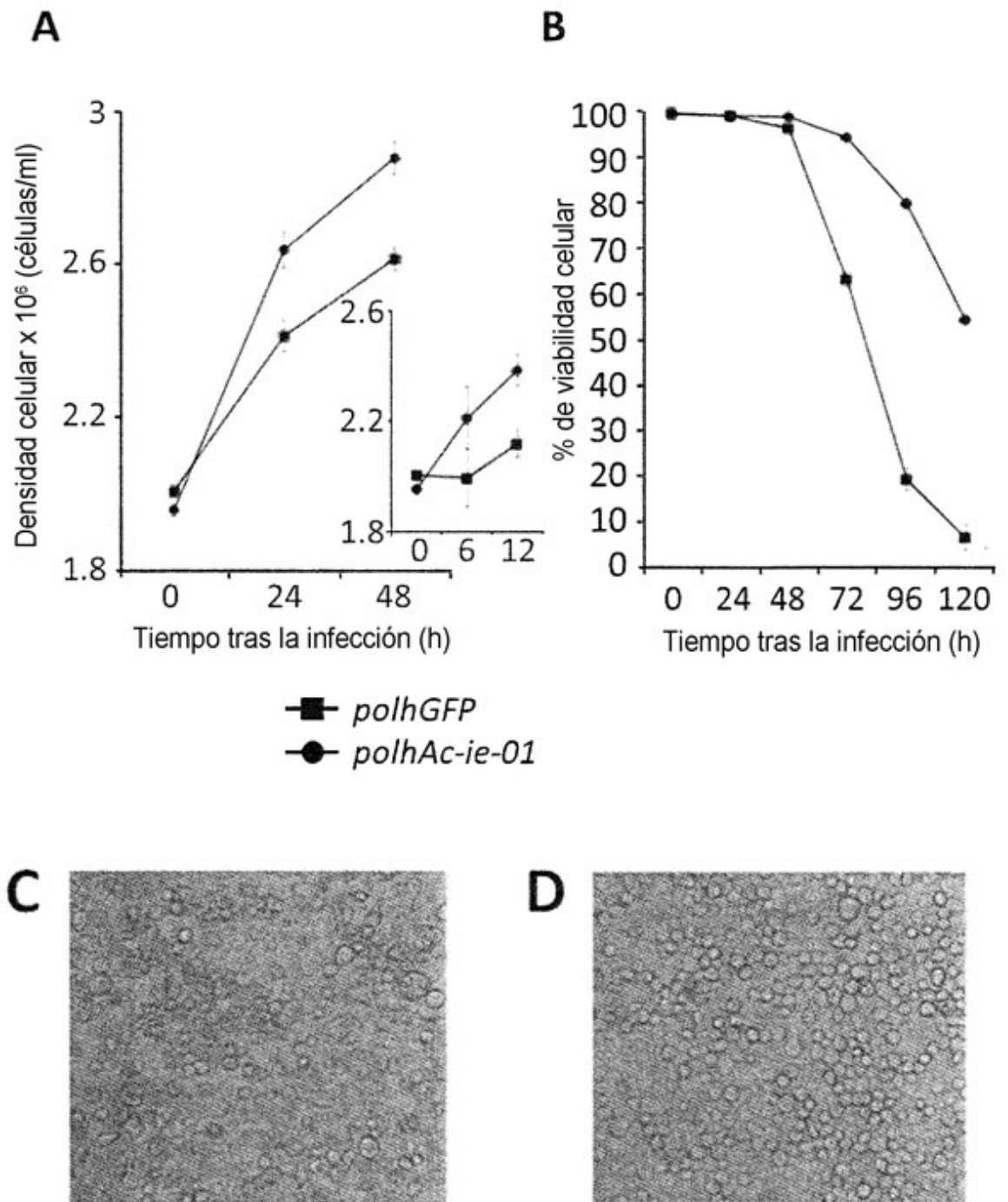


Figura 1

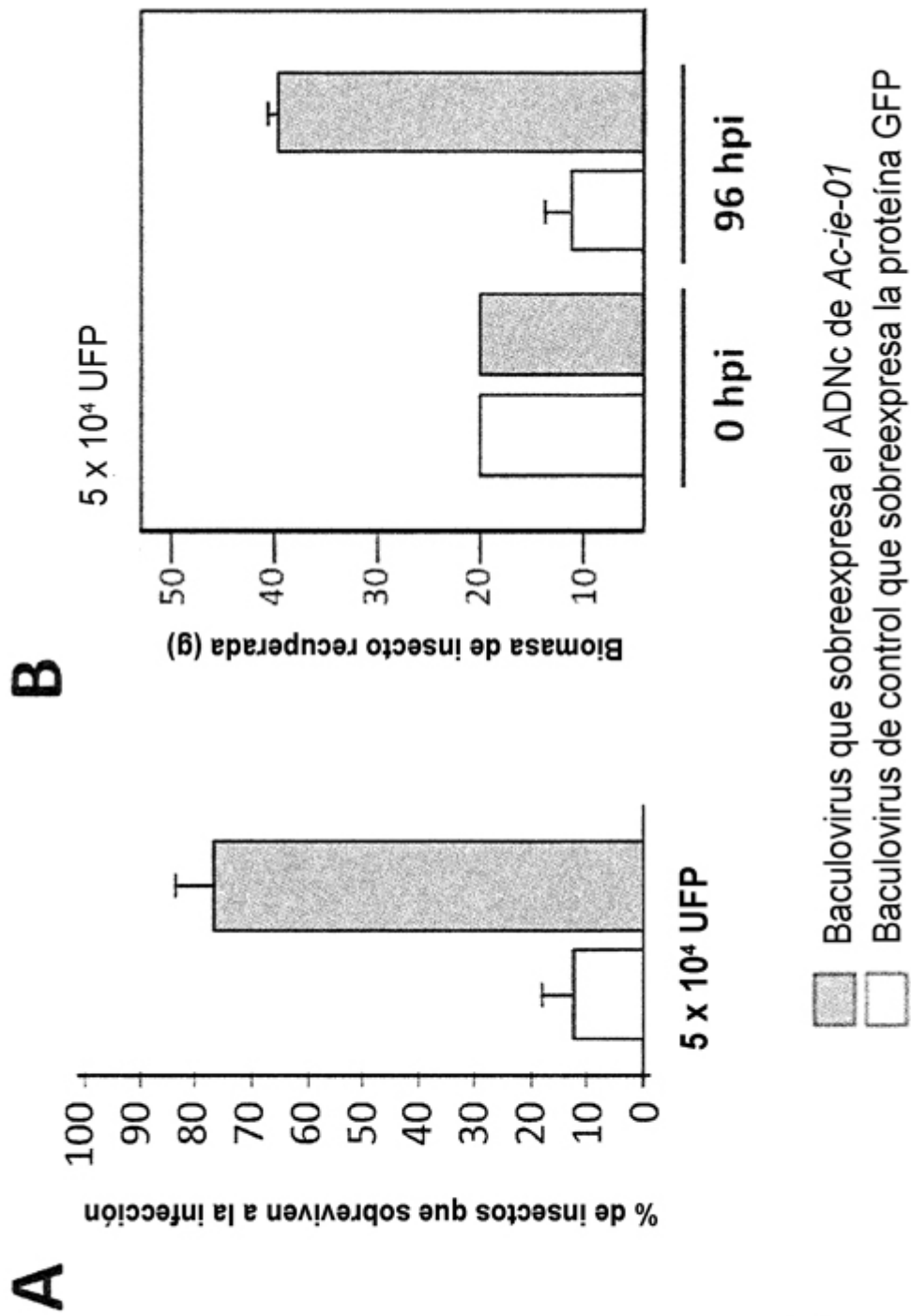


Figura 2

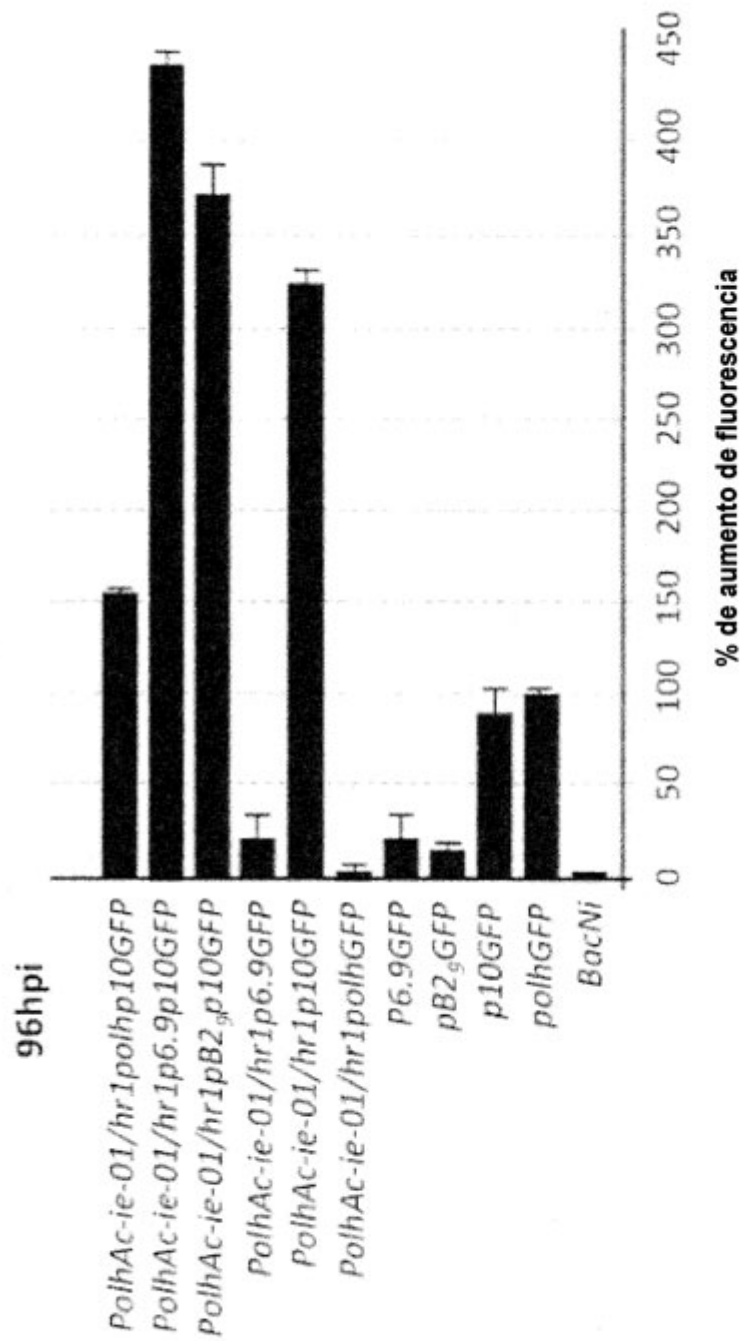


Figura 3

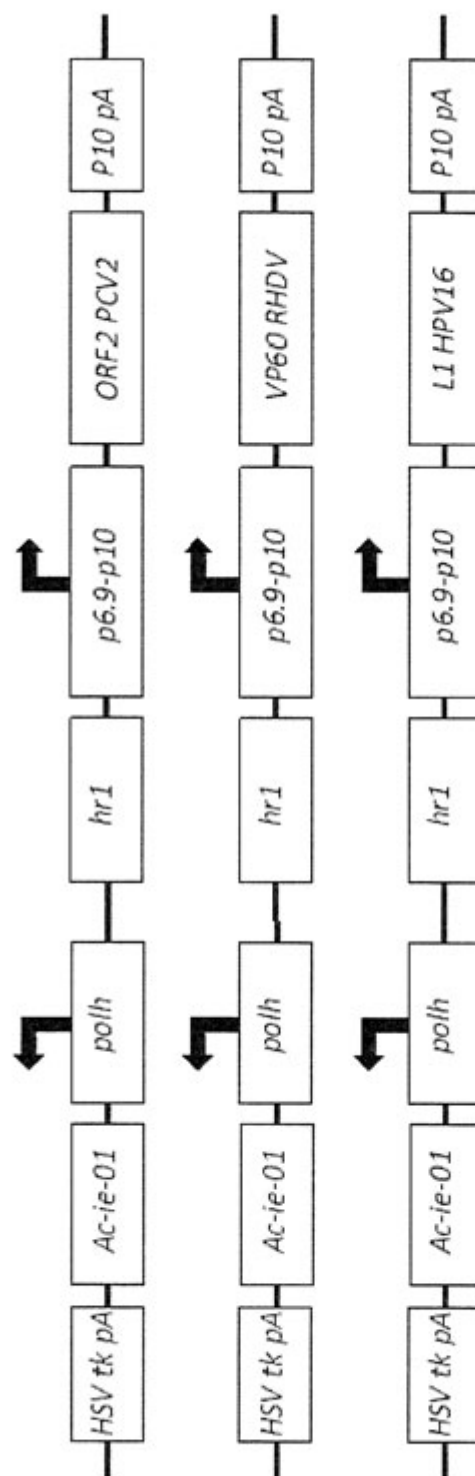


Figura 4

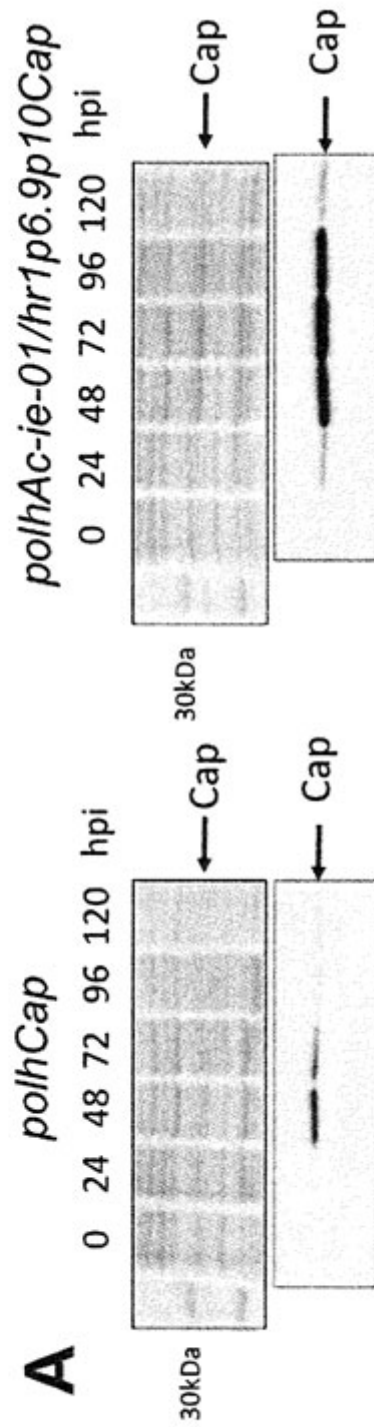


Figura 5

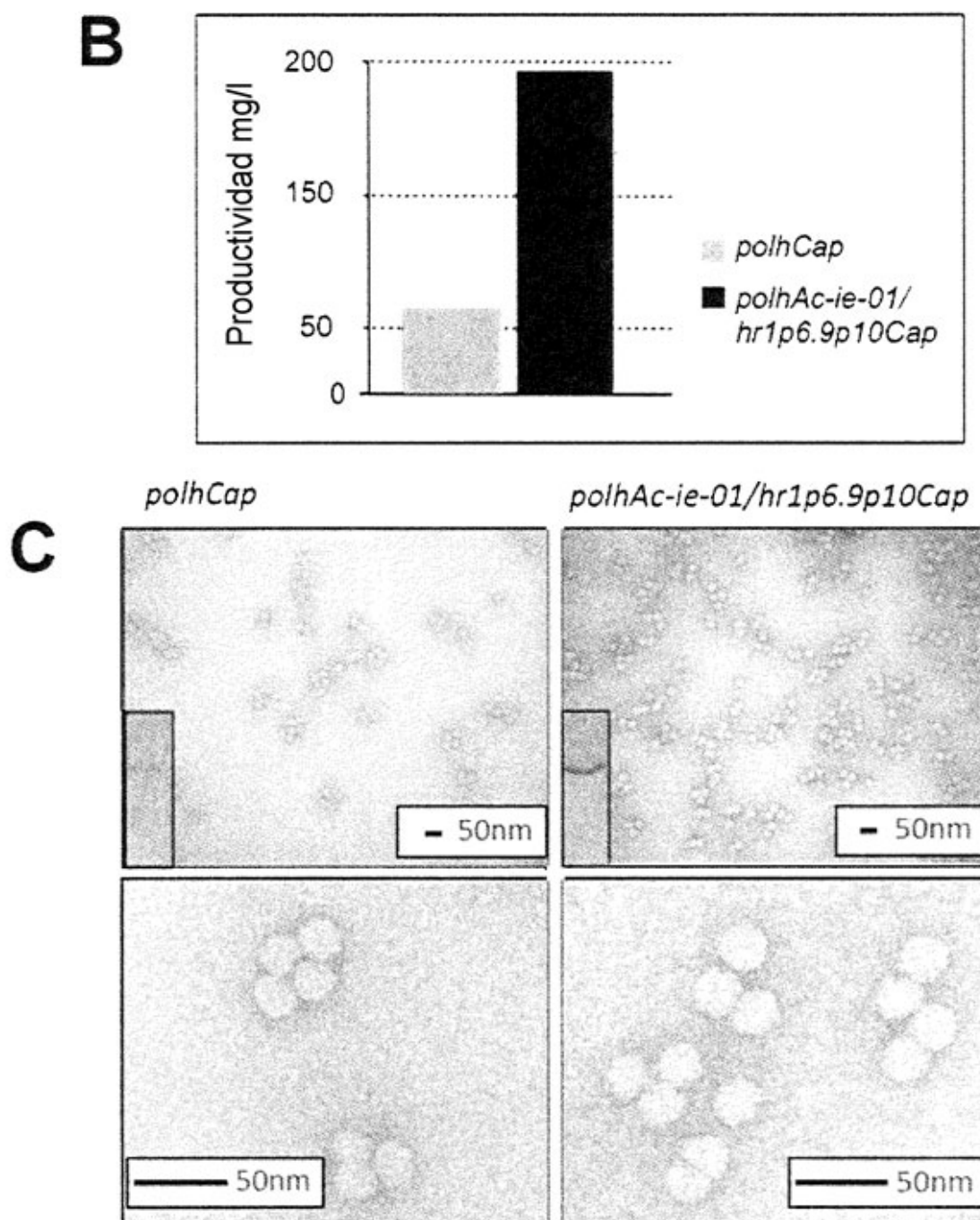


Figura 5

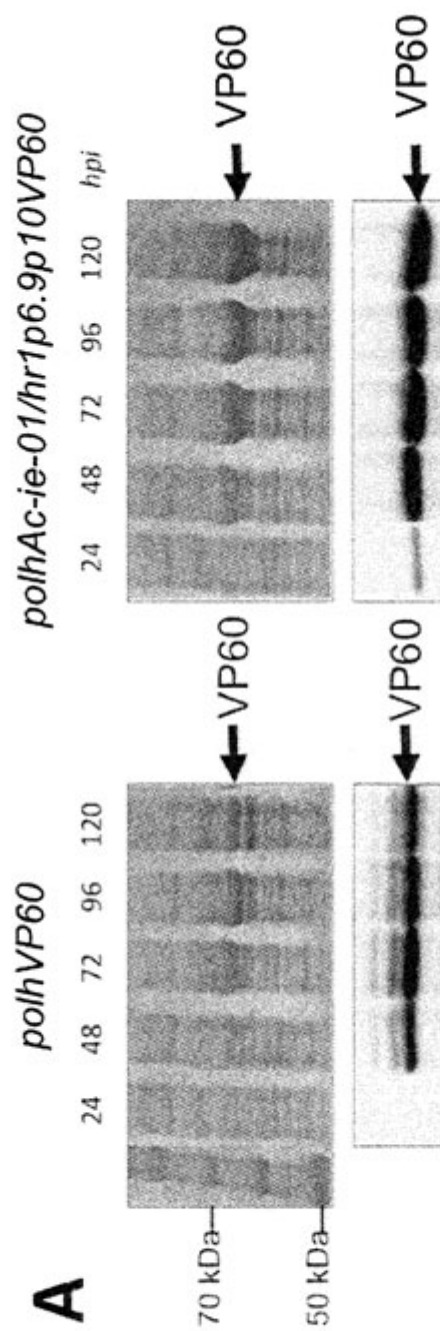


Figura 6

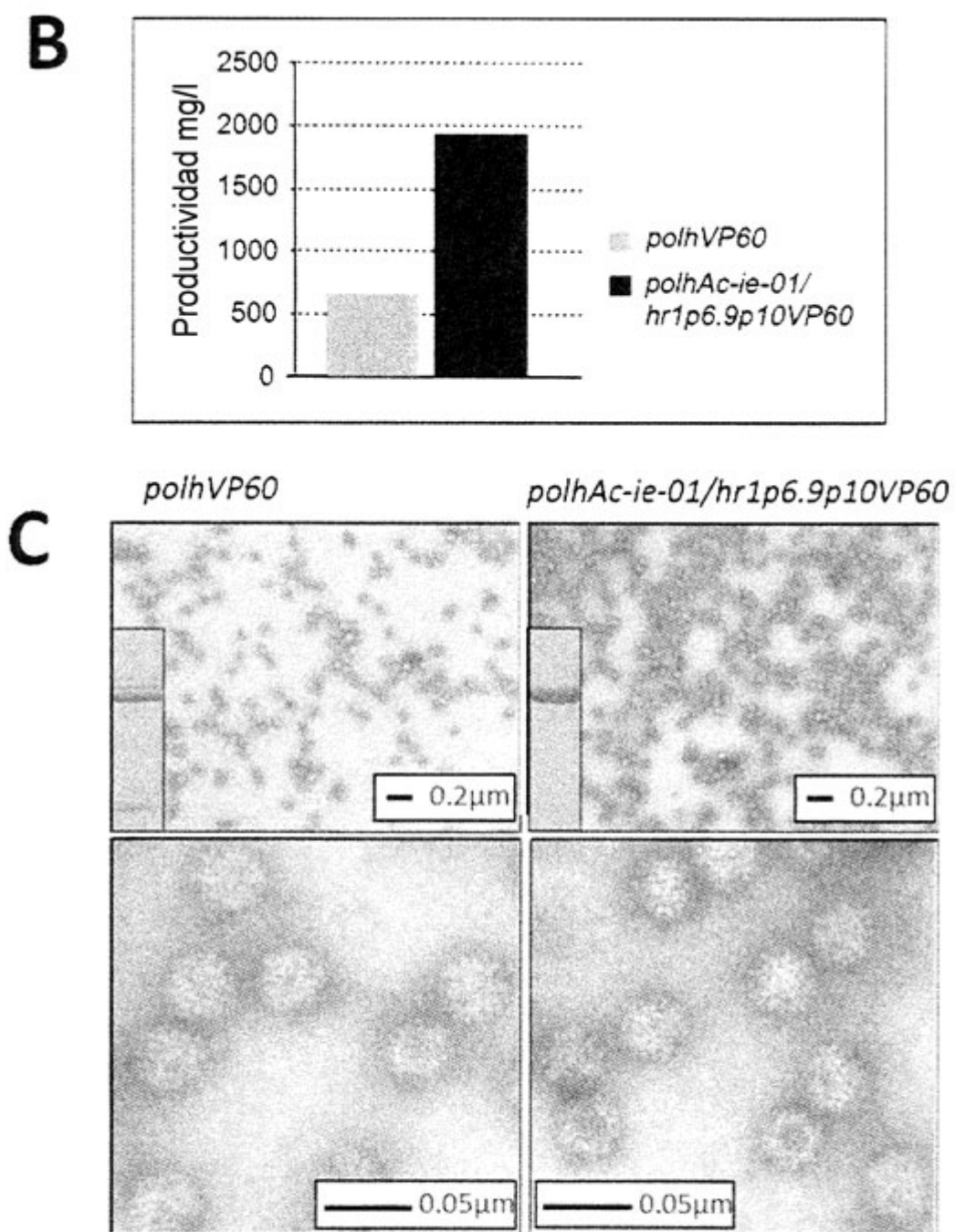


Figura 6

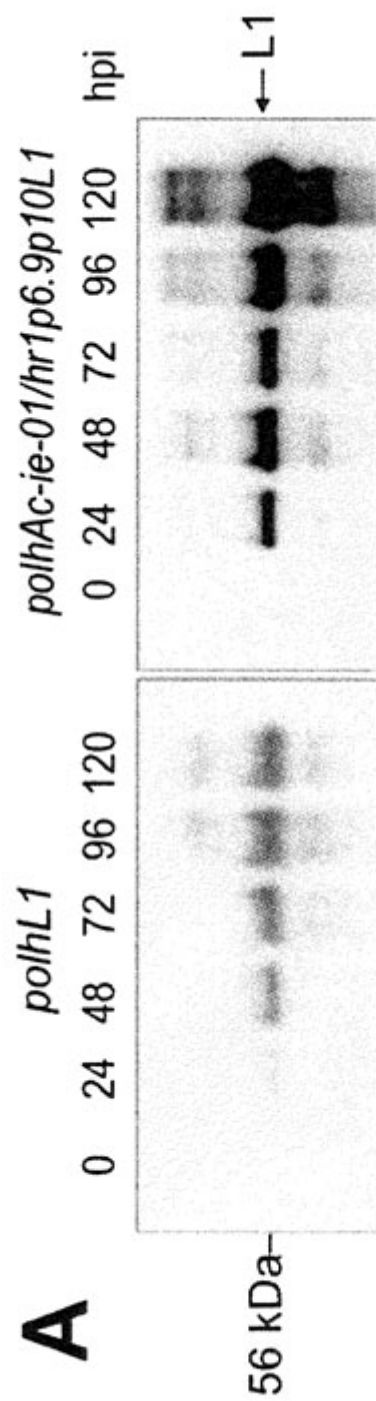


Figura 7

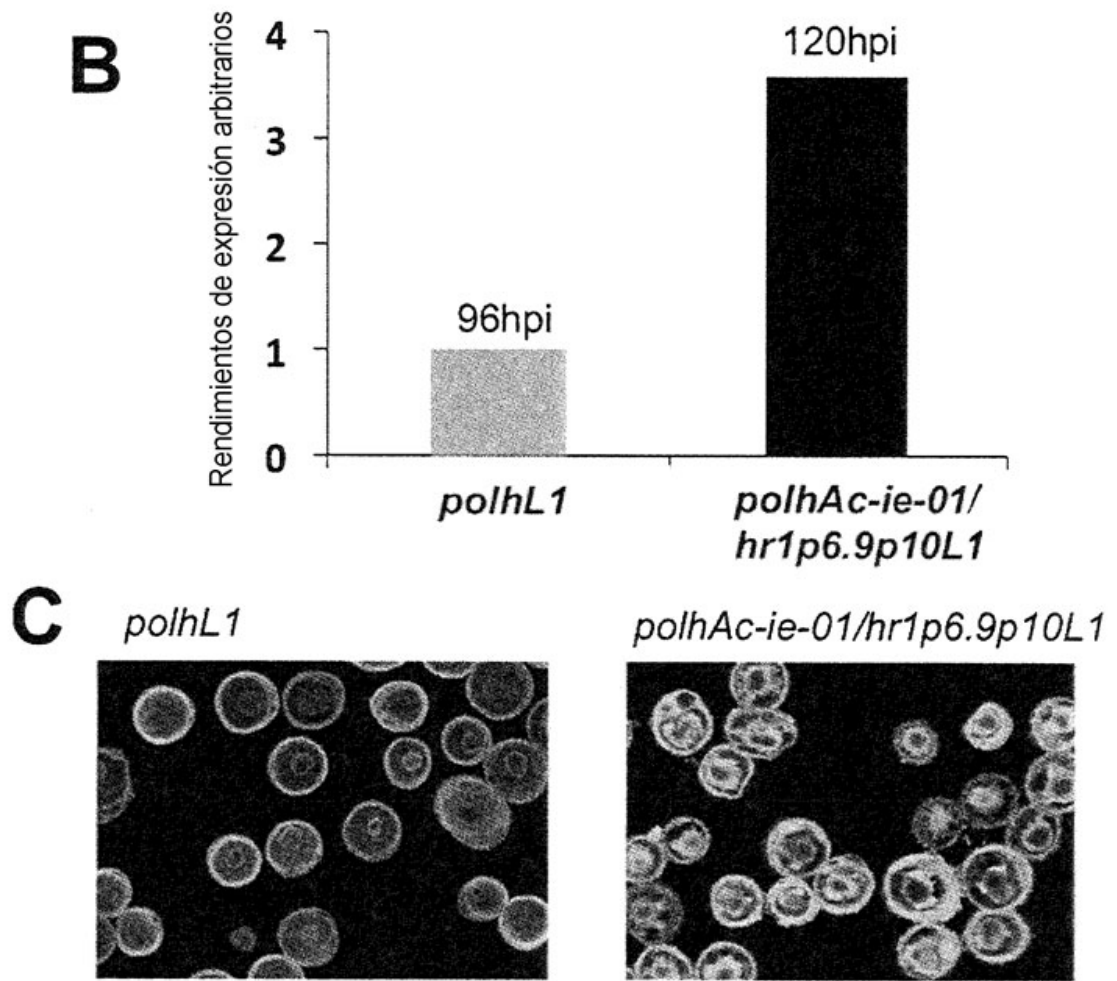


Figura 7

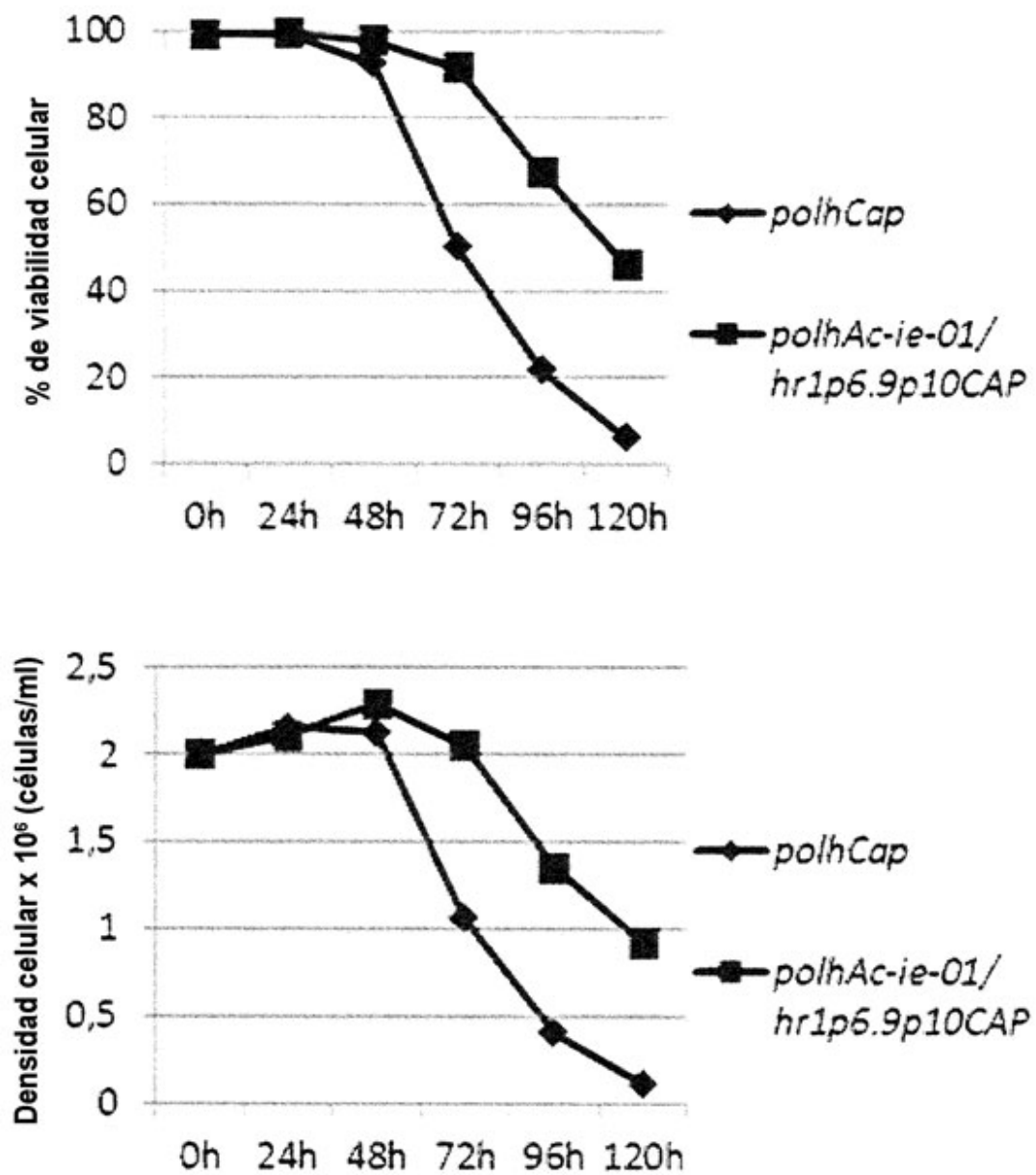


Figura 8A

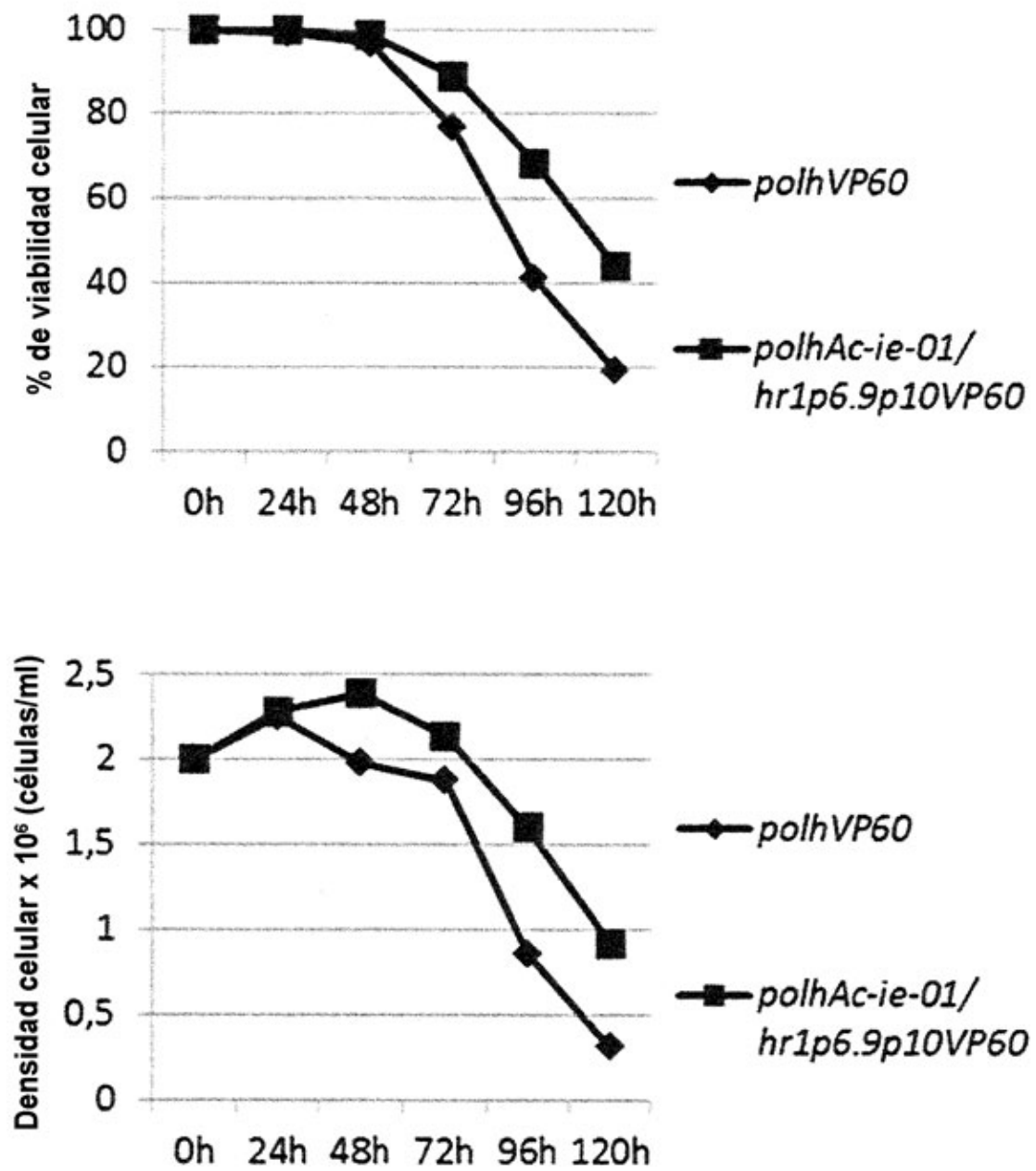


Figura 8B

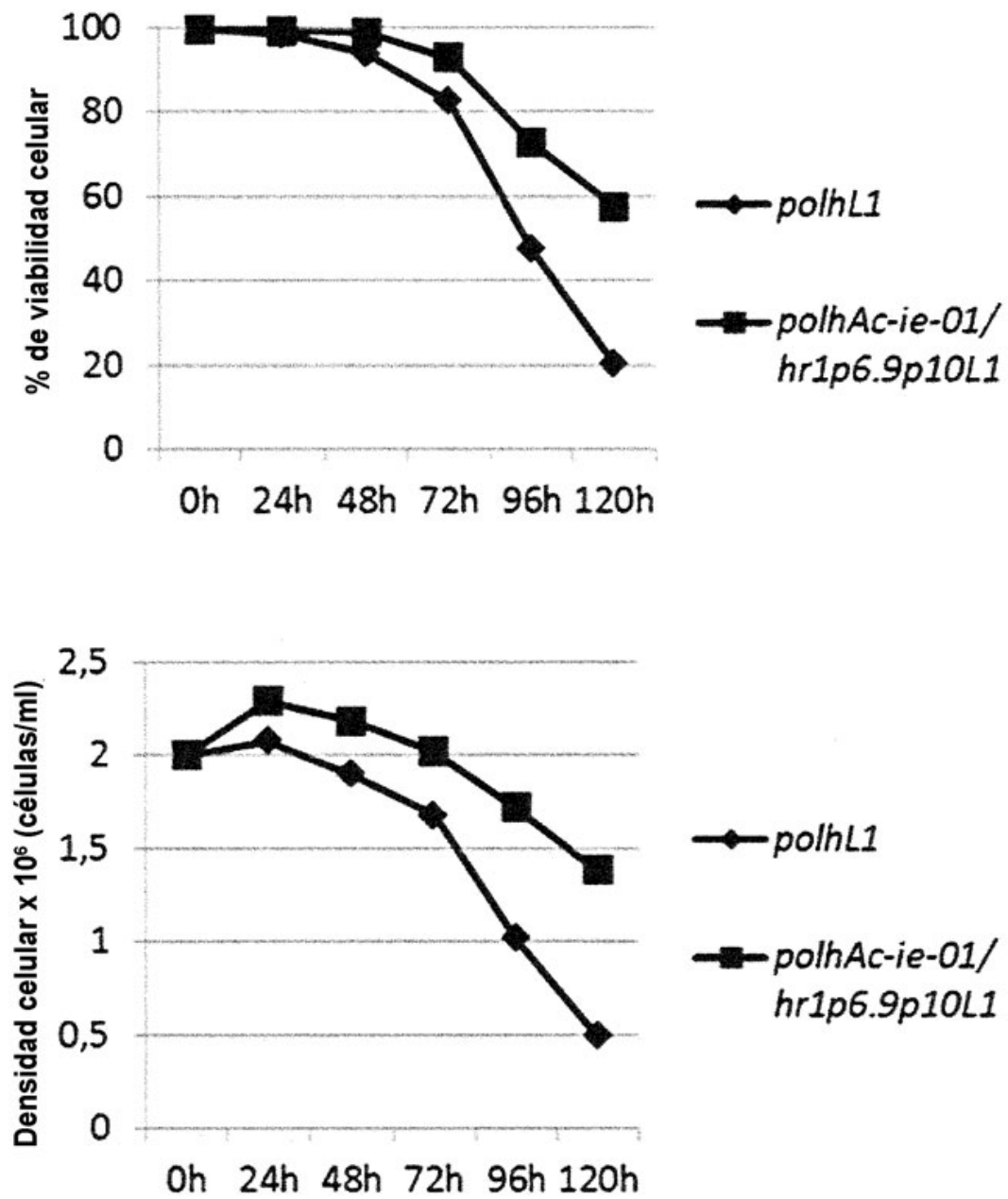


Figura 8C

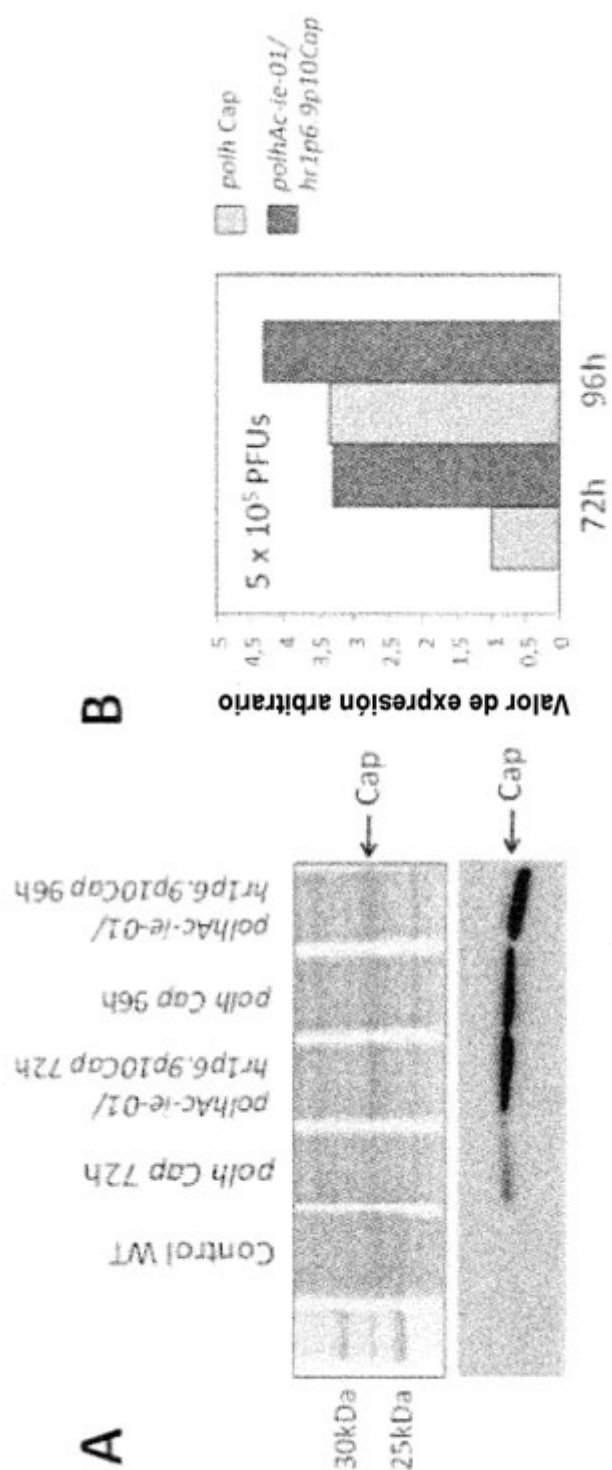


Figura 9

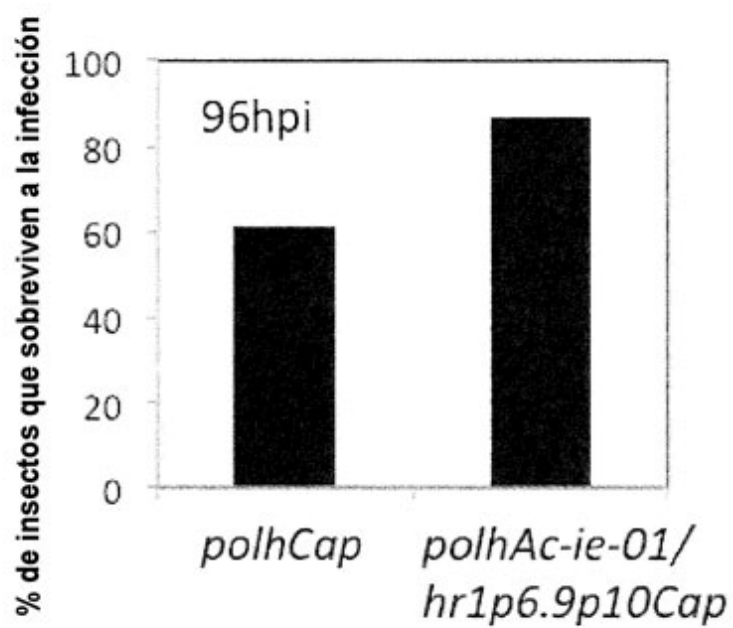


Figura 10

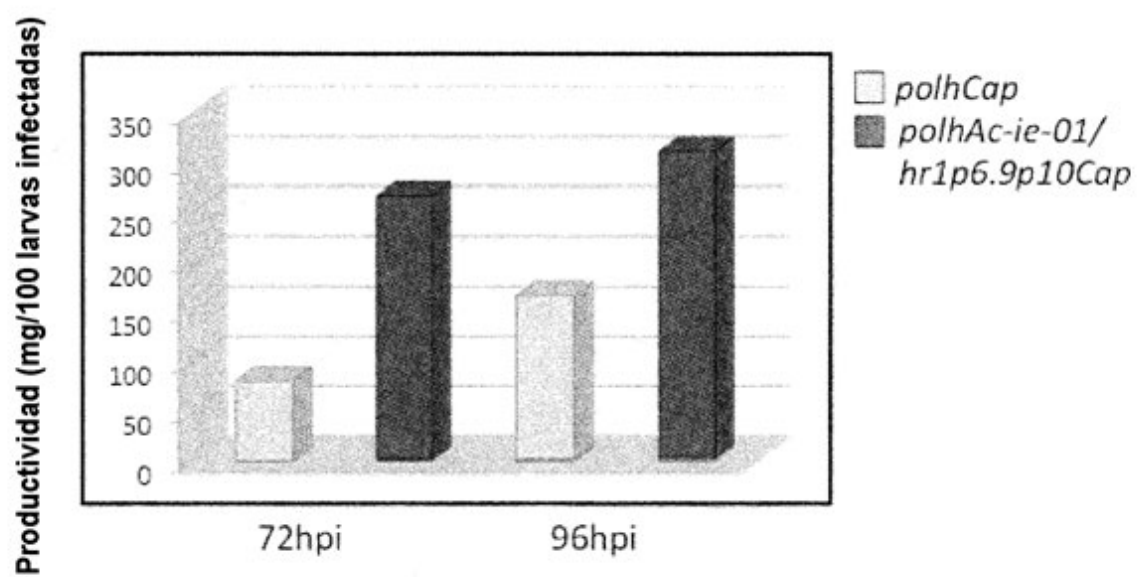


Figura 11