

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 592 352**

21 Número de solicitud: 201530730

51 Int. Cl.:

C12N 7/00 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN

B2

22 Fecha de presentación:

26.05.2015

43 Fecha de publicación de la solicitud:

29.11.2016

Fecha de concesión:

03.07.2017

45 Fecha de publicación de la concesión:

10.07.2017

73 Titular/es:

**UNIVERSITAT DE VALENCIA (ESTUDI GENERAL)
(50.0%)**

Avda. Blasco Ibáñez, 13

46010 Valencia (Valencia) ES y

**INSTITUTO VALENCIANO DE INVESTIGACIONES
AGRARIAS (IVIA) (50.0%)**

72 Inventor/es:

GONZÁLEZ BIOSCA, Elena;

LÓPEZ GONZÁLEZ, María Milagros y

ÁLVAREZ ORTEGA, María Belén

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

54 Título: **Procedimiento para la prevención y/o el control biológico de la marchitez causada por *Ralstonia solanacearum*, a través del uso de bacteriófagos útiles para ello y composiciones de los mismos**

57 Resumen:

Procedimiento para la prevención y/o el control biológico de la marchitez causada por *Ralstonia solanacearum*, a través del uso de bacteriófagos útiles para ello y composiciones de los mismos.

Se divulga la caracterización estructural, secuencia genómica y actividad de tres bacteriófagos líticos específicos de *R. solanacearum*. Se trata de podovirus, que, entre 4°C y 30°C, presentan una elevada estabilidad en medio acuoso en ausencia de huésped. Por su alta estabilidad, actividad lítica, elevada especificidad por *R. solanacearum* y la ausencia de actividad frente a la microbiota asociada a las plantas a proteger, se propone su uso para el control biológico de *R. solanacearum* en cursos fluviales y aguas de riego, así como un procedimiento para prevenir y/o controlar la marchitez producida por dicha bacteria en el que al menos uno de dichos bacteriófagos, o combinaciones de ellos, se aportan a las plantas y/o suelo en el agua de riego.

ES 2 592 352 B2

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 40.2.8 LP 11/1986.

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la prevención y/o el control biológico de la marchitez causada por *Ralstonia solanacearum*, a través del uso de bacteriófagos útiles para ello y composiciones de los mismos

5

Campo técnico

La invención se refiere al control biológico de organismos patógenos para cultivos vegetales. Más concretamente, la invención se refiere a un procedimiento para la prevención y/o el control biológico de la marchitez causada por la bacteria *Ralstonia solanacearum*, a bacteriófagos útiles para ello y al uso de dichos bacteriófagos y de composiciones que los contengan para el control biológico de dicha bacteria.

10

Antecedentes de la invención

R. solanacearum produce marchitez bacteriana en todo el mundo, en más de 200 especies vegetales pertenecientes a más de 50 familias botánicas, y muchas de estas especies susceptibles a este patógeno son de interés agronómico. También hay muchos otros cultivos que son colonizados por la bacteria, pero que no desarrollan síntomas, a los que se considera cultivos tolerantes. Esta bacteria ataca especialmente a cultivos básicos como la patata en más de ochenta países, con pérdidas que superan los 950 millones de dólares. Por este motivo, está considerada como un potencial agente de bioterrorismo y, en la Unión Europea (UE), como un organismo de cuarentena (Anónimo 2000: Directiva del Consejo 2000/29/EC), por lo que está sometida a estrictas medidas de prevención y control reguladas por dos Directivas europeas (Anónimo 1998, 2006: Directiva del Consejo 98/57/EC y Directiva de la Comisión 2006/63/EC).

15

20

R. solanacearum presenta una gran diversidad intraespecífica, por lo que durante mucho tiempo se ha considerado un complejo de especies formado por cuatro grupos filogenéticos o filotipos. En 2014, tras una revisión taxonómica, se ha propuesto una reclasificación de este complejo (Safni et al., 2014). Los filotipos I y III de *R. solanacearum* se han clasificado en la nueva especie *R. pseudosolanacearum* y el filotipo IV en la nueva subespecie *R. syzygii* subsp. *indonesiensis*. El filotipo II mantiene el nombre de la especie *R. solanacearum*.

25

30

En el texto del presente documento se utiliza el término “especie anteriormente denominada *R. solanacearum*”, para hacer referencia a *R. solanacearum* en trabajos, datos, patentes, publicaciones, bibliografía, etc, previos a la revisión taxonómica de Safni

y colaboradores (2014), independientemente de si la denominación se corresponde o no con la clasificación actual. Asimismo, se utilizará el término "*R. solanacearum*", para hacer referencia a la especie *R. solanacearum* tal y como se ha descrito tras la citada revisión taxonómica, es decir, la especie constituida únicamente por cepas de filotipo II.

5 En España, como en la mayor parte de países de la UE, ha habido focos de la enfermedad causados por *R. solanacearum* en varias zonas, generalmente en patata y en algunos casos en tomate. En todos los focos se han aplicado las medidas de erradicación establecidas en la legislación correspondiente. Sin embargo, esta bacteria puede sobrevivir en el medio ambiente, en agua, suelo u otros reservorios (Álvarez et al.,
10 2007, 2008, 2010). Así, focos posteriores se han asociado al riego con aguas superficiales contaminadas con esta bacteria (Caruso et al., 2005), ya que éstas constituyen una de las principales vías de introducción y diseminación del patógeno en nuevas áreas, a las que llega a través del agua de riego. De hecho, se ha descrito la presencia de *R. solanacearum* en diversos cursos de agua tanto de España como de
15 prácticamente todos los países de la UE. Por ello, las Directivas de la UE prohíben el riego con agua contaminada con esta bacteria.

Esto representa un problema de carácter práctico al agricultor, ya que los principales cultivos afectados son de regadío (tomate y patata) y el agua de riego es un bien escaso en España y otros países de la cuenca mediterránea, donde la bacteria también está
20 presente. Asimismo, en las parcelas en las que se han detectado focos de la enfermedad, no se pueden cultivar plantas huésped en un período de al menos 4 años desde la detección del foco.

La gran capacidad de supervivencia de *R. solanacearum* en el medio ambiente (agua, suelo u otros reservorios) hace que su control se vea dificultado. En el pasado y hasta el
25 momento presente, se recurre al control a través de las prácticas culturales y el control químico. Así, en las zonas del mundo donde está presente este patógeno en el suelo, normalmente en países en vías de desarrollo, es problemático el cultivo de plantas huésped y los métodos de control más utilizados son los culturales con resultados variables. También se han obtenido cultivares resistentes, sin embargo, la resistencia
30 puede ser inestable (Hartman y Elphinstone, 1994).

Con respecto al control por tratamientos químicos o físicos, en general no son eficaces. La aplicación de compuestos de cobre, antibióticos y fumigantes del suelo se ha utilizado sin mucho éxito (López y Biosca, 2005), y además es costosa y con gran impacto para el medio ambiente. Otros tratamientos químicos como la cloración o tratamientos físicos

como la radiación ultravioleta de agua contaminada con patógenos bacterianos, ven muy afectada su eficacia por la presencia de partículas en el agua, incluso las de tamaño muy pequeño (Marco-Noales et al., 2008). Además, se ha demostrado que ambos tratamientos desinfectantes pueden inducir en diversas bacterias la entrada en el estado viable pero no cultivable (VBNC) (Oliver et al., 2005; Santander et al., 2012) o causar daños celulares reversibles (McFeters y LeChevallier, 2000). Estas células bacterianas en estado VBNC o con daños reversibles pueden recuperar la cultivabilidad y patogenicidad mediante contacto con plantas huésped susceptibles (Santander et al., 2012). Estas circunstancias demuestran la necesidad de métodos alternativos que, preferiblemente, destruyan las células bacterianas.

Una alternativa sería el control biológico mediante el uso de bacteriófagos específicos de *R. solanacearum*. Esta estrategia de biocontrol ha dado buenos resultados en el tratamiento de otras enfermedades producidas por bacterias fitopatógenas (Jones et al., 2007).

En esa línea, la patente de Japón JP4532959-B2 (número de publicación JP2005278513) describe tres tipos de bacteriófagos con actividad bacteriolítica sobre cepas japonesas de la especie anteriormente denominada *R. solanacearum* y desde 2014 pertenecientes a la nueva especie *R. pseudosolanacearum*. El tipo 1, con genoma de ADN bicatenario (dsDNA) de unos 250 kpb, y los tipos 2 y 3, con un genoma de ADN monocatenario (ssDNA) de tamaño 4,5 y 6 kpb respectivamente. Los bacteriófagos se caracterizan y distinguen por el tamaño de su genoma y su actividad frente a seis cepas de la bacteria (C319, M4S, Ps29, Ps65, Ps72 y Ps74), todas las cuales son sensibles a los bacteriófagos de tipo 1, mientras que los de tipo 2 sólo lisan a una (la cepa C319) y los de tipo 3 lisan a cuatro de las seis cepas (M4S, Ps29, Ps65 y Ps74) y en algún ensayo a una quinta (la C319). Los ensayos con endonucleasas de restricción se han realizado sólo con bacteriófagos del tipo 1 y muestran que su genoma (dsDNA) presenta dianas frente a *PstI* y *KpnI*, pues en los perfiles de restricción obtenidos se observan varias bandas distintas. Por último, se describe el uso de dos de los tres tipos de bacteriófagos (tipos 1 y 2) para el control de la enfermedad causada por la especie anteriormente denominada *R. solanacearum* (actualmente *R. pseudosolanacearum*), mediante su adición al suelo de cultivo donde crece la planta a proteger.

La patente japonesa JP4862154-B2 surge por una limitación de la anterior ya que, como ellos mismos indican, “no es suficiente para controlar el efecto”. En esta segunda patente incluyen un nuevo tipo de bacteriófago con actividad lítica frente a todas las cepas de la especie anteriormente denominada *R. solanacearum* que ensayan (sólo un número de 15

cepas) y realizan su caracterización, pero no demuestran su capacidad para el biocontrol, ya que no realizan ensayos de biocontrol en planta con este nuevo tipo de bacteriófago. En definitiva, la segunda patente sólo aporta un nuevo tipo de bacteriófago lítico con un rango de huéspedes aparentemente más amplio que los tipos anteriores.

5 Yamada y colaboradores (2007) describen el aislamiento de cuatro tipos de bacteriófagos que infectan específicamente a cepas de la especie anteriormente denominada *R. solanacearum* y desde 2014 pertenecientes a la nueva especie *R. pseudosolanacearum*, a partir de muestras de suelo tomadas en distintas áreas de Japón. Estos autores realizan una caracterización estructural que incluye una caracterización morfológica por
10 microscopía electrónica de los viriones y una caracterización molecular por análisis de restricción de los cuatro tipos de bacteriófagos, y algunos ensayos de actividad lítica con cultivos de la bacteria en placa. Dos de los tipos de bacteriófagos descritos son del tipo de los miovirus, el género al que pertenecían todos los bacteriófagos que infectaban a la especie anteriormente denominada *R. solanacearum* (actualmente *R.*
15 *pseudosolanacearum*) descritos antes de la publicación del artículo de Yamada y colaboradores, y los otros dos tipos son bacteriófagos filamentosos del tipo de los inovirus. Entre otras aplicaciones, se sugiere la utilidad de bacteriófagos con actividad lítica como agentes de biocontrol para la erradicación de la especie anteriormente denominada *R. solanacearum* (actualmente *R. pseudosolanacearum*) en suelos
20 contaminados y la prevención de la marchitez provocada por dicha bacteria en cultivos vegetales, mostrando preferencia por los bacteriófagos capaces de infectar un amplio rango de cepas patógenas, aunque sólo ensayan 15 cepas de este huésped. Los únicos ensayos realizados con plantas incluidos en dicho artículo se refieren al efecto observado al inyectar a la planta una cepa previamente infectada con uno de los bacteriófagos
25 lisogénicos aislados, concluyendo que ese fago filamentosos no resulta satisfactorio para el control de la enfermedad. Este mismo método de ensayo ha sido utilizado en otros trabajos del mismo grupo también con bacteriófagos filamentosos de la familia *Inoviridae* [véase Addy et al., 2012 y la solicitud de patente internacional WO2012/147928], donde se demuestra que dicho método de inoculación, para el caso del bacteriófago lisogénico
30 del tipo Φ RSM, da lugar a la aparición de cepas avirulentas de *R. solanacearum* que ayudan a controlar la enfermedad provocada por las formas virulentas de dicha bacteria. Sin embargo, además de que los ensayos de inoculación se han realizado solamente en 5 plantas por cepa y sin repetición [ver material y métodos de Addy et al., 2012], la aplicación práctica de este método de ensayo en vivero o en campo es altamente
35 cuestionable debido a la laboriosidad que requiere la inyección individual de cada una de las plantas.

En otro artículo del mismo grupo investigador (Fujiwara et al., 2011) se aportan resultados de ensayos que demuestran la utilidad como agentes de biocontrol sobre la especie anteriormente denominada *R. solanacearum* (actualmente *R. pseudosolanacearum*) de dos de los tipos de bacteriófagos de la familia *Myoviridae* descritos por Yamada y colaboradores (2007, 2010), Φ RSA1 y Φ RSL1, así como el efecto de otro tipo de bacteriófago adicional, Φ RSB1, de aislamiento posterior (Kawasaki et al., 2009). Este último pertenece a la familia *Podoviridae* y, como Φ RSA1, es capaz de provocar lisis en un mayor número de cepas, hasta 13 de 15 cepas de la especie anteriormente denominada *R. solanacearum* (de las cuales, al menos 13 están actualmente clasificadas como *R. pseudosolanacearum*) (Yamada et al., 2007; Kawasaki et al., 2009). Se demuestra que el tratamiento de la bacteria con Φ RSA1, Φ RSB1 y Φ RSL1, bien de forma individualizada o con las posibles combinaciones entre ellos, da lugar, excepto el tratamiento sólo con Φ RSL1, a una disminución rápida de la densidad celular de la bacteria huésped, disminución que es sólo inicial porque va seguida de la aparición de resistencias visibles por D.O. (densidad óptica) en menos de 2 días. Para evitar estas resistencias, Fujiwara y colaboradores (2011) seleccionan el uso del miovirus Φ RSL1 de forma individualizada con respecto al resto de combinaciones con Φ RSA1 y Φ RSB1, aunque es destacable que este bacteriófago es el de menor potencial lítico de los tres.

Los ensayos realizados sobre plantas descritos en el artículo de Fujiwara y colaboradores (2011), todos ellos efectuados con Φ RSL1, conllevaron dos tratamientos con una suspensión de este bacteriófago a altas concentraciones llevados a cabo con un espaciado de un mes, primero de las semillas y después de las plantas obtenidas; a los dos días se inoculan individualmente estas plantas con la suspensión bacteriana por contacto directo con las puntas cortadas de las raíces (durante 30 segundos) y luego se trasplantan. Este método de inoculación, al igual que el anterior utilizado por estos autores en otras publicaciones y patentes, es muy complicado si no imposible de llevar a la práctica en viveros o en campos cultivados. Además, en dicha publicación no indican la reproducibilidad de sus resultados.

Fujiwara y colaboradores (2011) describen también en su artículo ensayos sobre la estabilidad de Φ RSL1 en dos plantas previamente tratadas con dicho bacteriófago y el suelo en contacto con ellas, detectando bacteriófagos en las raíces y en el suelo rizosférico 4 meses después de la inoculación, aunque no se comprueba que los bacteriófagos recuperados sean del mismo tipo que los inoculados. También comprobaron el efecto de la temperatura en la estabilidad de Φ RSA1, Φ RSB1 y Φ RSL1,

en presencia y ausencia de suelo (en tampón SM, con Tris-HCl, NaCl, MgSO₄ y gelatina). La estabilidad se controló sólo durante 15 días. A igualdad de temperaturas, se observaron mayores diferencias entre la estabilidad de los tres bacteriófagos en presencia de suelo. Tanto en ausencia como en presencia de suelo, las diferencias fueron mayores al aumentar la temperatura aunque, en el caso de ausencia de suelo, las diferencias comienzan a marcarse a partir de 28°C. Tras 15 días de incubación en ausencia de suelo y a 50°C, el 10% de los bacteriófagos Φ RSL1 sobrevivía, no detectándose bacteriófagos Φ RSB1 tras 9 días de incubación, ni tras 3 días de incubación en el caso de Φ RSA1.

Así, los trabajos del grupo japonés del que forman parte Yamada, Addy y Fujiwara, demuestran que en algunos casos y con algunos bacteriófagos que infectan a la especie anteriormente denominada *R. solanacearum* (actualmente *R. pseudosolanacearum*), éstos se pueden usar como agentes de prevención de la enfermedad causada por dicha bacteria. Salvo en un caso, el del podovirus Φ RSB1, descartado por estos autores para el biocontrol (Fujiwara et al., 2011), los bacteriófagos descritos y utilizados en dichos ensayos pertenecen a las familias *Myoviridae* o *Inoviridae*. En sus ensayos los bacteriófagos se aplican directamente al suelo, en plántulas o bien en raíces o tallos de plantas. No se dan pruebas sobre la posible efectividad de otros medios de administración de bacteriófagos, como puede ser a través del agua de riego. Esto no es sorprendente, pues en Japón *R. pseudosolanacearum* no ha sido detectada en aguas de cursos naturales, a diferencia de lo que ocurre en numerosos países europeos y en algunas zonas de EE.UU., donde este tipo de agua es uno de los reservorios y vías de diseminación de *R. solanacearum*.

La posibilidad de controlar *R. solanacearum* en agua mediante el uso de bacteriófagos sí se ha considerado en estudios realizados en algunas zonas de Europa oriental y occidental. Así, el resumen de la solicitud de patente de Georgia GEU20041089 sugiere la neutralización de dicha bacteria en plantas, en suelo y en agua, utilizando una mezcla de bacteriófagos polivalentes en igual proporción.

El grupo de los presentes inventores, por su parte, ha sugerido previamente el uso de bacteriófagos específicos de la especie anteriormente denominada *R. solanacearum* en el agua de riego para el control de la marchitez bacteriana provocada por dicho patógeno (Álvarez et al., 2006a; Álvarez et al., 2006b). También han comprobado la influencia de las condiciones de los cursos de agua en la supervivencia de la bacteria, encontrando que la presencia de microbiota nativa y las temperaturas de 24°C favorecían su desaparición con respecto a la temperatura de 14°C y al agua estéril utilizada como

control (Álvarez et al., 2006a). Ninguna de estas divulgaciones incluye información sobre el filotipo de las cepas ensayadas, por lo que no puede afirmarse que estos fagos pudieran actuar sobre la actual *R. solanacearum*, constituida por cepas del filotipo II.

5 El grupo de los presentes inventores ha informado también del aislamiento de bacteriófagos líticos específicos de la especie anteriormente denominada *R. solanacearum* a partir de ríos españoles (Álvarez et al., 2006a, Álvarez et al., 2006b), aunque sin concretar el método de aislamiento ni el lugar específico de aislamiento de cada uno. Los autores han divulgado datos iniciales sobre la caracterización de uno de ellos, afirmando que el mismo parece mostrar actividad lítica entre 14°C y 31°C, pero no a
10 temperaturas inferiores (9°C) ni superiores (32-39°C), incluso en agua natural de riego en rangos de pH de 6,5 a 8,2. El bacteriófago inicialmente caracterizado parece ser específico de la especie anteriormente denominada *R. solanacearum*, pues muestra actividad lítica sobre 30 cepas de diferentes orígenes, de las que no se ha divulgado el filotipo. El bacteriófago no mostró actividad lítica frente a otros aislados bacterianos de
15 agua de río. Dicho bacteriófago da lugar también a la disminución de la marchitez bacteriana en plantas de tomate regadas con agua que contiene mezclas del bacteriófago y de la especie anteriormente denominada *R. solanacearum*.

Los datos obtenidos por Álvarez y sus colaboradores apoyan la posibilidad de utilizar bacteriófagos para la prevención y/o el control de la marchitez bacteriana, en particular
20 mediante su adición al agua de riego. Sin embargo, los datos divulgados por dicho grupo hasta este momento no permiten identificar los cursos fluviales concretos a partir de los cuales pueden aislarse los bacteriófagos líticos obtenidos por ellos. Tampoco se dan datos específicos sobre las características estructurales concretas de ninguno de dichos bacteriófagos que facilite su identificación. Y sólo para uno de estos bacteriófagos se han
25 divulgado datos sobre el rango de temperaturas y de pH en los que es activo, afirmándose también su capacidad para lisar 30 cepas distintas de la especie anteriormente denominada *R. solanacearum*, sin especificar las cepas concretas en las que se ha comprobado la actividad.

Por tanto, sigue sin disponerse de bacteriófagos líticos concretos en los que se haya
30 comprobado que, de forma individual, sean capaces de disminuir la marchitez bacteriana al ser añadidos al agua de riego. Para el único bacteriófago con el que se han realizado este tipo de ensayos, reflejados en las comunicaciones a congreso del grupo de los presentes inventores (Álvarez et al., 2006a; Álvarez et al., 2006b), no se han divulgado otros datos que permitan su identificación que no sea su actividad lítica a distintos pHs y
35 temperaturas y la afirmación de que disminuye la marchitez bacteriana en plantas de

tomate, no habiéndose divulgado el género o la familia a la que pertenece ni datos concretos sobre los cursos fluviales en los cuales está presente (y a partir de los cuales se podría aislar) ni el método específico que permite su aislamiento, ni el filotipo de las cepas huésped a las que afecta.

5 Así, ni para los bacteriófagos aislados por Álvarez y colaboradores ni para los bacteriófagos cuyo uso se sugiere en la solicitud de patente de Georgia GEU20041089, en forma de mezclas polivalentes, se dispone de datos sobre su supervivencia en condiciones naturales, en particular, sobre su supervivencia en las condiciones de las aguas en las que se aplicarían. Y, precisamente, un factor central en la determinación de la idoneidad de un bacteriófago como agente de control biológico es su supervivencia en 10 condiciones naturales. Cuando se aplican bacteriófagos de bacterias fitopatógenas a suelo o plantas para suprimir dichos patógenos, el tiempo que pueden mantenerse activos hasta encontrar su célula diana es el factor limitante del proceso, lo que hace que puedan requerirse repetidas aplicaciones de dichos bacteriófagos para obtener un control 15 eficaz. Y, en el caso de la especie anteriormente denominada *R. solanacearum*, su control en los cursos de agua, en especial en el agua de riego, así como en los reservorios de la misma (tanques, depósitos, embalses...) es importante, especialmente en Europa, porque:

20 i) los principales cultivos afectados por *R. solanacearum* son de regadío (en especial, patata y tomate),

ii) actualmente hay una situación de escasez de agua en España y otros países de la cuenca mediterránea en los que el patógeno está presente,

25 iii) existen prohibiciones oficiales en toda la UE para utilizar agua contaminada para el riego de plantas huésped (Anónimo, 1998, 2006: Directiva del Consejo 98/57/EC y Directiva de la Comisión 2006/63/EC),

iv) no hay métodos de control disponibles en agua,

v) un objetivo prioritario de la política de la UE es la conservación del medio ambiente (Montesinos et al., 2008; Programa Horizon 2020).

30 Por todo ello, sería muy deseable controlar las poblaciones de la bacteria en agua de río y/o de riego mediante un tratamiento biológico eficaz y respetuoso con el entorno natural. Y, tal y como se comentó previamente, sería preferible que el método utilizado diera lugar a la muerte de las bacterias.

En el caso concreto del agente fitopatógeno *R. solanacearum*, cuyos hábitats son las plantas huésped y el suelo, un agente biológico que sea suministrado por medio del agua debe tener características biológicas que le permitan sobrevivir en ese medio, que no es el habitual ni de la bacteria ni de sus bacteriófagos específicos. Si dicha supervivencia resulta ser prolongada y los bacteriófagos mantienen su actividad lítica sobre el huésped tras largos períodos en el agua, además se favorece su aplicabilidad en el campo, ya que pueden vehicularse directamente a través de ese medio natural y simple como es el agua, sin necesidad de encapsularlos o de añadir otros soportes físicos y/o biológicos para proteger su viabilidad hasta el encuentro con la célula diana. Esa alta supervivencia facilitaría también la preparación de su presentación comercial, que podría ser en medio acuoso sin requerir condiciones de refrigeración (o incluso temperaturas inferiores) para su mantenimiento.

Sin embargo, debe tenerse en cuenta que los bacteriófagos son parásitos intracelulares obligados y, como tales, necesitan de la célula huésped para su perpetuación. Puesto que se vehiculan hacia esta célula por diferentes vías, según los tipos de bacteriófagos y tipos de células huésped, es esperable un tiempo de supervivencia en el medio ambiente que les permita contactar con la célula huésped. Es conocido que este tiempo puede ser variable entre distintos bacteriófagos, siendo necesario su estudio en cada caso particular. Así, por ejemplo, se observan variaciones apreciables en la supervivencia de bacteriófagos del mismo serotipo/genotipo (Brion et al., 2002) o, incluso, entre bacteriófagos de bacterias acuáticas patógenas de peces, cuyo hábitat natural es el agua (Pereira et al., 2011). En este último caso se ha llegado a considerar como buena una supervivencia de los bacteriófagos de tres meses en agua, aceptándose que los bacteriófagos que presentan mayor supervivencia en agua son buenos candidatos para el control de enfermedades bacterianas de peces en sistemas de cultivo acuáticos (Pereira et al., 2011).

Debe hacerse notar que *R. solanacearum* es una bacteria fitopatógena cuyo medio natural es el xilema de las plantas y con frecuencia el suelo, pero no el agua. Al no tratarse de una bacteria autóctona de ambientes acuáticos, no es esperable una alta supervivencia en agua de bacteriófagos específicos de la misma. De hecho, en ninguna de las publicaciones y patentes anteriormente comentadas se describe la viabilidad y actividad lítica de bacteriófagos líticos específicos de la especie anteriormente denominada *R. solanacearum* en agua medioambiental en ausencia de células huésped.

Y, sin embargo, sería interesante disponer de bacteriófagos líticos específicos frente a *R. solanacearum*, particularmente que mostraran un amplio espectro de cepas de dicha

especie sobre las cuales fueran activos y que, además, tuvieran una alta supervivencia en agua, preferiblemente de al menos un mes o, más preferiblemente, de varios meses. Con ello se podría realizar un tratamiento biológico del agua de riego contaminada con *R. solanacearum*, mediante el uso de bacteriófagos específicos de dicho patógeno, que
 5 pudiera tener un efecto preventivo o de disminución de la marchitez bacteriana en zonas contaminadas donde pueda haber plantas susceptibles. El tratamiento con dichos bacteriófagos presentaría las ventajas habituales frente a los tratamientos químicos, así como las asociadas a otros tratamientos de biocontrol, en especial con bacteriófagos:

- alta especificidad por la célula huésped,
- 10 - replicación natural sólo en la célula huésped,
- inocuidad para otros seres vivos, incluida la microbiota beneficiosa para las plantas a proteger,
- la aplicación del tratamiento biológico a través de agua de riego es más sencilla y económica que en el caso del control químico, y no requiere medidas de
 15 protección para el personal durante su aplicación, al ser inocuo para el ser humano,
- menor impacto medioambiental, en especial en comparación con los compuestos cúpricos y los antibióticos utilizados en agricultura, para los cuales muchos patógenos han desarrollado resistencia, reduciéndose la eficacia de dichos
 20 tratamientos químicos que además aumentan la contaminación química del suelo, las plantas y sus frutos,
- menores restricciones legales para su uso, pudiendo aplicarse donde estuviera prohibido el control químico,
- al ser inertes durante su estado extracelular, los bacteriófagos pueden combinarse
 25 con otras estrategias de control y/o biocontrol para incrementar el control de la enfermedad,
- producción fácil y económica, ya que aumentan su número en presencia de la bacteria diana,
- fácil ajuste de la dosis de bacteriófagos a aplicar en función de la concentración
 30 de patógeno a tratar.

La presente invención aporta una solución al problema de la ausencia de bacteriófagos que muestren un amplio espectro de cepas de dicha bacteria sobre las cuales fueran

activos y que, además, tengan una alta supervivencia en agua, preferiblemente de al menos un mes o, más preferiblemente, de al menos varios meses.

Sumario de la invención

- 5 La presente invención se basa en el aislamiento, a partir de agua de río de varias regiones de España, de varios bacteriófagos capaces de lisar la bacteria *R. solanacearum*, y en los resultados de su caracterización estructural, funcional y molecular, así como genómica, que han permitido evidenciar:
- 10 - que todos ellos pertenecen a la misma especie vírica, tratándose de una nueva especie perteneciente a la familia *Podoviridae*,
 - su especificidad por dicha bacteria,
 - su actividad sobre un amplio espectro de cepas de *R. solanacearum*,
 - su actividad a diferentes temperaturas, pHs, condiciones de salinidad y aireación y en presencia de luz,
 - 15 - su elevada supervivencia en agua, superior a tres años, en aguas naturales de distinta composición química y pH, a distintas temperaturas, en ausencia del huésped, manteniendo su capacidad lítica tras períodos tan prolongados,
 - la capacidad para disminuir la marchitez provocada por *R. solanacearum* en plantas regadas con agua que contenía al menos uno de dichos bacteriófagos.
- 20 Los ensayos realizados han permitido comprobar que estas características son también compartidas por el bacteriófago del que ya se había descrito una caracterización funcional parcial (actividad lítica en medio líquido a distintas temperaturas y pHs, rango inicial de huéspedes y capacidad de controlar la marchitez en plantas) en anteriores trabajos del grupo de los presentes inventores (Álvarez et al., 2006a, Álvarez et al.,
- 25 2006b), sin haberse descrito su origen específico, método de aislamiento, capacidad de supervivencia, ni haberse realizado una caracterización molecular y genómica, que permitiera su clasificación taxonómica, desconociéndose hasta ahora la familia a la que pertenecía.
- Su alta especificidad, el amplio rango de cepas sobre las que presentan actividad y, muy
- 30 en especial, su elevada supervivencia en agua, hace de todos estos bacteriófagos agentes muy adecuados para el biocontrol de *R. solanacearum* en agua de cursos

naturales y/o aguas de riego y reservorios de las mismas, y para la prevención y/o el tratamiento de la marchitez producida por dicha bacteria en plantas. Esto es así porque el mantenimiento de la actividad lítica tras largos períodos favorece su aplicabilidad en cultivos de campo o en invernaderos o viveros u otros, a los que puede vehicularse directamente a través del agua, medio natural y simple, sin necesidad de encapsularlos o de añadir otros soportes físicos, químicos y/o biológicos para proteger su viabilidad hasta el encuentro con la célula diana. Con ello, se reducen también los costes de aplicación, al disminuir el número de aplicaciones requeridas en el tiempo, se aumenta la eficiencia a largo plazo del producto en los sistemas agrícolas en los que se pretende aplicar, y se puede prevenir y combatir más eficazmente la aparición de brotes de la enfermedad causada por *R. solanacearum*. Así, los agentes de control de *R. solanacearum* basados en estos bacteriófagos presentan un mayor "valor añadido" del producto de cara a los agricultores y viveristas, principales consumidores potenciales de dicho producto.

Además, tal y como se comentó previamente, esta capacidad de supervivencia tan alta en agua de los bacteriófagos objeto de la invención, manteniendo la capacidad lítica tras períodos prolongados en dicho medio en ausencia de huésped, no era esperable para bacteriófagos específicos de una bacteria cuyo medio natural no es el agua como es el caso de *R. solanacearum*, no observándose esta capacidad en otros bacteriófagos líticos específicos de dicha bacteria y aislados también de cursos fluviales naturales de España por los presentes inventores.

Por todo ello, en un primer aspecto, la invención se refiere a un bacteriófago con capacidad de lisar células de *Ralstonia solanacearum* seleccionado del grupo de:

a) vRsoP-WF2 (DSM 32039), vRsoP-WM2 (DSM 32040), vRsoP-WR2 (DSM 32041),
o

b) un podovirus cuyo genoma presenta la secuencia de SEQ ID NO:1 (correspondiente a vRsoP-WF2), SEQ ID NO:2 (correspondiente a vRsoP-WM2) ó SEQ ID NO:3 (correspondiente a vRsoP-WR2).

En lo sucesivo, la expresión "bacteriófago de la invención" se utilizará para hacer referencia a uno cualquiera de estos bacteriófagos.

En otro aspecto, la invención se refiere a una composición que comprende al menos uno de los bacteriófagos de la invención, o combinaciones de los mismos. Dicha composición será considerada una composición de la presente invención.

En un aspecto más, la invención se refiere al uso de al menos uno de los bacteriófagos de la invención, o de combinaciones de los mismos, para el control de *R. solanacearum* en agua de cursos naturales, corrientes de agua canalizadas, reservorios naturales de agua, agua de riego y reservorios de aguas de riego, mediante la adición de uno o más de dichos bacteriófagos al agua de riego o reservorios de la misma.

En otro aspecto, relacionado con el anterior, la invención se refiere al uso de al menos uno de los bacteriófagos de la invención, o de combinaciones de los mismos, o composiciones de la invención para el control de *R. solanacearum* en suelo, mediante la adición de uno o más de dichos bacteriófagos o de una composición de la invención a dicho suelo a través del agua de riego con la que se inunda el suelo, previamente tratada con el o los bacteriófagos mencionados o con la mencionada composición.

En otro aspecto adicional, la invención se refiere a un procedimiento para prevenir o controlar la marchitez bacteriana provocada por *R. solanacearum* en plantas, que comprende las etapas de:

- a) añadir al agua que vaya a utilizarse para regar las plantas una composición que comprende bacteriófagos pertenecientes a al menos uno de los bacteriófagos objeto de la invención, o combinaciones de los mismos;
- b) regar las plantas con dicha agua tratada.

Como se indicó previamente, el término "*R. solanacearum*", sin alusión al significado previo de esta denominación, se utiliza en la invención para hacer referencia a la especie *R. solanacearum* tal y como se ha descrito tras la última revisión taxonómica, es decir, la especie constituida únicamente por cepas de filotipo II. En cambio, cuando se utiliza el término "especie anteriormente denominada *R. solanacearum*", se hace referencia a las bacterias que se consideraban comprendidas dentro del término *R. solanacearum* en trabajos, datos, patentes, publicaciones, bibliografía, etc, previos a la revisión taxonómica de Safni y colaboradores (2014), independientemente de si la denominación se corresponde o no con la clasificación actual.

Por consiguiente, la presente invención, es decir, el "procedimiento para la prevención y/o el control biológico de la marchitez causada por *Ralstonia solanacearum* a través del uso de bacteriófagos útiles para ello y las composiciones de los mismos", hace referencia a *R. solanacearum* tal y como se ha descrito tras la revisión taxonómica de Safni y colaboradores (2014). Las tres invenciones de otros autores mencionadas en el presente documento hacen referencia a la "especie

anteriormente denominada *R. solanacearum*" que, en los casos en los que hay información disponible (documento de patente, publicaciones, etc), puede comprobarse que se trata de cepas mayoritariamente reclasificadas en la nueva especie *R. pseudosolanacearum*.

5 Breve descripción de las figuras

La Fig. 1 muestra fotografías de placas de medio de cultivo de los ensayos de actividad lítica de bacteriófagos aislados de agua de río frente a *R. solanacearum*. Las zonas más oscuras corresponden a zonas de lisis y/o áreas aisladas o calvas, que son zonas de reproducción de los bacteriófagos en el césped bacteriano, que permiten observar el medio de cultivo por lisis de las bacterias, cuyo crecimiento masivo se aprecia en las zonas más blanquecinas y más opacas.

La Fig. 2 muestra una fotografía de una placa de medio de cultivo con un césped de la cepa IVIA 1602.1 de *R. solanacearum* en la que se realizaron ensayos de lisis. En cada cuadrante se indica el bacteriófago contenido en la suspensión añadida sobre el césped bacteriano; se indica también la localización del cuadrante del control sin bacteriófagos (cuadrante superior izquierdo, marcado con el nombre de la cepa bacteriana).

La Fig. 3 muestra una fotografía de los bacteriófagos de la presente invención obtenida por microscopía electrónica de transmisión tras tinción negativa. Se observa que presentan una cabeza poligonal (entre 40 y 60 nm de diámetro dependiendo del bacteriófago) sin envoltura, y una cola corta.

La Fig. 4 es una fotografía obtenida tras someter a electroforesis las muestras en las que se había llevado a cabo la digestión del ADN de los bacteriófagos vRsoP-WF2, vRsoP-WM2 ó vRsoP-WR2 (según se indica en la parte superior de la fotografía) con distintas enzimas de restricción, indicadas sobre cada carril. Los carriles de los extremos derecho e izquierdo corresponden al patrón de pesos moleculares (M): ADN del fago λ digerido con *HindIII*.

La Fig. 5 muestra la zona en la que la secuencia correspondiente al bacteriófago vRsoP-WM2 presenta una inserción de 468 nucleótidos respecto a las secuencias correspondientes a los bacteriófagos vRsoP-WF2 y vRsoP-WR2, así como las zonas de secuencia próximas a ésta. La presencia de un guión en una secuencia indica una posición en la que un nucleótido está ausente en dicha secuencia con respecto a una o las otras dos secuencias, ausencia que permite continuar el alineamiento en la misma zona. En la línea inferior situada bajo las líneas correspondientes a las secuencias, la

presencia de un asterisco indica coincidencia entre los nucleótidos situados en esa posición en las tres secuencias.

La Fig. 6 muestra la organización genómica de los bacteriófagos vRsoP-WF2, vRsoP-WM2 y vRsoP-WR2 en comparación con la del bacteriófago T7. En distintos tonos de gris o con tramas de líneas paralelas en direcciones diferentes se indica la localización de los marcos abiertos de lectura funcionales (ORFs), que han sido identificados mediante la herramienta BLAST, según se especifica en las leyendas situadas en la parte inferior de la figura. Se observa que los tres bacteriófagos poseen una organización genómica y expresión de los ORFs similar a la del bacteriófago T7 en parte del genoma.

La Fig. 7 muestra las curvas de supervivencia de los bacteriófagos vRsoP-WF2, vRsoP-WM2 y vRsoP-WR2 incubados a 14°C en ausencia de células huésped en agua del río Tormes (panel A, superior) y del río Turia (panel B, inferior). La supervivencia se expresa como el logaritmo en base 10 de las unidades formadoras de calvas detectadas por mililitro (UFC/ml) en las muestras tomadas en los tiempos indicados en abscisas.

La Fig. 8 muestra un gráfico de la actividad lítica del bacteriófago vRsoP-WF2, añadido a una concentración inicial de 10^3 unidades formadoras de calvas por mililitro (UFC/ml) en agua de río estéril, a la que se han añadido 10^6 unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml) de *R. solanacearum*. Se observa la disminución con el tiempo de las UFC/ml correspondientes a la bacteria (expresadas en forma de su logaritmo en base 10, puntos indicados con un círculo relleno), mientras aumentan las UFC/ml correspondientes al bacteriófago (expresadas también en forma de su logaritmo en base 10, puntos indicados con un cuadrado relleno).

La Fig. 9 muestra un esquema ilustrado del procedimiento experimental de la aplicación de los bacteriófagos objeto de la invención al agua de riego desarrollado por los presentes inventores para comprobar su capacidad de control de la marchitez bacteriana. En la parte inferior, se muestran fotografías del estado de las plantas al comienzo del ensayo (tiempo cero, fila superior de fotografías) y tras 1 mes (tiempo 1 mes, fila inferior de fotografías), para cada una de las combinaciones de *R. solanacearum* y el bacteriófago vRsoP-WF2 indicadas sobre las mismas.

La Fig. 10 muestra un gráfico de barras en el que se representa la reducción de la marchitez bacteriana, expresada como tanto por ciento, en dos ensayos diferentes realizados en plantas de tomate. Experimento (Exp.) 1, concentración de bacteriófago: 10^9 unidades formadoras de calvas por mililitro (UFC/ml) y Exp. 2, concentración de bacteriófago: 10^6 UFC/ml. En ambos experimentos, la concentración de bacteria fue de

10⁵ unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml). Las barras con trama vertical corresponden a las plantas tratadas con bacterias, sin adición de bacteriófagos; las barras sin trama corresponden a las plantas tratadas con bacterias y bacteriófagos a las concentraciones indicadas; las barras con trama horizontal, corresponden a las plantas
 5 tratadas con bacterias y diluciones 1/10 de las concentraciones de bacteriófagos antes indicadas.

La Fig. 11 muestra un gráfico de barras en el que se representa la reducción de la marchitez bacteriana producida por *R. solanacearum*, expresada como tanto por ciento, en ensayos en los que plantas de tomate se regaron con agua que contenía las
 10 combinaciones de bacteria (Rsol) y bacteriófago que se indican bajo las barras. Los cuatro casos situados más a la derecha corresponden a aguas de riego con combinaciones binarias (de izquierda a derecha, vRsoP-WF2 con vRsoP-WM2, vRsoP-WF2 con vRsoP-WR2, o vRsoP-WM2 con vRsoP-WR2) o terciarias (vRsoP-WF2, vRsoP-WM2 y vRsoP-WR2) de bacteriófagos junto con la bacteria.

15 **Descripción detallada de la invención**

Tal y como se ha mencionado anteriormente, la invención se refiere a nuevos bacteriófagos específicos de *R. solanacearum* (los bacteriófagos de la invención), al uso de al menos uno de los bacteriófagos de la invención, o de combinaciones de los mismos, para el control de *R. solanacearum* en agua de cursos naturales, reservorios
 20 naturales de agua, agua de riego y reservorios de agua de riego, mediante la adición de uno o más de estos bacteriófagos a dicha agua o sus reservorios; también se refiere al uso de estos bacteriófagos para el control de *R. solanacearum* en suelo, mediante la adición de uno o más de estos bacteriófagos a dicho suelo a través del agua de riego tratada; y a un procedimiento para prevenir o controlar la marchitez bacteriana provocada
 25 por *R. solanacearum* en plantas, en el que, al agua que vaya a utilizarse para regar las plantas, se añade una composición que comprende al menos uno de los bacteriófagos a los que se ha denominado vRsoP-WF2 (DSM 32039), vRsoP-WM2 (DSM 32040) o vRsoP-WR2 (DSM 32041), o combinaciones de los mismos, y se riegan las plantas con dicha agua tratada.

30 En la presente solicitud, se utiliza la palabra "fago" como abreviatura de la palabra "bacteriófago", con el mismo significado. Por ello, de ahora en adelante ambos términos se utilizarán indistintamente. Por "bacteriófago" se entiende un virus capaz de infectar bacterias, ya sea produciendo su lisis (ciclo lítico) o insertándose en su genoma y replicándose con él, sin producir lisis (ciclo lisogénico).

Los bacteriófagos de la invención se han aislado de agua de río de varias regiones de España, en concreto Badajoz, Salamanca y las Alpujarras (Granada).

La caracterización morfológica por microscopía electrónica de los viriones y molecular por análisis de restricción del ADN de los mismos ha demostrado que pertenecen a la familia *Podoviridae* (concretamente, al género de los virus similares a T7 o "*T7-like*"), una familia de la cual, hasta ahora, sólo se había descrito un bacteriófago con actividad lítica frente a la especie anteriormente denominada *R. solanacearum*, el bacteriófago Φ RSB1, descrito por Fujiwara y colaboradores (Fujiwara et al., 2011) y que presenta un genoma de mayor tamaño que los bacteriófagos de la presente invención, cuyo genoma no supera los 41.000 pares de bases (pb) en ninguno de los tres casos (ver Tabla 2), mientras que el genoma del Φ RSB1 tiene un tamaño de 43.077 pb. Además, las tres invenciones de otros autores mencionadas en la presente solicitud, relacionadas con el uso de bacteriófagos para el control de *R. solanacearum* hacen referencia a la especie anteriormente denominada *R. solanacearum* que, en los casos en que hay información disponible (documento de patente, publicaciones científicas, etc.), puede comprobarse que tratan de cepas mayoritariamente reclasificadas en la nueva especie *R. pseudosolanacearum*.

Por tanto, los bacteriófagos de la presente invención no pertenecen a una de las familias más comunes entre los bacteriófagos líticos de la especie anteriormente denominada *R. solanacearum*, *Myoviridae*, sino a otra familia distinta. Además, parecen formar parte de una misma especie, distinta de otras especies de virus similares a T7 descritas hasta el momento. El hallazgo de virus que pertenecen a una nueva especie entre los bacteriófagos que atacan a *R. solanacearum* es un hecho inesperado.

El genoma de ninguno de los tres bacteriófagos de la presente invención parece presentar dianas de reconocimiento para la enzima de restricción *PstI*, que no da lugar a digestión de los mismos, lo que supone una diferencia con los bacteriófagos líticos de la patente de Japón JP4532959-B2, que sí son digeridos por dicha enzima.

Así, en la presente invención se proporcionan por primera vez datos para identificar los tres bacteriófagos de la presente invención y distinguirlos entre ellos y con respecto a cualquier otro bacteriófago conocido, como son la familia a la que pertenecen, el género, la asignación de todos ellos a una misma especie, la secuencia de su genoma y el perfil de restricción característico, obtenido con varias enzimas tras la digestión de su genoma (ver Ejemplos 1 y 2, y las Fig. 3, 4, 5 y 6). Se describe, además, el método de aislamiento utilizado y la procedencia concreta de cada uno de ellos. Adicionalmente, para su clara definición, se aporta el dato del número de depósito otorgado por el Leibniz-Institut

DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikro-organismen und Zellkulturen GmbH, en su calidad de autoridad de depósito internacional según el Tratado de Budapest, para cada uno de los bacteriófagos.

Además de la caracterización estructural (caracterización morfológica de las partículas víricas y caracterización genómica), en la presente solicitud se describe también la caracterización funcional (fisiológica y lítica) de los bacteriófagos aislados. Tal y como se comentó previamente, una de las características importantes para que un agente de biocontrol pueda ser efectivo es mostrar un amplio rango de cepas sobre las cuales pueda actuar. Tal y como se muestra más adelante en Ejemplos de la presente solicitud, se confirmaron los datos previamente descritos por Álvarez y colaboradores (Álvarez et al., 2006a, Álvarez et al., 2006b) para un bacteriófago del que se sabía que se había aislado en un curso fluvial de España que no quedaba específicamente identificado y respecto al cual no se aportaban suficientes datos estructurales para adscribirlo a una familia y, menos aún, a un género y especie concretos. En particular, se confirmó su capacidad lítica para 30 cepas que se consideraban entonces pertenecientes todas ellas a la misma especie, la especie anteriormente denominada *R. solanacearum*, de las que se desconocía su filotipo, así como los rangos de pH y temperatura en los que muestra actividad: entre 14°C y 31°C, y a rangos de pH de 6,5 a 8,2. Dichos datos corresponden al bacteriófago denominado en la presente solicitud vRsoP-WF2. Se ha comprobado que los otros dos bacteriófagos de la presente invención, vRsoP-WM2 y vRsoP-WR2, presentan capacidad lítica para las mismas cepas de *R. solanacearum*, y que son activos en los mismos rangos de pH y temperatura, ampliándose dicha caracterización para los tres bacteriófagos de la presente invención. Los mismos resultados se obtuvieron con las mezclas de dos de los bacteriófagos (vRsoP-WF2 con vRsoP-WM2, vRsoP-WF2 con vRsoP-WR2, o vRsoP-WM2 con vRsoP-WR2) o con la combinación de los tres (vRsoP-WF2, vRsoP-WM2 y vRsoP-WR2). Así, las mezclas que comprenden una de dichas combinaciones de bacteriófagos son una posible realización de las composiciones de la presente invención, así como las composiciones que comprenden al menos uno de los bacteriófagos de la presente invención.

También se comprobó su especificidad por *R. solanacearum*, no observándose actividad lítica con aislados bacterianos de agua de río con los que se realizaron ensayos, ni con cepas de otras especies de bacterias fitopatógenas. De nuevo, estos datos son válidos tanto para los tres bacteriófagos de la presente invención como para las combinaciones de los mismos.

Por tanto, los tres bacteriófagos por separado, así como las combinaciones de los mismos, cumplen las características deseables para agentes de control biológico como son la alta especificidad por la célula huésped, no suponiendo un riesgo para la microbiota del agua, suelo o plantas, por ser específicos frente a *R. solanacearum*.

5 Tampoco suponen una amenaza para la salud del ser humano, animales o plantas, al tratarse de virus bacteriófagos que sólo infectan bacterias. Son activos, además, en un rango de pH compatible con las características de distintos cursos fluviales de la geografía española, y en un rango de temperaturas compatible con las características de los mismos. Ello apoya el uso de los bacteriófagos de la presente invención, de forma individual o como combinaciones de los mismos, y el de las composiciones que comprenden dichos bacteriófagos, para el control de *R. solanacearum*, ya sea en agua de cursos naturales de agua como los ríos, arroyos o riachuelos, reservorios naturales de agua como lagos, lagunas, charcas, manantiales y acumulaciones subterráneas, reservorios artificiales de agua como embalses, depósitos cubiertos, tanques, estanques
10 (con cubierta superficial o sin ella), pozos, agua de riego en general y reservorios de la misma como los reservorios naturales o artificiales antes citados.

En ese sentido, los datos de campo recopilados por los presentes inventores sobre las aguas naturales contaminadas con *R. solanacearum* en las distintas comunidades autónomas españolas revelan que en los meses estivales (que es cuando se detecta la
20 bacteria en agua y se prohíbe su uso para riego) las temperaturas diurnas más altas de estas aguas oscilan entre 13°C y 17°C, disminuyendo por la noche. Así, por ejemplo, en Salamanca y Guadalajara las temperaturas de las aguas muestreadas varían entre 14°C y 4°C. Además, en los distintos países del centro y norte de Europa con aguas medioambientales contaminadas con *R. solanacearum* las temperaturas son más bajas
25 en los meses de verano. Por tanto, el rango de actividad observado para los bacteriófagos de la presente invención es compatible con su utilización en cursos naturales de agua, en particular de España. También lo es su rango de pH de actuación. Sin embargo, no es sencillo añadir bacteriófagos a un curso fluvial de agua en cantidad suficiente para conseguir el control efectivo de microorganismos en los mismos, en especial en el lugar concreto donde esa agua pueda desear utilizarse para regar, pues
30 los bacteriófagos quedarán muy diluidos y serán transportados con el curso de agua a lo largo del mismo por lo que, aunque su tiempo de supervivencia sea muy alto, no se favorece que los bacteriófagos contacten con la célula huésped en el tramo de curso de agua que pueda ser de interés, salvo que los bacteriófagos se añadan a cursos de agua cortos y/o de reducido caudal, como riachuelos, regatos y canalizaciones artificiales,
35 especialmente las que conduzcan a un reservorio donde el agua vaya a tener un tiempo

de permanencia mayor. Por ello, se prefiere que el uso se lleve a cabo en un reservorio natural o artificial de agua, tal como lagos, lagunas, charcas, manantiales, embalses, depósitos cubiertos, tanques, estanques (con cubierta superficial o sin ella) o pozos. En ellos, además, si se sospecha que puede haber una contaminación con *R. solanacearum*,
5 es más sencillo realizar una estimación de la misma y determinar la cantidad o concentración de bacteriófagos a añadir en función de la misma. En cualquier caso, se prefiere que se trate de un reservorio en el que el agua se mantiene a una temperatura comprendida en el rango de temperaturas de 4°C a 30°C, ambos valores incluidos, intervalo en el cual los bacteriófagos de la presente invención sobreviven períodos
10 prolongados, manteniendo su actividad lítica, tanto en forma aislada como formando parte de composiciones que contienen al menos uno de ellos. Dicho intervalo comprende también las temperaturas ambientales de supervivencia y/o multiplicación del patógeno *R. solanacearum*, el intervalo medioambiental de 4°C a 24°C, de forma que la actividad lítica de los bacteriófagos de la presente invención es efectiva a las temperaturas en las
15 que dicha bacteria supone una amenaza real para el desarrollo de la enfermedad en los cultivos. Como los valores próximos a 30°C no son habituales en los reservorios de agua medioambiental, y teniendo en cuenta las fluctuaciones de temperatura ambientales diarias y estacionales, se tiene preferencia también por condiciones donde la temperatura media del agua del reservorio esté comprendida entre 4°C y 24°C, ambos valores
20 incluidos.

Debe señalarse que los ensayos descritos en el Ejemplo 4 de la presente solicitud confirman la aplicabilidad de los bacteriófagos de la presente invención a través del agua de riego y su utilidad para reducir los daños de marchitez producidos por *R. solanacearum* en plantas. Es por ello que la presente invención proporciona también un
25 procedimiento para prevenir o controlar la marchitez provocada por *R. solanacearum* en una planta, que comprende las etapas de añadir al agua que vaya a utilizarse para regar la planta una composición que comprenda al menos uno de los bacteriófagos de la presente invención, o combinaciones de los mismos, y regar la planta con dicha agua tratada.

30 La propuesta de realizar un tratamiento previo del agua de riego antes de su uso para regar es una opción no considerada en los trabajos previos de autores japoneses que se discutieron anteriormente y es una opción de gran interés, puesto que los principales cultivos afectados por *R. solanacearum* son cultivos de regadío. Así, aunque es compatible con la invención que el cultivo de la planta se lleve a cabo en cualquiera de
35 las condiciones en que sea posible dicho cultivo, una posible realización de la invención

donde puede tener gran interés es aquella en la que la planta se está cultivando en un campo, en un vivero, en un invernadero o cualquier otro tipo de sustrato, o en cultivo hidropónico, donde puede ser sencillo planificar y aplicar el procedimiento de la invención dentro del sistema de regadío y, además, hacerlo de forma que beneficie
5 simultáneamente a muchas plantas. Por otra parte, pero de forma perfectamente compatible con la realización anterior, dentro de la posible aplicación a cualquier cultivo de una especie susceptible y/o tolerante a *R. solanacearum*, una realización de gran interés de la invención es aquella en la que la planta es de una especie perteneciente a la familia de las solanáceas (familia *Solanaceae*) y en particular, aquella en la que la planta
10 se selecciona entre tomate (*Solanum lycopersicum*), patata (*Solanum tuberosum*) (los dos cultivos más frecuentemente afectados), pimiento (*Capsicum annuum*) o berenjena (*Solanum melongena*). La aplicación del método de la invención es perfectamente compatible con que la planta se encuentre en un cultivo o plantación dedicado a plantas de una única especie, o en zonas de cultivo donde hay plantas de distintas especies,
15 generalmente en secciones específicas para cada una, como sucede con los huertos tradicionales, siendo habitualmente el sistema de riego común a todas ellas, así como el reservorio del que parte el agua de riego. Las características de los bacteriófagos de la presente invención posibilitan que no sea necesaria su aplicación individualizada (planta por planta), como sí sucede con las aplicaciones propuestas por los autores japoneses y
20 con otros agentes de biocontrol.

El riego puede realizarse por cualquiera de los sistemas conocidos, tales como los sistemas tradicionales de inundación parcial o total, por goteo, por riego subterráneo mediante tuberías perforadas, por exudación a través de tuberías porosas, o por aspersión.

25 Como se comentó anteriormente, es conveniente que, previamente al riego, el agua a la que se le haya añadido la composición con uno o más bacteriófagos de la presente invención se mantenga a una temperatura comprendida en el intervalo de 4°C a 24°C, que puede considerarse un intervalo medioambiental habitual, aunque, dado que los bacteriófagos de la invención son activos hasta 31°C, dicho intervalo puede extenderse al
30 intervalo de 4°C a 30°C, ambos incluidos, a pesar de que este último valor no sea habitual en reservorios de agua medioambiental. Como ya se discutió anteriormente, también se consideran adecuadas condiciones donde la temperatura media del agua del reservorio esté comprendida entre 4°C y 24°C, ambos valores incluidos, dadas las fluctuaciones de temperatura ambientales diarias y estacionales.

También es conveniente que el pH del agua esté en el intervalo de 6,5 a 9,0 (ambos valores incluidos), para favorecer la actividad lítica de los bacteriófagos de la presente invención.

5 Por las mismas razones antes discutidas, es preferible que, previamente al riego de la planta con el agua, el agua de riego se mantenga en un reservorio, natural o artificial, desde el momento en que se añade la composición con uno o más bacteriófagos de la presente invención; este planteamiento es compatible con que la adición de los bacteriófagos no se produzca necesariamente cuando el agua está en dicho reservorio, sino que puede hacerse en un curso de agua que desemboque o vierta al mismo, 10 especialmente cuando el mismo es una canalización o un curso natural de pequeño caudal que parte de un curso natural caudaloso o un gran reservorio, natural o artificial, tal como un lago o un embalse.

En cuanto al reservorio en sí, puede ser un depósito sin cobertura superficial o un depósito cubierto, incluidos los de tipo tanque o estanque; también puede ser algún 15 encharcamiento natural, como los producidos en los afloramientos de ciertos manantiales, o pozos artificiales, naturales o seminaturales como los formados en ciertas oquedades naturales, con acceso facilitado posteriormente por el hombre.

Por otro lado, es importante tener en cuenta, como se comentó anteriormente, que uno de los puntos fundamentales que determinan la efectividad de los bacteriófagos como 20 agentes de biocontrol es su supervivencia en las condiciones del entorno en el que se pretendan aplicar. En general, la supervivencia de los bacteriófagos fuera del huésped, como se discutió previamente, es extremadamente variable y depende de la naturaleza particular de cada bacteriófago, estando altamente influenciada por el medio ambiente circundante, por condiciones tales como el pH del medio, la temperatura o la luz solar 25 (Iriarte et al., 2007). Debido a que la luz solar es un factor que con frecuencia afecta negativamente a la supervivencia de los bacteriófagos en condiciones naturales, para plantearse su utilización en aguas superficiales es importante que sobrevivan adecuadamente en presencia de dicho factor. En este sentido, los bacteriófagos objeto de la invención se aislaron de distintos cursos fluviales españoles expuestos a distintos 30 niveles de insolación, a diferencia de los bacteriófagos japoneses, aislados de suelo y de material vegetal. Por otra parte, como los bacteriófagos de la invención se aislaron de muestras de agua en las que estaban presentes células del huésped, se desconocía su inesperada supervivencia en agua en ausencia de células huésped.

Por todas esas razones, la supervivencia de los bacteriófagos aislados por los presentes inventores se considera un factor importante, casi una característica crucial que supone una importante ventaja para su uso como agente de biocontrol en agua. Tal y como se describe más adelante en el Ejemplo 3, dicha supervivencia se ensayó en ausencia de la

5 célula huésped, en agua natural de dos ríos españoles (Tormes en Salamanca y Turia en Valencia) de distinta composición química y pH, y a distintas temperaturas. Estos dos tipos de agua presentaron diferencias destacables en los principales parámetros físico-químicos consultados de su composición: en concreto con el agua del río Turia los valores fueron comparativamente unas 100 veces mayores para el Mn, 10 veces

10 mayores para el Fe, entre 5 y 10 veces mayores para los cloruros y el triple de nitratos; con el agua del río Tormes los valores fueron aproximadamente 4 veces más altos de fosfatos; los valores medios de pH estuvieron en torno a 8,13 en el agua del río Turia y 7,36 en el agua del río Tormes. Los rangos de temperatura de las aguas oscilaron entre 3,5 a 20,9°C para el río Tormes y de 11,5 a 22,0°C para el río Turia, es decir, ambos

15 rangos medioambientales de temperatura de las aguas se encuentran dentro de los valores de temperatura utilizados para los ensayos de supervivencia de los bacteriófagos, que fueron de: 4°C, 14°C y 24°C, y a los valores de pH de 7,2 para el agua del río Tormes y 8,1 para el agua del río Turia. De estos ríos, el Tormes está contaminado con *R. solanacearum* y está prohibido el uso de este agua para riego, mientras que en el Turia

20 no se ha observado contaminación hasta el momento. Para los ensayos de la presente invención, dicha agua natural se filtró por 0,22 µm y se esterilizó, de manera que los ensayos de supervivencia se realizaron en ausencia del huésped. Tal y como se demuestra en el Ejemplo 3, los tres bacteriófagos de la presente invención se mantuvieron activos y en niveles altos de actividad lítica durante más de 5 meses,

25 período superior a los tres meses considerados como buen período de supervivencia para bacteriófagos de bacterias acuáticas que afectan a peces y que están, por tanto, en su medio natural (Pereira et al., 2011). Esta alta supervivencia se observó a las tres temperaturas ensayadas (4°C, 14°C y 24°C), con las que se pretendía cubrir el rango medioambiental de interés para la aplicación a agua de cursos y reservorios naturales de

30 agua, reservorios artificiales y aguas de riego. Posteriormente y como se menciona en el Ejemplo 3, se continuó el ensayo, encontrando que, tras 3 años en agua natural, se mantienen activos. Este largo período de supervivencia con mantenimiento de la actividad lítica es inesperado y sorprendente, particularmente para un bacteriófago lítico de *R. solanacearum* pues, al no tratarse de una bacteria autóctona de ambientes

35 acuáticos, sino que su medio natural es el xilema de las plantas y con frecuencia el suelo, no era esperable que bacteriófagos específicos de esta bacteria presentaran una alta

supervivencia en agua, fuera del huésped. De hecho, en los estudios de Fujiwara y colaboradores (Fujiwara et al., 2011), por ejemplo, la estabilidad se controló sólo durante 15 días, lo que permitió observar claras diferencias entre la estabilidad de los tres bacteriófagos ensayados, más pronunciadas en tampón que en presencia de suelo, observándose además acusadas diferencias en la capacidad de supervivencia de los dos bacteriófagos de la familia *Myoviridae*, Φ RSL1 y Φ RSA1.

Tal y como se discutió previamente, la supervivencia fuera del huésped varía mucho entre los diferentes bacteriófagos, incluso entre los que pertenecen a un mismo serotipo/genotipo (Brion et al., 2002) o, incluso, entre los que comparten un mismo hábitat natural como el agua (Pereira et al., 2011), hábitat en el que una supervivencia de bacteriófagos acuáticos de al menos tres meses se ha considerado previamente como una característica adecuada para la selección de buenos candidatos para el control de enfermedades bacterianas de peces transmitidas por el agua. Así, la supervivencia de los bacteriófagos aislados por los presentes inventores no era en absoluto predecible, especialmente teniendo en cuenta que ni siquiera se conocía la familia a la que pertenecían y que no era de esperar una elevada supervivencia en agua de los mismos, puesto que el hábitat habitual de su huésped son las plantas y el suelo, no el agua.

En ese sentido, merecen comentarse los resultados de supervivencia en ausencia del huésped de los bacteriófagos objeto de la invención obtenidos a 24°C, pues anteriores resultados de los presentes autores en estudios de supervivencia de *R. solanacearum* en los que se ensayó la actividad lítica de otros bacteriófagos de la bacteria en presencia de este huésped indicaban que la temperatura de 24°C favorece la velocidad de desaparición del patógeno con respecto a la temperatura de 14°C (Álvarez et al., 2007). No obstante, a la temperatura de 14°C, los bacteriófagos objeto de la invención mantienen una actividad lítica sobre el huésped en agua natural incluso tras tres años en ausencia de éste, y se ha observado que, en condiciones similares a las naturales, en estudios realizados por los presentes autores con otros bacteriófagos de este patógeno, la lisis también causa una reducción significativa de las poblaciones del mismo (Álvarez et al., 2007). Además, 14°C es una temperatura más cercana a las registradas en la mayor parte de los hábitats acuáticos a partir de los cuales se ha detectado el patógeno en España y otros países europeos.

Por otra parte, cabe destacar que es habitual conservar los agentes de biocontrol, previamente a su aplicación, a bajas temperaturas, preferiblemente a 4°C, aunque también se pueden almacenar a 14°C, así como a 24°C. Por ello, es destacable que los bacteriófagos de la presente invención se mantengan activos y en niveles altos a las tres

temperaturas de ensayo durante más de 5 meses, y que su supervivencia con actividad lítica alcance períodos de tres años.

Por tanto, los bacteriófagos de la presente invención presentan como característica particularmente novedosa su supervivencia durante más de 5 meses en agua natural en ausencia de la célula huésped. Esto supone una característica adecuada y muy ventajosa para un agente de control biológico, que debe tener características que le permitan sobrevivir en el medio en el que se pretende aplicar que, en este caso, es el agua.

Gracias a ello, es compatible con la aplicación del método y el uso de la presente invención que la composición que contiene los bacteriófagos se mantenga durante su almacenamiento y/o utilización, preferiblemente, a una temperatura comprendida en el rango de 4°C y 24°C, ambas incluidas, que puede considerarse un intervalo medioambiental habitual, aunque, dado que los bacteriófagos de la invención son activos hasta 31°C, dicho intervalo puede extenderse al intervalo de 4°C a 30°C, ambos incluidos, a pesar de que este último valor no sea habitual en reservorios de agua medioambiental. Como ya se discutió anteriormente, también se consideran adecuadas condiciones donde la temperatura media del agua del reservorio esté comprendida entre 4°C y 24°C, ambos valores incluidos, dadas las fluctuaciones de temperatura ambiental diarias y estacionales. Esto facilita que las composiciones de la presente invención puedan mantenerse fácilmente durante largo tiempo previamente a su aplicación, en forma de suspensiones en las que los bacteriófagos se encuentran en un vehículo acuoso que puede ser agua (medioambiental, natural, destilada, previamente esterilizada, o sometida a otro tratamiento habitual para los vehículos acuosos) o una solución acuosa (tal como solución salina estéril, tampón fosfato salino, etc) y lista para utilizar y aplicar directamente cuando sea necesario. Por tanto, las composiciones de la presente invención, que pueden comprender cualquier vehículo o excipiente agronómicamente aceptable, pueden estar en forma líquida, por ejemplo en forma de suspensión acuosa, que se puede preparar en agua o en una solución acuosa y/o sus diluciones. Y en esta misma forma pueden usarse para el control de *R. solanacearum* y aplicarse con el método de prevención o tratamiento de la marchitez provocada por dicha bacteria, pudiendo estar por tanto listas para su aplicación directa desde su forma de comercialización y almacenamiento.

La elevada supervivencia, con mantenimiento de la actividad lítica sobre el huésped, de los bacteriófagos de la presente invención, favorece su aplicabilidad en el campo, ya que pueden vehicularse directamente a través del agua, un medio natural y simple, sin necesidad de encapsularlos o de añadir otros soportes físicos, químicos y/o biológicos

para proteger su viabilidad hasta el encuentro con la célula diana. Esto facilita el proceso de producción, abarata los costes y hace innecesario el uso de formulaciones complejas para su aplicación, así como la adición de agentes químicos al medio ambiente. Con ello, la alta supervivencia de los bacteriófagos en agua en ausencia de la célula diana reduce los costes de aplicación de los mismos, al disminuir el número de aplicaciones requeridas en el tiempo, y aumenta la eficiencia a largo plazo del producto en los sistemas agrícolas donde se pretenden aplicar, pudiendo así prevenir más eficazmente la aparición de brotes de la enfermedad causada por *R. solanacearum*. Todo ello redundará en un mayor "valor añadido" del producto de cara a los agricultores y viveristas, principales consumidores potenciales del producto a comercializar, los bacteriófagos de la presente invención y/o las composiciones que los comprenden.

Además, esta elevada supervivencia en agua natural durante su estado extracelular facilita su combinación con otras estrategias de control (químico y/o físico, e incluso biológico) frente al mismo patógeno de plantas u otros, lo que puede constituir una etapa opcional adicional del método de la presente invención. El método de la presente invención también es compatible con la aplicación de compuestos de cobre, antibióticos y/o fumigantes del suelo, cuya aplicación al suelo de crecimiento de la planta puede considerarse también una etapa opcional adicional del método de la presente invención.

La presente invención es también compatible con la aplicación adicional no sólo de un agente de control químico o físico, sino de uno o más agentes adicionales de control biológico, distintos de cualquiera de los bacteriófagos de la presente invención (otros microorganismos, como bacterias, hongos y otros bacteriófagos, etc.). Una posibilidad es que se trate de alguno de los bacteriófagos líticos o lisogénicos previamente conocidos, que presentan actividad frente a dicha bacteria. Para su aplicación, el agente adicional puede estar comprendido adicionalmente en una composición de la presente invención, o puede aplicarse de forma separada.

Aunque la forma preferida de las composiciones de la presente invención sea la forma líquida, en medio acuoso, especialmente cuando está prevista su aplicación a agua para el control de *R. solanacearum* y/o la prevención o la reducción de la marchitez bacteriana provocada por esta bacteria en plantas que vayan a ser regadas con dicha agua, son compatibles con la invención otras formas de la composición, especialmente aquellas conocidas por los expertos en la materia para la conservación de bacteriófagos, tales como en forma de liofilizados (lo que facilita su mantenimiento a temperatura ambiente) o en forma de suspensión acuosa refrigerada y/o congelada, que preferiblemente se

mantendrá entre 4°C y -20°C, y hasta temperaturas más bajas, como las del intervalo de -20°C hasta -80°C.

Como ya se comentó, las composiciones de la presente invención pueden contener uno de los tres bacteriófagos cuyo aislamiento y caracterización morfológica y genómica se describe en la presente solicitud (vRsoP-WF2, vRsoP-WM2 ó vRsoP-WR2), o combinaciones de los mismos (vRsoP-WF2 y vRsoP-WM2, vRsoP-WF2 y vRsoP-WR2, vRsoP-WM2 y vRsoP-WR2, ó vRsoP-WF2, vRsoP-WM2 y vRsoP-WR2). Los ensayos realizados y descritos en el Ejemplo 4 sugieren que las combinaciones, tanto de dos como de los tres bacteriófagos de la presente invención, son más efectivas que el uso de los bacteriófagos por separado, por lo que pueden ser una buena opción para su utilización frente a *R. solanacearum* en aguas a tratar y, particularmente, en aguas que vayan a ser utilizadas para riego, con el objetivo de prevenir o reducir la marchitez provocada por esta bacteria. En las composiciones con combinaciones de varios bacteriófagos, cada uno de ellos puede estar a la misma concentración, como en el Ejemplo 4 de la presente solicitud, pero también es compatible con la invención que las concentraciones sean diferentes.

Además, una ventaja a considerar con el uso de la combinación de dos o más de los bacteriófagos objeto de la presente invención es que con las mezclas se previene la aparición de cepas de *R. solanacearum* que pudieran ser resistentes a la acción lítica de alguno de ellos.

Respecto a la concentración total de bacteriófagos en las composiciones de la presente invención, no hay limitaciones, salvo las impuestas por razones químicas, que den lugar a que se sature la suspensión y que los bacteriófagos precipiten o se depositen. Sin embargo, en la práctica, esto es altamente improbable. Una posible opción es que la concentración total de bacteriófagos objeto de la invención oscile entre 10^5 y 10^9 unidades formadoras de calvas por mililitro (UFC/ml), que son concentraciones que han sido probadas en los Ejemplos de la presente solicitud y que puede ser también un rango de concentraciones orientativo en el que elegir la concentración final de bacteriófagos que se desea que esté presente en el agua de riego. No obstante, las concentraciones pueden ser mayores o menores que las comprendidas en ese rango, pudiendo mantenerse y/o utilizarse a concentraciones de 10^3 UFC/ml, como en el apartado 4.1 del Ejemplo 4, o incluso menores, pues los presentes inventores disponen de datos de obtención de lisis en medio líquido con bacteriófagos de la presente invención a concentraciones del orden de 10^2 UFC/ml. Así, los rangos de 10^2 a 10^9 UFC/ml o de 10^3 a 10^9 UFC/ml son también posibles rangos de concentración de las composiciones de la

presente invención o para las condiciones de actuación de los bacteriófagos de la presente invención, así como otros con límites superiores o inferiores, puesto que los bacteriófagos se multiplican dentro la bacteria.

En cuanto a los distintos bacteriófagos de la presente invención, según las condiciones
5 previstas de aplicación y/o mantenimiento, los datos de supervivencia pueden dar lugar a una preferencia por vRsoP-WM2, mientras que los macroensayos con plantas descritos en el Ejemplo 4, realizados concretamente con plantas de tomate, pueden dar lugar a una preferencia por vRsoP-WR2, pues en dichos ensayos se observó una mayor reducción de la marchitez bacteriana al aplicar este bacteriófago de forma individual, con respecto a
10 los otros dos bacteriófagos de la presente invención.

La invención se explicará ahora con mayor detalle mediante los Ejemplos y las Figuras expuestos a continuación.

Ejemplos

- Ejemplo 1. Origen y aislamiento de los bacteriófagos.

15 Se aislaron bacteriófagos líticos frente a *R. solanacearum* de varios ríos de Castilla-León, Extremadura y Andalucía, en las proximidades de campos afectados de marchitez bacteriana. Una selección de estos bacteriófagos se purificó y se comprobó su actividad lítica en el laboratorio frente a *R. solanacearum*, tal y como se muestra en la Fig. 1.

De entre ellos, se eligieron tres bacteriófagos (vRsoP-WF2, vRsoP-WM2 y vRsoP-WR2),
20 de distintos orígenes, para proseguir la caracterización.

- vRsoP-WF2: aislado del río Tormes en las proximidades de Salamanca.

- vRsoP-WM2: aislado del río Cayo en la provincia de Badajoz.

- vRsoP-WR2: aislado del río Yátor en la zona de las Alpujarras, en la provincia de Granada.

25 Los tres bacteriófagos se purificaron por pases sucesivos de calvas en medio general LPGA (extracto de levadura [5 g] – peptona [5 g] – glucosa [10 g] – agar [20 g], disueltos en agua destilada [1 litro]; la glucosa se esteriliza por filtración y se añade posteriormente al resto del medio esterilizado por autoclavado) junto con células huésped de una cepa de referencia de
30 *R. solanacearum* (cepa IVIA 1602.1, depositada en la Colección Francesa de bacterias asociadas a plantas [CFBP] con el número CFBP 4944 y en la colección de libre acceso de la DSMZ con el número DSM 100387). Este método es también el preferido para la amplificación en medio sólido de cualquiera de los bacteriófagos de la presente invención.

Una vez purificados, se procedió a la caracterización de su actividad lítica por rango de temperatura y pH y rango de huéspedes tal y como se describe a continuación.

1.1. Rango de temperatura.

5 La actividad lítica observada de los bacteriófagos caracterizados frente a la cepa de *R. solanacearum* seleccionada (IVIA-1602.1) se observa entre 14 °C y 31°C en los tres casos.

Dentro de este intervalo, la temperatura rutinaria de incubación de los bacteriófagos para su multiplicación en el huésped, tanto en medio sólido como en medio líquido, en condiciones de laboratorio, está entre 28-30°C, porque son los valores que se consideran óptimos para el crecimiento de *R. solanacearum* en dichas condiciones.

10 También se ensayaron mezclas de dos (vRsoP-WF2 – vRsoP-WM2, vRsoP-WF2– vRsoP-WR2, vRsoP-WM2 – vRsoP-WR2) o de los tres bacteriófagos (vRsoP-WF2 – vRsoP-WM2 – vRsoP-WR2). Cualquiera de las cuatro mezclas de bacteriófagos también presentó actividad dentro del mismo rango de temperatura.

1.2. Rango de pH.

15 La actividad lítica observada de los bacteriófagos caracterizados frente a la cepa de *R. solanacearum* seleccionada (IVIA-1602.1) en las distintas aguas de riego ensayadas, procedentes de río, acequia y lago, fue positiva en todas ellas a pHs que oscilaron entre 6,5 y 9,0. Del mismo modo, las mezclas de los bacteriófagos presentaron actividad lítica en las mismas aguas de riego y, por tanto, dentro del mismo rango de pH. No se han determinado
20 hasta el momento los valores de pH mínimos y máximos de actividad lítica de los bacteriófagos.

1.3. Salinidad

Puesto que se ha descrito que *R. solanacearum* puede crecer en presencia de NaCl en concentraciones del 1%, e incluso, en ocasiones, hasta del 2%, se ensayó la actividad lítica
25 de los bacteriófagos en agua salobre de distintos orígenes, con concentraciones salinas de aproximadamente 1,5%, observándose actividad lítica en los tres bacteriófagos. Las cuatro mezclas de bacteriófagos de la invención citadas en el punto 1.1. también mostraron actividad lítica en las condiciones de salinidad ensayadas.

1.4. Luz visible

30 Dado que la luz visible en ocasiones puede afectar la actividad lítica de los bacteriófagos, se ensayó dicha actividad en condiciones de luz y oscuridad. Se observó que, tras 48 h ininterrumpidas de exposición a luz intensa (aproximadamente 15.000 luxes), la actividad

lítica fue similar a la observada en condiciones de oscuridad, por lo que la presencia de luz no parece afectar a la actividad lítica de los bacteriófagos objeto de la invención. Igualmente, las distintas mezclas de bacteriófagos ensayadas presentaron similar actividad lítica tanto en presencia de luz como en oscuridad.

5 1.5. Aireación

Puesto que *R. solanacearum* es una bacteria aerobia y normalmente se cultiva en medio líquido con agitación (aireación), se determinó el efecto de la ausencia de aireación sobre la actividad lítica, puesto que en condiciones de campo la aireación no siempre está asegurada (por ejemplo durante el almacenamiento en depósitos). Se observó actividad tanto en
10 presencia como en ausencia de agitación, de la misma magnitud, siendo más rápida con aireación. Del mismo modo, las mezclas de los bacteriófagos presentaron actividad lítica tanto con aireación como sin ella.

1.6. Especificidad.

La especificidad se ensayó en placas Petri frente a céspedes bacterianos de las cepas de
15 *R. solanacearum* en el medio de cultivo general LPGA, sobre los cuales se vertieron dos gotas de una suspensión de cada uno de los tres bacteriófagos (Fig. 2). La actividad lítica se visualizó por la aparición de áreas de aclaramiento por lisis de bacterias en el césped bacteriano en el lugar donde se depositaron las gotas de las suspensiones de bacteriófagos (Fig. 2, que corresponde al ensayo con la cepa de *R. solanacearum* IVIA-
20 1602.1).

Según los datos de experimentación, la actividad lítica de los bacteriófagos caracterizados fue positiva para 35 cepas de *R. solanacearum* de distintos orígenes, huéspedes y años de aislamiento (Tabla 1). Entre ellas, 13 son de ámbito internacional y/o de referencia. Las restantes son todas ellas cepas aisladas en España, pertenecientes a la colección
25 propia del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA).

Tabla 1. Cepas de *R. solanacearum* sensibles a la acción lítica de los tres bacteriófagos de la presente invención.

CÓDIGO CEPA	PAÍS DE ORIGEN	HUÉSPED	AÑO
Cepas internacionales			
NCPPB ^a 1115	Reino Unido (Ex Egipto)	Patata	1961
NCPPB 1584	Chipre	Patata	1963
NCPPB 2505	Suecia	Patata	1972
NCPPB 2797	Suecia	<i>Solanum dulcamara</i>	1974
BR 264	Reino Unido	<i>Solanum dulcamara</i>	1993
Bordeaux 11-47	Francia	Berenjena	1994
Nantes 9-46	Francia	Tomate	1994
550	Bélgica (Ex Turquía)	Patata	1995
IPO-1609	Holanda	Patata	1995
Port 448	Portugal	Patata	1995
W 12	Bélgica	Patata	1996
WE 4-96	Reino Unido	Agua de río	1996
Tom 1	Reino Unido	Tomate	1997
Cepas españolas			
IVIA ^b -1602.1	Canarias	Patata	1996
IVIA-2049.53	Canarias	Suelo	1999
IVIA-2068.58a	Canarias	Patata	1999
IVIA-2068.61a	Canarias	Patata	1999
IVIA-2093.3.1	Canarias	Patata	1999
IVIA-2093.5T.1a	Canarias	Patata	1999
IVIA-2128.1b	Castilla-León	Patata	1999
IVIA-2128.3a	Castilla-León	Patata	1999
IVIA-2167.1a	Castilla-León	Agua de río	1999
IVIA-2167.2b	Castilla-León	Agua de río	1999
IVIA-2528.A ₁₋₂	Castilla-León	Agua de río	2001
IVIA-2528.A ₃ .1	Castilla-León	Agua de río	2001
IVIA-2528.54.A ₂	Castilla-León	Agua de río	2001
IVIA-2751.11	Extremadura	Agua de río	2003
IVIA-2762.1	Extremadura	Tomate	2003
IVIA-2762.4	Extremadura	Tomate	2003
IVIA-3090.1	Andalucía	Tomate	2005
IVIA-3090.5	Andalucía	Tomate	2005
IVIA-3205.A.22	Castilla-La Mancha	Agua de río	2006
IVIA-3243	Andalucía	Tomate	2006
IVIA-3359.9	Castilla-La Mancha	Agua de río	2007
IVIA-3359.10	Castilla-La Mancha	Agua de río	2007

^aNCPPB: National Collection of Plant Pathogenic Bacteria, Reino Unido.

^bIVIA: Colección de Bacterias del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, España.

- 5 Las cepas de la NCPPB están disponibles en esta colección internacional. El resto de cepas está disponible en la colección de bacterias fitopatógenas del IVIA.

También se ensayó la especificidad frente a otras especies de bacterias fitopatógenas y diversos aislados bacterianos de agua de río, para evaluar el posible impacto de los bacteriófagos aislados sobre la microbiota del agua natural.

La actividad lítica fue negativa para los 14 aislados bacterianos de agua de río con los que se realizaron los ensayos, seleccionados de varias muestras de agua por presentar distinta morfología colonial entre sí y con respecto a la del huésped. La actividad también resultó negativa para las 11 cepas de bacterias fitopatógenas ensayadas, pertenecientes a otros
5 géneros, lo que demuestra la especificidad de los bacteriófagos seleccionados por *R. solanacearum*. Se obtuvieron los mismos resultados con las cuatro posibles mezclas de dichos bacteriófagos antes mencionadas.

- Ejemplo 2. Caracterización estructural: caracterización morfológica y molecular.

2.1. Caracterización morfológica.

10 Se realizó un estudio de la morfología de los bacteriófagos seleccionados por microscopía electrónica de transmisión de las partículas víricas tras tinción negativa con ácido fosfotúngstico. Se observó en ellos la morfología característica de los bacteriófagos de la familia *Podoviridae*: cabezas poligonales de entre 40 y 60 nm de diámetro, sin envoltura, y con colas cortas (Fig. 3). Los bacteriófagos de dicha familia se caracterizan
15 también por poseer un genoma de ADN de doble cadena, hecho que se confirmó en los ensayos que se describen a continuación.

2.2. Caracterización molecular.

2.2.1. Extracción del ADN de los tres bacteriófagos.

Se obtuvieron suspensiones concentradas de las cápsidas de los tres tipos de
20 bacteriófagos a partir de los correspondientes lisados bacterianos (filtrados y tratados con DNAsa y RNAsa para degradar los ácidos nucleicos bacterianos), mediante protocolo de precipitación de cápsidas con polietilenglicol. Tras el tratamiento de estas cápsidas con proteinasa K, se realizó la extracción del ADN genómico de dichos aislados según protocolo con adición de fenol, cloroformo y alcohol isoamílico. Tras comprobar que su
25 concentración y pureza eran los adecuados, se analizaron por electroforesis en gel de agarosa para comprobar su integridad como paso previo al análisis de restricción (ver apartado 2.2.2) y a su purificación para su posterior secuenciación (ver apartado 2.2.3).

2.2.2. Análisis de restricción de los genomas de los tres bacteriófagos.

A partir de los ADN genómicos obtenidos de los tres bacteriófagos se realizó un análisis
30 de restricción de los mismos con diversas enzimas de restricción, elegidas por dar un patrón de bandas en bacteriófagos del género T7 de la familia *Podoviridae*. Estas enzimas fueron: *KpnI*, *Scal*, *SpeI* y *XmnI*. Se ensayó también *PstI* porque es una enzima

utilizada para cortar el genoma de los bacteriófagos de la especie anteriormente denominada *R. solanacearum* descritos en la patente japonesa JP4532959-B2 (número de publicación JP2005278513).

5 Como se aprecia en la Fig. 4, el perfil de bandas obtenido con estas cinco enzimas de restricción es aparentemente el mismo para los tres bacteriófagos: se observa una digestión completa con *XmnI* y digestiones parciales con *KpnI*, *Scal* y *SpeI*, mientras que no hay una digestión apreciable con *PstI*. Estos resultados indican la proximidad genética de los tres bacteriófagos entre sí, y la diferencia con respecto a los bacteriófagos de la solicitud de patente japonesa JP4532959-B2, cuyos genomas sí son cortados por *PstI*.

10 2.2.3. Secuenciación masiva de los ADN genómicos de los tres bacteriófagos y análisis bioinformático.

A partir de los ADN genómicos obtenidos pertenecientes a cada uno de los tres bacteriófagos, se procedió a la secuenciación masiva de sus bases nucleotídicas y posterior análisis bioinformático y anotación completa de las secuencias genómicas encontradas (SEQ ID NO:1, correspondiente a vRsoP-WF2; SEQ ID NO:2, correspondiente a vRsoP-WM2 y SEQ ID NO:3, correspondiente a vRsoP-WR2). Esta parte se encargó a la empresa Valgenetics, S.L. (Parque Científico de la Universidad de Valencia, Valencia, España).

Las principales conclusiones obtenidas fueron las siguientes:

20 El ensamblaje de las secuencias obtenidas por secuenciación masiva rindió unas secuencias ensambladas finales con un 100% de fidelidad, cuyos tamaños se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Tamaño de las secuencias genómicas obtenidas para cada bacteriófago.

SEQ ID NO:	Bacteriófago	Tamaño en pares de bases (pb)
1	vRsoP-WF2	40.409
2	vRsoP-WM2	40.861
3	vRsoP-WR2	40.408

25 Los resultados indicaron que cada una de las secuencias mayoritarias incluidas en las muestras de SEQ ID NO:1 (correspondiente a vRsoP-WF2), SEQ ID NO:2

(correspondiente a vRsoP-WM2) y SEQ ID NO:3 (correspondiente a vRsoP-WR2) es fácilmente identificable como un genoma completo de un bacteriófago perteneciente al género de virus similares a T7 (*T7-like virus*), cuya especie tipo es el bacteriófago de enterobacterias conocido como T7 (*Enterobacteria phage T7*), que pertenece a la familia *Podoviridae*.

La comparación de los genomas de los tres bacteriófagos mostró que presentaban entre ellos una identidad del 99% a lo largo del genoma. No obstante, el análisis de estas secuencias hizo patente la presencia de pequeñas diferencias genómicas en forma de mutaciones, inserciones y deleciones distribuidas a lo largo del genoma. Estas diferencias son más elevadas entre la secuencia de SEQ ID NO:2 (correspondiente a vRsoP-WM2) y las secuencias de SEQ ID NO:1 (correspondiente a vRsoP-WF2) y SEQ ID NO:3 (correspondiente a vRsoP-WR2), las cuales son casi idénticas. Así, la secuencia de SEQ ID NO:2 contiene una inserción de 468 nucleótidos en comparación con las secuencias de SEQ ID NO:1 y SEQ ID NO:3. La Fig. 5 muestra el extracto del alineamiento de secuencias que corresponde a esta zona de la inserción. Las pequeñas diferencias encontradas en las secuencias nucleotídicas indican que los bacteriófagos vRsoP-WF2, vRsoP-WM2 y vRsoP-WR2 son bacteriófagos distintos de una misma especie vírica (Tabla 3).

Tabla 3. Comparación de las secuencias de los genomas de los bacteriófagos vRsoP-WF2, vRsoP-WM2 y vRsoP-WR2

Secuencia comparada (SEQ ID NO:)	Secuencia patrón de comparación (SEQ ID NO:)	Cobertura*	Identidad**
1	2	98%	99%
1	3	100%	99%
2	3	99%	99%

* Homología entre las secuencias de los genomas comparados, en porcentaje.

** Nucleótidos coincidentes dentro de las zonas de homología de los genomas comparados, en porcentaje.

Adicionalmente, mediante los análisis *BlastN* y *Blast2Seq* realizados con las herramientas de uso público accesibles a través de la página web del Centro Nacional de Información Biotecnológica de EE.UU. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), se comprobó que los genomas de los bacteriófagos vRsoP-WF2, vRsoP-WM2 y vRsoP-WR2 exhiben algunas regiones con alta identidad (alrededor de un 70%) con los bacteriófagos de: *Ralstonia* RSB1, *Vibrio*

VP4 y, sobre todo, *Rhizobium* RHEph01, todos ellos del tipo de los bacteriófagos similares a T7 (*T7-like*) (Tabla 4). Estas regiones (correspondientes al 5-23% del genoma completo de los bacteriófagos vRsoP-WF2, vRsoP-WM2 y vRsoP-WR2) pertenecen a regiones altamente conservadas.

- 5 Tabla 4. Comparación de las secuencias de los genomas de los bacteriófagos vRsoP-WF2, vRsoP-WM2 y vRsoP-WR2 con genomas de varios bacteriófagos *T7-like*.

Secuencia comparada (SEQ ID NO:)	Genoma del virus con la secuencia patrón de comparación (nº Acceso GenBank)	Cobertura*	Identidad**
1	Φ <i>Ralstonia</i> RSB1 (AB597179.1)	2%	84%
1	Φ T7 (NC_001604.1)	5%	67%
1	Φ <i>Rhizobium</i> RHEph01 (JX483873.1)	19%	68%
1	Φ <i>Vibrio</i> VP4 (NC_007149.1)	5%	70%
2	Φ <i>Ralstonia</i> RSB1 (AB597179.1)	15%	66%
2	Φ T7 (NC_001604.1)	5%	67%
2	Φ <i>Rhizobium</i> RHEph01 (JX483873.1)	23%	68%
2	Φ <i>Vibrio</i> VP4 (NC_007149.1)	4%	70%
3	Φ <i>Ralstonia</i> RSB1 (AB597179.1)	15%	66%
3	Φ T7 (NC_001604.1)	5%	67%
3	Φ <i>Rhizobium</i> RHEph01 (JX483873.1)	22%	68%
3	Φ <i>Vibrio</i> VP4 (NC_007149.1)	2%	70%

* Homología entre las secuencias de los genomas comparados, en porcentaje.

** Nucleótidos coincidentes dentro de las zonas de homología de los genomas comparados, en porcentaje.

- 10 Estos resultados revelan que, excepto en estas zonas conservadas dentro de los bacteriófagos *T7-like*, los genomas de los bacteriófagos vRsoP-WF2, vRsoP-WM2 y vRsoP-WR2 contienen una secuencia nucleotídica altamente divergente de la de los demás bacteriófagos depositados en el *GenBank*. Por lo tanto, estas elevadas diferencias en secuencia nucleotídica avalan que los bacteriófagos vRsoP-WF2, vRsoP-WM2 y
- 15 vRsoP-WR2 corresponden a una nueva especie dentro del género de los virus *T7-like*.

Por otra parte, la identificación de los marcos abiertos de lectura (ORF: *open reading frame*) y de elementos característicos de bacteriófagos reveló que las secuencias de los genomas de los bacteriófagos vRsoP-WF2, vRsoP-WM2 y vRsoP-WR2 poseen una organización genómica y expresión de los ORFs similar entre ellos, y a la del bacteriófago T7 en parte del genoma (Fig. 6).

En resumen, los tres bacteriófagos de la presente invención son tres aislados de la misma especie vírica, tratándose de una nueva especie catalogada como perteneciente al género T7 de la familia *Podoviridae*, con organización muy similar pero distinta a la de los bacteriófagos T7 depositados en el *GenBank* (Fig. 6). Los nuevos bacteriófagos presentan secuencias distintas a los bacteriófagos T7, sólo se parecen en algunas zonas muy conservadas, como las relacionadas con la replicación y la encapsidación.

- Ejemplo 3. Supervivencia de los tres bacteriófagos en agua natural de río.

Se ensayó la capacidad de supervivencia de los tres bacteriófagos seleccionados en dos tipos diferentes de agua de río: Tormes, de Salamanca, y Turia, de Valencia. Estos dos tipos de agua presentaron diferencias destacables en los principales parámetros físico-químicos consultados de su composición: en concreto con el agua del río Turia los valores fueron comparativamente unas 100 veces mayores para el Mn, 10 veces mayores para el Fe, entre 5 y 10 veces mayores para los cloruros y el triple de nitratos; con el agua del río Tormes los valores fueron aproximadamente 4 veces más altos de fosfatos; los valores medios de pH estuvieron en torno a 8,13 en el agua del río Turia y 7,36 en el agua del río Tormes. Los rangos de temperatura medioambiental oscilaron entre 3,5 a 20,9°C para el río Tormes y de 11,5 a 22,0°C para el río Turia, es decir, ambos rangos se encuentran dentro de los valores de temperatura utilizados para los ensayos de supervivencia de los bacteriófagos, que fueron de 4°C, 14°C y 24°C, y a los valores de pH de 7,2 para el agua del río Tormes y 8,1 para el agua del río Turia.

Sorprendentemente, se observó que todos los bacteriófagos mantuvieron su actividad lítica frente a *R. solanacearum* tras más de cinco meses en estas condiciones, en ausencia del huésped ya que, previamente a la inoculación, el agua se había filtrado por 0,22 µm y autoclavado.

La Fig. 7 muestra sendas gráficas con la evolución de las unidades formadoras de calvas por mililitro (UFC/ml) tanto en el agua del río Tormes (panel A) como en agua del río Turia (panel B), en las muestras incubadas a 14°C. Se observa que las UFC/ml se mantienen en ausencia de *R. solanacearum*. Las curvas de supervivencia de los tres bacteriófagos en las muestras mantenidas a 4°C y 24°C fueron similares.

Así, cabe destacar que los tres bacteriófagos se mantienen activos y con niveles altos de actividad lítica a las tres temperaturas ensayadas durante más de 5 meses.

Además, a 4°C y 14°C se pudo confirmar la supervivencia y mantenimiento de la actividad lítica de todos los bacteriófagos durante un período de tiempo tan prolongado como tres años. Este resultado es interesante de cara a su conservación dentro de este rango de temperaturas cuando se requieran períodos tan prolongados de almacenamiento.

- Ejemplo 4. Biocontrol de la marchitez bacteriana causada por *R. solanacearum*.

4.1. Capacidad de control de las poblaciones bacterianas en agua natural de río.

10 Puesto que los tres bacteriófagos objeto de la invención presentaron una actividad lítica similar a distintas temperaturas y pHs en las aguas naturales ensayadas, inicialmente se eligió uno de ellos como modelo (bacteriófago vRsoP-WF2) para realizar los ensayos de biocontrol de la marchitez bacteriana causada por *R. solanacearum*.

15 Se realizó un ensayo de coinoculación de bacteria-bacteriófago en agua de río estéril, en un sistema cerrado y controlado en el laboratorio, para la cuantificación simultánea de los niveles poblacionales de ambos microorganismos con respecto al tiempo. Para ello, la bacteria se inoculó a una concentración de 10^6 unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/ml) en el medio líquido (agua de río estéril) y el bacteriófago se añadió a una concentración de 10^3 unidades formadoras de calvas por mililitro (UFC/ml). Como se
20 observa en la Fig. 8, se confirmó que las poblaciones de la bacteria inoculada (cepa de referencia IVIA-1602.1 de *R. solanacearum*) descendían significativamente en pocas horas por la actividad lítica de los bacteriófagos inoculados (bacteriófago vRsoP-WF2), prácticamente desapareciendo la bacteria patógena al cabo de unas 10 horas.

25 4.2. Ensayos de biocontrol de marchitez bacteriana en plantas huésped: bacteriófago vRsoP-WF2.

Se ensayó la capacidad del bacteriófago de agua de río vRsoP-WF2 para el biocontrol de la enfermedad causada por *R. solanacearum* en dos experiencias independientes, regando plantas de un huésped susceptible (plantas de tomate) con una concentración de la cepa bacteriana de referencia IVIA 1602.1 (10^5 UFC/ml) y dos concentraciones
30 diferentes de dicho bacteriófago (10^6 y 10^9 UFC/ml), y sus diluciones decimales (10^5 y 10^8 UFC/ml, respectivamente), en condiciones de temperatura y humedad óptimas para el desarrollo de la enfermedad. El procedimiento experimental se muestra en la Fig. 9.

Los resultados de ambas experiencias se muestran en la Fig. 10. Globalmente, la incidencia de la enfermedad disminuyó hasta el 0-5% en plantas regadas con el patógeno y el bacteriófago, en experimentos independientes, mientras que en los controles sin bacteriófagos la incidencia de la marchitez fue del 25-50%.

5 4.3. Ensayos de biocontrol de marchitez bacteriana en plantas huésped: aislados vRsoP-WF2, vRsoP-WM2 y vRsoP-WR2, y sus combinaciones.

De manera similar a las experiencias de biocontrol en planta realizadas con el bacteriófago vRsoP-WF2 descritas en el apartado 4.2, se llevó a cabo un macroensayo, en el que se pudo estudiar simultáneamente la capacidad de biocontrol de cada uno de los tres bacteriófagos vRsoP-WF2, vRsoP-WM2 y vRsoP-WR2, tanto por separado como a través de mezclas con combinaciones de ellos dos a dos y la mezcla de los tres. Se considera un macroensayo porque se realiza con un elevado número de plantas, lo que requiere del espacio suficiente para su incubación y de, al menos, dos personas cualificadas para su ejecución. En todos los casos se inocularon plantas de tomate, que son un huésped susceptible del patógeno, ensayándose aproximadamente 35 plantas por condición experimental, lo que supone unas 315 plantas. Dichas plantas se mantuvieron en cámara climática de las dimensiones adecuadas, en ciclos día/noche de 16 h de luz a 26°C y 8 h de oscuridad a 22°C y una humedad de aproximadamente el 70%, en condiciones de contención biológica en un laboratorio de bioseguridad. En el citado macroensayo, la concentración de *R. solanacearum* (cepa IVIA 1602.1) en el agua de riego fue de 10⁵ UFC/ml, mientras que la concentración total de bacteriófagos fue de 10⁷ UFC/ml en todas las condiciones experimentales ensayadas.

La gráfica de la Fig. 11 muestra los resultados obtenidos. Dichos resultados indican que:

- el bacteriófago vRsoP-WR2 es el más efectivo de los tres, dando lugar a una mayor disminución de la marchitez bacteriana cuando se añade al agua de riego a la misma concentración que los otros dos bacteriófagos,
- son más efectivas cualquiera de las mezclas de bacteriófagos (bien las combinaciones binarias, o la combinación que incluye a los tres) que los bacteriófagos por separado.

30 Todos estos experimentos demuestran la potencialidad de los bacteriófagos líticos de la presente invención, aislados en varios puntos diferentes de la geografía española, para el biocontrol de *R. solanacearum* y, por lo tanto, la aplicabilidad de esta actividad lítica tanto en el tratamiento del agua medioambiental de uso agrícola, o de otros usos, contaminada

con este patógeno, como en la prevención y/o control de la enfermedad que causa en campo. Esta capacidad de biocontrol es especialmente importante si se tiene en cuenta que no hay actualmente métodos de control eficaces en suelo, ni disponibles en agua. Y, en el presente caso, como se ha discutido previamente y se demuestra en los experimentos anteriores, los agentes de biocontrol proporcionados por la presente invención presentan la inesperada característica de su elevada supervivencia en agua en condiciones de temperatura medioambiental habituales en España, lo que es una ventaja tanto para su aplicación a las plantas mediante el agua de riego y para el control y prevención de la presencia de *R. solanacearum* en la misma, como para el fácil y prolongado mantenimiento de las formas de comercialización de los bacteriófagos de la invención previamente a su utilización. Dicho mantenimiento puede tener lugar en medio acuoso durante largo tiempo sin pérdidas severas de la actividad lítica y ni siquiera requeriría, antes de su aplicación directa al agua, de la dilución previa de los bacteriófagos o de su mezcla con algún tipo de soporte físico o químico que actuara como vehículo para facilitar su interacción con la bacteria diana o que garantizara su estabilidad hasta conseguirlo, de forma que la aplicación al agua de riego o a corrientes o reservorios de agua en los que se quiera controlar posibles contaminaciones con *R. solanacearum* podría ser, por ejemplo, por simple vertido sobre dicha agua.

Depósito de microorganismos

Los bacteriófagos vRsoP-WF2, vRsoP-WM2 y vRsoP-WR2, con capacidad para lisar células de *R. solanacearum* han sido depositados en la colección alemana de cultivos microbianos Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche-Sammlung von Mikro-organismen und Zellkulturen GmbH, Inhoffenstrasse 7B, 38124 Braunschweig, Alemania, siguiendo las normas del Tratado de Budapest para el depósito de microorganismos para fines de patentes, en las siguientes fechas y se les ha asignado el siguiente número de acceso (Tabla 5).

Tabla 5. Datos del depósito de los bacteriófagos en la colección alemana DSMZ.

Material	Fecha de Depósito	Número de acceso
vRsoP-WF2	15 de abril de 2015	DSM 32039
vRsoP-WM2	15 de abril de 2015	DSM 32040
vRsoP-WR2	15 de abril de 2015	DSM 32041

Referencias

- Addy, H.S., Askora, A., Kawasaki, T, Fujie, M. & Yamada, T. 2012. Utilization of filamentous phage RSM3 to control bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. *Plant Diseases*. 96:1204-1209.
- 5 Álvarez, B., Biosca, E.G. & López, M.M. 2006a. River water biota affecting *Ralstonia solanacearum* survival: characterization of specific bacteriophages and its potential use for biocontrol in irrigation water. The 4th International Bacterial Wilt Symposium. Abst. p. 46. York (UK).
- 10 Álvarez, B., Biosca, E.G. & López, M.M. 2006b. Caracterización de fagos líticos de *Ralstonia solanacearum* aislados de agua de río: uso potencial en biocontrol. XIII Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Abst. p. 62. Murcia
- Álvarez, B., López, M.M. & Biosca, E.G. 2007. Influence of native microbiota on survival of *Ralstonia solanacearum* phylotype II in river water microcosmos. *Appl. Environ. Microbiol.* 73:7210–7217.
- 15 Álvarez, B., López, M.M. & Biosca, E.G. 2008. Survival strategies and pathogenicity of *Ralstonia solanacearum* phylotype II subjected to prolonged starvation in environmental water microcosms. *Microbiology*. 154:3590-3598.
- 20 Álvarez, B., Biosca, E.G. & López, M.M. 2010. On the life of *Ralstonia solanacearum*, a destructive bacterial plant pathogen. En: Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology. Mendez Vilas, A. ed., pp. 267-279. World Scientific Publishing, Singapur.
- Anónimo. 1998. Council Directive 98/57/EC of 20 July 1998 on the control of *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. *Off J Eur Communities* L235, 1-39.
- 25 Anónimo. 2000. Council Directive 2000/29/EC of 8 May 2000 on protective measures against the introduction into the Community of organisms harmful to plants or plant products and against their spread within the Community. *Off J Eur Communities* L169, 1-112.
- Anónimo. 2006. Commission Directive 2006/63/EC of 14 July 2006: amending Annexes II to VII to Council Directive 98/57/EC on the control of *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. *Off J Eur Communities* L206, 36-106.
- 30 Brion, G.M., Meschke, J.S. & Sobsey, M.D. 2002. F-specific RNA coliphages: occurrence, types, and survival in natural waters. *Water Research*. 36:2419-2

- Caruso, P., Palomo, J.L., Bertolini, E., Álvarez, B., López, M.M. & Biosca, E.G. 2005. Seasonal variation of *Ralstonia solanacearum* biovar 2 populations in a Spanish river: recovery of stressed cells at low temperatures. *Appl. Environ. Microbiol.* 2005. 71:140-8.
- Fujiwara, A., Fujisawa, M., Hamasaki, R., Kawasaki, T., Fujie, M. & Yamada, T. 2011. Biocontrol of *Ralstonia solanacearum* by treatment with lytic bacteriophages. *Appl. Environ. Microbiol.* 77(12):4155-4162.
- Hartman, G. L. & Elphinstone, J. G. 1994. Advances in the control of *Pseudomonas solanacearum* race 1 in major food crops. En: Bacterial wilt: the disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum*. Hayward, A. C. & Hartman, G. L. eds., pp. 157-177. Wallingford: CAB International.
- Jones J.B., Jackson, L.E., Balogh, B., Obradovic, A., Iriarte, F.B. & Momol, M.T. 2007. Bacteriophages for Plant Disease Control. *Annu. Rev. Phytopathol.* 45:245-62.
- Kawasaki, T., Shimizu, M., Satsuma, H., Fujiwara, A., Fujie, M., Usami, S. & Yamada T. 2009. Genomic characterization of *Ralstonia solanacearum* phage ϕ RSB1, a T7-like wide-host-range phage. *J. Bacteriol.* 191:422–427.
- López, M. M. & Biosca, E. G. 2005. Potato bacterial wilt management: new prospects for an old problem. En: Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex, Allen, C., Prior, P. & Hayward, A. C. eds., pp. 205-224. APS Press St. Paul, MN.
- Marco-Noales, E., Bertolini, E., Morente, C. & López MM. 2008. Integrated approach for detection of nonculturable cells of *Ralstonia solanacearum* in asymptomatic *Perlargonium* spp. cuttings. *Phytopathology* 98(8): 949-955.
- McFeters, G.A. & LeChevallier, M.W. 2000. Chemical disinfection and injury of bacteria in water. En: Nonculturable microorganisms in the environment. Colwell R.R. & Grimes J.D: eds., pp 255-275. American Society for Microbiology Press, Washington, DC.
- Montesinos, E., Badosa, E., Bonaterra, A., Peñalver, R. & López, M.M. 2008. Aplicación de la biotecnología al control biológico de bacterias y hongos fitopatógenos. En: Herramientas biotecnológicas en fitopatología. 2008. Pallás, V., Escobar, C., Rodríguez-Palenzuela, P. & Marcos J.M. eds., pp. 317-343. Ediciones Mundi-Prensa.
- Oliver, JD., Dagher, M. & Linden K. 2005. Induction of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* into the viable but nonculturable state following chlorination of wastewater. *J Water Health.* 3(3):249-57.
- Pereira, C., Silva, YJ., Santos, AL., Cunha, A., Gomex, N.C.M. & Almeida, A. 2011. Bacteriophages with potential for inactivation of fish pathogenic bacteria: survival, host

specificity and effect on bacterial community structure. *Mar. Drugs*. 9:2236-2255; doi:10.3390/md91112236.

Safni, I., Cleenwerck, I., De Vos, P., Fegan, M., Sly, L. & Kappler, U. 2014. Polyphasic taxonomic revision of the *Ralstonia solanacearum* species complex: proposal to emend the descriptions of *Ralstonia solanacearum* and *Ralstonia syzygii* and reclassify current *R.* *syzygii* strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii* subsp. nov., *R. solanacearum* phylotype IV strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *indonesiensis* subsp. nov., banana blood disease bacterium strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *celebesensis* subsp. nov. and *R. solanacearum* phylotype I and III strains as *Ralstonia pseudosolanacearum* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 64:3087–3103.

Santander R.D., Catalá-Senent J.F., Marco-Noales, E. & Biosca, E.G. 2012. *In planta* recovery of *Erwinia amylovora* viable but nonculturable cells. *Trees*. 26 (1):75-82.

Yamada, T., Kawasaki, T., Nagata, S., Fujiwara, A., Usami S. & Fujie, M. 2007. New bacteriophages that infect the phytopathogen *Ralstonia solanacearum*. *Microbiology*. 153:2630-2639.

Yamada, T., Satoh, S., Ishikawa, H., Fujiwara, A., Kawasaki, T., Fujie, M. & Ogata, H. 2010. A jumbo phage infecting the phytopathogen *Ralstonia solanacearum* defines a new lineage of the *Myoviridae* family. *Virology*. 398(1):135-47.

REIVINDICACIONES

1. Un bacteriófago con capacidad de lisar células de *Ralstonia solanacearum* seleccionado del grupo de:

- 5 a) vRsoP-WF2 (DSM 32039), vRsoP-WM2 (DSM 32040), vRsoP-WR2 (DSM 32041), o
- b) un podovirus cuyo genoma presenta la secuencia de SEQ ID NO:1 (correspondiente a vRsoP-WF2), SEQ ID NO:2 (correspondiente a vRsoP-WM2) ó SEQ ID NO:3 (correspondiente a vRsoP-WR2).

10

2. Bacteriófago según la reivindicación 1, que es el bacteriófago vRsoP-WM2 (DSM 32040) o el bacteriófago vRsoP-WR2 (DSM 32041).

15 3. Una composición que comprende al menos uno de los bacteriófagos de la reivindicación 1, o combinaciones de los mismos.

4. Composición según la reivindicación 3, que comprende una de las siguientes combinaciones de bacteriófagos:

- 20 a) vRsoP-WF2 y vRsoP-WM2;
- b) vRsoP-WF2 y vRsoP-WR2;
- c) vRsoP-WM2 y vRsoP-WR2;
- d) vRsoP-WF2, vRsoP-WM2 y vRsoP-WR2.

25 5. Composición según la reivindicación 4, en la que cada uno de los bacteriófagos de la combinación está presente en la misma concentración.

6. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5, que está en forma de suspensión en agua o en una solución acuosa.

30 7. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6, en la que la concentración total de bacteriófagos con capacidad de lisar células de *R. solanacearum* oscila entre 10^2 y 10^9 unidades formadoras de calvas por mililitro (UFC/ml).

35 8. Composición según la reivindicación 7, en la que la concentración total de bacteriófagos con capacidad de lisar células de *R. solanacearum* oscila entre 10^5 y 10^9 unidades formadoras de calvas por mililitro (UFC/ml).

9. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 8, que comprende un vehículo y/o excipiente agronómicamente aceptable.

5 10. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 9, que adicionalmente comprende un agente de control químico de *R. solanacearum* o un agente de control biológico de *R. solanacearum* distinto de un bacteriófago de la reivindicación 1 ó 2.

10 11. Composición según la reivindicación 10, que adicionalmente comprende un agente de control biológico de *R. solanacearum* que es un bacteriófago lítico o lisogénico con actividad frente a dicha bacteria.

15 12. Uso de un bacteriófago de la reivindicación 1 ó 2 o de una composición de una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 11 para el control de *R. solanacearum* en agua de cursos naturales, corrientes de agua canalizadas, reservorios naturales de agua, reservorios artificiales de agua, agua de riego y reservorios de aguas de riego, que va a ser utilizada para el riego de cultivos.

20 13. Uso según la reivindicación 12, en el que el bacteriófago de la reivindicación 1 ó 2 o la composición de una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 11 se añade a un reservorio natural de agua o a un reservorio artificial de agua.

25 14. Uso según la reivindicación 13, en el que el agua se mantiene en el reservorio a una temperatura comprendida entre 4°C y 30°C, o la temperatura media del agua del reservorio está comprendida entre 4°C y 24°C, ambos valores incluidos.

30 15. Uso según la reivindicación 14, en el que el agua se mantiene en el reservorio a una temperatura comprendida entre 4°C y 24°C.

 16. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 15, en el que el pH del agua está en el intervalo de 6,5 a 9,0, ambos valores incluidos.

35 17. Uso de un bacteriófago de la reivindicación 1 ó 2 o de una composición de una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 11 para el control de *R. solanacearum* en suelo, mediante la adición de uno o más de los bacteriófagos de la reivindicación 1 ó 2 o

de una composición de una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 11 a dicho suelo a través del agua de riego con la que se irriga el suelo, tratada previamente con el o los bacteriófagos mencionados o con la mencionada composición.

5 18. Un procedimiento para prevenir o tratar la marchitez provocada por *R. solanacearum* en una planta, que comprende las etapas de:

- a) añadir al agua que vaya a utilizarse para regar la planta una composición de una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 11;
- b) regar la planta con dicha agua.

10

 19. Procedimiento según la reivindicación 18, en el que el pH del agua está en el intervalo de 6,5 a 9,0, ambos valores incluidos.

 20. Procedimiento según la reivindicación 18 ó 19, en el que el agua a la que se le ha añadido previamente al riego, la composición de una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 11, se mantiene a una temperatura comprendida entre 4°C y 30°C o una temperatura media comprendida entre 4°C y 24°C, ambos valores incluidos.

 21. Procedimiento según la reivindicación 20, en el que el agua se mantiene a una temperatura comprendida entre 4°C y 24°C.

 22. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 21 que comprende una etapa en la que el agua de riego se mantiene en un reservorio natural o artificial desde que se añade la composición y previamente al regar la planta con dicha agua.

25

 23. Procedimiento según la reivindicación 22 en el que, previamente a regar la planta con el agua, el agua de riego se mantiene en un reservorio artificial que es un depósito sin cobertura superficial o un depósito cubierto.

30

 24. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 23, que comprende una etapa previa en la que la composición de una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 11 que se añade al agua de riego se mantiene a una temperatura de entre 4°C y 14°C, ambas incluidas.

35

25. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 24, en el que el riego se produce por un sistema de riego por inundación parcial o total, por goteo, subterráneo mediante tuberías perforadas, por exudación a través de tuberías porosas, o por aspersión.

5

26. Procedimiento según la reivindicación 25, en el que el riego se produce por inundación parcial.

27. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 26, en el que la planta se está cultivando en un campo, en un vivero, en un invernadero o en cultivo hidropónico.

28. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 27, en el que la planta es de una especie perteneciente a la familia de las solanáceas y susceptible y/o tolerante a *R. solanacearum* o de cualquier otra especie susceptible y/o tolerante a *R. solanacearum*.

29. Procedimiento según la reivindicación 28, en el que la planta se selecciona del grupo de plantas de patata (*Solanum tuberosum*), tomate (*Solanum lycopersicum*), pimiento (*Capsicum annuum*), berenjena (*Solanum melongena*).

30. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 29, que adicionalmente comprende una etapa previa a la aplicación de dicho procedimiento en la que el agua de riego es sometida a otra u otras estrategias de control químico, físico, y/o biológico frente al mismo patógeno de la planta u otros.

31. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 30, que comprende una etapa opcional en la que se aplican al suelo de crecimiento de la planta compuestos de cobre, antibióticos y/o fumigantes del suelo.

30

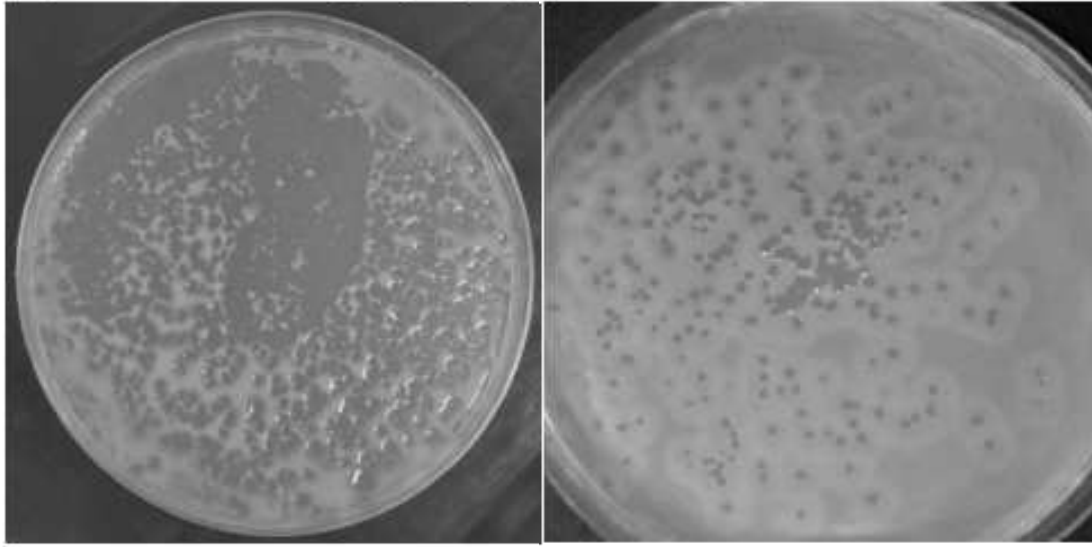


Fig. 1

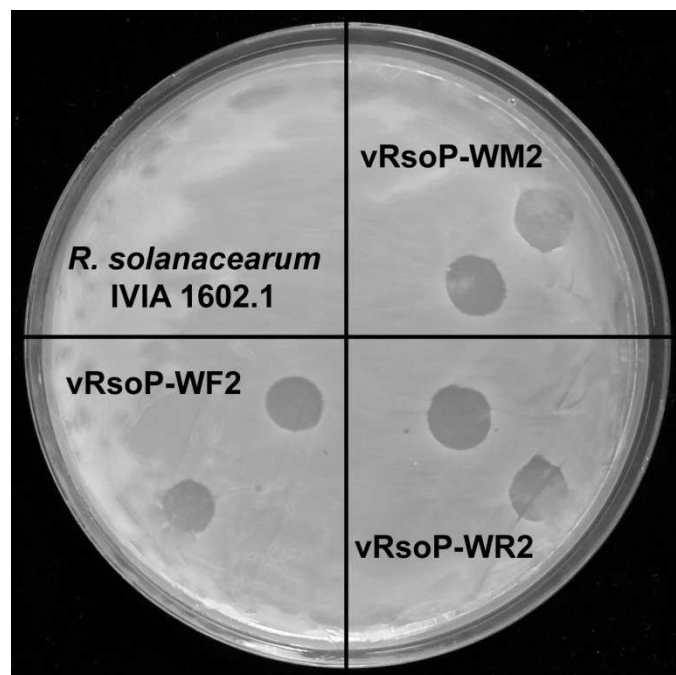


Fig. 2



Fig. 3

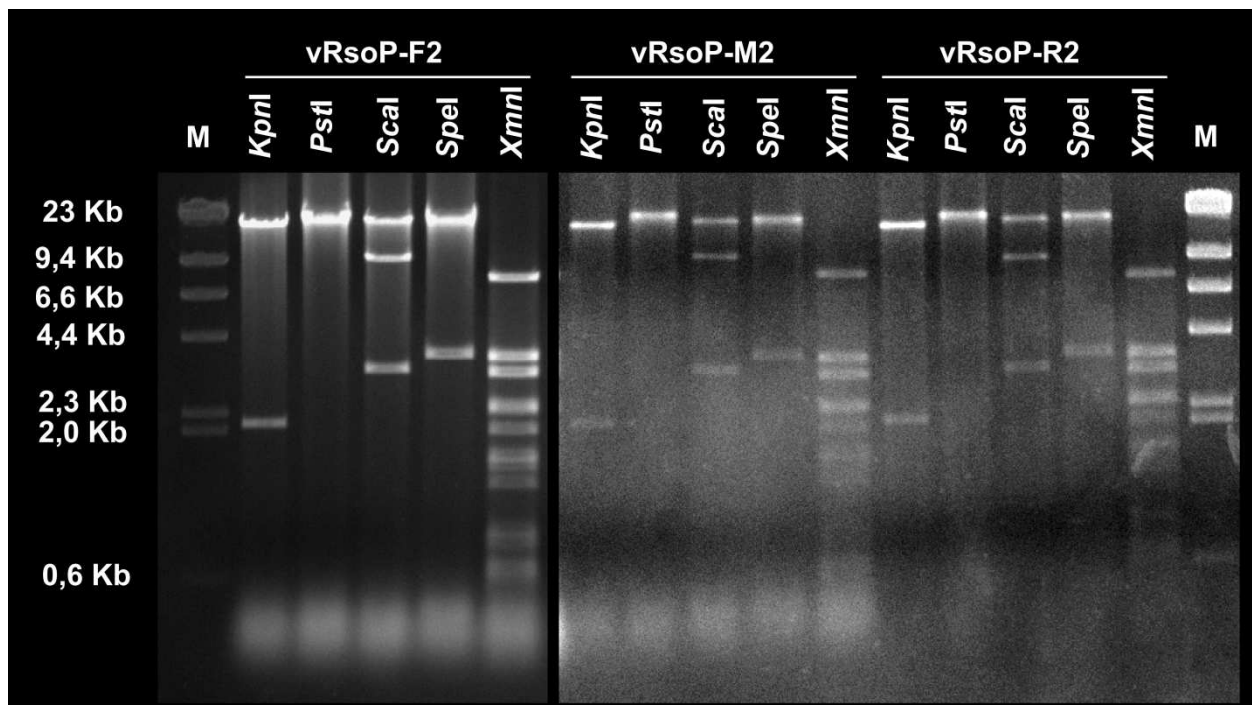


Fig. 4

ES 2 592 352 B2

```

vRsoP-WF2_ TCCAGAACTTCGCCATGATCCACGACTCCTTCGGGACCACCGCGGGTGACGTGGAGGAGA 8081
vRsoP-WR2_ TCCAGAACTTCGCCATGATCCACGACTCCTTCGGGACCACCGCGGGTGACGTGGAGGAGA 8080
vRsoP-WM2_ TCCAGAACTTCGCCATGATCCACGACTCCTTCGGGACCACCGCGGGTGACGTGGAGGAGA 8159
*****

vRsoP-WF2_ TGTATCGGGTGGTCCGCGAGAGCTTCGTGGAGATGTACTCCGAGGTGCGCGTCTTGGAAAG 8141
vRsoP-WR2_ TGTATCGGGTGGTCCGCGGGAGCTTCGTGGAGATGTACTCCGAGGTGCGCGTCTTGGAAAG 8140
vRsoP-WM2_ TGTATCGGGTGGTCCGCGAGAGCTTCGTGGAGATGTACTCCGAGGTGCGCGTCTTGGAAAG 8219
*****

vRsoP-WF2_ ACTTCCGGGATGAGATCGCGGAGCAACTTTCGAGAAGGCCAAGCGAAGATGCCGCCGC 8201
vRsoP-WR2_ ACTTCCGGGATGAGATCGCGGAGCAACTTTCGAGAAGGCCAAGCGAAGATGCCGCCGC 8200
vRsoP-WM2_ ACTTCCGGGATGAGATCGCGGAGCAACTTTCGAGAAGGCCAAGGCCAAGATGCCCGATC 8279
*****

vRsoP-WF2_ TACCCGAGCGCGGTCTCCTGGAGTTGTCTCGCGTCTGCGAGAGCCGCTATTGCTTTGCG-- 8259
vRsoP-WR2_ TACCCGAGCGCGGTCTCCTGGAGTTGTCTCGCGTCTGCGAGAGCCGCTATTGCTTTGCG-- 8258
vRsoP-WM2_ TACCCGCCCGCGGCCCTCCTGGAGTTGTCTCGTGTGTGCGAGAGCCGCTACTGTTTTGCGT 8339
**** * *****

vRsoP-WF2_ -----
vRsoP-WR2_ -----
vRsoP-WM2_ AGACTGTTTTACATTTGCAACTATTCTTATGAGTGAGTGTAAGAAGTGCGGGGTTGCCT 8399

vRsoP-WF2_ -----
vRsoP-WR2_ -----
vRsoP-WM2_ TGGTGCCAGGTGAGAACTGGTATCCGTCCTCGCAAAGAAGAACAACCAGGTGTGTAAGC 8459

vRsoP-WF2_ -----
vRsoP-WR2_ -----
vRsoP-WM2_ GGTGTACACGGCACGGAGCGAGGCCAAGCGGATTGAAGACCGCGAGACCAACCTCCCGA 8519

vRsoP-WF2_ -----
vRsoP-WR2_ -----
vRsoP-WM2_ AGTGGATGCTGCGAAACGCCAGGAATCGGGCCAAGGCACAGGGACTCCCATTCGACCTGG 8579

vRsoP-WF2_ -----
vRsoP-WR2_ -----
vRsoP-WM2_ AGGAGTCGGACATCCAAATTCGGCTCCTCTGTCCCCTGCTGGGCATCCCCTGGAAGTCT 8639

vRsoP-WF2_ -----
vRsoP-WR2_ -----
vRsoP-WM2_ CACGCGGGCACTTCACGGACAACCTCCCGGCTCTGGACAAGTTCATCCCGAGCTTGGGT 8699

vRsoP-WF2_ -----
vRsoP-WR2_ -----
vRsoP-WM2_ ACGTGAAGGGCAACGTGGCCGTCATTTCTCAGAAGGCCAACGTGATGAAGTCCAACGCCA 8759

vRsoP-WF2_ -----CTGAACCCTTCCAC 8273
vRsoP-WR2_ -----CTGAACCCTTCCAC 8272
vRsoP-WM2_ CCATTCAGGAGGTGGAGGCACTGGCCCGGTGGATGCGTAGTCGCGCCTGAACCCCTCCAC 8819
*****

vRsoP-WF2_ ATCTGGAAGAGTTGAGCCGGGGGAACGATTAGGTGCCACACATGGATAAACCAGCCGCCG 8333
vRsoP-WR2_ ATCTGGAAGAGTTGAGCCGGGGGAACGATTAGGTGCCACACATGGATAAACCAGCCGCCG 8332
vRsoP-WM2_ ATCTGGAAGAGTTGAGCCGGGGGAACGATTAGGTGCCACACATGGATAAACCAGCCGCCG 8879
*****

vRsoP-WF2_ TTCCCCCGGTGGCCTCTCCCAGACAACCGATGGAACGCAACGAACACGAAGTATCGGAC 8393
vRsoP-WR2_ TTCCCCCGGTGGCCTCTCCCAGACAACCGATGGAACGCAACGAACACGAAGTATCGGAC 8392
vRsoP-WM2_ TTCCCCCGGTGGCCTCTCCCAGACAACCGATGGAACGCAACGAACACGAAGTATCGGAC 8939
*****

vRsoP-WF2_ CAGTACGAGTCCGCACTTGGCCGCGGATTGCTCAGTGGCGCACCGGACGGCCCATCCCG 8453
vRsoP-WR2_ CAGTACGAGTCCGCACTTGGCCGCGGATTGCTCAGTGGCGCACCGGACGGCCCATCCCG 8452
vRsoP-WM2_ CAGTACGAGTCCGCACTTGGCCGCGGATTGCTCAGTGGCGCACCGGACGGCCCATCCCG 8999
*****

```

Fig. 5

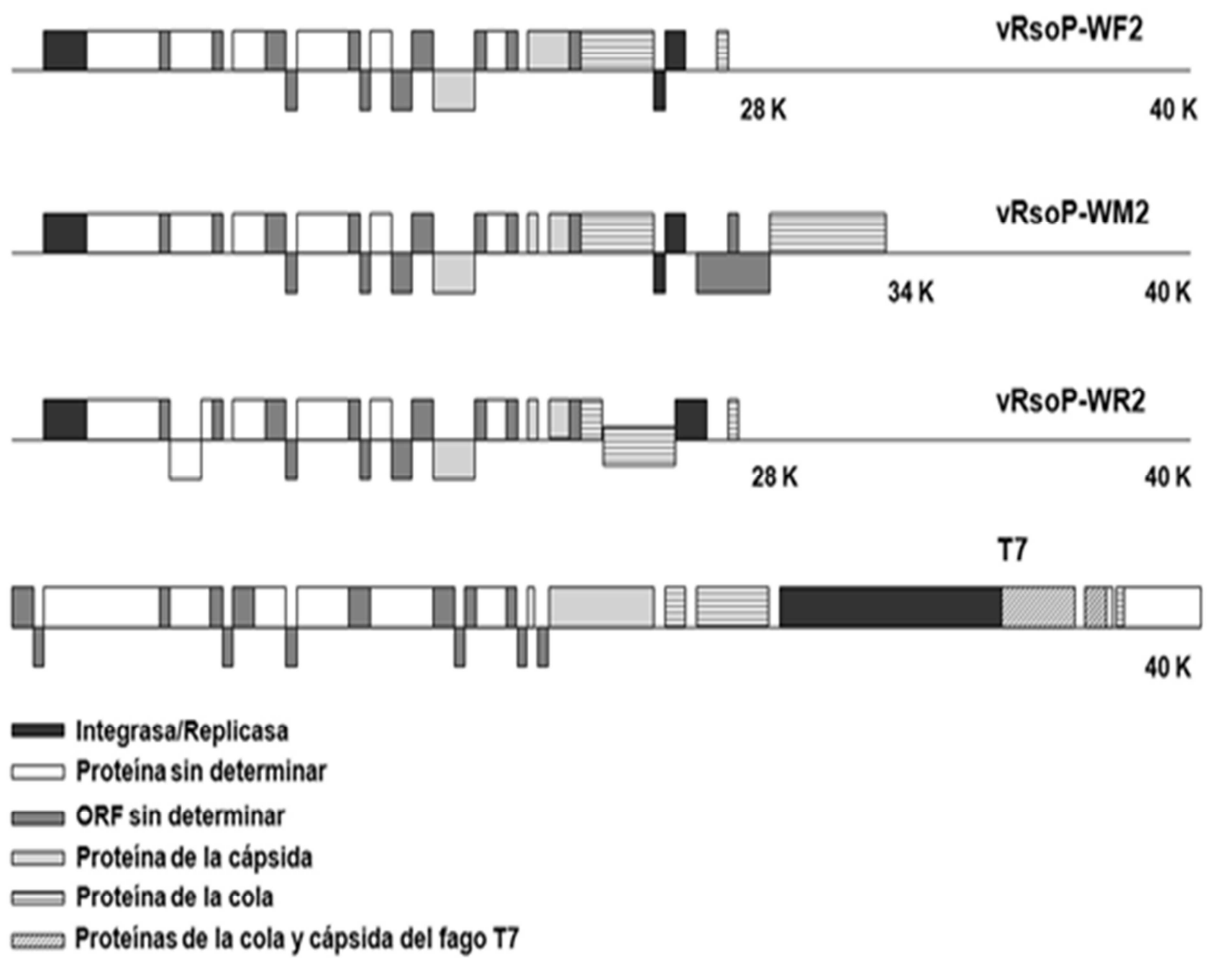


Fig. 6

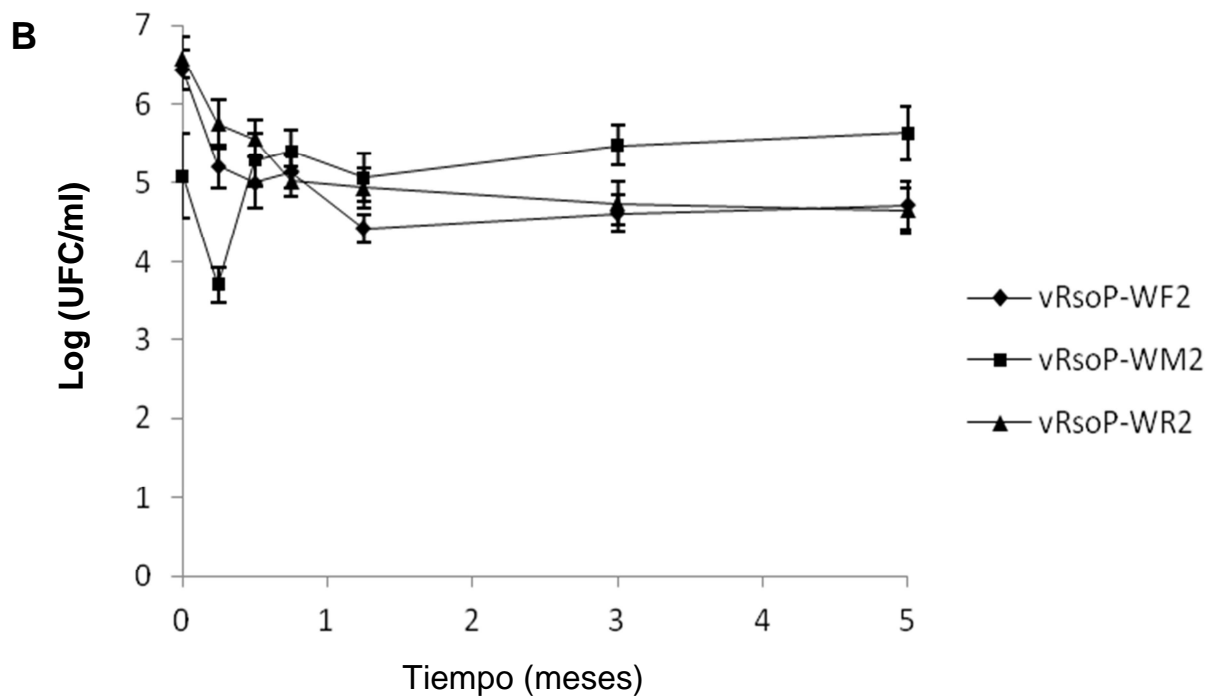
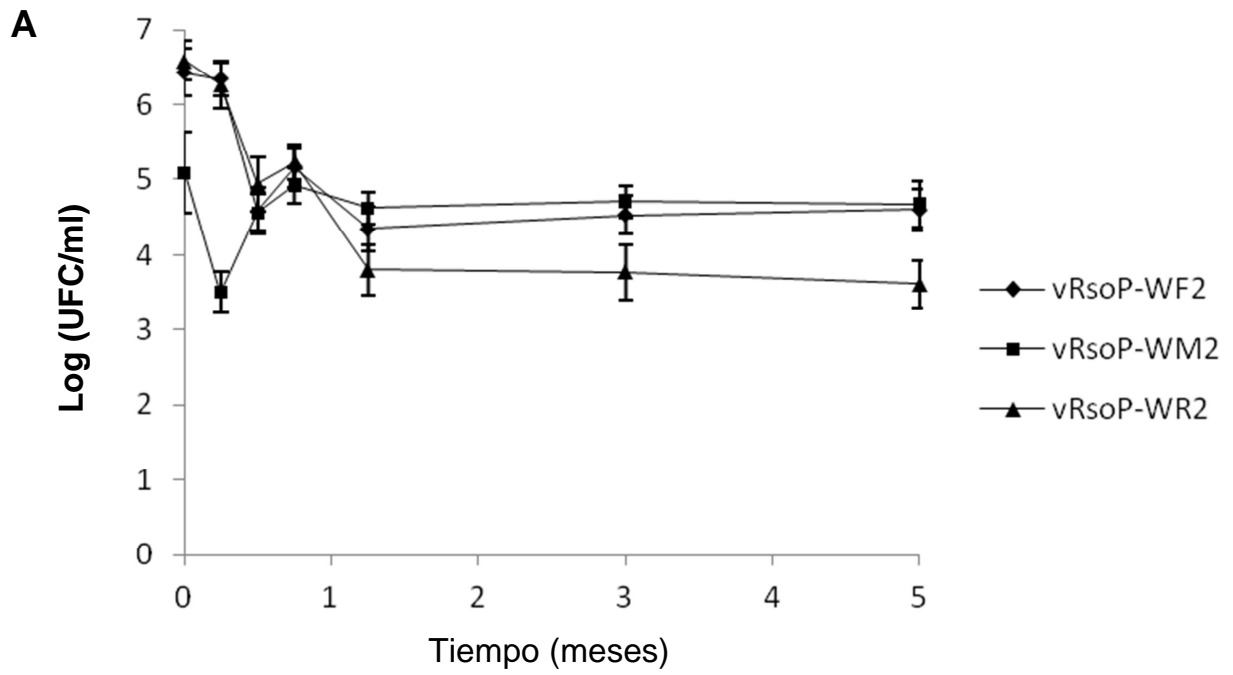


Fig. 7

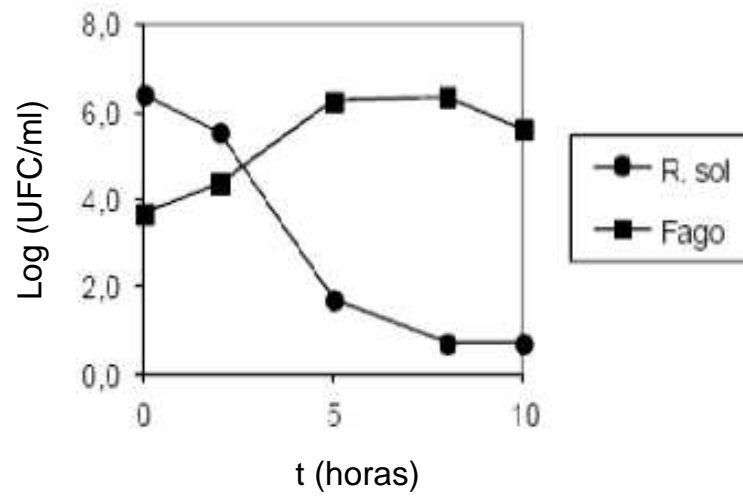


Fig. 8

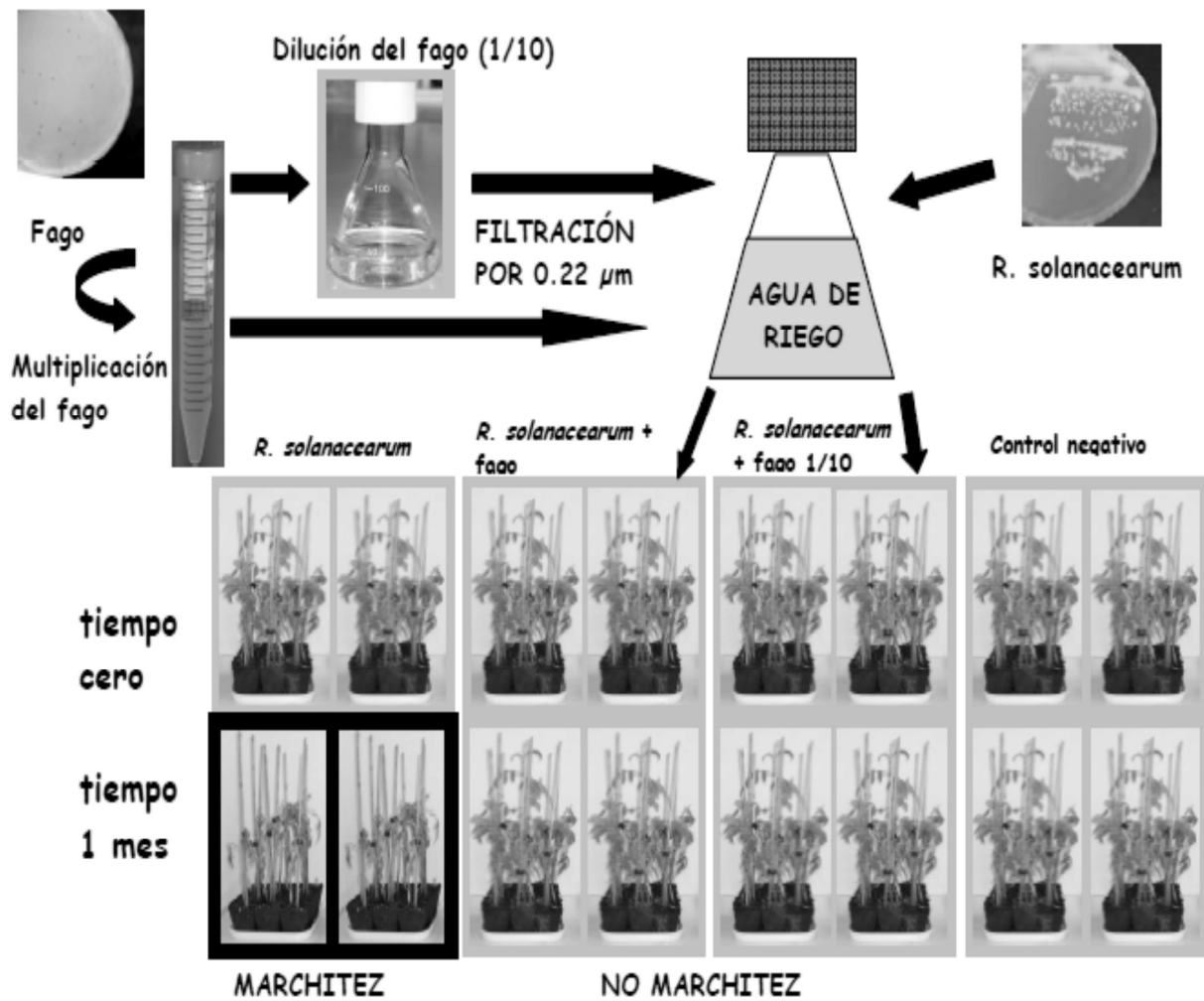


Fig. 9

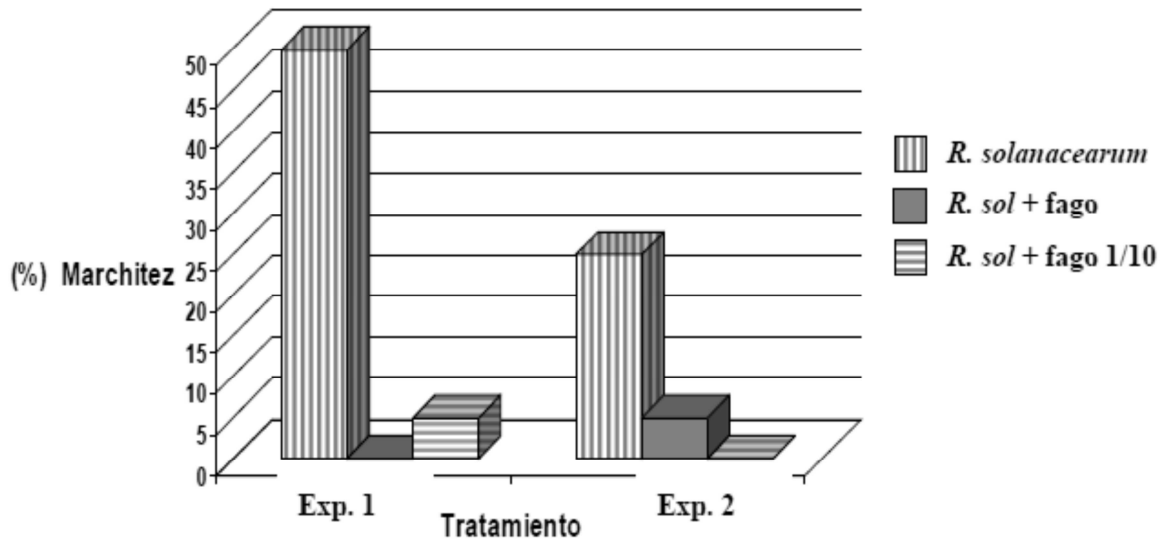


Fig. 10

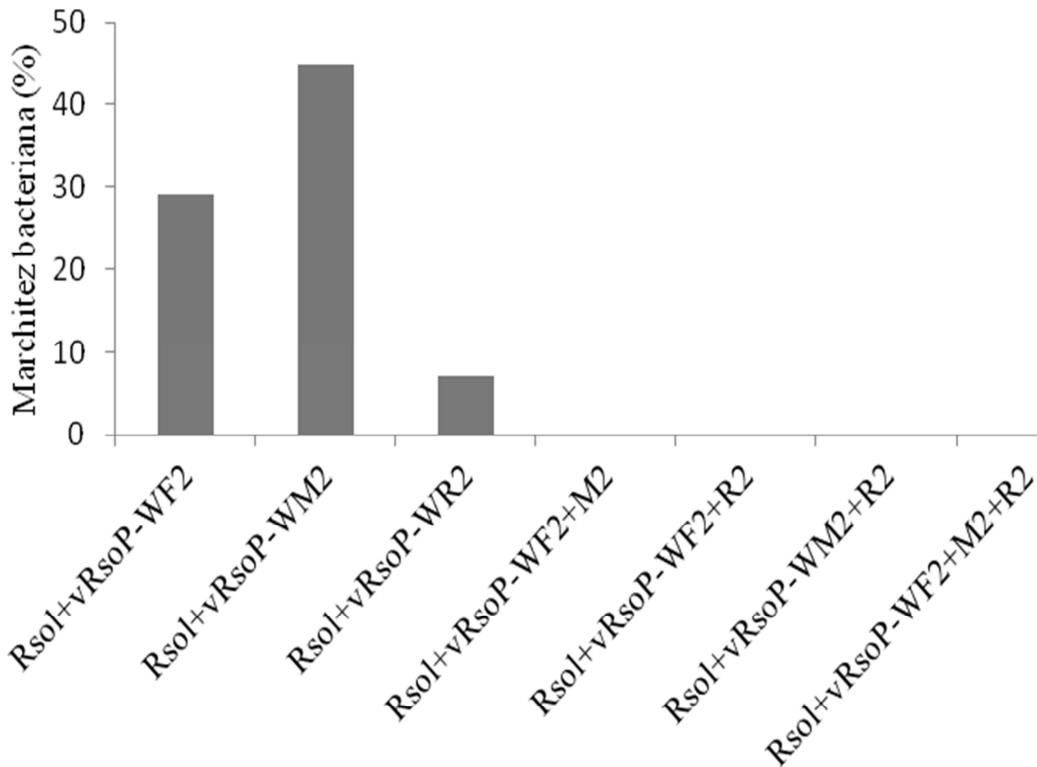


Fig. 11

ES 2 592 352 B2

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> UNIVERSITAT DE VALENCIA (ESTUDI GENERAL)
INSTITUTO VALENCIANO DE INVESTIGACIONES AGRARIAS (IVIA)

<120> Procedimiento para la prevención y/o el control biológico de la marchitez causada por *Ralstonia solanacearum*, a través del uso de bacteriófagos útiles para ello y composiciones de los mismos

<130> P-101377

<160> 3

<170> BiSSAP 1.3

<210> 1

<211> 40591

<212> DNA

<213> T7-like viruses (virus similares a T7)

<220>

<223> /hospedador="Ralstonia solanacearum"
/aislado="vRsoP-WF2"
/lugar_aislamiento="Río Tormes, Salamanca, España"
/nota="Genoma del aislado vRsoP-WF2"

<400> 1

```
gacaactgat ggtgtccctg aagtgcccc ttagggggaa aacttccgac gcaaaaattt      60
gaaagcccca ctcgaaattc gacgcgggca gattcccccc gtgccccctc cgcggcccgg      120
ccctcgtggc ccctgccgac ccacctccgg gcacctcca ggctgtacgc tccgctgact      180
cctggcacat cttctggcac actctgccgt aactccctga ttactaaggg gatgcactag      240
cttacgaagc tactgcgacc caataagcct cacgcatgag cactcactgg ctcaactcgtg      300
gggctttttt ttctattctg tccccatttc cgcgcccccc tgttcggcca tcagtttgct      360
ttggttttct ctaggggttt ccctaagtgt ctccctggcg tgcategcta cgattctccc      420
aacggccccc ttgcggccca ccaactggaga acatcatgca actgcaatac ttccgcgact      480
tggcaatcgg cacagcgttc actatcgctg gcacgcccta cgtgaagaaa agcgcacgga      540
ctgcgtacac cgctcccggc caccctgggc attgggaagg ccgctgggtc tggtttggtc      600
agactgaact ggtaatggcc taagggagca caccatgagc aaagtccgag cactcgccta      660
cttcttcgct gcaaccacgc tcgcactcgc ctacgtgggc gcaagggcag cacatgcggc      720
catctcaagc ctccctcgtg tgcacctgca ttgatccac tcagaacacc ctccctggcg      780
gcaaagccgc tacagaagcc tccagatcaa cgtctggggg cttttttggt tgctcctggg      840
gctgacctac ctgcgtccca ctgcgtggct cctagggctt cctatcgttc cttcggagca      900
acgctcctga tatcggaact attgcagtga ttgaaaaata caattgggca gtctccgatg      960
tttcgatatgt aattcgggtct caccaggggg acacgccctt gaagacaaaa aagcgtggga     1020
```

ES 2 592 352 B2

ccggggcgga	cgccagcagt	cagggacaac	ccgagtcaat	ccaagagtaa	gcacattgcg	1080
agtccttcca	gtgtgctcat	cactggagag	acatcatgca	atcattcacc	ctgaacattg	1140
gccttatccc	gagcaagaaa	tcttcgcgta	ccgctcgcat	cactgcatcg	gaagttaagg	1200
ccgcacttcg	tggcgctggc	ttcttcgtgt	cgggctttcg	catggcccag	tcggccaccg	1260
agcctaccgc	agtgggtccgc	gtgatcgcac	gtcagccaat	gagctatcac	caagcgctct	1320
acaacgtgtc	cctggcgctg	gtgcaggact	gcatcgcggt	tgtccctgac	acggtacggg	1380
gcgcgttgat	tggcccggat	gcggctgagt	ggggtgagtt	caatccggcc	tacttcatcc	1440
cgtttgatgt	cgaaccgcag	gcaatcgctg	cgtgacactt	agggtgcccc	ttcaggggct	1500
ccaggagtag	ccgcattgcg	ctgtgcagtg	cgcctatcac	tggaggaaa	catgtacggg	1560
aactttgacc	cgagcacgaa	cgcattggccg	ttcagtgtgg	agtttgtgga	cgctgtaggc	1620
tggcaagtgg	aggacaaccg	ggaccccacc	aatgtcgtgg	tgatggtcgc	tggctctacc	1680
ttcgaggaag	ccaaacagcg	cgcgtctgaa	ctcaacctga	accacttccg	ggggctctga	1740
catgccgact	ctcaaggaag	cgagcgtgaa	tgctcagaga	ccacgcggag	gcgtccaagc	1800
gtggagcgta	ggggacacct	acccggtcac	tgtagtgggc	ctgggcaatg	gccccgcgt	1860
gcaatggtac	gcggagaacc	tgcacacggg	cgaacgtggc	cccgtgagag	atgccaggg	1920
tgatgcagtg	gtggaccagt	atcgtctttg	ggcggagttc	aacagaaatc	gcctacaggc	1980
gtaattcggg	ggccctgttc	atgtgtcgtg	aacagggctc	caggagtгаа	cgattcaat	2040
cgtgagtgcg	gtcatcactg	gagaatgcaa	catgcaaacg	aaagaacagc	gcatcgaact	2100
aatcgccgcg	atgtttgggtg	agcaagaaac	gggcctgatc	ggtaagcaac	tccgcgtgct	2160
ggataactcc	caaagcgggg	cgttctacaa	tgttgggtgat	gtcggtagcg	tagtctcgt	2220
ggacgatgac	ggtgaaatct	gggtggactt	tggcccggat	ggcttcaaag	gcgatggtac	2280
ggcatacccg	gtctgggccc	ctggttcgtc	gggcgcagac	gacatgagt	ttctggaaaa	2340
ctgacatggg	cgtcatctgg	cacgaactca	tctacgccct	gggagccctc	gtggttgtcg	2400
gggtcctcat	tctgatcctc	accgagggag	actgacatca	tgcgcacctt	tgcaatcgac	2460
ttcatgctca	acggcaagcg	cgttgggctg	gactacgtga	cggcttcaa	cgagaagcaa	2520
gccaccatca	tcgcagaacg	tactgcaccc	gtgacgctgt	atgacgaggt	tgtggctgca	2580
ccgctgtgat	ggaccatcgg	gctcccttat	ggagcccca	ggagtggacc	ctttcaattc	2640
cgagagtgtc	catcactgga	gagaatcatg	tcggacaaaag	ccaagcaatc	catcgagttc	2700
gttcgcaacg	gcctggggcg	ggaaaacttc	aacaagctcc	tgagcatcac	gggagtacgt	2760
gacatcgaac	tggctgccgc	gttcctggcg	accaccaagg	aggagcgtga	ctctgtgaag	2820

ES 2 592 352 B2

acaggtgacg	acctcatgcg	cctgctgggc	cgcaagcacg	ctgagaaccg	cgtggccatg	2880
gctctggtgc	gcgcgggtgt	gccggtggag	gatgccgtgt	ctttcgtgcg	tgaaaccgct	2940
gcaagcctgt	aagccccaag	gtgccctta	ggggcctct	aggagtgagc	cgctggaatc	3000
gtccgaagtc	tcatcactgg	agatcgctat	gtctgcacaa	gccgaacaaa	cccaaaccgc	3060
cccgaccatc	atcgccctgc	tgtctgctgc	gaatatggct	cagacgggcc	ccggcgtctt	3120
cgctggcgtc	atcaaccaag	ccacacctga	ggagcgcgcg	ggtgtgaaga	acatgaagga	3180
cctcctggcg	ctgtacttca	aggttcatgc	gcgagtggtg	gccgaaatct	ccgcggaagt	3240
ggaagccacc	acggaccatc	gggtcctct	ggtggacctg	tccgacttcg	ctgagaccct	3300
ggcggagtac	ttcagccgtg	ccgatgaagt	ggtgccggaa	ggcgtcacgc	tgcaataacg	3360
ctgggtgccc	cgaaaggggc	tccaggagtg	gatgtcttca	ttgtgaggac	ctccatcact	3420
ggagaaagca	atggcacaga	tgcgcgcctg	ggtctacaag	gcgactgga	ggcggcacct	3480
ggccgcgcaa	ggcatcgctc	tgcgcaaata	cgaggtggac	aaggagtaca	tgcaccgcgg	3540
catgacgcag	gccatcttcc	gccgcaacaa	agcgaagttg	gtggccgagt	acacggagtt	3600
ctgacatgga	catcgtagac	gaactggaga	taggacctc	ttacgccttg	aactcggacg	3660
agaagtggct	ccgcaagaga	gccgctgagg	aaatccgcag	gctccgaaag	caactggcgg	3720
acgctggttg	ggctctcgaa	gcggcccgtg	aactcgaaga	ccaacgagac	aacgggggct	3780
ggctatgaaa	cccgctgacg	gtcaacccaa	gcgcttcaag	ctgcacacca	agtatcccca	3840
caacaggtcc	gagggtttga	ctcatcggac	caacaagggg	accgcgcttc	aagttctacc	3900
gaagaggtaa	cgccatgaag	atcactctga	cactggagga	caccgctgat	ggtgtcgcctg	3960
tgaactggac	cgaggagcaa	tctgaagctc	agaacaaacc	cagcgagagc	ctggccacca	4020
tcatcgctgc	caagttcatt	cttgagataa	atcaatctca	ccgtatggga	attttacggc	4080
tgtccggcac	tgcattgggc	gcagatcgcg	catagctagt	atgaggtgtg	ttgcgtagag	4140
tgcgaaccag	ttttatttgg	ttcgccatgc	ccgcatccag	aagctcatcg	caacagtaga	4200
ggagtagcaa	tgccgggtcat	caaacgcggg	aacaagtacc	aggccagtgt	gggctctggg	4260
actgatcgct	ggcgcaagat	gttcgacacc	caggaggagg	cggagaccgc	agaactggca	4320
gagaagctgc	gcaggaaggc	cgctgggaag	gacgagaagg	gggctacaag	ctccgcaaat	4380
ggggcgaagg	tacagaagac	cctaaaggag	gcttacgacc	gcaccttggc	cctgatttgg	4440
aagggcaccg	ctgcggagaa	gaccacatc	atcaactcga	actccgtgat	ggcggagttg	4500
ggcaaggaca	cgctcctgtc	cgacatcgcc	accgaggacg	taacggagat	gatcctggct	4560
ctggaggaga	agggcaactc	aggcagcacg	gtgaacaaga	agctgtcctg	cctgtccatg	4620

ES 2 592 352 B2

atcctcaaga cgcctcggg tgagtggcct gggatgcatc tggagatgcc caagctgaag 4680
 cggcgcaagg aggggtctca ccggctccgg tggatcaacg aggccgagga gaagcggatg 4740
 ctggaggccg cggagcacct ggggctctac gacctccggg actacatcat cgttggcatc 4800
 gacaccgggt tccgccgagg agaactcctc gggttcccc tgaaggacta ccagggcggg 4860
 ctcatgatcc tccacgatgg tgagaccaag agcggcaagg ggcgcgcat cccggtcacc 4920
 aagcgggtcc acgagatcat ccagcggagg agcaactact cgtacctctt ccaggactac 4980
 acggtccaca agctgcgctg gcagttcgac caactgaagc tccacatggg gctccaggag 5040
 gacacgcagt tcgtgggtcca caccctgcgg cacacctgtg ccagccggat ggttcaacgt 5100
 ggggtgcccc tgaagggtgg ccaggagtgg atgggtcacg ccaccatcgc cacgaccatg 5160
 cgctacgcga agctagctcc gagcagcctg ctgatggcga agaaggcctt ggaggaagaa 5220
 ccccaggaac tcacattcat tcctccccg cagatggatg tgggtggggct tcacgacttc 5280
 taaggaaagg aattggaaca cctcagagag acgttcaagg gaaaggatca gagacaggca 5340
 ggacgagatg ggtgctgggt ttggcaaggc tctaagacgg acaggggata tgggaacctg 5400
 tgggacccaa aaaccaagaa gcctgtctca gcacatcgac tgtcctacca actccacaag 5460
 ggacaaatcc cggaggggtt gatggttctc caccggtgcg ataacagggc ttgtgtgaac 5520
 ccaaagcacc tgtttgtggg gaccgccag gacaatacgg ttgacatgta cctgaagggt 5580
 agaggaacag ttccgcatta ggttccacat aaggataacc ctgaaggaa acctaattgtg 5640
 taaatcctaa gtgtttatct tcatagatag aactattaa tgatatctac ttagagagaa 5700
 cactttagtt gacactatga ctaccaaca agtggacaac gagaacgaag acctggtgac 5760
 tattcagctt cgtctcgaag aagagatgac ccagcgggga gcagaccggt acatccgggg 5820
 ggtatccaag gccatcgaga agggccgtga ggatgacacc gcctacggca agcaaatcct 5880
 ggccgggagg ttggcgaagc tggcccaggc catcgctgag tgggaaggcg aggtggcctc 5940
 tggtaacct ggccggaagc actcggcctg gaagctcatc aaggacaagg acgacaacac 6000
 cctcgccttc ctggccctca agcacgttct ctcgggggtc tccgcagtcc gcaccgtcca 6060
 gtacgtggcc gtggccatcg gcaccgaggg ggaggacgag atgcggttcg ccaaggtccg 6120
 tgaggcggag cggagaaggt ttgagcagct agtcaccggg gcagcgaagc ggaccagcca 6180
 gcactacaag cacgtctacg ccaccgcgt ggctgaggac gtgacggagt gggacaagtg 6240
 gtccccgact gaccgcctcc acgtgggggt caagctcctg gacctcctga tgcagtccat 6300
 cggcctggtg gaggtgtcca cgaacctgga caacagcgag caggggctca agtacgtgaa 6360
 ggccctcccc gagaccctgg agtggatcga acggaagaac gaggtgaccg cctgctgcg 6420

ES 2 592 352 B2

cccgggtctat	gagccgatgg	tggttcagcc	gcgggattgg	accaacccgt	tcgatggcgg	6480
ctacctgtcc	tcgaacatca	agccgctgaa	gctggtgaag	acgaagaaca	aggcgtacct	6540
ggaggaactc	cgcggcgctg	acatgcccat	cgtctacgag	gcagtgaacg	ccatccagcg	6600
cacggcctgg	cagatcaact	cccaggttct	cacggtgatg	cggcacctgt	gggactcagg	6660
ctccgagctt	ggtggtcttc	cccctcggga	gggactgccg	atgccaccga	agccctacga	6720
catcgacacc	aacgatgact	cgaagaaggc	gtaccgcatc	gccgcagcga	aggccacat	6780
ggagaacctc	tccattctgg	gccagcgcac	cggctttgac	atggccctgg	gcattgcggg	6840
ccgctacgag	aagtaccggc	gcatctactt	cccgtaccag	ttggacttcc	gggggcgcat	6900
ctacgcggtc	ccgcacctga	acccgcaggg	gtccgactac	cagaaggctc	tcctcagatt	6960
cgccaacggg	aaaccgctgg	gctccgaggg	gtggaagtgg	ttggccatcc	acggtgcgaa	7020
cctggcgggc	tatgacaagg	tgagtttggg	ggaccgcgtg	gagtgggtcc	tggagaacga	7080
agatgagatt	ctcagaatcg	caagtgatcc	ctacgacct	cgtggttggg	catcggaagt	7140
gggggggggt	aagatcgaca	agccctggca	gtttcttgcc	ttctgctttg	agtgggctgg	7200
gttcggtgag	catggtgagt	cgttcgtatc	aaagctgccc	gtggctatgg	acggttcatg	7260
ctctggcatc	cagcaactca	gcgcgatgct	ccgggacgaa	cgaggcgggg	ccgcagtcaa	7320
cctcgtaccc	caggacctcc	cagccgatgt	ctatagagcc	gtcgcctgaga	gagtcattga	7380
acaggctgaa	agtgatctcg	ctcacggttc	cgaggacgaa	ctgaagcaca	acggccaggg	7440
catcgcttac	ctgtctgagg	gctccaagac	catcgcccag	cagtggatca	agtccggcat	7500
cacccgcaag	gtcaccaagc	ggagcgtgat	gacgctggcc	tacggctcca	aggagtacgg	7560
cttcaaggag	caactcatgg	aggacatcct	gtggccagcg	aagagggcag	cgatgcggcc	7620
tgatgggtcc	atcgacacgg	agaagttccc	gttcagcggg	gatggctacc	gtgcggctct	7680
ctggatggcg	aaggcaatct	ggaacgcggt	gaacgcagtg	ctggtgaaag	ctggcgaggc	7740
gatgcgctgg	ctccaggagg	tggcagcact	ggccgcgaag	gaggaactgc	ctgtccgctg	7800
gacaaccccc	gtgggggttcc	cggtgatgca	ggcgtatccg	gccctggagg	cacgtagggt	7860
gaagaccgcc	atcaacggca	tggtgctgaa	gctcctcatg	aaccaggaga	aggactccct	7920
ggacaagcgg	aagcaggggc	agggcatctc	gcccaacttc	gtccactcct	gcgatgcggc	7980
gcacctgatg	ctcacggtgg	tccgcgcgaa	gcaggaaggt	atccagaact	tcgcatgat	8040
ccacgactcc	ttcgggacca	ccgcgggtga	cgtggaggag	atgtatcggg	tggctccgca	8100
gagcttcgtg	gagatgtact	ccgaggtgcg	cgtcctggaa	gacttccggg	atgagatcgc	8160
ggagcaactt	tccgagaagg	cccaagcgaa	gatgccgccg	ctacccgagc	gcggtctcct	8220

ES 2 592 352 B2

ggagttgtct cgcgtctgcg agagccgcta ttgctttgcc tgaacccttc cacatctgga 8280
 agagttgagc cgggggaacg attaggtgcc acacatggat aaaccagccg ccgttcccc 8340
 ggtggcctct cccgagacaa ccgatggaac gcaacgaaca cgaagtatcg gaccagtacg 8400
 agtccgcaact tggccgcgcg attgctcagt ggcgcaccgg acggcccatc ccgatgacac 8460
 tcgccgctga actgatgcaa cagggctatg acgtatccgc cctggaagcg cgtcacatga 8520
 cctgaaccaa caatggcaga aaagaaacaa cgcaaccgga gcttcacctc gccgcgcgcc 8580
 atcgcccgct acccgccct caacaagccc gactacggca acgaacagtt cccgaagccg 8640
 gatggtgagt acaaggtcca actcatcctg agcagggccg aggccagcc gctcatcgag 8700
 aagctccagc cgctctatga cgcggccatc gaggaaggca aggcgaagtt caaggaactg 8760
 aaggtggagc agcgcaagaa gctggcgcg ctgaaggaga acgacctta cgccaccgag 8820
 tacgaccagg agaccgagga gccgaccggc aacctcatct tcaagttcac gatgcaggcc 8880
 ggcggcaaga acaagaaggg tgagccgtgg tctcgcaagc ccgcgctggt cgacgcgaag 8940
 ggcaagccgc tgccgaagaa tgcaccggcc atctggggcg gttcggaagt caaggtctcg 9000
 ttcgaggccg ctccgtactt catccccggc acgggtgctg ctggtctgaa gctgcgtctc 9060
 caggcagcgc aggtgctcga actggtgact ggtggccagc gcagtgccga tgcctacggc 9120
 ttcggtgccg aagacggcta cgaggcagac gacaacaatg aagagggcga tgaagccccg 9180
 gacactgatg gcaagagcgg cagcggcga gacgagttct aaatcactga ctgccaaaca 9240
 ggtggccctg aagtacggct tcaggagcgg cctggaagag aagatcgccg cggacctcac 9300
 ctcgaaaggg gcggggttca cgtatgagga gctaaccatc cttacgtga agcccgcgaa 9360
 gccctcaaag tacacaccgg acttcgacct tctcaagaac ggcacatcg tggagtccaa 9420
 gggcggttc ctaacagagg accgggcaa gcacctgctg gtgaaagccc agcaccaga 9480
 cctggacatt cgtttcgttt tctcgaattc aaaggcaaag atcaacaagc gaagcccgac 9540
 cacctatgcg atgtggtgcg agaaaaacgg cttcgcatat gcggacaaga gcgtgcccg 9600
 ggcatggctc aaagagccgc cgaacctgga gtccctagca gccatcgaga ggctgcgggg 9660
 agcatgacat ggcatacact tccaacacca agaagcggg aagcacggac tacctggtgg 9720
 tccattgctc cgcaacgaag ccctccgctg acatcggagc cgcggacatc gaccgctggc 9780
 accggaagca ggggtggcg tgcatcggct accacttcgt catccgccgt gatggcacca 9840
 tcgaagaagg ccgttacgct gacgttatcg gcgcacacgt agaaggccac aacgagaact 9900
 ccctgggcat ctgcctggcg ggtggtgtct ccgagaagga tgtgaacgtt gccgagaaca 9960
 acttcacgcc cgagcagttc gccagcttac agaagctcct gacggacctc cgagcgaagt 10020

ES 2 592 352 B2

atcccaaggc caccatccag ggtcaccgcg atttcctggt tgtggcgaag tcgtgccctt 10080
 ccttcagtgc gaaggattgg gccaaagcaaa acggtttctg acgcaccacg aggagcaacc 10140
 atgaaggcat ggcgtaaaga acccaatcag ggcgcagtcc gtattggtcg caagaccatc 10200
 aacgcgaagc gtgtgatgaa caagttcaaa ccgagcatgg tcaaccatgg ctccgtcctg 10260
 tttcagcggg tgatgctcca ggccggtatc tgggcgctct aacctaacc atctccagtg 10320
 gtacttcggg ccggtccttc gggctggccc cccttttatg ctcaagattt gtaagagggtg 10380
 cggatgaatgc aagccgttta gcgactttca caaagcacc gcaggaaaat tcaagctcca 10440
 gtcataattgc aagcagtgca agaaggaata cacgcgggac actggagcta acatcctacc 10500
 ctccattcgt cagagagcac gaaagcaggg agtccccttc tcgcttacca aagagaacct 10560
 cccacccatc cccgaagtgt gcccggtctt agggattccc ctctgacgga cactcggctt 10620
 tgcggacgac aactcgccat cgctggatcg attgatccct gagcttgggt acgtgcctgg 10680
 gaatgttgag tggatgagct accgagctaa tcgaatcaag aacgactcaa cctatgaaga 10740
 actcgaaagg gtcactgcct ggggccgaga gcgagtttct acgacacatc ccatgtgagg 10800
 gctgcggttc ctccagacggg aacagtctct tcagtgatgg gcaccagtgg tgcttcgtct 10860
 gtgaaaccta cgtgcccggg gatggcagcg aaccaacaat aggaacaacg aagaagcggg 10920
 tgggaagggt gctaaccggg gagtttcgcc ccctactgaa acggaagatc accgaggaga 10980
 cggcgcgcaa gttctcgat caagtcggtg agttcaaggg aaagacggtg caactcgcgc 11040
 cgtactttga caatgcaggt gtgatggtgg ctcagaaggc ccgattcccg gacaaggagt 11100
 tcaccgtagt tggggatggc aaggccatct ctggaatcct ctttgccag aacctatggg 11160
 ctccctggcg aaagaagatc gtggtcaccg aaggcgagat cgatgccatg tcggtgagcc 11220
 aagcgcaggg caacaaatgg cctgtggtct ccgtaccaa cggagcaca ggcgcaaga 11280
 agtcgcttca gaaggcactc gaatacctgg agagctttga tgaagtgatt ttgatgttcg 11340
 attccgatga tgcaggcaag aaggccgcta ctgagtgcgc ggagttgttc tcgcccggca 11400
 agtgcaagat cgcgtccatc ccgatgaagg acgccaacga attgctgaag gctggccgtg 11460
 agcaggagat catcactgca atctggcagg ccaaggagta ccgccccgat ggcacatct 11520
 cgggagcggg actgtgggag gcggtgtcag catctcagga tatcgtagag tccgttcctg 11580
 acccctggga cgcactgaat gaagtcacga aaggcgcgcg tacaggcgag cttgtgactc 11640
 tcaactgcggg ttccggcatc ggcaaatctg ccgtggtacg cgagatcgct caccacctc 11700
 tgaggcgtgg agagacggtt ggcatgttga tgctcgaaga gaaccgaag cgcaccgcgc 11760
 tgggtctcat tagcatctcc ctcaacaggc ctctccacat agaccgtgaa ggtgtcagca 11820

ES 2 592 352 B2

aggatcaact	gaaggtagct	ttcgatgata	cggtaggctc	tggccgacta	ttcctctacg	11880
accacttcgg	ctccagcgac	atcgacaacc	tgggtgtccc	tgtccgcttc	atggcgaagg	11940
gcctgggggtg	caagtgggtc	atcctcgacc	acctgagcat	tgttgtctct	ggcctcggtg	12000
acggagacga	acggcgactc	atcgacaacg	caatgacgat	gctgctgacc	ctcgtggagg	12060
agaccggcat	cggcatgttt	gtggtgtcac	acctccgccc	accggagggg	gaccgcggcc	12120
acgaacaggg	agcacgtacc	tcgctcaccc	aactccgcgg	ttcccatagc	atcgcgcaac	12180
tgtcggacat	ggtgattggt	ctcgaacgga	accagcaggg	tgagaacctg	aacgtcacca	12240
cgctccgtgt	gctgaagaac	cgcttctccc	gtgagaccgg	tgaggccggg	ttcctgctgt	12300
acgaccggga	gaccggacgc	ctggaagaga	cggacgcacc	tgctgcgccc	ttcaaagacg	12360
aaaccaaatac	ggacgttcag	tccgagttct	aaccaaaggt	tacatcatga	gtctgatttc	12420
gctgttcacg	cagtccgctg	ctgaccaacg	tgctgcccgc	ccccgtgctg	cccgtgtccg	12480
cgccaagatc	gcggacctga	tcgactaagc	gggagtctct	gtgatcgatg	acaccgcctc	12540
ccaagagttc	cgagaaatcc	tcgatgtagt	ccgctgggag	ttccccggtt	cacaccccgt	12600
gattgggggc	ggggctctcc	gcgattccta	ccatggtcgc	ccaatcaagg	acgtggacgt	12660
gttcatgcgc	aggcgtgacc	acgagacgct	gaactcggaa	ctcaccgctc	tcacccgccc	12720
gccgatcctc	gtggcccacg	gctatggccc	tcccgacatg	cacggcgcac	gggacctgat	12780
gcagtccggt	gctggctacg	aggtgcaact	catcctcgcg	gacttcgaga	acctggaaga	12840
cctggcccgg	acgttcgacc	tggggattgc	ccgagccacc	ttcgatgggt	accggctggt	12900
cctccacccg	gacttcctcc	aggactccac	ggataaggtc	ttccgcatcc	gtcgcgcgga	12960
caacctgttc	gagaaggcgc	gaagcctgaa	gcgcatcaag	ggcctggcag	agaagtaccc	13020
ggacttttca	acaccggact	tcgagcattg	ccctgtctgc	gcacaacca	tcacgagttc	13080
ccgcaacgct	gccagcgtcc	gagagcacca	aatctccggg	ctctgccagc	aatgccagta	13140
ctcgggtgtc	gacaaggact	gaccatgaac	accttcctca	ttctcctggt	cctcatcgga	13200
ggccaaatcg	aaggcccgcg	gatcgtgag	ttcgacactc	cccgtgagtg	cgaagcagcg	13260
aaggaacacg	tgagggtcat	caaccaaccc	cctgtcgtcg	cgccacggtt	ggtgtgcgca	13320
agggatggcc	gcgcgtaatc	accaaggacg	gtatgaagct	attcgacatt	gaaacaaacg	13380
gtctgctgga	taccgtcacc	aaggttcact	gtctcgtcat	caaggatcgc	accaccggga	13440
ggaagtcccg	ctgcatcccc	gcaggcttcc	cgatgcaagc	ggacatgacc	atcgagcaag	13500
ggctggggct	tctcaagtcc	ggccccatcg	gtggccacgg	aatcctcagg	tacgacatcc	13560
cggtcctgga	gaagctgtac	ccggacttca	cctacgacaa	ggaccaggtg	ttcgacaccc	13620

ES 2 592 352 B2

tgggtggccgc gcgtctcatc tggacgcaca tcaaggacat cgacaacggg ctctcaaaa 13680
 agaagcaaat ccccggctcc ctctacggct cccactcgct ggaagcctgg ggttaccgcc 13740
 tgaagctcca gaagggcgag tacgcggctg agttcaaggc gcgcatgggg gacgcttacg 13800
 aggggggcat ggagtggcga gagctttctc ctgagatgct cgactactgc gacctggacg 13860
 tggatgtcac ggacgcactg ttcgaccgga tcgaaggcaa gaactactcc gcggaggcgc 13920
 tggagcttga gcaccgcatc gcctggctga tggctcaaca ggaacgcaat gggttcccgt 13980
 ttgacgtgac gaaggccagc gcgttgtacg ccaagctcgc gcaacgccgg ggcgaaactgg 14040
 agcgagaact gaaagagttc ttccgtttct ggttcgctcc ggctggaaca gtgactccga 14100
 aggttggaaa caaggcgcga ggaactgtag ccggtgtccc gtacaccaag gtgaagatcg 14160
 tggagttcaa ccccggctcc cgcgaccaca tcgctaactc cttgtcacg ctctacggct 14220
 ggaaaccgga ggtgttcacc gatggcggta agcctcgggt tgatgaagat gtgatggcac 14280
 gcctggacta cccgccacg aaactcctca cggaatacct gctggctctc aagagaatct 14340
 ctacgctagc tgaaggtgac caagcgtggc tcaaggttgt acgtgacgga aagattcatg 14400
 gctccgtgaa tccgaatggc gcggttacag gaagatgcac gcacgctttc ccgaacgtgg 14460
 cccaggtgcc agccgtaggt tccccctatg gtgaggagtg ccggggattg ttcggggcac 14520
 ctaagggttg gctgctggtt ggctccgatg cttccgggtt ggagcttcgc tgtctagccc 14580
 acttcatggc caggcacgat ggcggcaagt atggaaaggat gatccttgag ggagacatcc 14640
 acacggagaa tcagaaggcc gctggactgc ccacacgaaa caacgcgaag accttcatct 14700
 acgcgttctc ctacggagcc ggggacgcca agattggtaa gatcgttggg aaggacgctg 14760
 ctgaaggaaa gaagctcaag gccgcgttcc tgaagaagac ccccgactc aagaagctcc 14820
 tcgaagctgt ccgtgagtct gccaaagcgc gctacctggg tggcctcgac aagcgacaac 14880
 tccatgtccg ctctcagcac gccgcattga acaccctgct gcaatccgca ggtgccctca 14940
 tctgcaagta ttgggttgtc cgcacggcag agcgaatgga agctctgggc tacaagcacg 15000
 gatgggatgg ggacttcgcg ttcgctcgct atatccacga tgagcagcag gttgcagtac 15060
 gaaatgagga agtcgccaag gtcctcgttg agcaggttgc attggccatg aaggacgccg 15120
 aagcgtgggc cggattccgg tgcccgtgg cctgtgagtc caaggteggg acggattggg 15180
 cttcaacaca ctaaagtaat cagacaccaa catgagcatg ttccgagacg acctactcaa 15240
 agaagtctc tacgaggcgt tcaagactcc cttcaagctc cagtccgact tcgcccgaga 15300
 gttcgtcag gaagtcgccg ctctggcctc gatgggatac atctcgacct acgaggggcc 15360
 gcagcagttc ggcaagaagt ggcgcgtcac cggcatcggc ctggacaagc tgcgcaagct 15420

ES 2 592 352 B2

ggggatgctg tgagtgaagc cctacgcccc cattcgctga ggatcatggg ccggaagttc 15480
 cgggtctctt acaaggatga cctggacggt gacctgggat actgcgaacc caccaagtgt 15540
 aagatcgaga ttgagaacgg gcagcacccc gtggaggagg ccgatacggg cctccatgag 15600
 gtgcttcacg cgggtgttcta tctgatggac attgggctct ccgcgaggga ggaggagcac 15660
 gtggtccgta aggttgtcac cggactcacc caggtattcc aggacaaccc ccggctcctg 15720
 acctacttgg caaacgccaa gtgatggacc atatagccaa gtttgattct ctccaggagg 15780
 aactcatgac ggacaagaag tggaccatca cggttaacgt ggacaccccc gagggccacc 15840
 gggagcggac catcgagttc ccccaccggc ccaccgagga ggagcttggg ctcaagctgg 15900
 cgcagttctt cagccggatg aacttccgat tcaacgaaca cctgaaggag gtgaaggggt 15960
 gtgcgctcct gacacctcgg agaccgtatg aaagtagcgc tgattgatgc tgacgttctg 16020
 gtcttccagg cggctgtagt cgctgagaag gcaaccgatt ggggggacgg tgtttggacc 16080
 ctccacgcag acgaggggtga cggagaacga atcgttcgcc agtccgtcat caccctccag 16140
 gagaagaccg gtgcggataa ggtcatcctg gcattctccg atgaggagaa ctggcgcaag 16200
 gccatactgc ccacctacaa ggccaaccga gcgggttccc gccagccgat catccgcgcg 16260
 catctgaagc ggtgggcttc cgacgaatac gagagcttca cccggccaac cctcgaaggg 16320
 gatgacgtgc tgggcatcct ggccaccgcg gagggcaagc caggcgagaa cttcatcgtg 16380
 tgctccatcg acaaggacat gcgaaccatc cctggcacc acttcaactt cggcaagaac 16440
 gaagagtctg tggtgacgga ggagggggca gactactggc atctcttcca gaccctcacg 16500
 ggtgaccggt tggatggcta cgcaggctgt cccggcattg gcccggtggc cgcaagaag 16560
 attctcgaca agagccccac ctggggtgcc gtggtctctg cctacgaaa ggaggcttc 16620
 ggtgaagagg aagctctcgt gcaggcccga gtggcgcgca tctgccgcgc tgaagactac 16680
 gacttcaaga agaaacaagt tcgactgtgg acccacaaga aatcctgaaa gaactggaac 16740
 agcagcaacg ccgcaagttc gagaaaggcc ctctcaccgg caaacgcgcc gatgtcatca 16800
 tcatggacga catccaggac accaaggaca ccaaccgaa ggacgccatc ggctccacca 16860
 agtccccct cgacctcgtt cctgactcgc tctcggctct cgccgcgctg gcgttcaccg 16920
 agggtgccac caagtacggt gcctacaact ggcgtgtcgc tgggtgtccgt gcgtccatct 16980
 acaaggccgc gctggagcgt cacctgaaga agtggtgga cggtgagtgg gccgaccgca 17040
 agacgaaggt gccgcacctg gccagcgtca tcgctgtgtc tgcgatcatc ctggacgcgg 17100
 acctcgcagg caagttgacg gatgaccgcc ctccggcaat cgacctgagt tccttcatcg 17160
 actcccttga ggagaccgtg aagcacctca aggaactgca caaggacaag aaccggaagc 17220

ES 2 592 352 B2

actacaccga	actcaacgta	tgaacccgaa	gcgaaacact	ctgaccggct	gggtcatcta	17280
tgatgcagag	cgggcgactg	gccgaagcac	cgcgattgcy	ctgagtcttc	taggcaaggc	17340
cattgcaaat	ccagggtgtg	ccgtacaaat	ccgagaacat	cacggctactc	gtccggctga	17400
cgagagtctg	atgcgcctga	tgcgggatat	ggctcttcg	ctgggcctca	agggcatgac	17460
gttcagccag	aacctgactg	tgacgttcaa	cctttgggag	cctgtgtgag	ccagagccga	17520
aagggtctc	tcattgaggc	cctcatcaac	accgcaatcg	gcttcgggat	caacttcacg	17580
gcgaacctca	tcacccctcc	actgttcgyc	ttcaccagtt	tgacgggtgca	gacgaacctg	17640
gtgattggcg	tggctctacac	gctcatctcc	gtgggtgcgga	gttacgtggg	tcgccgctgg	17700
ttcaacgcac	acatcgtccg	agccgccaag	aaactctcag	gggcctgaag	gtctctttag	17760
gttccacaat	aggagaatca	aattggcgaa	cgacaagttt	ccgccgattc	ccaaagaatt	17820
acttgaggcg	cttgagaagc	ggttcccgga	gacaccactc	gaaaatatcg	ggtctgtgga	17880
tcaacttcga	ttggctcagg	gtgagctacg	tgttgtccgg	tttctccgag	cccaattcga	17940
gaagcagacc	aagaacattt	tggagaacac	atagtgtgca	tgtctcaacc	gtccgccccca	18000
cctccggccc	caccgccacc	gccacctccg	ccccgcccg	ttgatccgat	tccgggtccaa	18060
cctgcgcagc	aaaccggtgg	agcggtgacc	agcggcaaga	gcaagggacg	cgactccctc	18120
cgtatcgacc	tggcccagaa	gacatcgggt	ggtggcgccg	gtctgaacat	cccgatgtaa	18180
cgaagggcag	ggatggaaca	agaaaagaaa	acctgcgcct	ccctctacca	gaaactcacc	18240
accgaccgag	accgttcct	gaagcgggcc	tacgactgcy	ccgaactgac	gattccctcc	18300
ttgcttctc	gtgagggaca	caacggctcc	accaaactcy	tcactccgtg	gcagggcatt	18360
ggtgctcgtg	gggtgaacaa	cctcgcaccc	aaactcctgc	tgacgcagct	tcctcccgga	18420
actcctccgt	tcaagttgtc	gattgacgac	ttcacgctgg	aggaactgac	gaagcaggaa	18480
gggatgcggg	cgaaggtaga	ggaggggctc	aacaagatcy	aacgcgcggg	tcagactgag	18540
atcgaagcga	actacatccg	cgtggctgcc	ttcgaggcgc	tgaagcatct	catcgttagt	18600
ggcaatgccc	tgctgtacat	tccgcctgaa	ggtggactga	gagtattcca	cctggaccgc	18660
tacgttgtcc	gccgtgacc	gatgggcaac	gtgctggaca	tcacaccaa	ggagaacgtc	18720
tcccagagacg	cactccccga	caacctcgtc	ctccctgatg	acaccgagga	gaaccaggag	18780
cccgcggctg	gtacgaagga	tgtggagctt	tacaccacg	tctatcgcca	gggccgcagg	18840
tggaaaggtct	accaggaagt	caaggggtgtc	cgattccccg	gcaccgaggg	ttcgtaccgc	18900
ctcgataaga	gcccgtagat	tcccgttcgc	ttcacgcaga	tcgacgggtg	gagctacgga	18960
cgcggttacg	tggaggagta	catcggggac	ctgaagagtc	tcgaaggact	ctcccaggcc	19020

ES 2 592 352 B2

atcgttgagg gctccgctgc cgcagcgaag atcctgttcc tggatgaacc gaatggcacc 19080
 acggacatgg ctgacgtgtc cgaggctgag aacggtgctt tccgagaggg tgtcgcaact 19140
 gacatcacgg tcctccagct tcagaagcac aatgacttcc gcgttgctct ggagaccatg 19200
 aaggacatca ccgagcgcct ggcgtttgca ttctgtctga actccgcagt gcagcgaac 19260
 ggcgaacggg tgaccgcaga agaagtccgc tacatggcga acgagttgga gtctgctgtg 19320
 ggtggtatct actccatcct ctcgcaagag ttccaactgc cgctcatcaa gcggatcatg 19380
 taccagatgg aacggcagaa gcgtctgcc gtccttcccg aagggaccgt caagccaatc 19440
 atcgtgactg gcacgcaggc cctcggacgt gaaaacgacc tgaacaagct gatccagttc 19500
 gtccagatcg ccgcacaggc agcgaatctt cctcccgaga tcgacaaggc cgacttcttc 19560
 aagcgtgctg gtacggcgct ggggatcgac atgaagggtc tcgtggtgcc gcctgaggtg 19620
 gtagctcaga acaaccagca ggccatgatg atgcagatga tgcagcaggg tgtgaacccc 19680
 gccatcacgc aggctggaca gctaataaaa caaggaatgc agaatgccgc gcaaccgcga 19740
 ggcgggcagt aaggctcccg aggccaacac tgccgaagcc cccgtggtca ccgttgaaga 19800
 ctcggtggcc gaacagcaac ccaagcccgc agcgaagccg gtcaaagtga ccgaactacc 19860
 tgggtggcgtg aagatcgaag acttctgatg agtgtggatt ccgtagtcat caagcagccg 19920
 gacgctccgg tggaaagacca ggcccacatc gatgcgatgg tggccaagggt ggatgctgcc 19980
 aatacttcga ccgaaccgga cactcccggg gtgcccgcag agggacgccc gcagtggctc 20040
 ccggagaagt tcaagtctcc cgaggacttg gccaaaggcat atgccgaact ggaaggcaag 20100
 ctgggtggga agaaggatga tgccactcca cccgctgacg acaaggccgc gaagtctgac 20160
 gaaaccccgg acccaagcaa ggccaccag gacgatgcct cgaaggctct ctctgagaag 20220
 ggcctgagct tcgatgagtt ctccgctgag tttgcccaga agggatgaact gaccgcccag 20280
 agctacgaga agctggagaa ggctggcatc ccgaaggccg tggatggacca gtacatcgct 20340
 ggccagcagg ccctcgtga gtcgtaccgc aaggacgtga cctcggttgc cggatggcgt 20400
 gaaagcttcg ctgagatggt cacatgggcc gctgcgaacc tctcgaagga ggagatcgcc 20460
 gcgtacaaca aggcctgga ctccggtgac atcaaccagg cgaagctggt cgtggccggt 20520
 gtgtaccaga agttcgacgc tgctggccgc ggtggtgagc ctgccctggt gactggcgct 20580
 ggcggtaagg tctcgggcga tgtctatgag tcctggctc agatgcagaa ggacatggcc 20640
 tcgccggagt acaagaccga ccccgcatc cgcaagaagg tggagcagaa gatcggccgc 20700
 tcgaacatct tgtaaggaac catcatgatc ctggagagca tcctgggttc ggtggtggtc 20760
 cccgctatca tcgacctcgt gaagggtgct ggtggggcca ttagccgcaa gttctttggt 20820

ES 2 592 352 B2

ctgtcggttg acgaccagat caagattcaa aatgccgaca tcgagaagct caaggctctc 20880
 gctgccctcg acaatccgta tggcaccccc agccagtggg tggaggacct ccgcgcatcg 20940
 ttccgataca tcggcgctgc cgcggtcatc gctgtcggct gtgtcaccct gtatgccggg 21000
 gtccagacca acatcgaaga cgtgaaggag atgggttttcg ccctcgtggg catgcccttc 21060
 ggtttcatct tcgggtgaacg cctgtacctc ggcttgaggg gcaagagcaa gtaagcactg 21120
 ccgggaagca gcgcattctg tacggttctg atccccgtaac cgttaccacac gggatcacac 21180
 tgccattgaa gtgaaagggtc ctagccgcac tgcgctcctg cgcggtggct ctgctgcatc 21240
 caaagaacac cacaacagaa ccttggtcccg ctgagggcgg caacctgtg tgacgtgtga 21300
 gttcccggaa gccgctcaac acgactttca actcacttcc aaaacaaaaa tggcaaacgc 21360
 agttccgtct cgcctgggcc aggcaaacct ggccaggggat ccgaaggccc tgttctgaa 21420
 ggtcttcgct ggcgaagtca tgacggcctt cgctgaaaac aacatcgtac ttcagtacgt 21480
 ccgccagcgc acgattagtt ctggcaagtc ggcttgacct aaccttatga actgggcccga 21540
 ctctaaacac cccgtaaatt cgggtggaacc ccatggggggc aataccgagc caagacttcg 21600
 cagtacgcga gatgggtgtag agactagaca cggggaacct acaaagacct gcgcatggtg 21660
 caacgtcgag aagccccgcc gtgagttcta taaaaggac gcacagacag gaaggctcga 21720
 tggaaatttg aagtcctgcc gaatcatcaa gacccgagag aaaaccttag gggctactga 21780
 agatgactat cggcggatgt atcatgtcca gggcggtcga tgtggaatct gccaacggcg 21840
 cttgtactca aagaggtaca agagttttgc agtggacct gatcacgaga caggaaaagt 21900
 ccgtggcttg ttgtgccata attgcaaccg cggattaggc atgttccgag acgacctgac 21960
 tgcgcttagg cgtgctatcg actgggttaa ggtatagtcc gatcctcaca gcaatgtgag 22020
 taggggaagc agttccccgt aattggtaag gctaccgccg cgtaccacac gcccggtaac 22080
 gaaatcaacg gcagcaacat cgcccacaac gaagtgggtca tcaccatcga tgacctgctg 22140
 ctggccaaca cttcatcgc caacatcgt gaagcgatga accactacga tgttcgttcg 22200
 gtctattcga gcgaactcgg caaggccctg gccaaccagc ttgaccgcca cctgctgcaa 22260
 ctggctgtcc tggccgcccg ctctgctgcc cgtatcacgg gcgaacaggg tggttcggtc 22320
 atcaccgatg ctgctgccgg taccgactcg aacgcactgg tcgaggacat cttctccgcg 22380
 gctcagaagc tcgatgagaa ggatgtcccg gctgatggcc gtgtgtgctt cctgcttccg 22440
 gcccaatact acgccctggc acagaacacc aagattctga acaaggattg ggggtgtgcc 22500
 ggtgtgtatg cggatggcaa ggtcctccgt gtggccgggtg tggagatcgt gaagacgaac 22560
 cacctgccga acacgaacat cgcttcgggt tcgaccgagg ctggtactgg cgataagtac 22620

ES 2 592 352 B2

attggcaact tcacgaccac cgttggtgtg gtcacccaga agtccgccct gggcacctg 22680
 aagctcatgg acctggcgat ggagtctgaa taccagattc agcgtcaggg caccctgatg 22740
 gtcgccaagt acgcaatggg tcacggcgtt ctggctccgc aagcggctgt cgaaatcaag 22800
 accgcataag cgtcccctca agcctcggga ggttctcttc aagagttcct cctggggctt 22860
 ttttttctgc tctcaaggat caccaattgg caaccaagac tcaaactgat cgcgccaagg 22920
 acggtcagga tttcttccag cttccggcct acaaggacac gccacggtc accgtgaatg 22980
 gcaccgcccc tgctcgcacg actgtcccga gtggcgtcca gctggcaacc cctgcggctc 23040
 aggatgacat cgtagcgcac acgttcaact cggctgacct tgggaatacc cgccgcgagg 23100
 tcttcacccc ggccactggc gcaaccatca caccaccga gttctgcatc gaggcccga 23160
 ttgtaccgcg aggcaccatt gcggccctca ccatcacctt cccccgaac cctcgaagg 23220
 aaggccagca gttccgtgct gtcaccacgc agaccatcac cgcggtgacc tggactggtg 23280
 gctctcgtct caacgctccc accacgctag ccgctggccg tgctgccacc ttcgagtgga 23340
 gcgtggcgaa gcaggagtgg gtcttcatca actaaggaaa acgcatgacc accatcgtca 23400
 ctccgaccac ggagcttgag gcggtcaacc tgatgctcga tgtcatcggg gagagcccaa 23460
 tcagcaccct ggagaacagc gctgtggtgg acgcggtgaa ggccaaggcg gtcctctccg 23520
 aggtgtcccg cgctgtacaa acgaagggtt ggcaactcaa caccgagaag gggttcgagc 23580
 tagtccccac ggtcttcgag aaggagatca tcgtccccgc caactgcctg cgcattgata 23640
 cggctctacc ggacgagggc atcgatgcag ttcaccgtgg cactcgctc tatgaccgcc 23700
 gcaggcacac ctaccagttc gacaagagtg tgaagggtga catggtggtc aacctcaat 23760
 tcgaggaact cccggaatcc gcccgcgct acatcgccat ccgtgccgca cgggtcttcc 23820
 agggccgcat agtgggctct gagagcctct accagttcac cgcagaggac gagagggacg 23880
 cccgagcggg cctcaagaag gctgagggca tcacggggga ctacaacatt ctgacggaca 23940
 gctgggctgt tcgtcgcgtc atcgatcgt gatatgcccc tcgtttcttc ttccatcgcc 24000
 aacatggtga acggggtctc tcagcaaccc ttcacgctgc gtctcgcgtc tcaagctgag 24060
 ttgcaggaga acggcctcag taccgtggct caggggttga agaagaggcc cccaaccaag 24120
 cacatcaaac gcctcggcag tgccatcacc ggctctgcct acatccacac catcaaccgt 24180
 gactctgtgg agcggtatga ggtggtcatc acgaacggtg acctgaaggt ctacgacacg 24240
 gcagggaaacc agaagacggt gaacttcccg aatgggaagg cgtacctgaa ctccacggac 24300
 cctgctacgt ccttcagggc cgtcactgtg gcggactaca cgtttatcgt gaacaagaag 24360
 actgtcaccg cggccagtgc cacgaactcc ccaacgcggc cttcagatc cctcgcaaac 24420

ES 2 592 352 B2

gtgaagggtg ggctctactc gaagacctac accatcacccg tctccggtgt gggcacggcc	24480
acctatagta cccccgatgg caccgttgcg gcccacgcgg cacagatcac cacggactac	24540
atcgccaacc agcttgcgaa tggctctcatt accctcggtg gattcacctc agtgaaccag	24600
gtgggctccg tcatctacat cgccccggccc accgattaca ccatctccgc aacagatggg	24660
tataacaacg cggccctgaa cgtgattaag gggacggtg c agaggttctc ggaccttccc	24720
gcgaatgcga acttccagga cttcactgtg gagatcgcag gggacaacac ctccggagtcc	24780
gataactatt gggcaagtt tgacaagacc gggacaact ccggtgtctg gcgcgagacc	24840
atcaagccag gcatctcggg tggctcttagt ccagcacga tgccgtgggt actggtccgt	24900
gagtcggacg gcacgttcac cttcaaacc atctcctgga cgaaccggct ggtgggtgat	24960
gaagactccg ctccacaccc atcgtttggt gcccgacca tccaggatgt gttcttctac	25020
cggaaccgcc tgggcttcat cgcggatgag gctgtggtga tgtcggaggc tggccagttc	25080
ttcaacttct acccgaccac ggtgacgcaa ctccctggatt ccgaccgcat cgacgtatca	25140
gcatcccaca cgaaagtctc gaacctgaac ttcgcgggtg cttcaacaa ggacctcctg	25200
ctgttctcct cgcagactca gttctcggtg gaatcaggtg acctcctgac acccaagagc	25260
gtctccatca agcccaccac ggagttcgag tgcagaccc ttgvcctcc cgttgggatt	25320
ggacgcaacg tctacttcgc ggtccctaag ggtgagttcg agggcttccg tgagttctac	25380
gtagcggaca acgcaggcac caatgatgag gctgagatca ccggccacgt cccgaagtac	25440
atcccgaagg gggcctacaa gatcgctgag gctctcaacg aggacttctt cgtggtgctg	25500
acttcagggg aaccacaacg gatgtatgag tacaagttct actggaacag caacgagaag	25560
ctccaaagct cctggtccaa gtggacctc ccgagcacgg acacgattct ccacgcggag	25620
ttcatccagt cggaactggt catcctcatc aaccggccc atggtctcta cctggagaag	25680
ctcagtgtgg ctctcgggga catcgggacg aacgagccct acaacgtcca cctggaccgc	25740
aagctgacgg tgccgaaagc aagcctcacg tatgacggca cgtacacat catctcctcc	25800
gcggctctcc cgtggaaccc aacggatgga acgtacacgg cagtgggtggc caccagtcag	25860
ccgcagaagg ctggcgtcct ctaccggtc atttgggatg ggacgaacgc caagattctc	25920
ggtaaccgtg tggactccga cctcatcggt ggtaggcgct acgccttccg ctatcgcttc	25980
tcgccgctac tggctccgca gcagtccggc cagggccaga aggcggacac ggttgcacgt	26040
ctccagattc gcaacatgca agtcaacttc tcggagagtg gcaacttcca ggcaaaggtc	26100
acgccttacg ggcgggacac ctacacgtac acctactcag gaaagaccct cgggctgcct	26160
tcggcaaaaca tcggggccat cggaattgaa gatggcaagt tccggttccc ggtgatgtcg	26220

ES 2 592 352 B2

cagaacacca ccgtggacat cgaactcttc tcggactcgc cgctcccctg cgccttcttg 26280
 agtgcagatt ggggaaggcta ctatgtccga cgaagccagg cggctctaac catacgtccg 26340
 tcctgcaaca cgcgaagact gcatcatcct cgcaaggaac ctccgacagg aagacgcgga 26400
 ggagatcgct catgtgaacg gtctccccgc ggagatgaat ctcttgctgg ggttccgcac 26460
 ctccgctcga ctttatgcgg tgggtgtggg ggatgagacc gtggccgtgt tcggcatcgg 26520
 gggagtgcct ggcgtcatcg gcttcccctg gatgctcgtc tcgccctccc tctcgaaaat 26580
 ccgcaagagc ttcctgaggg agtgccgcgg gtacgtggag gggatgctcc aggagtatcg 26640
 ccacctggag aactacgtgt gggcaaagaa cgaagtccac atccagtggc tcaagtggct 26700
 ggggttcgag ttcgagccag cagcaccatt cggatcaat gacgaaccct ttcacagatt 26760
 ttataggagc atgtgatgtg cggaccagcc gcagttccaa tcgccatgct gggatcagc 26820
 gctgtgggca ctgccgcttc gattagcgcg cagtcgcagc agcagaaggc acaggatgcc 26880
 ttcaaccagc gccagtatga aaacgacatg accgcgtacc gaggcaacct cgccaacatc 26940
 gaggtgcaac ggaaccaggc gcgggaagat gcagtagcgc agaagcagca gaacgacatg 27000
 gcaggaaggc gcgcaacagc aaccgccacg actgccgcag gtgaggcggg tgtctcaggc 27060
 gcctcgggtg atgcactgct gcgggacctc gctggccagg ctgcctacga caacaccaac 27120
 gtggatgaga actatctgcg ccaggacagg gctctgaacg cccagcgtga gaacgccttc 27180
 aacagcactg caagccagat caaccagctt cgcccctcga tgtccccgga ctatctcggc 27240
 gctggtctcc gcattggcca ggctgctgcg ggtgcttaca gccagtacca gcagaacctc 27300
 gactacgagc ggaaccagag cgtcccacgc cgaggagcat aaatggcacg agttcagaca 27360
 gactatcgaa cccgaggtac agggcttcag gacatctcgt cccaatgct tcagccgcag 27420
 caggcagggt tagacaatgg tgccgctgag tctgccgcac ggctggccca ggcgttgggg 27480
 gctggtgacc tgtctccgct ggtaaccgcc aagcgatacc aggatgtgga ggaggcggag 27540
 aaggcacggg cctacgcaa ctccctcacc gtggaggagc ttgggaagca gatcaaggat 27600
 gggaccctca tggcgtccca ttcgcctgtc ttcagggcaa cggtcgaaca catccacggg 27660
 gagaacacgc tcaacacggt cgagcgggac aactctcga agctcaccg cggggaactg 27720
 aagttcgaca ccccgaggc catggatgag tacctcacga agtaccgcaa cgaggccctc 27780
 acgggatcca gcaagttcac cactgcgggc ttcgataagg gctacggcac gttccgtgag 27840
 cgagccatcg cggttaacgt gaaggtggcc gatgaagagg ccgtgaagcg cggcagccag 27900
 gaggcctcgg acaacctcgg caacctgacc ctgcaagtca ccgaccgat gtacaagggt 27960
 gacgctgcgc aggccatcgt ggaccgctac cagcttcttc ggaagacctc tctgctgcgt 28020

ES 2 592 352 B2

gacgatgccg cgaaggaagc tctctcgggt gtcgctgcga accttgacgc ctccggcaac 28080
aaggccctcc tgggttctct gctggacaag aagttggaca gcggtgtctc cgtcaaggcc 28140
gctttggggg acctgaaggc catccagttc acgcaacacg ctgaacgtga gtatgaccag 28200
gcgcagcacc aacggattga cgttgagatt cgtccgttcg tggagcaggc cgacaagggt 28260
gaactgaagc gggatgcctt cgacaagtgg ggggccgcga atgagaagta cgtcaccacc 28320
cccaccatcc acgccatcat caagggcaac gaagcggcca tcgagcggca acagaagctc 28380
atcgctcaga acgccctcct ggcccaggcc gaagcaacac aggctcaggc aacgcaggca 28440
gcccgcacgg ccatcgacca gggcaacctg gcgttcctcc cgcagcagaa ggtgatgaca 28500
cctcaggggg aacagaagaa cttcgatacg aaggccgctg ctgtcccgta catccaggaa 28560
cggattgcac gggagaacat gccgttcggt aagcaggtgg agttctggtc caccaacggg 28620
gtggagaatc ccgagtggga gaaacagatc aagggtggcc tctcgaacct cgcctccgcg 28680
ggctggacct tcgatggcaa gaccattggc caactgaaca accagggcca ggccgcaatc 28740
gacaccttca tccgcatcaa cagcaccaac cccggctacg ctgagaagtt ggtgggcggt 28800
gacaaggact acaagaagct ctccgacatc cagttcctca tggagaaggg cggcttcccg 28860
aacgtcaacg atgctgcggc actcatcaac cagattgacc gcgctgacat caaggcatcg 28920
gactacgggt cgatgaagca gaaggtggcc tcctcgggtg acgatgtggt gaaccagcat 28980
tggtactcag gcgccaccag ttggttcagt ggctcttcg gcaatgacca ggtgaacctc 29040
accgctgtct ccgctgacat tcgccgcagg gctgaactcc tggatgatgtc tggccagggtg 29100
cccgatgcga acgccgcggt gaaggccacg gtggaatacc tggcgaacct cgcagtcacc 29160
acgaggatca acaatacgct ctacttcaac aaggacctc cggtgggtccc gaagggcgag 29220
gacaccgggc agtggatggg gcggttcacg aaggacctc cccagcagat cgccaaggcg 29280
aacaacctcg gtgatgctcg cctggagccg aaccagtacg gaggcttcac ggctggact 29340
ggtggtgtcc cgatgacgga cggcaccggt aaggtggtca cctacacgcg ggatgacatc 29400
tcgaagtggg tggacaacac catcacctc gaccgccaca aggccgctgc tgatgccaac 29460
ttcaagagct accaggaccg cctcgtgaag gaactccgcg atgaaaagca gaaggacccc 29520
tacgtgatgg agcggatggt cgacgcgact gccaacggca tgtggtggaa ccgccaactc 29580
tacagccgcg aaggctatga gcaggttctc cgtgacggca acacaggcaa gccgctcaac 29640
gaactgttcc aaatctacaa agacaaacgc ttcaaggata agtaatggcc gcatcgatcg 29700
ctctggggga tgtccagagg attacctccg agacggagaa gaagtacggg ctccctgaag 29760
ggacgctggt caagatcgga aacatcgagt cctcgttcca ggatggccag gtgagcccga 29820

ES 2 592 352 B2

agggagccaa gggctacttc cagttcaccg atgacaccgc aaggcgctac ggctggatg 29880
 atccgttcga cttcgagaag tcatccgatg ccgcgggccg gtacatgcga gacaacctgg 29940
 ccaagtacca gggcaacatg gacctgtccc tcgcggacta caacggtggc ccgaaggccg 30000
 ctaaggctct cgccaagggg aagccctggg cagagacttc ggactacctg gcgaagttct 30060
 acggcaacaa gtccgagccg ctctcgcagc aattcaccac gggctccgaa gtccctctta 30120
 ctgcctcccc ctccgcctcc cagctatatc gagacgcacg gcagcaggag tctgagtatg 30180
 gaggggttg caataacatt ctcaatctgc ctctgtgctat tggcctgggc tttcaagtcg 30240
 ataattcggg ctacaatttc tggcaggagc gaggactctc cagcgtagac cccgacttcc 30300
 gctgggacga tgacttctcg aagcagatgc ttgatggggg cctgagcgt cattggggat 30360
 acctgctgca atccaagtcg aagcaggaag cggaaactcc cctgcccgt ctggtggaca 30420
 cgatggagaa ggaagtcgaa ctctccaaga tgggtgtggc cggtttcggt ggtcgcctgg 30480
 tgggcaacct ggtggatcta cctacgctca tctcgttcgt cctggggttc ggtggtgcgg 30540
 gcctcctcac gaccacttca cgcacgcca atgctgccc catggctgcc ctccggtgctg 30600
 ctacgaacgt agccttcgat gctgcaacga tgcagttccg cccacggcc accccggatg 30660
 acctctacat ctccgctgcg atgggcctgg gtctcgggtg tgctgggtggc ctctcgggtga 30720
 atcctgcccg cctggcccg caacgtctcg ctgctgagaa ccgccgctc ggtgagttcg 30780
 gtctccgtga atccggcaag gcgcagatca aggagcttgg cgacaacggc ttcaacttcg 30840
 gtgctggccg tgaggagttc gcacggcgca tccaaggcaa gcccgatgag ccggtggaga 30900
 tcaagtacc aggcggtgca atcgtgctgc cgcggggcga tggtgagcct ccgaagattt 30960
 tccaccctgg tgatccccct gaggttcgca agccagggaa catcaacgag ccgcttctc 31020
 ccgaagctcc tccagctact cctccggcca ccggcccggg tgctcccaag gctcctccag 31080
 cagaggcacc taagggcaag ggctggacct ccgagtggga cgctccgcg tacgcctcag 31140
 gcggtggcaa cgagcaactc ctctgctgct ctccggcaaa gcgtgtgagt cagttggctg 31200
 agtatgtccg ccagttctcg aagaacgggg acatcgtgag ggtgatggac cgggtgctga 31260
 agggcatcga cctccgcaag ttggagttca aggtcatcga gaagggtcag cgtttcggcc 31320
 agcgtgacat ggacaacgaa atcctcggcg cgaagggcgc tgtaggtact ccgcgaggtt 31380
 ccattggtga caacatcata atgttcctgc ggggcccactc gtgggagatg cctggtgtca 31440
 acccgatgca cacggtgggt ctcaacgagg agacgttcgt tcacgaactc gttcacgttg 31500
 ccaccgtcta caagctccgc ggtgttgagc ctggcatggg tgtacgcatc acggaccctg 31560
 ttgtgcgcag ggctgctgat gacctggcga acctccacgg ggacatcctc gaccagcca 31620

ES 2 592 352 B2

ggcaaacctt	cggggcccaac	tggaaaggtg	aactccaggg	acgcctcggg	gccaacctgg	31680
agaacgagaa	ggaactcatc	gcctatggtc	tgacgaaccg	gaacttccag	gagtggctca	31740
agacggtgcc	cgttgagggg	ggccctgaga	agaacctgtg	ggaccgcttc	gtgcattccc	31800
tgcgcaagct	cctgggcatc	ggcccgaagg	aacacaacgc	cttcacccgg	ctgatcgaac	31860
tgtccgcccc	tctcacgaag	aagggcgact	tcgttgagcg	catcaagacg	aaccagagt	31920
tggaagcaac	gggtgggttt	gttgacgctg	acaccgtgaa	ggccgcgaac	gaagctgacc	31980
tggctccggg	ctatggctgg	ggtctcggcc	tggagaacag	gctgggtggg	gctaaggctc	32040
cctccgctgt	tcgtcagttg	gcctcgaagc	tgttcggcac	caccatcggc	tacaaggaca	32100
acgcggtggg	gaagctcaac	gcttgggacg	acaccacgaa	gtgggctgac	tcctgggccg	32160
tggagatgcg	caagggcacc	tatccgcagt	tcgaggagtg	gctcaagggc	tctcagtaca	32220
agtggcacga	gaagggcaag	gcgttcgatg	acttcggcgc	acaggtgtcc	aactacatcc	32280
gcggcttcga	gggtgattac	ccaccgcagg	tggtcaaggc	tgccgagcac	atgcgcaaga	32340
ccctggccaa	cgtggtggac	tacatcaaca	gccactgaa	ggacgaaggc	cgagccaaga	32400
ttggtctcac	cgagacggac	atccgagacc	cggagaccgg	caaggtggag	cgggtagggg	32460
cgctggagaa	gaacccgaac	tacctccgc	gcaagcacga	catcaacaag	tggaactcga	32520
tggctctcaa	cttcggcagg	gatgccgtgg	aaggggtggg	ggcacggggc	taccaggctg	32580
gccgtgaggg	aatctctgac	gaggccgctg	cgaagtgggc	caagtgggat	gtccgcacgg	32640
tggaggaggc	tcacgccaac	cgcactcagg	acatgctcga	tgacctcctg	aagggcaccg	32700
atagggacgc	cctgaagaac	tcctgatgc	tcaacggagg	ctactccgaa	gcggaggctc	32760
tgccgatcat	ggacgacatg	attcctggta	gggccaccga	tgaggccgc	acgatggcca	32820
gcctgaagca	ccgcaacacc	atccgggaaa	cgcacaccga	gcagtggacc	acgaaggacg	32880
ggacgaagat	ggaggtgagt	ctgaacgact	tcatccactc	gaacgccttc	gacgtggttg	32940
agccgtacct	ccgcaggacc	gcgggcagtg	tggcgctggc	caagcatctc	gacatctaca	33000
agatggggga	cattgaccgc	gttatcgctg	aggccaccgg	caacaagctt	gggcaggagt	33060
tcaagtccac	ccccgatatt	cagaagctcc	gcaaggacct	gaagttcgcc	ttcgagcgag	33120
tccaagggct	tcccctggag	gagttctcca	cgctgaacaa	gagcctggag	atgtggcgca	33180
acttcaacgt	tatccgcctg	atgggtggag	cagtctggaa	ccaggccacc	gaactcagcc	33240
agatcatcgg	cacgatgggg	tggaagacta	cgcttgccgc	tctccctgag	cttcgagcac	33300
tgcccgctga	catcgccacc	ggcaaggccc	cgcgatgacat	cctggaccac	ctggagaaca	33360
ccattggtgg	cgtaggggtcc	gagtacgtgg	cccgcctgga	gttcaaggct	ggtgacgatt	33420

ES 2 592 352 B2

ggggtccgcaa caaggggggac accaggttca accgctggct ggactctgct gacaccggca 33480
 ccaggaagct ggcgaaaggt gtgctggatt acaccggcat gactccgctg atgattcagc 33540
 agaagcgtgt ccacgcgatt gcgttggatga accacttcgt caacgtggcg aacggcaagg 33600
 ctgctggggtt cctcacgaag gatcgcctgg cctggatggg tatgagcgcg gatgacttcg 33660
 gcaaggtcct gtctggcatc aagcagttca ccaagcccgc tgatggtgag ttctcgaaga 33720
 ccttcaagat ggacttcgcg ggctggcaga aggcggaccg ggagagctac tcgaagttca 33780
 tgacggccat ccaccgtgaa tcccgcaggg tcatccagga gaacgacctg ggctccatga 33840
 tcccgtcat gggcaccacg ctgggcaaga cggctctcca gttcatgaac ttctcgatgc 33900
 acggctggaa caagtcgctg atgttcgcca tgaaccaccg cgactggctc aactgtcca 33960
 ccgtacttca cggctcactc ttcgcgtcca tcgcctacat ggggcggacg ctgctgggtg 34020
 ccggtggcat ggaagcggac aagcgcagc agtatctcga caagcggatg tccgttggcc 34080
 agatcgttac caacagcttc gggcgcctct ctccagcgtc cgtgctgccc aacatgttcg 34140
 acaccatctc accgtatccg ctgttcagcg gaatgcggac cacgagtgac ctctccagtc 34200
 tggcatcgaa cccgacctac caggccatca acggactcat ctcgatgaag aagctgattc 34260
 ggaatggtgt gtcggatgag taccaaacca cggagaagga catccgcacc tggggcaggc 34320
 tactgcctct caacaacgtc ttcccggatga ccacgttctt gaaccacctg gcgaacgatt 34380
 atccgcacgg cgaaaagcaa caataaacgg gtagccctcg gcacgaccgg gggcaacctc 34440
 ttttgagaaa tagatagtgct cttacagtta cgttcttctc tcggggaacg gctctgagc 34500
 caacttcggc ttcagcttcg gttatctcag caagttccac atcggagtga aggtgaacgg 34560
 tgtagtcacc accttcacct ggggtgacgga cttcaccatt ggcacacac cggccccggc 34620
 caacggtgca gtcacgaggt ttcgacggac gactccgctg aatcaaccgg ccgtggactg 34680
 gtcagatggc tccacgctca ccgaagcggga catggacctc aacactcggg tctctctgta 34740
 cactgctcag gaggccgctg atggtgttgc agcatccatc actcagaact ccctggggca 34800
 gtgggacggc cagaaccgca gggccgtcaa cttcgcagac ccggttgatc cacaagacct 34860
 ggtgaacaag cgatacttcg aggacgtgta cacacctcag ttggacgcga aggtcaccga 34920
 agccaccaac caggccaaca acgcggcctc cagcgcggcc actgcgagcagg gctatgctct 34980
 cgctgaggac aactccgctg acctcgctgc ggccctcctg gcgaccttca aaggccagta 35040
 cctcgggtgcc cttgcatcta accccacgct ggacggtaac ggccagccgg tgactgctgg 35100
 tgacctctac ttcagcacca ccgataacct gatgaaggtg tacaccgggt ccgcgtggat 35160
 caacgctggg tcaaccgtcc agtccacat caaacgtcct gtcacacca tcgtggcaac 35220

ES 2 592 352 B2

cgcaggccag accgtgttcc cgggtgtctgg tgggtacgac gcccataca ttctcgtggt 35280
 tgtgaatggg gttgagggtg cttctccaga tgtggacgtg actaacggca gcaccatcgt 35340
 attctccagc ggcctgactg ctggagataa agtggattac gcagcgtttg gtgcgttcca 35400
 ggtggccaac ccggttatcg atgggaccag cgccgcagac ttcatacaaga cacgcaatgc 35460
 ccgtgtagtt acctctattg ccgacctgaa ggcctcaat aagaacacct acaacttcgt 35520
 tctcgtcact ggcttctatg cttcagggga tgggtggcggc ggtttcttcc ttcaggttcc 35580
 cacgatgccc accaacggta tcgttcaggt cgggaatgac ggaggcatct ggcagttggt 35640
 ggttgatcgg gattatgttt ccgcgaaaca actcggtgcg agactggacg gttcaacgga 35700
 tgactcctct ctctgaaca acgccaagtc cactctcgat gctcttggtg agaggctgta 35760
 tatcccgtct ggggtttgca gaatctcaac agcaatcact ccaccaaagg ctggtgtggt 35820
 tggggatagt cctcaagcgt ccatcatcca gtgtaacaac tgctctgcat tcctattccc 35880
 agcaaatfff gggctctctc gtccggcttg tgtcattgag aagttgggga ttcagtccta 35940
 cagcaacacc tgcgatgggc tatacgtttt ccgtgccctt ggggtggcat ctggagcatc 36000
 gcccgctctac aacagcggcc taactgttag ggatgttgag attggtacgg gcggacgatt 36060
 cgggtggcggg ttctcactga aggacttctt ccgagtgaac gtagagaaca ttggcatgac 36120
 tgatgtgagt tccgccgtat tgctcaccgg gtcagttgtg caggcagtat tccgaaatgt 36180
 caccgcaaac ggtgataacg caccaactgt tcttaaccgg tatggtttcc aacagccgc 36240
 agcttcctat tccagcggta cgctaggtcc tgaacacatt agtacgtggg attgcagctt 36300
 cattcgctat acacgcggtg ttcaacacga tgctgggctc atggtctcgt tcaacaatac 36360
 ggacctggaa actttcacac acggcttcta tctctcgag ccctgactg tgcgtgggtg 36420
 tattagcgcc ccggctccgg cagcttcagg gactgctgcg tggattgggc ttttcaaagc 36480
 tattttctgat tttgacgtag ccaacggcac tctgatcgat gaccttgaga tcaacacgct 36540
 aaacacccca ggaactccag cctcttcgta tggggttctc attggcaaca atgtgaataa 36600
 gtgcattggt actacaatcc gtagtcccag gattcgaggt aacactagtt caatggtcgg 36660
 tgggattgtc gctaactctag ctggaggtga catcgttatc gaggatgcca tcatcaacgg 36720
 cagtgtgggt actggaacta cgggtgtctgt gaacaatgct tcctatgcaa gggttgtggg 36780
 caatcgaagc gccaccggtg ggactgtaaa tggttccctg tcaatcacag ataacgggtg 36840
 tggttccatt ggtgatgttc gtggaaatga gtttgccacc attaccaaca ccctcaatgc 36900
 ctattccggt acatggacgc ctggaacaat tcctaaccgga acaccagcag caacaacggg 36960
 ggccgtccct ggcgcagtgg ttggtgacaa agtagtggtc ggcctttcca gcctgaccgg 37020

ES 2 592 352 B2

atcggccaac tgcatacattt ccggctatgt gtcttcacc ggaaatgtgg ctgtcctggt 37080
 gtataacgtc tctggatgcat cacagacgat tccctccggg actctccagg taacagtcct 37140
 caagtcgtaa tcaagatgtc cctctaggtt tcccctggag ggacttcctc tttcaaggaa 37200
 aggtatgagc aatgcgctca acgtaagtaa gctggccaca ctacacggca cagaaatcaa 37260
 agcataacca aacaagaagt aatcatgccg aacatcgaca aagacgtaca gaaggatgct 37320
 ctgaaggagg ccctcacgga gtggctggac aagcagttcg ccacattcgg gaagtgggccc 37380
 ttgcggtcca tcctggccgc tgccttctca gtccctcatgt acctgtacct gacttctcaa 37440
 ggctggcacc gctgatatga ccgaaaagac caccgcttcc gaaaaggagc ttggcggaagt 37500
 tcacaacgag atggccgcat ggtgcctgga catcctcaag ggaatcccgg tcaccgacaa 37560
 agacggtaac ctctgtgattg aggatgggag agttgttcgt ctccctccgg ctctgctca 37620
 cctcaacgtc attcgccagt tcctcaagga caacgacatc caggctgaac ccgccaaggg 37680
 ctctcgtatg ggtgacctct cggacctccc ggtgttcgag gatgacaacg ttgtgcctct 37740
 caagtctcaa tcgaaataaa cgcgattaga ggcctcaga gcgattttaa gcctccaagg 37800
 taggtagacc tatccgggca cctgatcgcg tcctgtgggg ccactctcgca agccaagaat 37860
 gaaaataaca actgccgagg tttcggcaaa acgctgcccg aagtgcggcg aagaaaaaca 37920
 cctctccgag ttacacgcga atcacaccaa gaggggaggc cacaacacca tctgcaagct 37980
 ctgcatgaag caggtggcac gagactggcg caacacacct ccgggccgct ccaagcagat 38040
 gtggacgacc tcaaagaaac gtgcggagga gaggggctgg gagttcaacc taacccccga 38100
 gtggattcag gaacgcctcg aagctggcgt gtgtgaggcc accgggattc ccttgagat 38160
 gtccgaggag gagttcaaag gctacggcca cttccgtcca tggacccct cactcgaccg 38220
 agacgatcca acgaaaggg acacaaccga caacgtgaag gttgtgtgct ggatgtacaa 38280
 ccaggccaaa ggcgtaagca tgcacgaagc cgtcctaaga atggcccgtg ccctcgtagc 38340
 gaatgacaac taaacaacac ccagcacaga aagactttcg cgtctttatg ttcattggtg 38400
 ggcgccacct caatctcccc gaaccacac cagtccaata tgacatcgcc cactacttgc 38460
 aacacggacc acgccgttca gtcatcgaag cgttccgtgg ttaggtaag tcctggatca 38520
 cctccgcctt agtttgctgg gttctgtgga acgaccaca gaagaaaatc ctggatcatc 38580
 ccgcctcgaa ggaacgagca gatgccttct ctacctcgt gaagcggctc atcaacgagc 38640
 ttcccgttct ccagcacttg aagcctaagg cggaccagcg agactcgatg atttccttcg 38700
 atgttggtcc cgcaactcct gaccactccc cctcgggtcaa gtccgttggg atcaacgggc 38760
 agatcactgg ttctcgtgcc gacatcatca tcgctgatga cgttgagggt cccaataact 38820

ES 2 592 352 B2

ccgccacgca gatgatgcmc gacaagctct ctgaggcggc gaaggaaatg gatgcggctca 38880
 tcaaaccgct ccagacctcc cgcacatct atctgggcac gcctcagacg gagatgtcgc 38940
 tgtacaacgc tctccctgag cgtggatacg aagcccgcac ctggccagcg ctgtaccccg 39000
 agcttcacct cgtggccaac tacaagggcc gcctggctcc attcatcacg cgggctctgg 39060
 aggccgataa gactctcgta ggtgctccta cggaccccag gcggttcaac gagactgacc 39120
 tgttgagcgc taaggcgtcc tatggacgtg ctggcttcgc tctccagttc atgctcgaca 39180
 cgagcctcag cgatggtgac cgctaccgca tgaagatcgc ggacctcatc gtccagaacc 39240
 tcaacccccac gatggcccat gtgaagatcg cctgggctgc tgcacctgaa gtttgcacca 39300
 acgatctccc cgcgggtggcc ctcacgggtg accgctacta ccggcccatg tggacggacc 39360
 agcagatgtc cgagtacacg ggctgtgtca tggccatcga ccctcgggc cgtgggtgctg 39420
 acgagaccgg ctacgccatc atcaagattc tcgcaggcaa cctcttcctg gtggccgcgg 39480
 gtggactctc cggtggttac tcagatgaaa ctctggagac cctggcgaga ctcgctaaga 39540
 cccaccaggt gaaccacgct atcatcgagg ccaacttcgg tgatggcatg tacaccaagc 39600
 tcatcactcc attcttcggg aaggtgggac acaaggtcct ggtggaggag gtgaagcact 39660
 ccacgcagaa ggaagcccgt atcatcgaca cccttgagcc tgtgctctcg actcatcgtc 39720
 tcatcgttga ccagaaggtc atcgagaacg acttcaggac ggcagagcag gacatcaagt 39780
 acagcctggt ctaccagatg acccgatca cccgagacaa gggtgccctg gctcatgatg 39840
 accgtctcga tgcactggcc atcgctgttg cctactggac ggagcatatg tccagggaca 39900
 acgataaggc cgctgctgca atcaaggaca aggcgctgaa ggatgaactg aagaagtctg 39960
 ttacgggtgt ccttgggagc aaacccaagc gaacctcgtg gatgtcctcg aactcaggct 40020
 ccaggtgaca ttcggtgcca caataggaga accctacgtg ggttcttcgg gggcttcac 40080
 cgtagctgat atggatgcca cacaccgtgt ggactcggga aacctcagtg tgtggtgatg 40140
 tagtcgctgc attctaggac acccgtagt ctccctattc ctcatcteta tgggggtag 40200
 gggggctaac ttaggtgttc ctagtgttga tgatatagcc actgagatgt caacctcag 40260
 gtcccttaag ttgtctctta gggttgcatt aaggagacat catcaccatc atctcccata 40320
 aggtcatcct ccccatgttc actctactag tcctcctctc aggtgtcccc gtgggtgtcc 40380
 ttctgggtct cgttctgtat ggcctgttg acaactgatg gtgtccctga agtgccccct 40440
 tagggggaaa acttccgacg caaaaatttg aaagccccac tcgaaattcg acgcgggcag 40500
 attcccccg tgccccctcc gcggccggc cctcgtggcc cctgcccacc cacctccggg 40560
 caccctccag gctgtacgct ccgctgactc c 40591

ES 2 592 352 B2

<210> 2
 <211> 41117
 <212> DNA
 <213> T7-like viruses (virus similares a T7)

<220>
 <223> /hospedador="Ralstonia solanacearum"
 /aislado="vRsoP-WM2"
 /lugar_aislamiento="Río Cayo, Badajoz, España"
 /nota="Genoma del virus vRsoP-WM2"

<220>
 <221> característica_miscelánea
 <222> 8340..8805
 <223> /nota="inserción respecto a vRsoP-WF2 y vRsoP-WR2"

<400> 2
 ccccatggtc actctactag tcctcctctc aggtgtcccc gtggtgttcc ttctgggtct 60
 cgttctgtat ggcctggttg acaactgatg gtgtccctga agtgcccctt agggggaaaa 120
 cttccgacgc aaaaatttga aagccccact cgaaattcga cgcgggcaga ttccccccgt 180
 gccccctccg cggcccggcc ctctgtggcc ctgcccacc acctccgggc accctccagg 240
 ctgtacgctc cgctgactcc tggcacatct tctggcacac tctgccgtaa ctccctgatt 300
 actaagggga tgcactagct tacgaagcta ctgcgacca ataagcctca cgcattgagca 360
 ctcaactggct cactcgtggg gctttttttt ctattctgtc cccatttccg cgccccctg 420
 ttcggccatc agtttgcttt ggtttctcct agggtttccc ctaagtgtct ccttggcgtg 480
 catcgctacg attctcccaa cggcccactt gcggcccacc actggagaac atcatgcaac 540
 tgcaataactt ccgcgacttg gcaatcggca cagcgttcac tatcgctggc acgccctacg 600
 tgaagaaaag cgcacggact gcgtacaccg ctcccggcca cctgggcat tgggaaggcc 660
 gctggttctg gtttggtcag actgaactgg taatggccta agggagcaca ccatgagcaa 720
 agtccgagca ctgcctact tcttcgctgc aaccacgctc gcactcacct acgtgggcgc 780
 aagggcagca catgcggcca tctcaagcct cctcgtgatg cacctgcatt gatcccactc 840
 agaacaccct ccttggcggc aaagccgcta cagaagcctc cagatcaacg tctgggggct 900
 tttttgtttg ctctggggc tgacctacct gcgtcccact gcgtggctcc tagggcttcc 960
 tatcgttcct tcggagcaac gtcctgata tcggaactat tgcagtgatt gaaaaataca 1020
 attgggcagt ctccgatggt tcgtatgtaa ttcggtctca ccagggggac acgcccctga 1080
 agacaaaaaa gcgtgggacc ggggcggacg ccagcagtca gggacaacc gagtcaatcc 1140
 aagagtaagc acattgcgag tccttccagt gtgctcatca ctggagagac atcatgcaat 1200
 cattcacctc gaacattggc cttatcccga gcaagaaatc ttcgctacc gctcgcata 1260

ES 2 592 352 B2

ctgcatcggg agttaaggcc gcaacttcgtg gcgctggctt cttcgtgtcg ggctttcgca 1320
 tggcccagtc ggccaccgag cctaccgcag tgggccgcgt gatcgcacgt cagccaatga 1380
 gctatcacca agcgcctctac aacgtgtccc tggcgctggt gcaggactgc atcgcggttg 1440
 tccctgacac ggtacggggc gcgttgattg gcccggatgc ggctgagtgg ggtgagttca 1500
 atccggccta cttcatcccg tttgatgtcg aaccgcaggc aatcgcctgcg tgacacttag 1560
 ggtgcccctt caggggctcc aggagtagcc gcattgcgct gtgcagtgcg cctatcactg 1620
 gaggacaaca tgtacggaaa ctttgacccg agcacgaacg catggccggt cagtgtggag 1680
 tttgtggacg ctgtaggctg gcaagtggag gacaaccggg accccaccaa tgtcgtgggtg 1740
 atggtcgcctg gtctcacctt cgaggaagcc aaacagcgcg cgtctgaact caacctgaac 1800
 cacttccggg ggtcctgaca tgccgactct caaggaagcg agcgtgaatg ctgagagacc 1860
 acgcggaggc gtccaagcgt ggagcgtagg ggacacctac ccggtcactg tagtgggcct 1920
 gggcaatggc ccccgcgtgc aatggtacgc ggagaacctg cacacgggcg aacgtggccc 1980
 cgtgcgagat gcccagggtg atgcagtggg ggaccagtat cgtctttggg cggagttaa 2040
 cagaaatcgc ctacaggcgt aattcgggtg ccctgttcat gtgtcgtgaa cagggctcca 2100
 ggagtgaacg cattcaatcg tgagtgcggt catcactgga gaatgcaaca tgcaaacgaa 2160
 agaacagcgc atcgaactaa tcgccgcgat gtttggtgag caagaaacgg gcctgatcgg 2220
 taagcaactc cgcgtgctgg ataactccca aagcggggcg ttctacaatg ttggtgatgt 2280
 cggatccgta gtccctcgtg acgatgacgg tgaatcttgg gtggactttg gcccgatgg 2340
 cttcaaaggc gatggtacgg catacccgtt ctgggcccgt ggttcgctgg gcgcagacga 2400
 ccatgagttt ctggaaaaact gacatgggcg tcactctggca cgaactcatc tacgccctgg 2460
 gagccctcgt ggttgtcggg gtcctcattc tgatcctcac cgaggagac tgacatcatg 2520
 cgcacctttg caatcgactt catgctcaac ggcaagcgcg ttgggcgtga ctacgtgacg 2580
 gcttccaacg agaagcaagc caccatcatc gcagaacgca ctgcaccctg gacgctgtat 2640
 gacgaggttg tggtcgcacc gctgtgatgg accatcgggc tccttgtgg agccccagg 2700
 agtggaccct ttcaattccg agagtgtcca tcaactggaga gaatcatgtc ggacaaagcc 2760
 aagcaatcca tcgagttcgt tcgcaacggc ctgggagagg aaaacttcaa caagctcctg 2820
 agcatcacgg gagtacgtga catcgaactg gctgccgcgt tcctggcgac caccaaggag 2880
 gagcgtgact ctgtgaagac aggtgacgac ctcatgcgcc tgctgggccc caagcacgct 2940
 gagaaccgcg tggccatggc tctggtgcgc gcgggtgtgc cgggtggagg tgccgtgtct 3000
 ttcgtgcgtg aaaccgctgc aagcctgtaa gcccgaagg gccccttagg gggcctctag 3060

ES 2 592 352 B2

gagtgagccg ctggaatcgt ccgaagtctc atcactggag atcgctatgt ctgcacaagc 3120
cgaacaaacc caaacccgcc cgaccatcat cgccctgctg tctgctgcga atatggctca 3180
gacgggcccc ggcgtcttcg ctggcgtcat caaccaagcc acacctgagg agcgcgcggg 3240
tgtgaagaac atgaaggacc tcctggcgct gtacttcaag gttcatgcgc gagtggtgcc 3300
cgaaatctcc gcggaagtgg aagccaccac ggaccatcgg gtcctctggt tggacctgtc 3360
cgacttcgct gagaccctgg cggagtactt cagccgtgcc gatgaagtgg tgccggaagg 3420
cgtcacgctg caataacgct gggtgccccg aaaggggctc caggagtgga tgtcttcatt 3480
gtgaggacct ccatcactgg agaaagcaat ggcacagatg cgcgcctggg tctacaaggc 3540
gcactggagg cggcacctgg ccgcgcaagg catcgtcctg cgcaaatacg aggtggacaa 3600
ggagtacatg caccgcggca tgacgcaggc catcttccgc cgcaacaaag cgaagttggt 3660
ggccgagtac acggagttct gacatggaca tcgtagacga actggagata ggaccctctt 3720
acgtcctgaa ctccggacgag aagtggctcc gcaagagagc cgctgaggaa atccgcaggc 3780
tccgaaagca actggcggac gctggttggg ctctcgaagc ggcccgtgaa ctcgaagacc 3840
aacgagacaa cgggggctgg ctatgaaacc cgctgacggg caaccaagc gcttcaagct 3900
gcacaccaag tatccccaca acaggtccga gggtttgact catcggacca acaaggggac 3960
cgcgcttcaa gttctaccga agaggtaacg ccatgaagat cactctgaca ctggaggaca 4020
ccgctgatgg tgtcgctgtg aactggaccg aggagcaatc tgaagctcag acaaaccga 4080
gcgagagcct ggccaccatc atcgctgcc a gttcattct tgagataaat caatctcacc 4140
gtatgggaat tttacggctg tccggcactg cattgggcgc agatcgcgca tagctagtat 4200
gagggtgtgt gcgtagagtg cgaaccagtt ttatttggtt cgccatgccc gcatccagaa 4260
gctcatcgca acagtagagg agtagcaatg ccggtcatca aacgcgggaa caagtaccag 4320
gccagtgtgg gctctggtac tgatcgctgg cgcaagatgt tcgacacca ggaggaggcg 4380
gagaccgcag aactggcaga gaagctgcgc aggaaggccg ctgggaagga cgagaagggg 4440
gctacaagct ccgcaaatgg ggcgaaggta cagaagacc taaaggaggc ttacgaccgc 4500
accttggccc tgatttgga gggcaccgct gcggagaaga cccacatcat caactcgaac 4560
tccgtgatgg cggagttggg caaggacacg ctctgtccg acatcgccac cgaggacgta 4620
acggagatga tcctggctct ggaggagaag ggcaactcag gcagcacggt gaacaagaag 4680
ctgtcctgcc tgtccatgat cctcaagacc gcctcggatg agtggcctgg gtgcatcgtg 4740
gagatgccca agctgaagcg gcgcaaggag gggctctcacc ggctccggtg gatcaacgag 4800
gccgaggaga agcggatgct ggaggccgcg gagcacctgg ggctctacga cctccgggac 4860

ES 2 592 352 B2

tacatcatcg ttggcatcga caccgggttc cgccgcggag aactcctcgg gttccccctg 4920
aaggactacc agggcgggtct catgatcctc cacgatggtg agaccaagag cggcaagggg 4980
cgcgccatcc cggtcaccaa gcgggtccac gagatcatcc agcggaggag caactactcg 5040
tacctcttcc aggactacac ggtccacaag ctgctgtggc agttcgacca actgaagctc 5100
cacatggggc tccaggagga cacgcagttc gtgggtccaca ccctgcggca cacctgtgcc 5160
agccggatgg ttcaacgtgg ggtgcccctg aaggtgggtcc aggagtggat gggtcacgcc 5220
accatcgcca cgaccatgcg ctacgcgaag ctagctccga gcagcctgct gatggcgaag 5280
aaggccctgg aggaagaacc ccaggaactc acattcattc ctcccccgca gatggatgtg 5340
gtggagcttc acgacttcta aggaaaggaa ttggaacacc tcagagagac gttcaagggg 5400
aaggtacaga gacaggcagg acgagatggg tgctggggtt ggcaaggctc taagacggac 5460
aggggatatg ggaacctgtg ggacccaaaa accaagaagc ctgtctcagc acatcgactg 5520
tcctaccaac tccacaaggg acaaatcccc gaggggttga tggttctcca ccgggtgcgat 5580
aacagggctt gtgtgaacc aaagcacctg tttgtgggga ccgccagga caatacggtt 5640
gacatgtacc tgaagggtag aggaacagtt ccacattagg ttccacataa ggataaccct 5700
gaagggaaac ctaatgtgta aatcctaagt gtttatcttc atagatagac actattaatg 5760
atatctactt agagagaaca ctttagttga cactatgact acccaacaag tggacaacga 5820
gaacgaagac ctggtgacta ttcagcttcg tctcgaagaa gagatgacct agcggggagc 5880
agaccggtac atccgggggg tatccaaggc catcgagaag ggccgtgagg atgacaccgc 5940
ctacggcaag caaatcctgg ccgggaggtt ggcgaagctg gcccaggcca tcgctgagtg 6000
gaagggcggag gtggcctctg gtaagcctgg ccggaagcac tcggcctgga agctcatcaa 6060
ggacacggac gacaacatcc tcgccttctt gccctcaag cacgttctct cgggggtctc 6120
cgcagtccgc accgtccagt acgtggccgt ggccatcggc accgcggtgg aggacgagat 6180
gcggttcgcc aaggtccgtg aggcggagcg gaagaagttt gagcagctag tcaccggggc 6240
agcgaagcgg accagccagc actacaagca cgtctacgcc accgcggtgg ctgaggacgt 6300
gacggagtgg gacaagtggc cccggactga ccgcctccac gtgggggtca agctcctgga 6360
cctcctgatg cagtccatcg gcctgggtgga ggtgtccacg aacctggaca acagcgagca 6420
ggggctcaag tacgtgaagg ccctcccgga gaccctggag tggatcgaac ggaagaacga 6480
ggtgaccgcc ctgctgcgcc cggctctatga gccgatggtg gttcagccgc gggattggac 6540
caaccggttc gatggcggct acctgtcctc gaacatcaag ccgctgaagc tgggtgaagac 6600
gaagaacaag gcgtacctgg aggaactccg cggcgtgac atgcccacgc tctacgaggc 6660

ES 2 592 352 B2

agtgaacgcc atccagcgca cggcctggca gatcaactcc caggttctca cggatgatgcg 6720
 gcacctgtgg gactcaggct ccgagcttgg tggctctccc cctcgggagg gactgccgat 6780
 gccaccgaag ccctacgaca tcgacaccaa cgatgactcg aagaaggcgt accgcatcgc 6840
 cgcagcgaag gtccacatgg agaacctctc cattctgggc cagcgcacgc gctttgacat 6900
 ggccctgggc attgcgggcc gctacgagaa gtaccggcgc atctacttcc cgtaccagtt 6960
 ggacttccgg gggcgcacatc acgcggtccc gcacctgaac ccgcaggggt ccgactacca 7020
 gaaggctctc ctcagattcg ccaacgggaa accgctgggc tccgaggggt ggaagtggtt 7080
 ggccatccac ggtgcgaacc tggcgggcta tgacaagggtg agtttgagg accgcgtgga 7140
 gtgggtcctg gagaacgaag atgagattct cagaatcgca agtgatccct acgaccatcg 7200
 tggttgggca tcggaagtgg gggggggttaa gatcgacaag ccctggcagt ttcttgctt 7260
 ctgctttgag tgggctgggt tcggtgagca tggtagtcg ttcgatcaa agctgcccg 7320
 ggctatggac ggttcatgct ctggcatcca gcacttcagc gcgatgctcc gggacgaacg 7380
 aggcggggcc gcagtcaacc tcgtaccca ggacctcca gccgatgtct atagagccgt 7440
 cgctgagaga gtcatgaa aggctgaaa tgatctcgt cacggttccg aggacgaact 7500
 gaagcacaac ggccagggca tcgcttacct gtctgagggc tccaagacca tcgccagca 7560
 gtggatcaag ttcggcatca cccgcaagg caccaagcgg agcgtgatga cgctggccta 7620
 cggctccaag gactacggct tcaaggagca actcatggag gacatcctgt ggccagcgaa 7680
 gagggcagcg atgcggcctg atgggtccat cgacacggag aagttcccg tcagcgggga 7740
 tggctaccgt gcggctctct ggatggcgaa ggcaatctgg aacgcgggta acgcagtgct 7800
 ggtgaaagct ggcgaggcga tgcaactggct ccaggagggtg gcagcactgg ccgcgaagga 7860
 ggaactgcct gtccgctgga caaccccggt ggggttcccg gtgatgcagg cgtatccggc 7920
 cctggaggca cgtaggggtga agaccgcat caacggcatg gtgctgaagc tcctcatgaa 7980
 ccaggagaag gactccctgg acaagcggaa gcaggggcag ggcacatcgc ccaacttctg 8040
 ccaactcctgc gatgcggcgc acctgatgct cacgggtggc cgcgcgaagc aggaaggat 8100
 ccagaacttc gccatgatcc acgactcctt cgggaccacc gcgggtgacg tggaggagat 8160
 gtatcgggtg gtccgcgaga gcttcgtgga gatgtactcc gaggtgcgcg tcctggaaga 8220
 cttccgggat gagatcgcgg agcaactttc cgagaaggcc agggccaaga tgacctgatc 8280
 accggccccg gcctcctgg agttgtctcg tgtgtgcgag agccgggtact gttttgcgta 8340
 gactgtttca catttgcaac tattccttat gagtgagtgt aagaagtgcg gggttgcctt 8400
 ggtgccagggt gagaactgg atccgtccct cgcaaagaag aacaaccagg tgtgtaagcg 8460

ES 2 592 352 B2

gtgtcacacg gcacggagcg aggcgaagcg gattgaagac cgcgagacca acctcccgaa 8520
 gtggatgctg cgaaacgcca ggaatcgggc caaggcacag ggactcccat tcgacctgga 8580
 ggagtcggac atccaaattc cgctcctctg tcccgtgctg ggcatcccgc tggaaagtctc 8640
 acgcgggcac ttcacggaca actccccggc tctggacaag ttcatcccgg agcttgggta 8700
 cgtgaagggc aacgtggccg tcattttctca gaaggccaac gtgatgaagt ccaacgccac 8760
 cattcaggag gtggaggcac tggccgcgtg gatgcgtagt cgcgcctgaa cccctccaca 8820
 tctggaagag ttgagccggg ggaacgatta ggtgccacac atggataaac cagccgccgt 8880
 tccccggtg gcctctcccg agacaaccga tggaacgcaa cgaacacgaa gtatcggacc 8940
 agtacgagtc cgcacttggc cgcgcgattg ctcatgtggc caccggacgg cccatcccga 9000
 tgacactcgc cgctgaactg atgcaacagg gctatgacgt atccgccttg gaagcacgtc 9060
 acatgacctg aaccaacaat ggcagaaaag aaacaacgca acccgagctt cacctcgccg 9120
 cgcggcatcg cccgctaccg ggccctcaac aagcccgact acggcaacga acagttcccg 9180
 aagccggatg gtgagtacaa ggtccaactc atcctgagcg aggccgaggc ccagccgctc 9240
 atcgagaagc tccagccgct ctatgacgcg gccatcgagg aaggcaaggc gaagttcaag 9300
 gaactgaagg tggagcagcg caagaagctg ggcgcgctga aggagaacga cctctacgcc 9360
 accgagtacg accaggagac cgaggagccg accggcaacc tcattcttcaa gttcacgatg 9420
 caggccggcg gcaagaacaa gaagggtagc ccgtgggtctc gcaagcccgc gctgttcgac 9480
 gcgaagggca agccgctgcc gaagaatgca ccggccatct ggggcgggttc ggaagtcaag 9540
 gtctcgttcg aggccgctcc gtacttcatc cccggcacggtg tgctgctgg tctgaagctg 9600
 cgtctccagg cagcgcaggt gctcgaactg gtgactgggtg gccagcgcag tgccgatgcc 9660
 tacggcttcg gtgccgaaga cggctacgag gcagacgaca acaatgaaga gggcgatgaa 9720
 gccccggaca ctgatggcaa gagcggcagc ggcgaagacg agttctaaat cactgactgc 9780
 caaacaggtg gccctgaagt acggcttcag gagcggcctg gaagagaaga tcgccgcgga 9840
 cctcacctcg aaagggatgg ggttcacgta tgaggagcta accatccctt acgtgaagcc 9900
 cgcgaagccc tcaaagtaca caccggactt cgaccttctc aagaacggca tcatcgtgga 9960
 gtccaagggg cggttcctaa cagaggaccg ggccaagcac ctgctggtga aagcccagca 10020
 cccagacctg gacattcgtt tcgttttctc gaattcaaag gcaaagatca acaagcgaag 10080
 cccgaccacc tatgcatggt ggtgcgagaa aaacggcttc gcatatgcgg acaagagcgt 10140
 gcccgaggca tggctcaaag agccgccgaa cctgaagtcc ctaacagcca tcgagaggct 10200
 gcgggggagca tgacatggca tacacttcca acaccaagaa gcgggcaagc acggactacc 10260

ES 2 592 352 B2

tgggtggtcca ttgctccgca acgaagccct ccgctgacat cggagccgcg gacatcgacc 10320
 gctggcaccg gaagcagggg tggcgctgca tcggctacca cttcgtcatc cgccgtgatg 10380
 gcaccatcga agaagggcgt tacgctgacg ttatcggcgc acacgtagaa ggccacaacg 10440
 agaactccct gggcatctgc ctggcgggtg gtgtctccga gaaggatgtg aacgttgccg 10500
 agaacaactt cacgcccagag cagttcgcca gcttacagaa gtcctgacg gacctccgag 10560
 cgaagtatcc caaggccacc atccagggtc accgcgattt ccctgggtgtg gcgaagtcgt 10620
 gcccctcctt cagtgcgaag gattgggcca agcaaacg tttctgacac accacgagga 10680
 gcaacatga aggcatggcg taaagaacct aatcagggcg cagtccgtat tggtcgcaag 10740
 accatcaacg cgaagcgtgt gatgaacaag ttcaaaccga gcatgggtcaa ccatggctcc 10800
 gtccctgtttc agcggatgat gctccaggcc ggtatctggg cgctctaacc taaacctct 10860
 ccagtggtagc ttcgggcccg tccttcgggc tggccccct tttatgctca agatttgtaa 10920
 gaggtgcggt gaatgcaagc cgtttagcga ctttcacaaa gcacccgcag gaaaattcaa 10980
 gctccagtca tattgcaagc agtgcaagaa ggaatacacg cgggacactg gagctaacat 11040
 cctaccctcc attcgtcaga gagcacgaaa gcagggagtc cccttctcgc ttaccaaga 11100
 gaacctccca cccatccccg aagtgtgcc ggtcttaggg gttccccttc gacggacact 11160
 cggctttgcg gacgacaact cgccatcgct ggatcgattg atccctgagc ttgggtacgt 11220
 gcctgggaat gttgagtgga tgagctaccg agctaatcga atcaagaacg actcaaccta 11280
 tgaagaactc gaaaggggtca ctgcctgggt ccgagagcga gtttctacga cacatcccat 11340
 gtgagggctg cggttcctca gacgggaaca gtctcttcag tgatgggcac cagtggtgct 11400
 tcgtctgtga aacctacgtg cccgggtgatg gcagcgaacc aacaatagga acaacgaaga 11460
 agcggatgga agggctgcta accggggagt ttcgccccct actgaaacgg aagatcaccg 11520
 aggagacggc gcgcaagttc tcgtatcaag tcggtgagtt caagggaaag acggtgcaac 11580
 tcgcccgta ctttgacaat gcaggtgtga tgggtggctca gaaggtccga ttcccggaca 11640
 aggagtacac cgtagttggg gatggcaagg ccatctctgg aatcctcttt ggccagaacc 11700
 tatgggctcc tggcggaaag aagatcgtgg tcaccgaagg cgagatcgat gccatgtcgg 11760
 tgagccaagc gcagggcaac aaatggcctg tggctctcgt accaaacgga gcacaaggcg 11820
 cgaagaagtc gcttcagaag gcactcgaat acctggagag ctttgatgaa gtgattttga 11880
 tgttcgattc cgatgatgca ggcaagaagg ccgctgctga gtgcgaggag ttgttctcgc 11940
 ccggcaagtg caagatcgcg tccatcccga tgaaggacgc caacgaattg ctgaaggctg 12000
 gccgtgagca ggagatcatc actgcaatct ggcaggccaa ggagtaccgc cccgatggca 12060

ES 2 592 352 B2

tcatctcggg agcggaaactg tgggaggcgg tgtcagcatc tcaggatata gtagagtccg 12120
 ttccgtaccc ctgggacgca ctgaatgaag tcacgaaagg cgcgcgtaca ggcgagcttg 12180
 tgactctcac tgcgggttcc ggcatcggca aatctgccgt ggtacgcgag atcgctcacc 12240
 acctcctgag gcgtggagag acggttggca tgttgatgct cgaagagaac ccgaagcgca 12300
 ccgcgctggg tctcattagc atctccctca acaggcctct ccacatagac cgtgaagggtg 12360
 tcagcaagga tcaactgaag gtagctttcg atgatacggg aggctctggc cgactattcc 12420
 tctacgacca cttcggctcc agcgacatcg acaacctggg gtcccgtgtc cgcttcatgg 12480
 cgaagggcct ggggtgcaag tgggtcatcc tcgaccacct gagcattggt gtctctggcc 12540
 tcggtgacgg agacgaacgg cgactcatcg acaacgcaat gacgatgctg cgtaccctcg 12600
 tggaggagac cggcatcggc atgtttgtgg tgtcacacct ccgccgaccg gagggtgacc 12660
 gcggccacga acagggagca cgtacctcgc tcaccaact ccgcggttcc catagcatcg 12720
 cgcaactgtc ggacatgggtg attgggtctcg aacggaacca gcaggggtgag aaccggaacg 12780
 tcaccacgct ccgtgtgctg aagaaccgct tctccggtga gaccggtgag gccgggttcc 12840
 tgctgtacga ccgggagacc ggacgcctgg aagagacgga cgcacctgct gcgcccttca 12900
 aagacgaaac caaatcggac gttcagtccg agttctaacc aaaggttaca tcatgagtct 12960
 gatttcgctg ttcacgcagt ccgctgctga ccaacgtgct gccgcgcccc gtgctgcccc 13020
 tgtccgcgcc aagatcgcgg acctgatcga ctaagcggga gtctctgtga tcgatgacac 13080
 ccgcctcaa gagttccgag aaatcctcga tgtagtccgc tgggagttcc ccggttcaca 13140
 ccccgtgatt gggggcgggg ctctccgca ttctaccat ggtcgcccaa tcaaggacgt 13200
 ggacgtgttc atgcgcaggc gtgaccacga gacgctgaac tcggaactca cccgcttcat 13260
 ccgcccgcg atcctcgtgg ccacaggcta tggccgtccc gacatgcacg gcgcatggga 13320
 cctgatgcag tccgttgctg gctacgaggt gcaactcatc ctgcgggact tcgagaacct 13380
 ggaagacctg gccggtacgt tcgacctggg gattgcccga gccaccttcg atggtgaccg 13440
 gctgttcctc catccggact tcctccagga ctccacggat aaggctcttc gcatccgctg 13500
 cgcggacaac ctgttcgaga aggcgcgaag cctgaagcgc atcaagcggc tggcagagaa 13560
 gtaccocggac ttttcaaacac cggacttcga gcattgccct gtctgcgcac aaccatcat 13620
 cgagttccgc aatgctgcca gcgtccgaga gcacaaatc tccgggctct gccagcaatg 13680
 ccagtactcg gtgttcgaca aggactgacc atgaacacct tcctcattct cctggctctc 13740
 atcggaggcc aaatcgaagg ccgcgtgatc gctgagttcg aactccccg tgagtgcgaa 13800
 gcagcgaagg aacacgtgag ggtcatcaac caacccctg tcgtcgcgtc cacgttgggtg 13860

ES 2 592 352 B2

tgcgcaaggg atggccgcgc gtaatcacca aggacggtat gaagctattc gacattgaaa	13920
caaacggtct gctggatacc gtcaccaagg ttcaactgtct cgtcatcaag gatcgcacca	13980
ccgggaggaa gttccgctgc atccccgcag gcttcccgat gcaagcggac atgaccatcg	14040
agcaagggct ggagcttctc aagtccggcc ccatcggtgg ccacggaatc ctcaggtacg	14100
acatcccggc cctggagaag ctgtacccgg acttcaccta cgacaaggac caggtgttcg	14160
acaccctggt ggccgcgcgt ctcatctgga cgcacatcaa ggacatcgac aacgggctcc	14220
tcaaaaagaa gcaaatcccc ggctccctct acggctccca ctcgctggaa gcctgggggtt	14280
accgctgaa gctccagaag ggcgagtacg cggctgagtt caaggcgcgc atgggggacg	14340
cttacgaggg gggcatggag tggcgagagc tttctcctga gatgctcgac tactgcgacc	14400
tggacgtgga tgtcacggac gcaactgttc accggatcga aggcaagaac tactccgcgg	14460
aggcgtgga gcttgagcac cgcacgcct ggctgatggc tcaacaggaa cgcaatgggt	14520
tcccgtttga cgtgacgaag gccagcgcgt tgtacgcaa gctcgcgcaa cgccggggcg	14580
aactggagcg agaactgaaa gagtctctcc gtttctgggt cgctccggct ggaacagtga	14640
ctccgaaggt tggaaacaag gcgcgaggaa ctgtagccgg tgtcccgtac accaaggtga	14700
agatcgtgga gttcaacccc ggctcccgcg accacatcgc taatcgcctt gtcacgctct	14760
acggctggaa accggaggtg ttaccgatg gcggtaagcc tcgggttgat gaagatgtga	14820
tggcacgcct ggactacccg cccacgaaac tcctcacgga atacctgctg gtctccaaga	14880
gaatctctca gctagctgaa ggtgaccaag cgtggctcaa ggttgtagct gacggaaaga	14940
ttcatggctc cgtgaatccg aatggcgcgg ttacaggaag atgcacgcac gctttcccga	15000
acgtggccca ggtgccagcc gtaggttccc cctatgggtg ggagtgccgg ggattgttcg	15060
gggcacctaa gggttggctg ctggttggct ccgatgcttc cgggttgag cttcgctgtc	15120
tagcccactt catggccagc cacgatggcg gcaagtatgg aaaggtgatc cttgagggag	15180
acatccacac ggagaatcag aaggccgctg gactgccac acgaaacaac gcgaagacct	15240
tcatctacgc gttcctctac ggagccgggg acgccaagat tggtaagatc gttggaagg	15300
acgctgctga aggaaagaag ctcaaggccg cgttcctgaa gaagaccccc gactcaaga	15360
agctcctcga agctgtccgt gagtctgcca agcgcggcta cctggttggc ctcgacaagc	15420
gacaactcca tgtccgctct cagcacgccg cattgaacac cctgctgcaa tccgcaggtg	15480
ccctcatctg caagtattgg gttgtccgca cggcagagcg aatggaagct ctgggctaca	15540
agcacggatg ggatggggac ttcgcgttcg tcgcctatat ccacgatgag cagcaggttg	15600
cagtacgaaa tgaggaagtc gccaaaggtc tcggtgagca ggttgcatcg gccatgaagg	15660

ES 2 592 352 B2

acgccgaagc gtgggcccga ttccggtgcc cgctggcctg tgagtccaag gtcggtacgg 15720
 attgggcttc aacacactaa agtaatcaga caccaacatg agcatgttcc gagacgacct 15780
 actcaaagaa gtcctctacg aggcgttcaa gactcccttc aagctccagt ccgacttcgc 15840
 ccgagagttc gctcaggaag tcgccgctct ggccctcgatg ggatacatct cgacctacga 15900
 ggggcccgcag cagttcggca agaagtggcg cgtcaccggc atcggcctgg acaagctgcg 15960
 caagctgggg atgctgtgag tgaagcccta cgccccatt cgctgaggat catgggcccgg 16020
 aagttccggg tctcttaciaa ggatgacctg gacggtgacc tgggatactg cgaaccacc 16080
 aagtgtaaga tcgagattga gaacgggcag caccctgtgg aggaggccga tacggctctc 16140
 catgaggtgc ttcacgcggt gttctatctg atggacattg ggctctccgc ggaggaggag 16200
 gagcacgtgg tccgtaaggt tgtcaccgga ctcaccagc tattccagga caacccccgg 16260
 ctctgacct acttgcaaaa cgccaagtga tggaccatat agccaagttt gattctctcc 16320
 aggaggaact catgacggac aagaagtgga ccatcacggt taacgtggac acccccagg 16380
 gccaccggga gcggaccatc gaggttcccc accggcccac cgaggaggag cttggtctca 16440
 agctggcgca gttcttcagc cggatgaact tccgattcaa cgaacacctg aaggaggtga 16500
 aggggtgtgc gctcctgaca cctcggagac cgtatgaaag tagcgtgat tgatgctgac 16560
 gttctgggtc tccaggcggc tgtagtcgct gagaaggcaa ccgattgggg ggacggtgtt 16620
 tggaccctcc acgcagacga gggtgacgga gaacgaatcg ttcgccagtc cgtcatcacc 16680
 ctccaggaga agaccggtgc ggataaggtc atcctggcat tctccgatga ggagaactgg 16740
 cgcaaggcca tactgcccac ctacaaggcc aaccgagcgg gttcccgcca gccgatcatc 16800
 cgcgcgcac tgaagcgggtg ggcttccgac gaatacgaga gcttcacccg gccaacctc 16860
 gaaggggatg acgtgctggg catcctggcc acccgcgagg gcaagccagg cgagaacttc 16920
 atcgtgtgct ccatcgacaa ggacatgcga accatccctg gcaccactt caacttcggc 16980
 aagaacgaag agttcgtggt gacggaggag ggggcagact actggcatct cttccagacc 17040
 ctacagggtg acccgggtgga tggctacgca ggctgtcccg gcattggccc ggtggcccgcg 17100
 aagaagattc tcgacaagag cccacactgg ggtgccgtgg tctctgccta cgacaaggca 17160
 ggcttcgggtg aagaggaagc tctcgtgcag gcccgagtgg cgcgcatctg ccgcgctgaa 17220
 gactacgact tcaagaagaa acaagttcga ctgtggacc caaagaaatc ctgaaagaac 17280
 tggaacagca gcaaccccgc aagttcgaga aaggccctct caccggcaaa cgcgccgatg 17340
 tcatcatcat ggacgacatc caggacacca aggacaccaa cccgaaggac gccatcggct 17400
 ccaccaagct ccccctcgac ctcgttcctg actcgtcttc ggtcttcgcc gcgctggcgt 17460

ES 2 592 352 B2

tcaccgaggg tgccaccaag tacggtgcct acaactggcg tgcgctggt gtccgtgcgt 17520
 ccatctacaa ggccgcgctg gagcgtcacc tgaagaagtg gtggaacggt gagtgggccc 17580
 acccgaagac gaaggtgccg cacctggcca gcgtcatcgc gtgtgctgcg atcatcctgg 17640
 acgcggaact cgcaggcaag ttgacggatg accgccctcc ggcaatcgac ctgagttcct 17700
 tcatcgactc ccttgaggag accgtgaagc acctcaagga actgcacaag gacaagaacc 17760
 cgaagcacta caccgaactc aacgtatgaa cccgaagcga aacactctga cgggctgggt 17820
 catctatgat gcagagcggg cgactggccg aagcaccgcg attgcgctga gtcttctagg 17880
 caaggccatt gcaaatccag gtgtggccgt acaaatccga gaacatcacg gtactcgtcc 17940
 ggctgacgag agtctgatgc gcctgatgcg ggatatggtc tttcggctgg gcctcaaggg 18000
 catgacgttc agccagaacc tgactgtgac gttcaacctt tgggagcctg tgtgagccag 18060
 agccgaaagg gctctctcat tgaggccctc atcaacaccg caatcggctt cgggatcaac 18120
 ttacaggcga acctcatcat cctcccactg ttcggcttca ccagtttgac ggtgcagacg 18180
 aacctgggta ttggcgtggt ctacacgctc atctccgtgg tgcggagtta cgtggttcgc 18240
 cgctggttca acgcacacat cgtccgagcc gccaaagaaac tctcaggggc ctgaaggctc 18300
 ctttaggttc cacaatagga gaatcaaatt ggcgaacgac aagtttccgc cgattcccaa 18360
 agaattactt gaggcgcttg agaagcgggt cccggagaca ccaactcgaat atatcgggtc 18420
 tgtggatcaa cttcgattgg ctcagggtga gctacgtggt gtccggtttc tccgagccca 18480
 attcgagaag cagaccaaga acatthttgga gaacacatag tgtgcatgct tcaaccgtcc 18540
 gccccacctc cggccccacc gccaccgcca cctccgcccc cgcccgtcga tccgattccg 18600
 gtccaacctg cgcagcaaac cgggtggagcg gtgaccagcg gcaagagcaa gggacgcgac 18660
 tccctccgta tcgacctggc ccagaagaca tcgggtggtg gcgccggtct gaacatcccg 18720
 atgtaacgaa gggcagggat ggaacaagaa aagaaaacct gcgcctccct ctaccagaaa 18780
 ctaccaccg accgagacc gttcctgaag cgggcctacg actgcgccga actgacgatt 18840
 ccctccttgc ttcctcgtga gggacacaac ggctccacca aactcgtcac tccgtggcag 18900
 ggcattggtg ctcgtggggg gaacaacctc gcatccaaac tctgctgac gcagcttctc 18960
 cccggaactc ctccgttcaa gttgtcgatt gacgacttca cgctggagga actgacgaag 19020
 caggaagggg tgcgggagaa ggtagaggag gggctcaaca agatcgaacg cgcggttcag 19080
 actgagatcg aagcgaacta catccgcgctg gctgccttcg aggcgctgaa gcatctcatc 19140
 gttagtggca atgccctgct gtacattccg cctgaagggtg gactgagagt attccacctg 19200
 gaccgctacg ttgtccgccc tgacccgatg ggcaacgtgc tggacatcat caccaaggag 19260

ES 2 592 352 B2

aacgtctccc gagacgcact ccccgacaac ctctgcctcc ctgatgacac cgaggagaac 19320
 caggagcccc cggctggtac gaaggatgtg gagctttaca cccacgtcta tcgccagggc 19380
 cgcaggtgga aggtctacca ggaagtcaag ggtgtccgca ttcccggcac cgagggttcg 19440
 taccgctcg ataagagccc gtggattccc gttcgttca cgcagatcga cggtgagagc 19500
 tacggacgcg gttacgtgga ggagtacatc ggggacctga agagtctcga aggactctcc 19560
 caggccatcg ttgagggctc cgctgccgca gcgaagatcc tgttctggt gaacccgaat 19620
 ggcaccacgg acatggctga cgtgtccgag gctgagaacg gtgcgttccg cgaggggtgc 19680
 gcaactgaca tcacggctct ccagcttcag aagcacaatg acttccgcgt tgctctggag 19740
 accatgaagg acatcaccga gcgcctggcg tttgcattcc tgctgaactc cgcagtgcag 19800
 cgcaacggcg aacgggtgac cgcagaagaa gtccgctaca tggcgaacga gttggagtct 19860
 gcgctgggtg gtatctactc catcctctcg caagagttcc aactgccgct catcaagcgg 19920
 atcatgtacc agatggaacg gcagaagcgt ctgcccgtcc ttcccgaagg gaccgtcaag 19980
 ccaatcatcg tgactggcat cgaggccctc ggacgtggaa acgacctgaa caagctgatc 20040
 cagttcgtcc agatcgccgc acaggcagcg aatcttctc ccgagatcga caaggccgac 20100
 ttctcaagc gtgctggtac ggcgctgggg atcgacatga agggctctcg gttgccgcct 20160
 gaggtggtag ctcagaacaa ccagcaggcc atgatgatgc agatgatgca gcaggggtgtg 20220
 aaccccccca tcacgcaggc tggacagcta atgaaacaag gaatgcagaa tgccgcgcaa 20280
 cccgcaggcg ggcagtaagg ctcccaggc caaactgcc gaagcccccg tggtcaccgt 20340
 tgaagactcg gtggccgaac agcaacccaa gcccgcagcg aagccggtca aagtgaccga 20400
 actacctggt ggcgtgaaga tcgaagactt ctgatgagtg tggattccgt agtcatcaag 20460
 cagccggacg ctccggtgga agaccaggcc cacatcgatg cgatggtggc caaggtgat 20520
 gctgccaata cttcgaccga accggacact cccgggatgc ccgcagaggg acgcccgcag 20580
 tggctcccgg agaagttcaa gtctcccag gacttggcca aggcatatgc cgaactggaa 20640
 ggcaagctgg gtgggaagaa ggatgatgcc actccaccg ctgacgaaa ggccgcgaag 20700
 tctgacgaaa ccccgacc aagcaaggcc acccaggacg atgcctcgaa ggctctctct 20760
 gagaagggcc tgagcttcga tgagttctc gctgagttt cccagaaggg tgaactgacc 20820
 gccgagagct acgagaagct ggagaaggct ggcatcccga aggccgtggt ggaccagtac 20880
 atcgctggcc agcaggccct cgctgagtcg taccgcaagg acgtgacctc ggttgccggt 20940
 ggcgatgaaa gcttcgctga gatggtcaca tgggcccgtg cgaacctctc gaaggaagag 21000
 atcgccgcgt acaacaaggc cgtggactcc ggtgacatca accaggcgaa gctggctcgtg 21060

ES 2 592 352 B2

gccggtgtgt accagaagtt cgacgctgct ggccgcggtg gtgagcctgc cctggtgact 21120
 ggcgctggcg gtaaggtctc gggcgatgtc tatgagtccc tggctcagat gcagaaggac 21180
 atggcctcgc cggagtacaa gaccgacccc gcattccgca agaaggtgga gcagaagatc 21240
 gcccgcctga acatcttgta aggaaccatc atgatcctgg agagcatcct gggttcggtg 21300
 gtggtccccg ctatcatcga cctcgtgaag ggtgctggtg gggcattag ccgcaagttc 21360
 tttggtctgt cggttgacga ccagatcaag attcaaaatg ccgacatcga gaagctcaag 21420
 gctctcgtg ccctcgacaa tccgtatggc acccccagcc agtgggtggt ggacctccgc 21480
 gcatcgttcc gatacatcgg cgctgccgcg gtcacgctg tggctgtgt caccctgtat 21540
 gccggtgtcc agaccaacat cgaagacgtg aaggagatgg gtttcgccct cgtgggcatg 21600
 cccttcggtt tcatcttcgg tgaacgcctg tacctcggcc tgaggggcaa gagcaagtaa 21660
 gcactgccgg gaagcagcgc attctgtacg gttctgatcc cgtaaccgtt acccacggga 21720
 tcacactgcc attgaagtga aaggtcctag ccgcaactgc ctectgcgcg gtggctctgc 21780
 tgcattccaaa gaacaccaca acagaacctt ggcccgtgga ggcggacaac cctgtgtgac 21840
 gtgtgagttc ccggaagccg ctcaacacga ctttcaactc acttccaaaa caaaaatggc 21900
 aaacgcagtt ccgtctcgcc tgggccaggc aaacctggca ggcgatccga aggcctgtt 21960
 cctgaaggtc ttcgctggcg aagtcatgac ggccttcgct gaaaacaaca tcgtacttca 22020
 gtacgtccgc cagcgcacga ttagttctgg caagtcggct tgaccaacc ttatgaactg 22080
 ggccgactct aaacaccccg taaattcggg ggaaccccat gggggcaata ccgagccaag 22140
 acttcgcagt acgcgagatg gtgtagagac tagacacggg gaaccacaa agacctgcgc 22200
 atggtgcaac gtcgagaagc ccgcccgtga gttctataaa aaggacgcac agacaggaag 22260
 gctcgatgga atttgcaagt cctgccgaat catcaagacc cgagagaaaa ccttaggggt 22320
 cactgaagat gactatcggc ggatgtatca tgtccagggc ggtcgatgtg gaatctgcca 22380
 acggcgcttg tactcaaaga ggtacaagag ttttgagtg gaccatgatc acgagacagg 22440
 aaaagtccgt ggcttgttgt gccataattg caaccgcgga ttaggcatgt tccgagacga 22500
 cccgactgcg cttaggcgtg ctatcgactg ggtaaggta tagtccgatc ctcacagcaa 22560
 tgtgagtagg ggaagcagtt ccccgtaatt ggtaaggcta ccgccgcgta ccacacgccc 22620
 ggtaacgaaa tcaacggcag caacatcgcc cacaacgaag tggatcac catcgatgac 22680
 ctgctgctgg ccaacacctt catcgccaac atcgatgaag cgatgaacca ctacgatgtt 22740
 cgttcggctc attcgagcga actcggcaag gccctggcca accagcttga ccgccacctg 22800
 ctgcaactgg ctgtcctggc cgcccgtct gctgcccgta tcacgggcca acaggggtgt 22860

ES 2 592 352 B2

tcggtcatca	ccgatgctgc	tgccggtacc	gactcgaacg	cactggtcgc	ggacatcttc	22920
tccgcggctc	agaagctcga	tgagaaggat	gtcccggctg	atggccgtgt	gtgcttctctg	22980
cttccggccc	aatactacgc	cctggcacag	aacaccaaga	ttctgaacaa	ggattgggggt	23040
ggtgccggtg	tgtatgcgga	tggcaaggtc	ctccgtgtgg	ccggtgtgga	gatcgtgaag	23100
acgaaccacc	tgccgaacac	gaacatcgct	tcgggttcga	ccgcggctgg	tactggcgat	23160
aagtacattg	gcaacttcac	gaccaccgtt	ggtgtgggtca	cccagaagtc	cgccctgggc	23220
accgtgaagc	tcatggacct	ggcgatggag	tctgaatacc	agattcagcg	tcagggcacc	23280
ctgatggctg	ccaagtacgc	aatgggtcac	ggcgttctgg	ctccgcaagc	ggctgtcgaa	23340
atcaagaccg	cataagcgtc	ccctcaagcc	tcgggaggtt	ctcttcaaga	gttcctcctg	23400
gggctttttt	ttctgctctc	aaggatcacc	aattggcaac	caagactcaa	actgatcgcg	23460
ccaaggacgg	tcaggatttc	ttccagcttc	cggcctacaa	ggacacgccc	acggtcaccg	23520
tgaatggcac	cgctccgtgct	cgcacgactg	tctcgagtgg	cgccagctg	gcaaccctg	23580
cggctcagga	tgacatcgta	gcgatcacgt	tcaactcggc	tgaccctggg	aataccgccc	23640
gcgaggtctt	caccccggcc	actggcgcaa	ccatcacacc	caccgagttc	tgcacgagg	23700
cccgcattgt	accgcagggc	accattgcgg	ccctcaccat	caccttcccc	ccgaaccctt	23760
cgaaggaagg	ccagcagttc	cgtgctgtca	ccacgcagac	catcaccgcg	gtgacctgga	23820
ctggtggctc	tcgtctcaac	gctcccacca	cgctagccgc	tggccgtgct	gccaccttcg	23880
agtggagcgt	ggcgaagcag	gagtgggtct	tcatcaacta	aggaaaacgc	atgaccacca	23940
tcgtcactcc	gaccacggag	cttgaggcgg	tcaacctgat	gctcgatgtc	atcggggaga	24000
gccccaatcag	caccctggag	aacagcgctg	tgggtggacgc	ggtgaaggcc	aaggcgggtcc	24060
tctccgaggt	gtcccgcgct	gtacaaaacga	agggctggca	cttcaacacc	gagaaggggt	24120
tcgagctagt	ccccacggtc	ttcgagaagg	agatcatcgt	ccccgccaac	tgcttgcgca	24180
ttgatacggg	ctaccgggac	gagggcatcg	atgcagttca	ccgtggcact	cgctctatg	24240
accgccgcag	gcacacctac	cagttcgaca	agagtgtgaa	ggtggacatg	gtgggtcaacc	24300
tccaattcga	ggaactcccg	gaatccgccc	gccgctacat	cgccatccgt	gccgcacggg	24360
tcttccaggg	ccgcatagtg	ggctctgaga	gcctctacca	gttcaccgca	gaggacgaga	24420
gggacgcccg	agcggacctc	aagaaggctg	agggcatcac	gggggactac	aacattctga	24480
cggacagctg	ggctgttcgt	cgcgtcatcg	atcgctgata	tgcccctcgt	ttcttcttcc	24540
atcgccaaca	tgggtgaacgg	ggtctctcag	caacccttca	cgctgcgtct	cgcgtctcaa	24600
gctgagttgc	aggagaacgg	cctcagtacc	gtggctcagg	ggttgaagaa	gaggccccca	24660

ES 2 592 352 B2

accaagcaca tcaaacgcct cggcagtgcc atcaccggct ctgcctacat ccacaccatc 24720
 aaccgtgact ctgtggagcg gtatgagggtg gtcattcacga acgggtgacct gaaggtctac 24780
 gacacggcag ggaaccagaa gacggtgaac ttcccgaatg ggaaggcgta cctgaactcc 24840
 acggaccctg ctacgtcctt cagggcccgtc actgtggcgg actacacgtt tatcgtgaac 24900
 aagaagactg tcaccgcggc cagtgccacg aactcccaa cgcgccctt cgagtccctc 24960
 gcaaacgtga aggttgggct ctactcgaag acctacacca tcaccgtctc cgggtgtgggc 25020
 acggccacct atagtacccc cgatggcacc gttgcggccc acgcggcaca gatcaccacg 25080
 gactacatcg ccaaccagct tgcgaatggt ctattaccc tcgggtggatt cacctcagtg 25140
 aaccaggtag gctccgtcat ctacatcgcc cggcccaccg attacacat ctccgcaaca 25200
 gatgggtata acaacgcggc cctgaacgtg attaagggga cgggtgcagag gttctcggac 25260
 ctccccgcga atgcgaactt ccaggacttc actgtggaga tcgcagggga caacacctcg 25320
 gagtccgata actattgggt caagtttgac aagaccggga acaactccgg tgtctggcgc 25380
 gagaccatca agccaggcat ctcggttgggt cttagtcca gcacgatgcc gtgggtactg 25440
 gtccgtgagt cggacggcac gttcacctc aaaccatct cctggacgaa cgggctgggt 25500
 ggtgatgaag actccgctcc acaccatcg tttgtgggcc gcaccatcca ggatgtgttc 25560
 ttctaccgga accgcctggg cttcctcgcg gatgaggcgg tggatgatgtc ggaggctggc 25620
 cagttcttca acttctacc gaccacggtg acgcaactcc tggattcca ccgatcgac 25680
 gtatcagcat cccacacgaa agtctcgaac ctgaacttcg cgggtggcctt caacaaggac 25740
 ctctgctgt tctcctcgca gactcagttc tcggtggaat caggtgacct cctgacacc 25800
 aagagcgtct ccatcaagcc caccacggag ttcgagtgca gcaccctgc gcctcccgtt 25860
 gggattggac gcaacgtcta cttcgcggtc cctaagggtg agttcgagg cttccgtgag 25920
 ttctacgtag cggacaacgc aggcaccaat gatgcggctg agatcaccgg ccacgtcccg 25980
 aagtacatcc cgaagggggc ctacaagatc gctgcggctc tcaacgagga ctttcagggg 26040
 aaccaaacgc gatgtatgcg tacaagttct actggaacag caacgagaag ctccaaagct 26100
 cctggtcaa gtggaccttc ccgagcacgg acacgattct ccacgcggag ttcattcagt 26160
 cggaaactgtt catcctcatc aaccggcccg atggtctcta cctggagaag ctcagtgtgg 26220
 ctctcgggga catcgggacg aacgagccct acaacgtcca cctggaccgc aagctgacgg 26280
 tgccgaaagc aagcctcacg tatgacggca cgtacacat catctctcc gcggctctcc 26340
 cgtggaacct aacggatgga acgtacacgg cagtgggtggc caccagtcag ccgcagaagg 26400
 ctggcgtcct ctaccgggtc atttgggatg ggacgaacgc caagattctc ggtaaccgtg 26460

ES 2 592 352 B2

tggactccga cctcatcggt gtaggcgct acgccttccg ctatcgcttc tcgccgctac 26520
 tgggccgcca gcagtccggc cagggccaga aggcggacac ggttgacagt ctccagattc 26580
 gcaacatgca agtcaacttc tcggagagtg gcaacttcca ggcaaaggtc acgccttacg 26640
 ggcgggacac ctacacgtac acctactcag gaaagaccct cgggctgcct tcggcaaaca 26700
 tcggggccat cggaattgaa gatggcaagt tccggttccc ggtgatgtcg cagaacacca 26760
 ccgtggacat cgaactcttc tcggactcgc cgctcccctg cgccttcttg agtgcagatt 26820
 gggaaaggcta ctatgtccga cgaagccagg cggctctaac catacgtccg tcctgcaaca 26880
 cgcaagact gcacatcct cgcaaggaac ctccgacagg aagacgcgga ggagatcgct 26940
 catgtgaacg gtctccccgc ggagatgaat ctcttgctgg ggttccgcac ctccgctcga 27000
 ctttatgcgg tgggtggtggg ggatgagacc gtggccgtgt tcggcatcgg gggagtgcct 27060
 ggcgtcatcg gcttcccctg gatgctcgtc tcgccctccc tctcgaaaat ccgcaagagc 27120
 ttctgaggg agtgccgcgg gtacgtggag gggatgctcc aggagtatcg ccacctggag 27180
 aactacgtgt gggcaaagaa cgaagtccac atccagtggc tcaagtggct ggggttcgag 27240
 ttcgagccag cagcaccatt cggtatcaat gacgaaccct ttcacagatt ttataggagc 27300
 atgtgatgtg cggaccagcc gcagttcaa tcgccatgct gggatcagc gctgtgggca 27360
 ctgccgcttc gattagcgcg cagtcgcagc agcagaaggc acaggatgcc ttcaaccagc 27420
 gccagtatga aaacgacatg accgcgtacc gaggcaacct cgccaacatc gaggtgcaac 27480
 ggaaccaggc gcgggaagat gcagtagcgc agaagcagca gaacgacatg gcaggaaggc 27540
 gcgcaacagc aaccgccacg actgccgcag gtgaggcggg tgtctcaggc gcctcgggtg 27600
 atgcactgct gcgggacctc gctggccagg ctgcctacga caacaccaac gtggatgaga 27660
 actatctgcg ccaggacagg gctctgaacg cccagcgtga gaacgccttc aacagcactg 27720
 caagccagat caaccagctt cgcccctcga tgtccccgga ctatctcggc gctggtctcc 27780
 gcattggcca ggctgctgcg ggtgcttaca gccagtagca gcagaacctc gactacgagc 27840
 ggaaccagag cgtcccacgc cgaggagcat aatggcacg agttcagaca gactatcgaa 27900
 cccgaggtac agggcttcag gacatctcgc cccaatgct tcagccgcag caggcagggt 27960
 tagacaatgg tgccgctgag tctgccgcac ggctggcca ggcgttaggg gctggtgacc 28020
 tgtctccgct ggtaaccgcc aagcgatacc aggatgtgga ggaggcggag aaggcacggg 28080
 cctacgccaa ctcccctcacc gtggaggagc ttgggaagca gatcaaggat gggaccctca 28140
 tggcgtcca ttgcctgctc ttcagggcaa cgctcgaaca catccacggt gagaacacgc 28200
 tcaacacggt cgagcgggac aactctcga agctcacccg cggggaactg aagttcgaca 28260

ES 2 592 352 B2

ccccgcaggc catggatgag tacctcacga agtaccgcaa cgaggccctc acgggatcca 28320
gcaagttcac cactgcgggc ttcgataaagg gctacggcac gttccgtgag cgagccatcg 28380
cggttaacgt gaaggtggcc gatgaagagg ccgtgaagcg cggcagccag gaagcctcgg 28440
acaacctcgg caacctgacc ctgcaagtca ccgacccgat gtacaagggg gacgctgcgc 28500
aggccatcgt ggaccgctac cagcttcttc ggaagacctc tctgctgcgt gacgatgccg 28560
cgaaggaagc tctctcgggt gtcgctgcga accttgacgc ctccggcaac aaggccctcc 28620
tgggttctct gctggacaag aagttggaca gcggtgtctc cgtcaaggcc gctctggggg 28680
acctgaaggc catccagttc acgcaacacg ctgaacgtga gtatgaccag ggcgagcacc 28740
aacggattga cgttgagatt cgtccgttcg tggagcaggc cgacaagggg gaactgaagc 28800
gggatgcctt cgacaagtgg ggggccgcga atgagaagta cgtcaccacc cccaccatcc 28860
acgccatcat caagggcaac gaggcggcca tcgagcggca acagaagctc atcgctcaga 28920
acgccctcct ggcccaggcc gaagcaacac aggctcaggc aacgcaggca gcccgcacgg 28980
ccatcgacca gggcaacctg gcgttctctc cgcagcagaa ggtgatgaca cctcaggggg 29040
aacagaagaa cttcgatacg aaggccgctg ctgtcccgtc catccaggaa cggattgcac 29100
gggagaacat gccgttcggt aagcaggtgg agttctggtc caccaacggg gtggagaatc 29160
ccgagtggga gaaacagatc aagggtggcc tctcgaacct cgctcccgcg ggctggacct 29220
tcgatggcaa gaccattggc caactgaaca accagggcca ggccgcaatc gacacctca 29280
tccgcatcaa cagcaccaac cccggctacg ctgagaagtt ggtgggagggt gacaaggact 29340
acaagaagct ctccgacatc cagttcctca tggagaaggg cggcttcccg aacgtcaacg 29400
atgctgcggc actcatcaac cagattgacc gcgctgacat caaggcatcg gactacggtt 29460
cgatgaagca gaaggtggcc tcctcgggtg acgatgtggt gaaccagcat tggactcag 29520
gcgccaccag ttggttcagt ggcctcttcg gcaatgacca ggtgaacctc accgctgtct 29580
ccgctgacat tcgccgagc gctgaactcc tggatgatgtc tggccagggt cccgatgcga 29640
acgcccggt gaaggccacg gtggaatacc tggcgaacct cgagtcacc acgcggatca 29700
acaatacgct ctacttcaac aaggacctc cggtggtccc gaagggcgag gacaccgggc 29760
agtggatggg gcggttcac aaggacgttc cccagcagat cgccaaggcg aacaacctcg 29820
gtgatgctcg cctggagccg aaccagtacg gaggcttcac ggctggact ggtggtgtcc 29880
cgatgacgga cggcaccggg aaggtggtca cctacacgcg ggatgacatc tcgaagtggg 29940
tggacaacac catcaccgct gaccgcaca aggccgctgc tgatgccaac ttcaagagct 30000
accaggaccg cctcgtgaag gaactccgcg atgaaaagca gaaggacccc tacgtgatgg 30060

ES 2 592 352 B2

agcggatggt cgacgcgact gccaacggca tgtggtggaa cgcccaactc tacagccgcg 30120
 aaggctatga gcaggttctc cgtgacggca acacaggcaa gccgctcaac gaactgttcc 30180
 aatctacaa agacaaacgc ttcaaggata agtaatggcc gcatcgatcg ctctggggga 30240
 tgtccagagg attacctccg agacggagaa gaagtacggg ctccctgaag ggacgctggt 30300
 caagatcggga aacatcgagt cctcgttcca ggatggccag gtgagcccga agggagccaa 30360
 gggctacttc cagttcaccg atgacaccgc aaggcgctac ggctgggatg atccgttcga 30420
 cttcgagaag tcatccgatg ccgcgggccg gtacatgcga gacaacctgg ccaagtacca 30480
 gggcaacatg gacctgtccc tcgcggacta caacgggtggc ccgaaggccg ctaaggctct 30540
 cgccaagggg aagccctggg cagagacttc ggactacctg gcgaagttct acggcaacaa 30600
 gtccgagccg ctctcgcagc aattcaccac gggctccgaa gtccctctta ctgctcccc 30660
 ctccgcctcc cagctatatc gagacgcacg gcagcaggag tctgagtatg gaggggttgg 30720
 caataacatt ctcaatctgc ctctgtctat tggcctgggc tttcaagtcg ataattcggg 30780
 ctacaatttc tggcaggagc gaggactctc cagcgtagac cccgacttcc gctgggacga 30840
 tgacttctcg aagcagatgc ttgatggggg cctgagcgt cattggggat acctgctgca 30900
 atccaagtcg aagcaggaag cggaaactccg ccgtgcccgt ctgttgagca cgatggagaa 30960
 ggaagtcgaa ctctccaaga tgggtgtggc cggtttcggg ggtcgctgg tgggcaacct 31020
 ggtggatcta cctacgctca tctcgttctg cctggggttc ggtgggtgcgg gcctcctcac 31080
 gaccacttca cgcatcgcca atgctgcccg catggctgcc ctcggtgctg ctacgaacgt 31140
 agccttcgat gctgcaacga tgcagttccg cccacaggcc accccggatg acctctacat 31200
 ctccgctgcg atgggcctgg gtctcgggtc tgctgggtggc ctctcgggtga atcctgcccg 31260
 cctggccgcg caacgtctcg ctgctgagaa ccgccgcctc ggtgagttcg gtctccgtga 31320
 atccggcaag gcgcagatca aggagcttgg cgacaacggc ttcaacttcg gtgctggccg 31380
 tgaggagttc gcacggcgca tccaaggcaa gcccgatgag ccggtggaga tcaagtacc 31440
 aggcggtgca atcgtgctgc cgcggggcga tgggtgagcct ccgaagattt tccaccctgg 31500
 tgatccccct gaggttcgca agccaggga catcaacgag ccgcttcctc ccgaagctcc 31560
 tccagctact cctccggcca ccggcccgtg tgctcccaag gtcctccag cagaggcacc 31620
 taagggcaag ggctggacct ccgagtggga cactccgcgg tacgcctcag gcggtggcaa 31680
 cgagcaactc ctctgtctgc ctccggcaaa gcgtgtgagt cagttggctg agtatgtccg 31740
 ccagttctcg aagaacgggg acatcgtgaa ggtgatggac cgggtgctga agggcatcga 31800
 cctccgcaag ttggagttca aggtcatcga gaagggtcag cgtttcggcc agcgtgacat 31860

ES 2 592 352 B2

ggacaacgaa atcctcggcg cgaagggcgc tntaggtact ccgcgaggtt ccattggtga 31920
 caacatcatg atgttcctgc ggggccactc gtgggagatg cctggtgtca acccgatgca 31980
 cacggtgggt ctcaacgagg agacgttcgt tcacgaactc gttcacgttg ccaccatcta 32040
 caagctccgc ggtggtgagc ctggcatggg tgtacgcata acggaccctg ttgtgcgag 32100
 ggctgctgat gacctggcga acctccacgg ggacatcctc gaccacgcca ggcaaactt 32160
 cggggccaac tggaaagggt aactccaggg acgcctcggg gccaacctgg agaacgagaa 32220
 ggaactcatc gcctatggtc tgacgaaccg gaacttccag gagtggctca agacggtgcc 32280
 cgttgagggt ggccctgaga agaactgtg ggaccgcttc gtgcattccc tgcgcaagct 32340
 cctgggcatc ggcccgaagg aacacaacgc cttcaccgg ctgatcgaac tgtccgcccc 32400
 tctcacgaag aagggcgact tcgttgagcg catcaagacg aaccagagt tggagcaac 32460
 ggggtgggtt gttgacgctg acaccgtgaa ggccgcgaac gaagctgacc tggctccggt 32520
 ctatggctgg ggtctcggcc tggagaacag gctgggtggg gctaaggctc cctccgctgt 32580
 tcgtcagttg gcctcgaagc tgttcggcac caccatcggc tacaaggaca acgcggtggt 32640
 gaagctcaac gcttgggacg acaccacgaa gtgggctgac tctggggccg tggagatgcg 32700
 caagggcacc tatccgcagt tcgaggagt gctcaagggc tctcagtaca agtggcacga 32760
 gaagggcaag gcgttcgatg acttcggcgc acaggtgtcc aactacatcc gcggttcga 32820
 gggtgattac ccaccgacg tgggtcaaggc tggcgagcac atgcgcaaga ccctggccaa 32880
 cgtggtggac tacatcaaca gcccaactgaa ggacgaaggc cgagccaaga ttggtctcac 32940
 cgagacggac atccgagacc cggagaccgg caaggtggag cgggtaggga cgctggagaa 33000
 gaacccgaac tacctcccgc gcaagcacga catcaacaag tggaaactcga tggctctcaa 33060
 cttcggcagg gatgccgtgg aagggtggtg ggcacgggcc taccaggctg gccgtgaggg 33120
 aatctctgac gaggccgctg cgaagtgggc caagtgggat gtccgcacgg tggaggaggc 33180
 tcacgccaac cgcactcagg acatgctcga tgacctctg aagggcaccg atagggacgc 33240
 cctgaagaac tccctgatgc tcaacggagg ctactccgaa gcggaggctc tgcggatcat 33300
 ggacgacatg attcctggta gggccaccga tgcaggccgc acgatggcca gcctgaagca 33360
 ccgcaacacc atccgggaaa cgcacaccga gcagtggacc acgaaggacg ggacgaagat 33420
 ggaggtgagt ctgaacgact tcatccactc gaacgccttc gacgtggttg agccgtacct 33480
 ccgcaggacc gcgggcagtg tggcgtggc caagcatctc gacatctaca agatggggga 33540
 cattgaccgc gttatcgtg aggccaccgg caacaagctt gggcaggagt tcaagtccac 33600
 ccccgatatt cagaagctcc gcaaggacct gaagtctgcc ttcgagcgag tccaagggct 33660

ES 2 592 352 B2

tcccctggag gagttctcca cgctgaacaa gagcctggag atgtggcgca acttcaacgt 33720
tatccgcctg atgggtggag cagtctggaa ccaggccacc gaactcagcc agatcatcgg 33780
cacgatgggg tggaagacta cgcttgccgc tctccctgag cttcgagcac tgcgccgtga 33840
catcgccacc ggcaaggccc cgcatgacat cctggaccac ctggagaaca ccattggtgg 33900
cgtaggggtcc gagtacgtgg cccgctgga gttcaaggct ggtgacgatt gggctccgaa 33960
caaggggggac accaggttca accgctggct ggactctgct gacaccggca ccaggaagct 34020
ggcgaaaggt gtgctggatt acaccggcat gactccgctg atgattcagc agaagcgtgt 34080
ccacgcgatt gcgttggtga accacttctg caacgtggcg aacggcaagg ctgctggggtt 34140
cctcacgaag gatcgccctg cctggatggg tatgagcgcg gatgacttct gcaaggctcct 34200
gtctggcatc aagcagttca ccaagcccgc tgatggtgag ttctcgaaga cttcaagat 34260
ggacttcgcg ggctggcaga aggcggacc ccgagagctac tcgaagtcca tgacggccat 34320
ccaccgtgaa tcccgcaggg tcatccagga gaacgacctg ggctccatga tcccgtcat 34380
gggcaccacg ctgggcaaga cggctctcca gttcatgaac ttctcgatgc acggctggaa 34440
caagtcgctg atgttcgcca tgaaccaccg cgactggtcc aactgtcca ccgtacttca 34500
cggctcactc ttcgctcca tcgcctacat ggggcggacg ctgctgggtg ccggtggcat 34560
ggaagcggac aagcgcacg agtatctcga caagcggatg tccggtggcc agatcgttac 34620
caacagcttc gggcgcacat ctcaggcgtc cgtgctgcc aacatgctc acaccatctc 34680
accgtatccg ctgctcagcg gaatgcggac cacgagtgac ctctccagtc tggcatcgaa 34740
cccgacctac caggccatca acggactcat ctcgatgaag aagctgattc ggaatggtgt 34800
gtcggatgag taccaaacca cggagaagga catccgcacc tggggcaggc tactgcctct 34860
caacaacgtc tcccgggtga ccacgttct gaaccacctg gcgaacgatt atccgcacgg 34920
cgaaaagcaa caataaacgg gtagccctcg gcacgaccgg gggcaacctc ttttgagaa 34980
tagatagtgc cttacagtta cgttcttctc tcggggaacg gctctgcgac caacttcggc 35040
ttcagcttcg gttatctcag caagttccac atcggagtga aggtgaacgg tgtagtcacc 35100
accttcacct gggtgacgga cttcaccatt ggcatcacac cggccccggc caacggtgca 35160
gtcatcgagg ttcgacggac gactccgctg aatcaaccgg ccgtggactg gtcagatggc 35220
tccacgctca ccgaagcgga catggacctc aactcgggt tctctctgta cactgctcag 35280
gaggccgctg atgggtgttc agcatccatc actcagaact ccctggggca gtggggcggc 35340
cagaaccgca gggccgtcaa cttcgcagac ccggttgatc cacaagacct ggtgaacaag 35400
cgatacttcg aggacgtgta cacacctcag ttggacgca aggtcaccca agccaccaac 35460

ES 2 592 352 B2

caggccaaca acgcggcctc cagcgcgcc actgvcgagg gctatgctct cgctgcggac 35520
 aactccgcgg acctcgtgct gccctcctg gvcgacctca aaggccagta cctcggtgcc 35580
 cttgcatcta accccacgct ggacggtaac ggccagccgg tgactgctgg tgacctctac 35640
 ttcagcacca ccgataacct gatgaagggt tacaccgggt ccgctgggat caacgctggg 35700
 tcaaccgtcc agtccacat caaacgtcct gtcacacca tcgtggcaac cgcaggccag 35760
 accgtgttcc cgggtgtctg tgggtacgac gcccataca ttctcgtgtt tgtgaatggg 35820
 gttgagggtg cttctccaga tgtggacgtg actaacggca gcaccatcgt attctccagc 35880
 ggctgactg ctggagataa agtggattac gcagcgtttg gtgcgttcca ggtggccaac 35940
 ccggttatcg atgggaccag cgcgcgagac ttcatacaaga cacgcaatgc ccgtgtagtt 36000
 acctctattg ccgacctgaa gccctcaat aagaacacct acaacttcgt tctcgtcact 36060
 ggcttctatg cttcagggga tgggtggcggc ggtttcttcc ttcaggttcc cacgatgcc 36120
 accaacggta tcgttcagggt cgggaatgac ggaggcatct ggcagttggg ggttgatcgg 36180
 gattatgttt ccgcgaaaca actcgggtgc agactggacg gttcaacgga tgactcctct 36240
 ctctgaaca acgccaagtc cactctcgat gctcttggtg agaggctgta tatcccgtct 36300
 ggggtttgca gaatctcaac agcaatcact ccaccaaagg ctggtgtgtt tggggatagt 36360
 cctcaagcgt ccatcatcca gtgtaacaac tgctctgcat tctattccc agcaaatttt 36420
 gggctctctc gtccggcttg tgtcattgag aagttgggga ttcagtccta cagcaacacc 36480
 tgcatggggc tatacgtttt ccgtgccctt ggggtggcat caggagcatc gcccgctctac 36540
 aacagcggcc taactgttag ggatgttag attggtacgg gcggacgatt cgggtggcgg 36600
 ttctcactga aggacttctt ccgagtgaac gtagagaaca ttggcatgac tgatgtgagt 36660
 tccgccgat tgctcaccgg gtcagttgtg caggcagtat tccgaaatgt caccgcaaac 36720
 ggtgataacg caccaactgt tcttaaccgg tatggtttcc aaacagccgc agcttctat 36780
 tccagcggta cgctaggctc tgaacacatt agtacgtggg attgcagctt cattcgctat 36840
 acacgcggtg ttcaaacagga tgctgggctc atggtctcgt tcaacaatac ggacctggaa 36900
 actttcacac acggcttcta tctctcgag ccctgcactg tgctggtggg tattagcgc 36960
 ccggctccgg cagcttcagg gactgctgctg tggattgggc ttttcaaagc tatttctgat 37020
 tttgacgtag ccaacggcac tctgatcgat gacctgaga tcaacacgct aacacccca 37080
 ggaactccag cctcttcgta tggggttctc attggcaaca atgtgaataa gtgcgttgg 37140
 actacaatcc gtagtcccag gattcgaggt aacactagtt caatggtcgg tgggattgtc 37200
 gctaactctag ctggagggtga catcgttatc gaggatgcca tcatcaacgg cagtgtgggt 37260

ES 2 592 352 B2

actggaacta cgggtgtctgt gagcaatgct tcctatgcaa gggttgtggg caatcgaagc 37320
gccaccggtg ggactgtaaa tggttccctg tcaatcacag ataacggtgt tggttccatt 37380
ggtgatgttc gtggaaatgc gtttgccacc attaccaaca ccctcaatgc ctattccggt 37440
acatggacgc ctggaacaat tcctaacgga acaccagcag caacaacggt ggccgtccct 37500
ggcgcagtgg ttggtgacaa agtagtggtc ggcccttcca gcctgaccgg atcggccaac 37560
tgcatacattt ccggctatgt gtcttccacc ggaaatgtgg ctgtcctggt gtataacgtc 37620
tctggtgcat cacagacgat tccctccggg actctccagg taacagtcct caagtcgtaa 37680
tcaagatgtc cctctaggtt tcccctggag ggacttctc tttcaaggaa aggtatgagc 37740
aatgcgctca acgtaagtaa gctggccaca ctcacggcaa cagaaatcaa agcataacca 37800
aacaagaagt aatcatgccg aacatcgaca aagacgtaca gaaggatgct ctgaaggagg 37860
ccctcacgga gtggctggac aagcagttcg ccacattcgg gaagtgggccc ttgcggtcca 37920
tcctggccgc tgccttctca gtctcatgt acctgtacct gacttctcaa ggctggcacc 37980
gctgatatga ccgaaaagac caccgcttcc gaaaaggagc ttggcgaagt ccacaacgag 38040
atggccgcat ggtgcctgga catcctcaag ggaatcccgg tcaccgacaa agacggtaac 38100
ctcgtgattg aggatgggag agttgttctg ctccctccgg ctctgccta cctcaacgtc 38160
attcgcagct tcctcaagga caacgacatc caggctgaac ccgccaaggg ctctcagatg 38220
ggtgacctct cggacctccc ggtgttcgag gatgacaacg ttgtgcctct caagtctcaa 38280
tcgaaataaa cgcgattaga ggccctcaga gcgattttaa gcctccaagg tagggtagcc 38340
tatccgggca cctgatcgcg tcctgtgggg ccatctcgca agccaagaat gaaaataaca 38400
actgccgagg tttcggcaaa acgctgcccc aagtgcggcg aagaaaaaca cctctccgag 38460
ttacacgcga atcacaccaa gagggacggc cacaacacca tctgcaagct ctgcatgaag 38520
caggtggcac gagactggcg caacacacct ccgggcccgt ccaagcagat gtggacgacc 38580
tcaaagaaac gtgcggagga gaggggctgg gagttcaatc taacccccga gtggattcag 38640
gaacgcctcg aagctggcgt gtgtgaggcc accgggattc ccttgagat gtccgaggag 38700
gagttcaaag gctacggcca cttccgtcca tggaccccct cactcgaccg agacgatcca 38760
acgaaagggg acacaaccga caacgtgaag gttgtgtgct ggatgtacaa ccaggccaaa 38820
ggcgtaagca tgcacgaagc cgtcctaaga atggcccgtg ccctcgtagc gaatgacaac 38880
taaacaacac ccagcacaga aagactttcg cgtctttatg ttcatggtgt ggcgccacct 38940
caatctcccc gaaccacac cagtccaata tgacatcgcc cactacttgc aacacggacc 39000
acgccgttca gtcacgaag cgttccgtgg tgtaggtaag tcctggatca cctccgcctt 39060

ES 2 592 352 B2

agtttgctgg gttctgtgga acgacccaca gaagaaaatc ctggatcatct cgcctcga 39120
 ggaacgagca gatgccttct ctaccttctg gaagcggctc atcaacgagc ttcccgttct 39180
 ccagcacttg aagcctaagg cggaccagcg agactcgatg atttccttcg atggttggtcc 39240
 cgcaactcct gaccactccc cctcgggtcaa gtccgttggt atcaacgggc agatcactgg 39300
 ttctcgtgcc gacatcatca tcgctgatga cgttgagggt cccaataact ccgccacgca 39360
 gatgatgcgc gacaagctct ctgaggcggg gaaggaaatg gatgcgggtca tcaaaccgct 39420
 ccagacctcc cgcacatct atctgggac gcctcagac gagatgtcgc tgtacaacgc 39480
 tctccctgag cgtggatacg aagcccgc atctggccagc ctgtaccccg agcttcacct 39540
 cgtggccaac tacaagggcc gcctggctcc attcatcacg cgggctctgg aggccgataa 39600
 gagtctcgta ggtgctccta cggaccccag gcggttcaac gagactgacc tgttgagcgc 39660
 taaggcgtcc tatggacgtg ctggcttcgc tctccagttc atgctcgaca cgagcctcag 39720
 cgatggtgac cgctacccgc tgaagatcgc ggacctcatc gtccagaacc tcaaccccac 39780
 gatggcccat gtgaagatcg cctgggctgc tgcacctgaa gtttgatca acgatctccc 39840
 cgcggtggcc ctcacgggtg accgctaacta ccggcccatg tggacggacc agcagatgtc 39900
 cgagtacacg ggctgtgtca tggccatcga ccctcgggc cgtggtgctg acgagaccgg 39960
 ctaccgatc atcaagattc tcgcaggcaa cctcttctctg gtggccgcgg gtggactctc 40020
 cgggtggctac tcagatgaaa ctctggagac cctggcgaga ctcgctaaga cccaccaggt 40080
 gaaccacgtc atcatcgagg ccaacttcgg tgatggcatg tacaccaagc tcatcactcc 40140
 attcttcggg aaggtgggac acaaggtcct ggtggaggag gtgaagcact ccacgcagaa 40200
 ggaagcccgt atcatcgaca cccttgagcc tgtgctctcg actcatcgtc tcatcgttga 40260
 ccagaaggtc atcgagaacg acttcaggac ggagagcag gacatcaagt acagcctggt 40320
 ctaccagatg acccggtatc cccgagacaa gggtgccctg gctcatgatg accgtctcga 40380
 tgcactggcc atcgtgttg cctactggac ggagcatatg tccagggaca acgataaggc 40440
 cgctgctcgc atcaaggaca aggcgctgaa ggatgaactg aagaagtctg ttcacgggtg 40500
 ccttgggctc aaaccaagc gaacctcgtg gatgtcctcg aactcaggct ccaggtgaca 40560
 ttcggtgcca caataggaga accctacgtg ggttcttcgg gggcttcac cgtagctgat 40620
 atggatgcca cacaccgtgt ggactcggga aacctcagtg tgtggtgatg tagtcgctgc 40680
 attctaggac acccgttagt ctccctattc ctcatctcta tgggggggta ggggggctaa 40740
 cttagggtgt cctagtgttg atgatatagc cactgagatg tcaacctcag tgtcccttaa 40800
 gttgtctctt agggttgcat taaggagaca tcatcacat catctccat aaggatcatc 40860

ES 2 592 352 B2

tccccatggt cactctacta gtccctcctct caggtgtccc cgtggtgttc cttctgggtc 40920
 tcgttctgta tggcctgttg gacaactgat ggtgtccctg aagtgccctt tagggggaaa 40980
 acttccgacg caaaaatttg aaagccccac tcgaaattcg acgcgggcag attccccccg 41040
 tgccccctcc gcggcccggc cctcgtggcc cctgccgacc cacctccggg caccctccag 41100
 gctgtacgct ccgctga 41117

<210> 3
 <211> 40589
 <212> DNA
 <213> T7-like viruses (virus similares a T7)

<220>
 <223> /hospedador="Ralstonia solanacearum"
 /aislado="vRsoP-WR2"
 /lugar_aislamiento="Río Yátor, Alpujarras, Granada, España"
 /nota="Genoma del aislado vRsoP-WR2"

<400> 3
 gacaactgat ggtgtccctg aagtgcccc ttagggggaa aacttccgac gcaaaaattt 60
 gaaagcccca ctcgaaattc gacgcgggca gattcccccc gtgcccccc gcggcccggc 120
 cctcgtggcc cctgccgacc cacctccggg caccctccag gctgtacgct ccgctgactc 180
 ctggcacatc ttctggcaca ctctgccgta actccctgat tactaagggg atgcactagc 240
 ttacgaagct actgcgacc aataagcctc acgcatgagc actcactggc tcactcgtgg 300
 ggcttttttt tctattctgt cccatttcc gcgccccct gttcggccat cagtttgctt 360
 tggtttctcc tagggtttcc cctaagtgtc tccttggcgt gcatcgctac gattctccca 420
 acggcccact tgcggcccac cactggagaa catcatgcaa ctgcaatact tccgcgactt 480
 ggcaatcggc acagcgttca ctatcgctgg cacgccctac gtgaagaaaa gcgcacggac 540
 tgcgtacacc gctcccggcc accctgggca ttgggaaggc cgctggttct ggtttggcca 600
 gactgaactg gtaatggcct aagggagcac accatgagca aagtccgagc actcgcctac 660
 ttcttcgctg caaccacgct cgcactcgcc tacgtgggcy caagggcagc acatgcggcc 720
 atctcaagcc tcctcgtgat gcacctgcat tgatcccact cagaacaccc tccttggcgg 780
 caaagccgct acagaagcct ccagatcaac gtctgggggc tttttgttt gccctgggg 840
 ctgacctacc tgcgtcccac tgcgtggctc ctagggcttc ctatcgttcc ttcggagcaa 900
 cgctcctgat atcggaacta ttgcagtgat tgaaaaatac aattgggcag tctccgatgt 960
 ttcgtatgta attcgggtctc accagggggga cacgcccctg aagacaaaa agcgtggggac 1020
 cggggcggac gccagcagtc agggacaacc cgagtcaatc caagagtaag cacattgcga 1080

ES 2 592 352 B2

gtccttccag tgtgctcatc actggagaga catcatgcaa tcattcaccc tgaacattgg	1140
ccttatcccc agcaagaaat cttcgcgtac cgctcgcac actgcatcgg aagttaaggc	1200
cgcacttcgt ggcgctggct tcttcgtgtc gggctttcgc atggcccagt cggccaccga	1260
gcctaccgca gtgggtccgcg tgatcgcacg tcagccaatg agctatcacc aagcgctcta	1320
caacgtgtcc ctggcgctgg tgcaggactg catcgcgggt gtccctgaca cggtagcggg	1380
cgcgttgatt ggcccggatg cggctgagtg gggtgagttc aatccggcct acttcatccc	1440
gtttgatgtc gaaccgcagg caatcgctgc gtgacactta gggtgcccct tcaggggctc	1500
caggagtagc cgcattgcgc tgtgcagtgc gcctatcact ggaggacaac atgtacggaa	1560
actttgacct gagcacgaac gcatggccgt tcagtgtgga gtttgtggac gctgtaggct	1620
ggcaagtgga ggacaaccgg gaccccacca atgtcgcgggt gatggtcgct ggtctcacct	1680
tcgaggaagc caaacagcgc gcgtctgaac tcaacctgaa ccacttccgg gggctctgac	1740
atgccgactc tcaaggaagc gagcgtgaat gctcagagac cacgcggagg cgtccaagcg	1800
tggagcgtag gggacaccta cccggtcact gtagtgggcc tgggcaatgg cccccgcgtg	1860
caatggtacg cgggagaacct gcacacgggc gaacgtggcc ccgtgcgaga tgcccaggg	1920
gatgcagtgg tggaccagta tcgtcttttg gcggagtcca acagaaatcg cctacaggcg	1980
taattcggtg gccctgttca tgtgtcgtga acagggctcc aggagtgaac gcattcaatc	2040
gtgagtgcgg tcatcactgg agaatgcaac atgcaaacga aagaacagcg catcgaacta	2100
atcgcgcgca tgtttggtga gcaagaaacg ggctgatcg gtaagcaact ccgcgtgctg	2160
gataactccc aaagcggggc gttctacaat gttggtgatg tcggtaccgt agtcctcgtg	2220
gacgatgacg gtgaaatctg ggtggacttt ggcccggatg gcttcaaagg cgatggtacg	2280
gcatacccgg tctgggccgc tggttcgtct ggcgcagacg accatgagtt tctggaaaac	2340
tgacatgggc gtcatctggc acgaactcat ctacgccctg ggagccctcg tggttgtcgg	2400
ggtcctcatt ctgatcctca ccgagggaga ctgacatcat gcgcaccttt gcaatcgact	2460
tcatgctcaa cggcaagcgc gttgggcgtg actacgtgac ggcttccaac gagaagcaag	2520
ccaccatcat cgcagaacgc actgcacccg tgacgctgta tgacgaggtt gtggccgcac	2580
cgctgtgatg gaccatcggg ctcccttgtg gagccccag gagtggacct tttcaattcc	2640
gagagtgtcc atcactggag agaatcatgt cggacaaagc caagcaatcc atcgagttcg	2700
ttcgcaacgg cctgggagag gaaaacttca acaagctcct gagcatcacg ggagtacgtg	2760
acatcgaact ggctgccgcg ttcctggcga ccaccaagga ggagcgcgac tctgtgaaga	2820
caggtgacga cctcatgcgc ctgctgggcc gcaagcacgc tgagaaccgc gtggccatgg	2880

ES 2 592 352 B2

ctctggtgcg cgcgggtgtg ccggtggagg atgccgtgtc tttcgtgctg gaaaccgctg 2940
 ctagcctgta agccccaaagg tgcccccttag ggggcctcta ggagtgagcc gctggaatcg 3000
 tccgaagtct catcactgga gatcgctatg tctgcacaag ccaaacaac ccaaaccgcc 3060
 ccgaccatca tcgccctgct gtctgctgcg aatatggctc agacgggccc eggcgtcttc 3120
 gctggcgtca tcaaccaagc cacacctgag gagcgcgcgg gtgtgaagaa catgaaggac 3180
 ctctgggcgc tgtacttcaa ggttcatgcg cgagtgggtg ccgaaatctc cgcggaagtg 3240
 gaagccacca cggaccatcg ggctcctctg gtggacctgt ccgacttcgc tgagaccctg 3300
 gcggagtact tcagccgtgc cgatgaagtg gtgccggaag gcgtcacgct gcaataacgc 3360
 tgggtgcccc gaaaggggct ccaggagtgg atgtcttcat tgtgaggacc tccatcactg 3420
 gagaaagcaa tggcacagat gcgcgcctgg gtctacaagg cgcactggag gcggcacctg 3480
 gccgcgcaag gcatcgtcct gcgcaaatac gaggtggaca aggagtacat gcaccgcggc 3540
 atgacgcagg ccatcttccg ccgcaacaaa gcgaagtggg tggccgagta cacggagttc 3600
 tgacatggac atcgtagacg aactggagat aggaccctct tacgccctga actcggacga 3660
 gaagtggctc cgcaagagag ccgctgagga aatccgcagg ctccgaaagc aactggcgga 3720
 cgctggttgg gctctcgaag cggcccgtga actcgaagac caacgagaca acgggggctg 3780
 gctatgaaac ccgctgacgg tcaacccaag cgcttcaagc tgcacaccaa gtatccccac 3840
 aacaggtccg agggtttgac tcatcggacc aacaagggga ccgcgcttca agttctaccg 3900
 aagaggtaac gccatgaaga tcaactctgac actggaggac accgctgatg gtgtcgctgt 3960
 gaactggacc gaggagcaat ctgaagctca gaacaaacc agcgagagcc tggccaccat 4020
 catcgctgcc aagttcattc ttgagataaa tcaatctcac cgtatgggaa ttttacggct 4080
 gtccggcact gcattgggcg cagatcgcgc atagctagta tgagggtgtg tgcgtagagt 4140
 gcgaaccagt tttatthggt tcgccatgcc cgcattcaga agctcatcgc aacagtagag 4200
 gagtagcaat gccggtcatc aaacgcggga acaagtacca ggccagtgtg ggctctggta 4260
 ctgatcgctg gcgcaagatg ttcgacaccc aggaggaggc ggagaccgca gaactggcag 4320
 agaagctgcg caggaaggcc gctgggaagg acgagaaggg ggctacaagc tccgcaaatg 4380
 gggcgaaggt acagaagacc ctaaaggagg cttacgaccg caccttggcc ctgatttggga 4440
 agggcaccgc tgcgggagaag acccacatca tcaactcgaa ctccgtgatg gcggagtggg 4500
 gcaaggacac gctcctgtcc gacatcgcca ccgaggacgt aacggagatg atcctggctc 4560
 tggaggagaa gggcaactca ggcagcacgg tgaacaagaa gctgtcctgc ctgtccatga 4620
 tcctcaagac cgcctcggat gagtggcctg ggtgcatcgt ggagatgccc aagctgaagc 4680

ES 2 592 352 B2

ggcgcaagga	ggggtctcac	cggctccggt	ggatcaacga	ggccgaggag	aagcggatgc	4740
tggaggccgc	ggagcacctg	gggctctacg	acctccggga	ctacatcatc	gttggcatcg	4800
acaccggggt	ccgccgcgga	gaactcctcg	ggttccccct	gaaggactac	cagggcggtc	4860
tcatgatcct	ccacgatggt	gagaccaaga	gcggcaaggg	gcgcgccatc	cgggtcacca	4920
agcgggtcca	cgagatcatc	cagcggagga	gcaactactc	gtacctcttc	caggactaca	4980
cgggtccacaa	gctgcgttgg	cagttcgacc	aactgaagct	ccacatgggg	ctccaggagg	5040
acacgcagtt	cgtggtccac	accctgcggc	acacctgtgc	cagccggatg	gttcaacgtg	5100
gggtgccccct	gaagggtggc	caggagtgga	tgggtcacgc	caccatcgcc	acgaccatgc	5160
gctacgcgaa	gctagctccg	agcagcctgc	tgatggcgaa	gaaggccctg	gaggaagaac	5220
cccaggaact	cacattcatt	cctccccgc	agatggatgt	ggtggggctt	cacgacttct	5280
aaggaaagga	attggaacac	ctcagagaga	cgttcaaggg	aaaggtacag	agacaggcag	5340
gacgagatgg	gtgctggggt	tggcaaggct	ctaagacgga	caggggatat	gggaacctgt	5400
gggacccaaa	aaccaagaag	cctgtctcag	cacatcgact	gtcctaccaa	ctccacaagg	5460
gacaaatccc	ggagggggtg	atggttctcc	accggtgcga	taacagggct	tgtgtgaacc	5520
caaagcacct	gtttgtgggg	accgcccagg	acaatacggc	tgacatgtac	ctgaagggta	5580
gaggaacagt	tccgcattag	gttccacata	aggataacc	tgaagggaaa	cctaatgtgt	5640
aaatcctaag	tgtttatctt	catagataga	cactattaat	gatatctact	tagagagaac	5700
actttagtgt	acactatgac	taccaacaa	gtggacaacg	agaacgaaga	cctggtgact	5760
attcagcttc	gtctcgaaga	agagatgacc	cagcggggag	cagaccggta	catccggggg	5820
gtatccaagg	ccatcgagaa	gggccgtgag	gatgacaccg	cctacggcaa	gcaaactcctg	5880
gccgggaggt	tggcgaagct	ggcccaggcc	atcgctgagt	ggaaggcgga	ggtggcctct	5940
ggtaagcctg	gccggaagca	ctcggcctgg	aagctcatca	aggacacgga	cgacaacatc	6000
ctcgccttcc	tggccctcaa	gcacgttctc	tcgggggtct	ccgcagtccg	caccgtccag	6060
tacgtggccg	tggccatcgg	caccgcggtg	gaggacgaga	tgcggttcgc	caagggtccgt	6120
gaggcggagc	ggaagaagtt	tgagcagcta	gtcaccgggg	cagcgaagcg	gaccagccag	6180
cactacaagc	acgtctacgc	caccgcggtg	gctgaggacg	tgacggagtg	ggacaagtgg	6240
tcccggactg	accgcctcca	cgtgggggtc	aagctcctgg	acctcctgat	gcagtccatc	6300
ggcctggtgg	aggtgtccac	gaacctggac	aacagcgagc	aggggctcaa	gtacgtgaag	6360
gccctcccgg	agaccctgga	gtggatcgaa	cggaagaacg	aggtgaccgc	cctgctgcgc	6420
ccggtctatg	agccgatggt	ggttcagccg	cgggattgga	ccaaccggtt	cgatggcggc	6480

ES 2 592 352 B2

tacctgtcct	cgaacatcaa	gccgctgaag	ctggtgaaga	cgaagaacaa	ggcgtacctg	6540
gaggaactcc	gcggcgctga	catgcccac	gtctacgagg	cagtgaacgc	catccagcgc	6600
acggcctggc	agatcaactc	ccaggttctc	acggtgatgc	ggcacctgtg	ggactcaggc	6660
tccgagcttg	gtggtcttcc	ccctcgggag	ggactgccga	tgccaccgaa	gccctacgac	6720
atcgacacca	acgatgactc	gaagaaggcg	taccgcatcg	ccgcagcgaa	ggccacatg	6780
gagaacctct	ccattctggg	ccagcgcac	ggctttgaca	tggccctggg	cattgcgggc	6840
cgctacgaga	agtaccggcg	catctacttc	ccgtaccagt	tggacttccg	ggggcgcatc	6900
tacgcggtcc	cgcacctgaa	cccgcagggg	tccgactacc	agaaggctct	cctcagattc	6960
gccaacggga	aaccgctggg	ctccgagggg	tggaagtggg	tggccatcca	cgggtcgaac	7020
ctggcgggct	atgacaaggt	gagtttgag	gaccgcgtgg	agtgggtcct	ggagaacgaa	7080
gatgagattc	tcagaatcgc	aagtgatccc	tacgaccatc	gtggttgggc	atcggaagtg	7140
ggggggggtta	agatcgacaa	gccctggcag	tttcttgctc	tctgctttga	gtgggctggg	7200
ttcgttgagc	atgggtgagtc	gttcgtatca	aagctgcccg	tggctatgga	cggttcatgc	7260
tctggcatcc	agcacttcag	cgcgatgctc	cgggacgaac	gaggcggggc	cgcagtcaac	7320
ctcgtacccc	aggacctccc	agccgatgtc	tatagagccg	tcgctgagag	agtcattgaa	7380
caggctgaaa	gtgatctcgc	tcacggttcc	gaggacgaac	tgaagcacia	cggccggggc	7440
atcgcttacc	tgtctgaggg	ctccaagacc	atcgcccagc	agtggatcaa	gttcggcatc	7500
acccgcaagg	tcaccaagcg	gagcgtgatg	acgctggcct	acggctccaa	ggagtacggc	7560
ttcaaggagc	aactcatgga	ggacatcctg	tggccagcga	agagggcagc	gatgcggcct	7620
gatgggtcca	tcgacacgga	gaagttcccg	ttcagcgggg	atggctaccg	tgcggctctc	7680
tggatggcga	aggcaatctg	gaacgcggtg	aacgcagtgc	tggtgaaagc	tggcgagggc	7740
atgcgctggc	tccaggagggt	ggcagcactg	gccgcgaagg	aggaactgcc	tgtccgctgg	7800
acaaccccgg	tggggttccc	ggtgatgcag	gcgtatcccg	ccctggaggc	acgtaggggtg	7860
aagaccgcca	tcaacggcat	ggtgctgaag	ctcctcatga	accaggagaa	ggactccctg	7920
gacaagcgga	agcaggggca	gggcatctcg	cccaacttcg	tccactcctg	cgatgcggcg	7980
cacctgatgc	tcacggtggg	ccgcgcgaag	caggaaggta	tccagaactt	cgccatgatc	8040
cacgactcct	tcgggaccac	cgcggggtgac	gtggaggaga	tgtatcgggt	ggtccgcggg	8100
agcttcgtgg	agatgtactc	cgaggtgcgc	gtcctggaag	acttccggga	tgagatcgcg	8160
gagcaacttt	ccgagaaggc	ccaagcgaag	atgccgccgc	tacccgagcg	cggctctcctg	8220
gagttgtctc	gcgtctgcga	gagccgctat	tgctttgcct	gaacccttcc	acatctggaa	8280

ES 2 592 352 B2

gagttgagcc	gggggaacga	ttaggtgcca	cacatggata	aaccagccgc	cgttcccccg	8340
gtggcctctc	ccgagacaac	cgatggaacg	caacgaacac	gaagtatcgg	accagtacga	8400
gtccgcactt	ggccgcgcga	ttgctcagtg	gcgaccgga	cggcccatcc	cgatgacact	8460
cgcccgctgaa	ctgatgcaac	agggctatga	cgtatccgcc	ctggaagcgc	gtcacatgac	8520
ctgaaccaac	aatggcagaa	aagaaacaac	gcaacccgag	cttcacctcg	ccgcgcggca	8580
tcgcccgcta	cccggccctc	aacaagcccg	actacggcaa	cgaacagttc	ccgaagccgg	8640
atggtgagta	caaggtccaa	ctcatcctga	gcgaggccga	ggcccagccg	ctcatcgaga	8700
agctccagcc	gctctatgac	gcggccatcg	aggaaggcaa	ggcgaagttc	aaggaactga	8760
aggtggagca	gcgcaagaag	ctgggcgcgc	tgaaggagaa	tgacctctac	gccaccgagt	8820
acgaccagga	gaccgaggag	ccgaccggca	acctcatctt	caagttcacg	atgcaggccg	8880
gcggaagaa	caagaagggg	gagccgtggt	ctcgcaagcc	cgcgctgttc	gacgcgaagg	8940
gcaagccgct	gccgaagaat	gcaccggcca	tctggggcgg	ttcggaagtc	aaggtctcgt	9000
tcgaggccgc	tccgtacttc	atccccggca	cggtgtctgc	tggtctgaag	ctgctctcc	9060
aggcagcgca	ggtgctcgaa	ctggtgactg	gtggccagcg	cagtgccgat	gcctacggct	9120
tcggtgccga	agacggctac	gaggcagacg	acaacaatga	agagggcgat	gaagccccgg	9180
acactgatgg	caagagcggc	agcggcgaag	acgaattcta	aatcactgac	tgccaaacag	9240
gtggccctga	agtacggctt	caggagcggc	ctggaagaga	agatcgccgc	ggacctcacc	9300
tcgaaagggg	cggggttcac	gtatgaggag	ctaaccatcc	cttacgtgaa	gcccgcgaag	9360
ccctcaaagt	acacaccgga	cttcgacctt	ctcaagaacg	gcatcatcgt	ggagtccaag	9420
gggcggttcc	taacagagga	ccgggccaag	cacctgctgg	tgaaagccca	gcaccagac	9480
ctggacattc	gtttcgtttt	ctcgaattca	aaggcaaaga	tcaacaagcg	aagcccgacc	9540
acctatgcga	tgtggtgcga	gaaaaacggc	ttcgcatatg	cggacaagag	cgtgcccgag	9600
gcatggctca	aagagccgcc	gaacctgaag	tccctagcag	ccatcgagag	gctgcgggga	9660
gcatgacatg	gcatacactt	ccaacaccaa	gaagcgggca	agcacggact	acctggtggt	9720
ccattgctcc	gcaacgaagc	cctccgctga	catcggagcc	gcggacatcg	accgctggca	9780
ccggaagcag	gggtggcgct	gcatcggcta	ccacttcgtc	atccgccgtg	atggcaccat	9840
cgaagaaggc	cgttacgctg	acgttatcgg	cgcacacgta	gaaggccaca	acgagaactc	9900
cctgggcatc	tgccctggcg	gtggtgtctc	cgagaaggat	gtgaacgttg	ccgagaacaa	9960
cttcacgccc	gagcagttcg	ccagcttaca	gaagctcctg	acggacctcc	gagcgaagta	10020
tccaaggcc	accatccag	gtcaccgcga	tttcctggt	gtggcgaagt	cgtgcccctc	10080

ES 2 592 352 B2

cttcagtgcg aaggattggg ccaagcaaaa cggtttctga cacaccacga ggagcaacca 10140
tgaaggcatg gcgtaaagaa cccaatcagg gcgcagtccg tattggtegc aagaccatca 10200
acgcgaagcg tgtgatgaac aagttcaaac cgagcatggc caaccatggc tccgtcctgt 10260
ttcagcggat gatgctccag gccggtatct gggcgctcta acctaaacca tctccagtgg 10320
tacttcgggc cggtccttcg ggctggcccc ccttttatgc tcaagatttg taagaggtgc 10380
ggatgaatgca agccgtttag cgactttcac aaagcacccg caggaaaatt caagctccag 10440
tcatattgca agcagtgcaa gaaggaatac acgcgggaca ctggagctaa catcctacc 10500
tccattcgtc agagagcacg aaagcagggg gtccccttct cgcttaccaa agagaacccc 10560
ccacccatcc ccgaagtgtg cccggtctta gggattcccc ttcgacggac actcggcttt 10620
gcggacgaca actcgcctatc gctggatcga ttgatccctg agcttgggta cgtgcctggg 10680
aatgttgagt ggatgagcta ccgagctaat cgaatcaaga acgactcaac ctatgaagaa 10740
ctcgaaaggg tcaactgcctg ggtccgagag cgagtttcta cgacacatcc catgtgaggg 10800
ctgcggttcc tcagacggga acagtctctt cagtgatggg caccagtggg gcttcgtctg 10860
tgaaacctac gtgcccgggtg atggcagcga accaacaata ggaacaacga agaagcggat 10920
ggaagggctg ctaaccgggg agtttcgccc cctactgaaa cggaagatca ccgaggagac 10980
ggcgcgcaag ttctcgtatc aagtcgggtg gttcaagggg aagacgggtc aactcgcgcc 11040
gtactttgac aatgcagggtg tgatgggtggc tcagaaggtc cgattcccgg acaaggagtt 11100
caccgtagtt ggggatggca aggccatctc tggaatctc tttggccaga acctatgggc 11160
tcctggcggg aagaagatcg tggtcaccga aggcgagatc gatgccatgt cggtgagcca 11220
agcgcagggc aacaaatggc ctgtggtctc cgtaccaaac ggagcacaag gcgcgaagaa 11280
gtcgcttcag aaggcactcg aatacctgga gagctttgat gaagtgattt tgatgttcga 11340
ttccgatgat gcaggcaaga aggcgctgc tgagtgcgcg gagttgttct cgcccggcaa 11400
gtgcaagatc gcgtccatcc cgatgaagga cgccaacgaa ttgctgaagg ctggccgtga 11460
gcaggagatc atcactgcaa tctggcaggc caaggagtac cgccccgatg gcatcatctc 11520
gggagcggaa ctgtgggagg cgggtgcagc atctcaggat atcgtagagt ccgttcgta 11580
cccctgggac gcaactgaatg aagtcacgaa aggcgcgcgt acaggcgagc ttgtgactct 11640
cactgcgggt tccggcatcg gcaaatctgc cgtggtacgc gagatcgctc accacctcct 11700
gaggcgtgga gagacggttg gcatgttgat gctcgaagag aaccggaagc gcaccgcgct 11760
gggtctcatt agcatctccc tcaacaggcc tctccacata gaccgtgaag gtgtcagcaa 11820
ggatcaactg aaggtagctt tcgatgatac ggtaggctct ggccgactat tcctctacga 11880

ES 2 592 352 B2

ccacttcggc	tccagcgaca	tcgacaacct	ggtgtcccgt	gtccgcttca	tggcgaaggg	11940
cctgggggtgc	aagtgggtca	tctctgacca	cctgagcatt	gttgtctctg	gcctcgggtga	12000
cggagacgaa	cggcgactca	tcgacaacgc	aatgacgatg	ctgcgtaccc	tcgtggagga	12060
gaccggcatc	ggcatgtttg	tgggtgcaca	cctccgccga	cgggaggggtg	accgcgcca	12120
cgaacagggga	gcacgtacct	cgctcaccca	actccgcggt	tcccatagca	tcgcgcaact	12180
gtcggacatg	gtgattggtc	tcgaacggaa	ccagcaggggt	gagaaccega	acgtcaccac	12240
gctccgtgtg	ctgaagaacc	gcttctccgg	tgagaccggt	gaggccgggt	tcctgctgta	12300
cgaccgggag	accggacgcc	tggaagagac	ggacgcacct	gctgcgcctt	tcaaagacga	12360
aaccaaactcg	gacgttcagt	ccgagttcta	accaaagggt	acatcatgag	tctgatttcg	12420
ctgttcacgc	agtccgctgc	tgaccaacgt	gctgccgcgc	cccgtgctgc	ccgtgtccgc	12480
gccaagatcg	cggacctgat	cgactaagcg	ggagtctctg	tgatcgatga	caccgcctc	12540
caagagttcc	gagaaatcct	cgatgtagtc	cgctgggagt	tccccggttc	acaccccgctg	12600
attgggggcg	gggctctccg	cgattcctac	catggtcgcc	caatcaagga	cgtggacgtg	12660
ttcatgcgca	ggcgtgacca	cgagacgctg	aactcggaac	tcacccgctt	catccgcccg	12720
ccgatcctcg	tggcccacgg	ctatggccgt	cccgacatgc	acggcgcgatg	ggacctgatg	12780
cagtccgttg	ctggctacga	ggtgcaactc	atcctcgcgg	acttcgagaa	cctggaagac	12840
ctggccggta	cgttcgacct	ggggattgcc	cgagccacct	tcgatggtga	ccggctgttc	12900
ctccatccgg	acttctcca	ggactccacg	gataaggtct	tccgatcccg	tcgcgcgga	12960
aacctgttcg	agaaggcgcg	aagcctgaag	cgcatcaagc	ggctggcaga	gaagtacccg	13020
gacttttcaa	caccggactt	cgagcattgc	cctgtctgcg	cacaacccat	catcgagttc	13080
cgcaacgctg	ccagcgtccg	agagcaccaa	atctccgggc	tctgccagca	atgccagtac	13140
ttggtgttcg	acaaggactg	accatgaaca	ccttctcat	tctcctggtc	ctcatcggag	13200
gccaaatcga	aggccgcgtg	atcgctgagt	tcgacactcc	ccgtgagtgc	gaagcagcga	13260
aggaacacgt	gagggtcac	aaccaacccc	ctgtcgtcgc	gtccacgttg	gtgtgcgcaa	13320
gggatggccg	cgcgtaatca	ccaaggacgg	tatgaagcta	ttcgacattg	aaacaaacgg	13380
tctgctggat	accgtcacca	aggttcactg	tctcgtcatc	aaggatcgca	ccaccgggag	13440
gaagttccgc	tgcacccccg	caggcttccc	gatgcaagcg	gacatgacca	tcgagcaagg	13500
gctggagctt	ctcaagtccg	gccccatcgg	tggccacgga	atcctcaggt	acgacatccc	13560
ggtcctggag	aagctgtacc	cggacttcac	ctacgacaag	gaccaggtgt	tcgacaccct	13620
ggtggcccg	cgtctcatct	ggacgcacat	caaggacatc	gacaacgggc	tcctcaaaaa	13680

ES 2 592 352 B2

gaagcaaadc cccggctccc tctacggctc cactcgcctg gaagcctggg gttaccgcct 13740
 gaagctccag aagggcgagt acgcggctga gttcaaggcg cgcgtggggg acgcttacga 13800
 ggggggcatg gaggggcgag agctttctcc tgagatgctc gactactgcg acctggacgt 13860
 ggatgtcacg gacgcactgt tgcaccggat cgaaggcaag aactactccg cggaggcgct 13920
 ggagcttgag caccgcatcg cctggctgat ggctcaacag gaacgcaatg ggttcccgtt 13980
 tgacgtgacg aaggccagcg cgttgtagcg caagctcgcg caacgccggg gcgaactgga 14040
 gcgagaactg aaagagttct tccgtttctg gttcgcctccg gctggaacag tgactccgaa 14100
 ggttggaaac aagggcgag gaactgtagc cgggtgctccg tacaccaagg tgaagatcgt 14160
 ggagttcaac cccggctccc gcgaccacat cgctaacgcg cttgtcacgc tctacggctg 14220
 gaaaccggag gtgttcaccg atggcggtaa gcctcgggtt gatgaagatg tgatggcacg 14280
 cctggactac ccgcccacga aactcctcac ggaatacctg ctggctcca agagaatctc 14340
 tcagctagct gaaggtgacc aagcgtggct caaggttgta cgtgacggaa agattcatgg 14400
 ctccgtgaat ccgaatggcg cggttacagg aagatgcacg cacgctttcc cgaacgtggc 14460
 ccaggtgcca gccgtaggtt ccccctatgg tgaggagtgc cggggattgt tcggggcacc 14520
 taagggttgg ctgctggttg gctccgatgc ttccgggttg gagcttcgct gtctagccca 14580
 cttcatggcc aggcacgatg gcggcaagta tggaaagggtg atccttgagg gagacatcca 14640
 cacggagaat cagaaggccg ctggactgcc cacacgaaac aacgcgaaga cttcatcta 14700
 cgcgttcctc tacggagccg gggacgcaa gattggtaag atcgttggtg aggacgctgc 14760
 tgaaggaaag aagctcaagg ccgcttcct gaagaagacc cccgactca agaagctcct 14820
 cgaagctgtc cgtgagtctg ccaagcgcg ctacctggtt ggctcgaca agcggcaact 14880
 ccatgtccgc tctcagcacg ccgcattgaa caccctgctg caatccgcag gtgccctcat 14940
 ctgcaagtat tgggttgctc gcacggcaga gcgaatggaa gctctgggct acaagcacgg 15000
 atgggatggg gacttcgctg tcgtcgccta tatccacgat gagcagcagg ttgcagtacg 15060
 aatgaggaa gtcgccaagg tcctcgttga gcaggttgca ttggccatga aggacgccga 15120
 agcgtggggc ggattccggt gcccgtgctg ctgtgagtcc aaggtcggta cggattgggc 15180
 ttcaacacac taaagtaatc agacaccaac atgagcatgt tccgagacga cctactcaaa 15240
 gaagtcctct acgaggcgtt caagactccc ttcaagctcc agtccgactt cggccgagag 15300
 ttcgctcagg aagtcgccg tctggcctcg atgggataca tctcgaccta cgaggggccc 15360
 cagcagttcg gcaagaagtg gcgcgtcacc ggcatcggcc tggacaagct gcgcaagctg 15420
 gggatgctgt gagtgaagcc ctacgcccc attcgtgag gatcatgggc cggaagttcc 15480

ES 2 592 352 B2

gggctctctta caaggatgac ctggacggtg acctgggata ctgcaaccc accaagtgta 15540
 agatcgagat tgagaacggg cagcaccocg tggaggaggc cgatacggtc ctccatgagg 15600
 tgcttcacgc ggtgttctat ctgatggaca ttgggctctc cgcggaggag gaggagcacg 15660
 tgggccgtaa ggttgtcacc ggactcaccg aggtattcca ggacaacccc eggctcctga 15720
 cctacttggc aaacgccaag tgatggacca tatagccaag tttgattctc tccaggagga 15780
 actcatgacg gacaagaagt ggaccatcac ggtaacgtg gacacccocg agggccaccg 15840
 ggagcggacc atcgagttcc cccaccggcc caccgaggag gagcttggtc tcaagctggc 15900
 gcagttcttc agccggatga acttccgatt caacgaacac ctgaaggagg tgaaggggtg 15960
 tgcgctcctg acacctcggg gaccgatga aagtagcgt gattgatgct gacgttctgg 16020
 tcttccaggc ggctgtagtc gctgagaagg caaccgattg gggggacggt gtttggacc 16080
 tccacgcaga cgagggtgac ggagaacgaa tcgttcgcca gtccgtcatc accctccagg 16140
 agaagaccgg tgcggataag gtcatcctgg cattctccga tgaggagaac tggcgcaagg 16200
 ccatactgcc cacctacaag gccaacggag cgggttcccg ccagccgatc atccgcgcgc 16260
 atctgaagcg gtgggcttcc gacgaatacg agagcttcac ccggccaacc ctcaagggg 16320
 atgacgtgct gggcatcctg gccaccgcg agggcaagcc aggcgagaac ttcacgtgt 16380
 gctccatcga caaggacatg cgaaccatcc ctggcaccca cttcaacttc ggcaagaacg 16440
 aagagttcgt ggtgacggag gagggggag actactggca tctcttccag accctcacgg 16500
 gtgaccocgt ggatggctac gcaggctgtc ccggcattgg cccggtggcc gcgaagaaga 16560
 ttctcgaaa gagccccacc tggggtgccg tggctctctc ctacgacaag gcaggcttcg 16620
 gtgaagagga agctctcgtg caggcccag tggcgcgcat ctgccgcgt gaagactacg 16680
 acttcaagaa gaaacaagt cgactgtgga ccccaaagaa atcctgaaag aactggaaca 16740
 gcagcaacgc cgcaagttcg agaaaggccc tctcaccggc aaacgcgccg atgtcatcat 16800
 catggacgac atccaggaca ccaaggacac caaccggaag gacgcatcg gctccaccaa 16860
 gctccccctc gacctcgttc ctgactcgtc ctcggtcttc gccgcgctgg cgttaccga 16920
 gggtgccacc aagtacggtg cctacaactg gcgtgtcgtt ggtgtccgtg cgtccatcta 16980
 caaggccgcg ctggagcgtc acctgaagaa gtggtggaac ggtgagtggg ccgaccgaa 17040
 gacgaagggt ccgcacctgg ccagcgtcat cgcgtgtgct gcgatcatcc tggacgcgga 17100
 cctcgcaggc aagttgacgg atgaccgcc tccggcaatc gacctgagtt cttcatcga 17160
 ctcccttgag gagaccgtga agcacctcaa ggaactgcac aaggacaaga acccgaagca 17220
 ctacaccgaa ctcaacgtat gaaccggaag cgaaacactc tgaccggctg ggtcatctat 17280

ES 2 592 352 B2

gatgcagagc gggcgactgg ccgaagcacc gcgattgcgc tgagtcttct aggcaaggcc 17340
attgcaaadc caggtgtggc cgtacaaadc cgagaacadc acggtactcg tccggctgac 17400
gagagtctga tgcgcctgat gcgggatatg gtctttcggc tgggcctcaa gggcatgacg 17460
ttcagccaga acctgactgt gacgttcaac ctttgggagc ctgtgtgagc cagagccgaa 17520
agggtctctc cattgaggcc ctcatcaaca ccgcaatcgg cttcgggacg aacttcacgg 17580
cgaacctcat catcctccca ctgttcggct tcaccagttt gacggtgcag acgaacctgg 17640
tgattggcgt ggtctacacg ctcatctccg tggtgcgag ttacgtgggt cggcctgggt 17700
tcaacgcaca catcgtccga gccgccaaga aactctcagg ggctgaagg tctctttagg 17760
ttccacaata ggagaatcaa attggcgaac gacaagtctc cgccgattcc caaagaatta 17820
cttgaggcgc ttgagaagcg gttcccggag acaccactcg aaaatatcgg gtctgtggat 17880
caacttcgat tggctcaggg tgagctacgt gttgtccggg ttctccgagc ccaattcgag 17940
aagcagacca agaacatctt ggagaacaca tagtgtgcat gtctcaaccg tccgccccac 18000
ctccggcccc accgccaccg ccacctccgc ccccgcccgt tgatccgatt ccggtccaac 18060
ctgcgcagca aaccgggtgga gcggtgacca gcggcaagag caagggacgc gactccctcc 18120
gtatcgacct ggcccagaag acatcgggtg gtggcgccgg tctgaacadc ccgatgtaac 18180
gaagggcagg gatggaacaa gaaaagaaaa cctgcgcctc cctctaccag aaactcacca 18240
ccgaccgaga cccgttcctg aagcgggcct acgactgcgc cgaactgacg attccctcct 18300
tgcttcctcg tgagggacac aacggctcca ccaaactcgt cactccgtgg cagggcattg 18360
gtgctcgtgg ggtgaacaac ctgcgcatcca aactcctgct gacgcagctt cctcccggaa 18420
ctcctccggt caagttgtcg attgacgact tcacgctgga ggaactgacg aagcaggaag 18480
ggatgcgggc gaaggtagag gaggggctca acaagatcga acgcgcgggt cagactgaga 18540
tcgaagcgaa ctacatccgc gtggctgcct tcgaggcgt gaagcatctc atcgttagtg 18600
gcaatgcctt gctgtacatt ccgcctgaag gtggactgag agtattccac ctggaccgct 18660
acgttgctcg ccgtgaccgg atgggcaacg tgctggacat catcaccaag gagaacgtct 18720
cccgagacgc actccccgac aacctcgtcc tccctgatga caccgaggag aaccaggagc 18780
ccgcggctgg tacgaaggat gtggagcttt acaccacgt ctatcgccag ggccgcaggt 18840
ggaaggtcta ccaggaagtc aaggggtgtc gcattcccgg caccgagggt tcgtaccgcg 18900
tcgataagag cccgtggatt cccgttcgct tcacgcagat cgacgggtgag agctacggac 18960
gcggttacgt ggaggagtac atcggggacc tgaagagtct cgaaggactc tcccaggcca 19020
tcgttgaggg ctccgctgcc gcagcgaaga tcctgttctt ggtgaaccgg aatggcacca 19080

ES 2 592 352 B2

cggacatggc tgacgtgtcc gaggctgaga acggtgcgctt ccgcgagggt gtcgcaactg 19140
 acatcacggg cctccagctt cagaagcaca atgacttccg cgttgctctg gagaccatga 19200
 aggacatcac cgagcgcttg gcgtttgcat tcctgctgaa ctccgcagtg cagcgcaacg 19260
 gcgaacgggt gaccgcagaa gaagtccgct acatggcgaa cgagttggag tctgcgctgg 19320
 gtggtatcta ctccatcctc tcgcaagagt tccaactgcc gctcatcaag cggatcatgt 19380
 accagatgga acggcagaa cgtctgcccg tccttcccga agggaccgtc aagccaatca 19440
 tcgtgactgg catcgaggcc ctccgacgtg gaaacgacct gaacaagctg atccagttcg 19500
 tccagatcgc cgcacaggca gcgaatcttc ctcccagat cgacaaggcc gacttcctca 19560
 agcgtgctgg tacggcgctg gggatcgaca tgaagggtct cgtggtgccg cctgaggtgg 19620
 tagctcagaa caaccagcag gccatgatga tgcagatgat gcagcagggt gtgaaccccg 19680
 ccatcacgca ggctggacag ctaatgaaac aaggaatgca gaatgccgcg caaccgcag 19740
 gcgggcagta aggctcccga ggccaacact gccgaagccc ccgtggtcac cgttgaagac 19800
 tcggtggccg aacagcaacc caagcccgca gcgaagccgg tcaaagtac cgaactacct 19860
 ggtggcgtga agatcgaaga cttctgatga gtgtggattc cgtagtcac aagcagccgg 19920
 acgctccggt ggaagaccag gccacatcg atgcgatggg ggccaagggt gatgctgcca 19980
 atacttcgac cgaaccggac actcccgagg tgcccgcaga gggacgcccg cagtggctcc 20040
 cggagaagtt caagtctccc gaggacttgg ccaaggcata tgccgaactg gaaggcaagc 20100
 tgggtgggaa gaaggatgat gccactccac ccgctgacga caaggccgcg aagtctgacg 20160
 aaaccccgga cccaagcaag gccaccagc acgatgcctc gaaggctctc tctgagaagg 20220
 gcctgagctt cgatgagttc tccgctgagt ttgcccagaa ggtggaactg accgccgaga 20280
 gctacgagaa gctggagaag gctggcatcc cgaaggccgt ggtggaccag tacatcgctg 20340
 gccagcaggc cctcgctgag tcgtaccgca aggacgtgac ctccggtgcc ggtggcgatg 20400
 aaagcttcgc tgagatggtc acatgggccc ctgcgaacct ctccaaggaa gagatcgccg 20460
 cgtacaacaa ggccgtggac tccggtgaca tcaaccaggc gaagctggtc gtggccggtg 20520
 tgtaccagaa gttcgacgct gctggccgcg gtggtgagcc tgccctggtg actggcgctg 20580
 gcggtaaagg ctccggcgat gtctatgagt ccctggctca gatgcagaag gacatggcct 20640
 cgccggagta caagaccgac cccgcattcc gcaagaagggt ggagcagaag atcgcccgct 20700
 cgaacatctt gtaaggaacc atcatgatcc tggagagcat cctgggttcg gtggtggctc 20760
 ccgctatcat cgacctcgtg aagggtgctg gtggggccat tagccgcaag ttctttggtc 20820
 tgtcggttga cgaccagatc aagattcaaa atgccgacat cgagaagctc aaggctctcg 20880

ES 2 592 352 B2

ctgccctcga caatccgtat ggcaccccca gccagtgggt ggtggacctc cgcgcatcgt 20940
 tccgatacat cggcgctgcc gcggtcatcg ctgtcggctg tgtcacctg tatgccggtg 21000
 tccagaccaa catcgaagac gtgaaggaga tgggtttcgc cctcgtgggc atgcccttcg 21060
 gtttcatctt cgggtgaacgc ctgtacctcg gcctgagggg caagagcaag taagcactgc 21120
 cgggaagcag cgcattctgt acggttctga tcccgtaac gttaccacg ggatcacact 21180
 gccattgaag tgaaagggtcc tagccgcaact gcgctcctgc gcggtggctc tgctgcatcc 21240
 aaagaacacc acaacagaac cttggcccgc tgaggcggac aaccctgtgt gacgtgtgag 21300
 ttccccggaag ccgctcaaca cgactttcaa ctactttcca aaacaaaaat ggcaaacgca 21360
 gttccgtctc gcctggggcca ggcaaactg gcaggcgatc cgaaggccct gttcctgaag 21420
 gtcttcgctg gcgaagtcat gacggccttc gctgaaaaca acatcgtact tcagtacgtc 21480
 cgccagcgcga cgattagttc tggcaagtgc gcttgacca accttatgaa ctgggccgac 21540
 tctaaacacc ccgtaaattc ggtggaaccc catgggggca ataccgagcc aagacttcgc 21600
 agtacgcgag atgggtgtaga gactagacac ggggaaccca caaagacctg cgcagtgtgc 21660
 aacgtcgaga agcccccccg tgagttctat aaaaaggacg cacagacagg aaggctcgat 21720
 ggaatttgca agtcctgccg aatcatcaag acccgagaga aaaccttagg ggtcactgaa 21780
 gatgactatc ggcggatgta tcatgtccag ggcggtcgat gtggaatctg ccaacggcgc 21840
 ttgtactcaa agaggtaaaa gagttttgca gtggaccatg atcacgagac aggaaaagtc 21900
 cgtggcttgt tgtgccataa ttgcaaccgc ggattaggca tgttccgaga cgacccgact 21960
 gcgcttaggc gtgctatcga ctgggttaag gtatagtccg atcctcacag caatgtgagt 22020
 aggggaagca gttccccgta atttgtaagg ctaccgcccgc gtaccacacg cccggtaacg 22080
 aatcaacgg cagcaacatc gcccaaacg aagtgggtcat caccatcgat gacctgctgc 22140
 tggccaacac cttcatcgcc aacatcgatg aagcgatgaa cactacgat gttcgttcgg 22200
 tctattcgag cgaactcggc aaggccctgg ccaaccagct tgaccgccac ctgctgcaac 22260
 tggctgtcct ggccgcccgc tctgctgcc gtatcacggg cgaacagggg gttcgggtca 22320
 tcaccgatgc tgctgccggt accgactcga acgactgggt cgcggacatc ttctccgcg 22380
 ctcagaagct cgatgagaag gatgtcccgg ctgatggccg tgtgtgcttc ctgcttccgg 22440
 cccaatacta cgccctggca cagaacacca agattctgaa caaggattgg ggtgggtgccg 22500
 gtgtgtatgc ggatggcaag gtcctccgtg tggccggtgt ggagatcgtg aagacgaacc 22560
 acctgccgaa cacgaacatc gcttcggggt cgaccgcccgc tggactggc gataagtaca 22620
 ttggcaactt cacgaccacc gttggtgtgg tcaccagaa gtccgcccctg ggcaccgtga 22680

ES 2 592 352 B2

agctcatgga cctggcgatg gagtctgaat accagattca gcgtcagggc accctgatgg 22740
 tcgccaagta cgcaatgggt cacggcgttc tggctccgca agcggctgtc gaaatcaaga 22800
 ccgcataagc gtcccctcaa gcctcgggag gttctcttca agagttcctc ctggggcttt 22860
 tttttctgct ctcaaggatc accaattggc aaccaagact caaactgatc gcgccaagga 22920
 cggtcaggat ttcttccagc ttccggccca caaggacacg cccgcgggtca ccgtgaatgg 22980
 caccgcccgt gctcgcacga ctgtcccag tggcgtccag ctggcaacct ctgcccgtca 23040
 ggatgacatc gtagcgatca cgttcaactc ggctgaccct ggaataccc gccgcgaggt 23100
 cttcaccctc gccactggcg caaccatcac accaccgag ttctgcatcg aggcccgat 23160
 tgtaccgca ggcaccattg cggccctcac catcacctc cccccgaacc cctcgaagga 23220
 aggccagcag ttccgtgctg tcaccacgca gaccatcacc gcggtgacct ggactgggtg 23280
 ctctcgtctc aacgctcca ccacgctagc cgctggccgt gctgccacct tcgagtggag 23340
 cgtggcgaag caggagtggg tcttcatcaa ctaaggaaaa cgcatgacca ccatcgtcac 23400
 tccgaccacg gagcttgagg cggtaacct gatgctgat gtcacgggg agagccaat 23460
 cagcaccctg gagaacagcg ctgtggtgga cgcggtgaag gccaaaggcg tcctctccga 23520
 ggtgtcccgc gctgtacaaa cgaagggtg gcacttcaac accgagaagg ggttcgagct 23580
 agttcccacg gtcttcgaga aggagatcat cgtccccgcc aactgcctgc gattgatac 23640
 ggtctaccg gacgagggca tcgatgcagt tcaccgtggc actgcctct atgaccgccg 23700
 caggcacacc taccagtctg acaagagtgt gaagggtgac atggtggtca acctccaatt 23760
 cgaggaactc ccggaatccg cccgccgcta catcgccatc cgtgccgcac gggctctcca 23820
 ggcccgcata gtgggctctg agagcctcta ccagttcacc gcagaggacg agagggacgc 23880
 ccgagcggac ctcaagaagg ctgagggcat cacgggggac tacaacattc tgacggacag 23940
 ctgggctggt cgtcgcgtca tcgatcgtg atatgccct cgtttcttct tccatcgcca 24000
 acatggtgaa cggggtctct cagcaaccct tcacgctgcg tctcgcgtct caagctgagt 24060
 tgcaggagaa cggcctcagt accgtggctc aggggtgaa gaagaggccc ccaaccaagc 24120
 acatcaaacg cctcggcagt gccatcaccg gctctgccta catccacacc atcaaccgtg 24180
 actctgtgga gcggtatgag gtggtcatca cgaacggtga cctgaaggtc tacgacacgg 24240
 cagggaaacca gaagacggtg aacttcccga atgggaaggc gtacctgaac tccacggacc 24300
 ctgctacgtc cttcagggcc gtcactgtgg cggactacac gtttatcgtg aacaagaaga 24360
 ctgtcaccgc ggccagtgcc acgaactccc caacgcggcc cttcgagtc ctcgcaaacg 24420
 tgaaggttgg gctctactcg aagacctaca ccatcaccgt ctccggtgtg ggcacggcca 24480

ES 2 592 352 B2

cctatagtac	ccccgatggc	accgttgcg	cccacgcggc	acagatcacc	acggactaca	24540
tgcgcaacca	gcttgcgaa	ggtctcatta	ccctcgggtg	attcacctca	gtgaaccagg	24600
tgggctccgt	catctacatc	gcccggcca	ccgattacac	catctccgca	acagatgggt	24660
ataacaacgc	ggccctgaac	gtgattaag	ggacggtgca	gaggttctcg	gaccttccc	24720
cgaatgcgaa	cttccaggac	ttcactgtg	agatcgagg	ggacaacacc	tccgagtc	24780
ataactattg	ggtcaagttt	gacaagacc	ggaacaactc	cgggtgtctg	cgcgagacca	24840
tcaagccagg	catctcgggt	ggtcttagtc	ccagcacgat	gccgtgggta	ctgggtccgt	24900
agtcggacgg	cacgttcacc	ttcaaacc	tctcctggac	gaaccggctg	gtgggtgatg	24960
aagactccgc	tccacacca	tcgtttgtg	gccgcacat	ccaggatgtg	ttcttctacc	25020
ggaaccgcct	gggcttcac	gcggatgagg	ctgtggtgat	gtcggaggct	ggccagttct	25080
tcaacttcta	cccgaccacg	gtgacgcaac	tcttgattc	cgaccgatc	gacgtatcag	25140
catcccacac	gaaagtctcg	aacctgaact	tcgcggtggc	cttcaacaag	gacctctgc	25200
tgttctctc	gcagactcag	ttctcgggtg	aatcaggtga	cctcctgaca	ccaagagcg	25260
tctccatcaa	gcccaccacg	gagttcgagt	gcagcacct	tgccctccc	gttgggattg	25320
gacgcaacgt	ctacttcg	gtccctaagg	gtgagttcga	gggcttccgt	gagttctacg	25380
tagcggacaa	cgccaggcacc	aatgatgcgg	ctgagatcac	cggccacgtc	ccgaagtaca	25440
tcccgaaggg	ggcctacaag	atcgctgcgg	ctctcaacga	ggacttcttc	gtgggtgctga	25500
cttcagggga	acccaacgcg	atgtatgcgt	acaagttcta	ctggaacagc	aacgagaagc	25560
tccaaagctc	ctgggtccaag	tggaccttcc	cgagcacgga	cacgattctc	cacgcggagt	25620
tcatccagtc	ggaactgttc	atcctcatca	accggcccga	tggctcttac	ctggagaagc	25680
tcagtgtggc	tctcggggac	atcgggacga	acgagcccta	caacgtccac	ctggaccgca	25740
agctgacgg	gccgaaagca	agcctcacgt	atgacggcac	gtacaccatc	atctcctccg	25800
cggctctccc	gtggaacc	acggatggaa	cgtacacggc	agtgggtggc	accagtcagc	25860
cgcagaaggc	tggcgtcctc	taccgggtca	tttgggatgg	gacgaacgcc	aagattctcg	25920
gtaaccgtgt	ggactccgac	ctcatcggtg	gtaggcgcta	cgcttccgc	tatcgttct	25980
cgccgctact	ggtccgccag	cagtccggcc	agggccagaa	ggcggacacg	gttgcacgtc	26040
tccagattcg	caacatgcaa	gtcaacttct	cggagagtgg	caacttccag	gcaaagggtca	26100
cgcttacgg	gcgggacacc	tacacgtaca	cctactcagg	aaagaccctc	gggctgcctt	26160
cggcaaacat	cggggccatc	ggaattgaag	atggcaagtt	ccggttccc	gtgatgtcgc	26220
agaacaccac	cgtggacatc	gaactcttct	cggactcgcc	gctcccctgc	gccttcttga	26280

ES 2 592 352 B2

gtgcagattg ggaaggctac tatgtccgac gaagccaggc ggtctaaacc atacgtccgt 26340
cctgcaacac gcgaagactg catcatcctc gcaaggaacc tccgacagga agacgcggag 26400
gagatcgctc atgtgaacgg tctccccgcg gagatgaatc tcttgctggg gttccgcacc 26460
tccgctcgac tttatgcggt ggtgtggggg gatgagaccg tggcctgttt cggcatcggg 26520
ggagtgcctg gcgtcatcgg cttcccctgg atgctcgctt cgccctccct ctcgaaaatc 26580
cgcaagagct tcctgagggg gtgccgcggg tacgtggagg ggatgctcca ggagtatcgc 26640
cacctggaga actacgtgtg ggcaaagaac gaagtccaca tccagtggct caagtggctg 26700
gggttcgagt tcgagccagc agcaccattc ggtatcaatg acgaaccctt tcacagattt 26760
tataggagca tgtgatgtgc ggaccagccg cagttccaat cgccatgctg ggtatcagcg 26820
ctgtggggcac tgccgcttcg attagcgcgc agtcgcagca gcagaaggca caggatgcct 26880
tcaaccagcg ccagtatgaa aacgacatga ccgctaccg aggcaacctc gccaacatcg 26940
aggtgcaacg gaaccaggcg cgggaagatg cagtagcgca gaagcagcag aacgacatgg 27000
caggaaggcg cgcaacagca accgccacga ctgccgcagg tgaggcgggt gtctcaggcg 27060
cctcggtgga tgcactgctg cgggacctcg ctggccaggc tgcctacgac aacaccaacg 27120
tggatgagaa ctatctgcgc caggacaggg ctctgaacgc ccagcgtgag aacgccttca 27180
acagcactgc aagccagatc aaccagcttc gccctcgat gtccccggac tatctcggcg 27240
ctggtctccg cattggccag gctgctgcgg gtgcttacag ccagtaccag cagaacctcg 27300
actacgagcg gaaccagagc gtcccacgcc gaggagcata aatggcacga gttcagacag 27360
actatcgaac ccgaggtaca gggcttcagg acatctcgtc cccaatgctt cagccgcagc 27420
aggcaggggt agacaatggt gccgctgagt ctgccgcacg gctggccag gcggtggggg 27480
ctggtgacct gtctccgctg gtaaccgcca agcgatacca ggatgtggag gaggcggaga 27540
aggcacgggc ctacgccaac tccctcaccg tggaggagct tgggaagcag atcaaggatg 27600
ggaccctcat ggcgtcccat tcgcctgtct tcagggcaac ggtcgaacac atccacggtg 27660
agaacacgct caacacgttc gagcgggaca cactctcgaa gctcaccgcg ggggaactga 27720
agttcgacac cccgcaggcc atggatgagt acctcacgaa gtaccgcaac gaggcctca 27780
cgggatccag caagttcacc actgcgggct tcgataaggg ctacggcacg ttccgtgagc 27840
gagccatcgc ggttaacgtg aagggtggccg atgaagaggc cgtgaagcgc ggcagccagg 27900
aagcctcggg caacctcggc aacctgacct tgcaagtcac cgaccgatg tacaaggggtg 27960
acgctgcgca ggccatcgtg gaccgctacc agcttcttcg gaagacctct ctgctgcgtg 28020
acgatgccgc gaaggaagct ctctcgggtg tcgctgcgaa ccttgagcc tccggcaaca 28080

ES 2 592 352 B2

aggccctcct gggttctctg ctggacaaga agttggacag cggtgtctcc gtcaaggccg 28140
 ctctggggga cctgaaggcc atccagttca cgcaacacgc tgaacgtgag tatgaccagg 28200
 cgcagcacca acggattgac gttgagattc gtccgttcgt ggagcaggcc gacaagggtg 28260
 aactgaagcg ggatgccttc gacaagtggg gggccgcgaa tgagaagtac gtcaccaccc 28320
 ccacatcca cgccatcatc aagggaacg aagcggccat cgagcggcaa cagaagctca 28380
 tcgctcagaa cgccctcctg gcccaggccg aagcaacaca ggctcaggca acgcaggcag 28440
 cccgcacggc catcgaccag ggcaacctgg cgttcctccc gcagcagaag gtgatgacac 28500
 ctcaagggga acagaagaac ttcgatacga aggccgctgc tgtcccgtac atccaggaac 28560
 ggattgcacg ggagaacatg ccgttcggta agcaggtgga gttctggtcc accaacgggg 28620
 tggagaatcc cgagtgggag aaacagatca aggggtggcct ctcgaaacctc gcctccgagg 28680
 gctggacctt cgatggcaag accattggcc aactgaacaa ccagggccag gccgcaatcg 28740
 acaccttcat ccgcatcaac agcaccaacc ccggctacgc tgagaagtgt gtgggcgggtg 28800
 acaaggacta caagaagctc tccgacatcc agttcctcat ggagaagggc ggcttcccga 28860
 acgtcaacga tgctgcggca ctcatcaacc agattgaccg cgctgacatc aaggcatcgg 28920
 actacggttc gatgaagcag aaggtggcct cctcggtgga cgatgtggtg aaccagcatt 28980
 ggtactcagg cgccaccagt tggttcagtg gcctcttcgg caatgaccag gtgaacctca 29040
 ccgctgtctc cgctgacatt cgccgcaggg ctgaactcct ggtgatgtct ggccagggtc 29100
 ccgatgcgaa cgccgcgggtg aaggccacgg tgaataacct ggcaacccc gcagtcacca 29160
 cgcggatcaa caatacgctc tacttcaaca aggaccttcc ggtggtcccg aagggcgagg 29220
 acaccgggca gtggatgggg cggttcatca aggacgttcc ccagcagatc gccaaggcga 29280
 acaacctcgg tgatgctcgc ctggagccga accagtacgg aggcttcacg gcctggactg 29340
 gtggtgtccc gatgacggac ggcaccggta aggtggtcac ctacacgcgg gatgacatct 29400
 cgaagtgggt ggacaacacc atcaccgctg accgccacaa ggccgctgct gatgccaact 29460
 tcaagagcta ccaggaccgc ctctggaagg aactccgcga tgaaaagcag aaggaccctt 29520
 acgtgatgga gcggatgttc gacgcgactg ccaacggcat gtggtggaac cgccaactct 29580
 acagccgcga aggctatgag caggttctcc gtgacggcaa cacaggcaag ccgctcaacg 29640
 aactgttcca aatctacaaa gacaaaacgct tcaaggataa gtaatggccg catcgatcgc 29700
 tctgggggat gtccagagga ttacctccga gacggagaag aagtacgggc tccctgaagg 29760
 gacgctgttc aagatcggaa acatcgagtc ctctgttcag gatggccagg tgagcccga 29820
 gggagccaag ggctacttcc agttcaccga tgacaccgca aggcgctacg gcctggatga 29880

ES 2 592 352 B2

tccgttcgac ttcgagaagt catccgatgc cgcgggccgg tacatgagag acaacctggc 29940
caagtaccag ggcaacatgg acctgtccct cgcggactac aacgggtggc cgaaggccgc 30000
taaggctctc gccaaagggga agccctgggc agagacttcg gactacctgg cgaagttcta 30060
cggcaacaag tccgagccgc tctcgcagca attcaccacg ggctccgaag tcctcttac 30120
tgcctcccc tccgcctccc agctatatcg agacgcacgg cagcaggagt ctgagtatgg 30180
aggggttggc aataacattc tcaatctgcc tcgtgctatt ggctgggct ttcaagtcga 30240
taattcggtc tacaatttct ggcaggagcg aggactctcc agcgtagacc ccgacttccg 30300
ctgggacgat gacttctcga agcagatgct tgatggggtc cctgagcgtc attggggata 30360
cctgctgcaa tccaagtcca agcaggaagc ggaactccgc cgtgcccgtc tgttgacac 30420
gatggagaag gaagtccaac tctccaagat ggggtgtggc ggttccgggt gtcgcctggc 30480
gggcaacctg gtggatctac ctacgctcat ctcgttcgtc cctggggttcg gtggtgcggg 30540
cctcctcacg accacttcac gcatcgccaa tgctgcccgc atggctgccc tcggtgctgc 30600
tacgaacgta gccttcgatg ctgcaacgat gcagttccgc cccacggcca ccccgatga 30660
cctctacatc tccgctgcca tgggcctggg tctcggtgct gctggtggcc tctcggtgaa 30720
tcctgcccgc ctggccgccc aacgtctcgc tgctgagaac cgcgcctcg gtgagttcgg 30780
tctccgtgaa tccggcaagg cgcagatcaa ggagcttggc gacaacggct tcaacttcgg 30840
tgctggccgt gaggagttcg cacggcgcac ccaaggcaag cccgatgagc cgggtggagat 30900
caagtacca ggccgtgcaa tcgtgctgcc gcggggcgat ggtgagcctc cgaagatctt 30960
ccaccctggc gatccccctg aggttcgcaa gccagggaac atcaacgagc cgcttctctc 31020
cgaagctcct ccagctactc ctccggccac cggcccgggt gctcccaagg ctctccagc 31080
agaggcacct aagggcaagg gctggacctc cgagtgggac actcccggtt acgcctcagg 31140
cgggtggcaac gagcaactcc tcgtgctgcc tccggcaaag cgtgtgagtc agttggctga 31200
gtatgtccgc cagttctcga agaacgggga catcgtgagg gtgatggacc ggggtgctgaa 31260
gggcatcgac ctccgcaagt tggagtcaa ggtcatcgag aagggtcagc gtttcggcca 31320
gcgtgacatg gacaacgaaa tcctcggcgc gaagggcgct gtaggtactc cgcgaggttc 31380
cattggtgac aacatcatga tgttctcgc gggccactcg tgggagatgc ctggtgtcaa 31440
cccgatgcac acgggtgggtc tcaacgagga gacgttcggt cacgaactcg ttcacgttgc 31500
caccgtctac aagctccgcg gtgttgagcc tggcatgggt gtacgcatca cggaccctgt 31560
tgtgcgcagg gctgctgatg acctggcgaa cctccacggg gacatcctcg accacgccag 31620
gcaaaccttc ggggccaact ggaaaggatga actccagga cgcctcgggt ccaacctgga 31680

ES 2 592 352 B2

gaacgagaag gaactcatcg cctatggtct gacgaaccgg aacttccagg agtggctcaa 31740
 gacggtgccc gttgaggggtg gccctgagaa gaacctgtgg gaccgctteg tgcattccct 31800
 gcgcaagctc ctgggcatcg gcccgaagga acacaacgcc ttcacccggc tgatcgaact 31860
 gtccgcccct ctcacgaaga agggcgactt cgttgagcgc atcaagacga acccagagtt 31920
 ggaagcaacg ggtgggtttg ttgacgctga caccgtgaag gccgcgaacg aagctgacct 31980
 ggctccggtc tatggctggg gtctcggcct ggagaacagg ctgggtgggtg ctaaggctcc 32040
 ccccgtggtt cgtcagttgg cctcgaagct gttcggcacc accatcggct acaaggacaa 32100
 cgcggtggtg aagctcaacg cttgggacga caccacgaag tgggctgact cctgggcccgt 32160
 ggagatgcmc aagggcacct atccgcagtt cgaggagtgg ctcaagggtc ctcagtacaa 32220
 gtggcacgag aagggcaagg cgttcgatga cttcggcgc cagggtgtcca actacatccg 32280
 cggcttcgag ggtgattacc caccgcaggt ggtcaaggct ggcgagcaca tgcgcaagac 32340
 cctggccaac gtggtggact acatcaacag cccactgaag gacgaaggcc gagccaagat 32400
 tggcttcacc gagacggaca tccgagacct ggagaccggc aaggtggagc gggtagggac 32460
 gctggagaag aacccgaact acctcccgcg caagcacgac atcaacaagt ggaactcgat 32520
 ggtctccaac ttcggcaggg atgccgtgga aggggtgggtg gcacgggcct accaggctgg 32580
 ccgtgagggg atctctgacg aggccgctgc gaagtgggcc aagtggtatg tccgcacggc 32640
 ggaggaggct cacgccaacc gcactcagga catgctcgat gacctcctga agggcaccga 32700
 tagggacgcc ctgaagaact ccctgatgct caacggaggc tactccgaag cggaggctct 32760
 gcggatcatg gacgacatga ttcttgtag ggccaccgat gcaggccgca cgatggccag 32820
 cctgaagcac cgcaacacca tccgggaaac gcacaccgag cggtggacca cgaaggacgg 32880
 gacgaagatg gaggtgagtc tgaacgactt catccactcg aacgccttcg acgtggttga 32940
 gccgtacctc cgcaggaccg cgggcagtgt ggcgctggcc aagcatctcg acatctacaa 33000
 gatggggggac attgaccgcg ttatcgctga ggccaccggc aacaagcttg ggcaggagtt 33060
 caagtccacc cccgatattc agaagctccg caaggacctg aagttcgcct tcgagcgagt 33120
 ccaagggtt cccctggagg agttctccac gctgaacaag agcctggaga tgtggcgcaa 33180
 cttcaacggt atccgcctga tgggtggagc agtctggaac caggccaccg aactcagcca 33240
 gatcatcggc acgatggggg ggaagactac gcttgccgct ctccctgagc ttcgagcact 33300
 gcgccgtgac atcgccaccg gcaaggcccc gcatgacatc ctggaccacc tggagaacac 33360
 cattggtggc gtagggtccg agtacgtggc ccgcctggag ttcaaggctg gtgacgattg 33420
 ggtccgcaac aagggggaca ccaggttcaa ccgctggctg gactctgctg acaccggcac 33480

ES 2 592 352 B2

caggaagctg gcgaaaggtg tgctggatta caccggcatg actccgctga tgattcagca 33540
 gaagcgtgtc cacgcgattg cgttggtgaa ccacttcgtc aacgtggcga acggcaaggc 33600
 tgctgggttc ctcacgaagg atcgcctggc ctggatgggt atgagcgcgg atgacttcgg 33660
 caaggtcctg tctggcatca agcagttcac caagcccgt gatggtgagt tctcgaagac 33720
 cttcaagatg gacttcgcgg gctggcagaa ggcggaccgg gagagctact cgaagttcat 33780
 gacggccatc caccgtgaat cccgcagggt catccaggag aacgacctgg gctccatgat 33840
 cccgctcatg ggcaccacgc tgggcaagac ggtcttcag ttcatgaact tctcgaatga 33900
 cggctggaac aagtcgctga tgttcgcat gaaccaccgc gactgggtcca cactgtccac 33960
 cgtacttcac ggctcactct tcgctccat cgcctacatg gggcggacgc tgctgggtgc 34020
 cgggtggcatg gaagcggaca agcgcagca gtatctcgac aagcggatgt ccggtggcca 34080
 gatcgttacc aacagcttcg ggcgcatctc tcaggcgtcc gtgctgcca acatgttcga 34140
 caccatctca ccgtatccgc tgttcagcgg aatgcggacc acgagtgacc tctccagtct 34200
 ggcacgaac ccgacctacc aggcacatca cggactcatc tcgatgaaga agctgattcg 34260
 gaatggtgtg tcggatgagt accaaaccac ggagaaggac atccgcacct ggggcaggct 34320
 actgcctctc aacaacgtct tcccggtgac cacgttcctg aaccacctgg cgaacgatta 34380
 tccgcacggc gaaaagcaac aataaacggg tagccctcgg cacgaccggg ggcaacctct 34440
 tttggagaat agatagtgcc ttacagttac gttcttctct cggggaacgg ctctgcgacc 34500
 aacttcggct tcagcttcgg ttatctcagc aagttccaca tcggagtga ggtgaacgg 34560
 gtagtcacca ccttcacctg ggtgacggac ttcaccattg gcatcacacc ggccccggcc 34620
 aacggtgcag tcatcgaggt tcgacggacg actccgttga atcaaccgc cgtggactgg 34680
 tcagatggct ccacgctcac cgaagcggac atggacctca aactcgggt ctctctgtac 34740
 actgctcagg aggccgctga tgggtgtgca gcatccatca ctcagaactc cctggggcag 34800
 tgggacggcc agaaccgcag ggccgtcaac ttcgcagacc cggttgatcc acaagtactt 34860
 cgaggacgtg tacacttcga ggacgtgtac acacctcagt tggacgcgaa ggtcaccgaa 34920
 gccaccaacc aggccaaaca cgcggcctcc agcgcgccca ctgcgcaggg ctatgctctc 34980
 gctgcggaca actccgcgga cctcgctgcy gccctcctgg cgaccttcaa aggccagtac 35040
 ctgggtgccc ttgcatctaa ccccacgctg gacggtaacg gccagccggg gactgctggt 35100
 gacctctact tcagcaccac cgataacctg atgaaggtgt acaccgggtc cgcgtggatc 35160
 aacgctgggt caaccgtcca gtccaccatc aaacgtcctg tcacaccctg cgtggcaacc 35220
 gcaggccaga ccgtgttccc ggtgtctggt gggtagcagc cccatacat tctcgtgttt 35280

ES 2 592 352 B2

gtgaatgggg ttgaggtggc ttctccagat gtggacgtga ctaacggcag caccatcgta 35340
 ttctccagcg gcctgactgc tggagataaa gtggattacg cagcgtttgg tgcgttccag 35400
 gtggccaacc cggttatcga tgggaccagc gccgcagact tcatcaagac acgcaatgcc 35460
 cgtgtagtta cctctattgc cgacctgaag gccctcaata agaacaccta caacttcggt 35520
 ctcgtcactg gcttctatgc ttcaggggat ggtggcggcg gtttcttctc tcaggttccc 35580
 acgatgcccc ccaacgggat cgttcaggtc gggaatgacg gaggcatctg gcagttgggt 35640
 gttgatcggg attatgtttc cgcgaaacaa ctcggtgcga gactggacgg ttcaacggat 35700
 gactcctctc tcctgaacaa cgccaagtcc actctcgatg ctcttggtaa gaggctgtat 35760
 atcccgtctg gggtttgag aatctcaaca gcaatcactc caccaaaggc tgggtgtggtt 35820
 ggggatagtc ctcaagcgtc catcatccag tgtaacaact gctctgcatt cctattccca 35880
 gcaaattttg ggctctctcg tccggcttgt gtcattgaga agttggggat tcagtcctac 35940
 agcaacacct gcgatgggct atacgctttc cgtgccctg gggtggcatc tggagcatcg 36000
 cccgtctaca acagcggcct aactgttagg gatgttgaga ttggtacggg cggacgattc 36060
 ggtggcgggt tctcactgaa ggacttcttc cgagtgaacg tagagaacat tggcatgact 36120
 gatgtgagtt ccgccgtatt gctcaccggg tcagttgtgc aggcagtatt ccgaaatgtc 36180
 accgcaaacg gtgataacgc accaactggt cttaaccggg atggtttcca aacagccgca 36240
 gcctcctatt ccagcggtac gctaggtcct gaacacatta gtacgtggga ttgcagcttc 36300
 attcgctata cacgcggtgt tcaacacgat gctgggctca tggctctcgtt caacaatacg 36360
 gacctggaaa ctttcacaca cggcttctat ctctcgcagc cctgcactgt gcgtggtggt 36420
 attagcggcc cggctccggc agcttcaggg actgctgcgt ggattgggct tttcaaagct 36480
 atttctgatt ttgacgtagc caacggcact ctgatcgatg accttgagat caacacgcta 36540
 aacaccccag gaactccagc ctcttcgtat ggggttctca ttggcaacaa tgtgaataag 36600
 tgcattggta ctacaatccg tagtcccagg attcgaggta aactagttc aatggtcggt 36660
 gggattgtcg ctaatctagc tggaggtgac atcgttatcg aggatgcat catcaacggc 36720
 agtgtgggta ctggaactac ggtgtctgtg aacaatgctt cctatgcaag ggttgtgggc 36780
 aatcgaagcg ccaccgggtg gactgtaa at ggttccctgt caatcacaga taacgggtgtt 36840
 ggttccattg gtgatgttcg tggaaatgag tttgccacca ttaccaacac cctcaatgcc 36900
 tattccggta catggacgcc tggaaacaatt cctaacggaa caccagcagc aacaacgggtg 36960
 gccgtccctg gcgcagtggt tggtgacaaa gtagtggtcg gcctttccag cctgaccgga 37020
 tcggccaact gcatcatttc cggctatgtg tcttccaccg gaaatgtggc tgtcctggtg 37080

ES 2 592 352 B2

tataacgtct	ctggtgcatc	acagacgatt	ccctccggga	ctctccaggt	aacagtcctc	37140
aagtcgtaat	caagatgtcc	ctctaggttt	cccctggagg	gacttcctct	ttcaaggaaa	37200
ggtatgagca	atgcgctcaa	cgtaagtaag	ctggccacac	tcacggcaac	agaaatcaaa	37260
gcataaccaa	acaagaagta	atcatgccga	acatcgacaa	agacgtacag	aaggatgctc	37320
tgaaggaggc	cctcacggag	tggctggaca	agcagttcgc	cacattcggg	aagtgggcct	37380
tgcggtccat	cctggccgct	gccttctcag	tcctcatgta	cctgtacctg	acttctcaag	37440
gctggcaccg	ctgatatgac	cgaaaagacc	accgcttccg	aaaaggagct	tggcgaagtc	37500
cacaacgaga	tggccgcatg	gtgcctggac	atcctcaagg	gaatcccggg	caccgacaaa	37560
gacggtaacc	tcgtgattga	ggatgggaga	gttgctcgtc	tcctccggc	tcctgcctac	37620
ctcaacgtca	ttcgccagtt	cctcaaggac	aacgacatcc	aggctgaacc	cgccaagggc	37680
tcctcgatgg	gtgacctctc	ggacctcccg	gtgttcgagg	atgacaacgt	tgtgcctctc	37740
aagtctcaat	cgaaataaac	gcgattagag	gccctcagag	cgattttaag	cctccaaggt	37800
agggtagcct	atccggggcac	ctgatcgcgt	cctgtggggc	catctcgcaa	gccaagaatg	37860
aaaataacaa	ctgccgaggt	ttcggcaaaa	cgctgcccga	agtgcggcga	agaaaaacac	37920
ctctccgagt	tacacgcgaa	tcacaccaag	agggacggcc	acaacaccat	ctgcaagctc	37980
tgcatgaagc	aggtggcacg	agactggcgc	aacacacctc	cgggccgctc	caagcagatg	38040
tggacgacct	caaagaaacg	tgcggaggag	aggggctggg	agttcaacct	aacccccgag	38100
tggattcagg	aacgcctcga	agctggcgtg	tgtgaggcca	ccgggattcc	cttggagatg	38160
tccgcggagg	agttcaaagg	ctacggccac	ttccgtccat	ggacccccctc	actcgaccga	38220
gacgatccaa	cgaaagggta	cacaaccgac	aacgtgaagg	ttgtgtgctg	gatgtacaac	38280
caggccaaag	gcgtaagcat	gcacgaagcc	gtcctaagaa	tggcccgtgc	cctcgtagcg	38340
aatgacaact	aaacaacacc	cagcacagaa	agactttcgc	gtctttatgt	tcatgggtgtg	38400
gcgccacctc	aatctccccg	aaccacaccc	agtccaatat	gacatcgccc	actacttgca	38460
acacggacca	cgccgttcag	tcatcgaagc	gttccgtggt	gtaggtaagt	cctggatcac	38520
ctccgcctta	gtttgctggg	ttctgtggaa	cgaccacacag	aagaaaatcc	tggatcatctc	38580
cgctcgaag	gaacgagcag	atgccttctc	taccttcgtg	aagcggctca	tcaacgagct	38640
tcccgttctc	cagcaactga	agcctaaggc	ggaccagcga	gactcgatga	tttccttcga	38700
tgttggtccc	gcaactcctg	accactcccc	ctcggtaacg	tccggttgga	tcaacgggca	38760
gatcactggg	tctcgtgccg	acatcatcat	cgctgatgac	gttgaggttc	ccaataactc	38820
cgccacgcag	atgatgcgcg	acaagctctc	tgaggcggtg	aaggaaatgg	atgcggatcat	38880

ES 2 592 352 B2

caaaccgctc	cagacctccc	gcatcatcta	tctgggcacg	cctcagacgg	agatgtcgct	38940
gtacaacgct	ctccctgagc	gtggatacga	agccccgcatc	tggccagegc	tgtaccccga	39000
gcttcacctc	gtggccaact	acaagggccg	cctgggtcca	ttcatcacgc	gggctctgga	39060
ggccgataag	agtctcgtag	gtgctcctac	ggaccccagg	cggttcaacg	agactgacct	39120
gttggagcgt	aaggcgtcct	atggacgtgc	tggcttcgct	ctccagttca	tgctcgacac	39180
gagcctcagc	gatggtgacc	gctacccgct	gaagatcgcg	gacctcatcg	tccagaacct	39240
caacccccag	atggcccattg	tgaagatcgc	ctgggctgct	gcacctgaag	tttgcacaa	39300
cgatctcccc	gcgggtggccc	tcacgggtga	ccgctactac	cggcccatgt	ggacggacca	39360
gcagatgtcc	gagtacacgg	gctgtgtcat	ggccatcgac	ccctcgggcc	gtggtgctga	39420
cgagaccggc	tacgccatca	tcaagattct	cgcaggcaac	ctcttcctgg	tggccgcggg	39480
tggactctcc	ggtggctact	cagatgaaac	tctggagacc	ctggcgagac	tcgctaagac	39540
ccaccaggtg	aaccacgtca	tcacgcgaggc	caacttcggt	gatggcatgt	acaccaagct	39600
catcactcca	ttcttcggga	aggtgggaca	caaggtcctg	gtggaggagg	tgaagcactc	39660
cacgcagaag	gaagcccgta	tcacgcgacac	ccttgagcct	gtgctctcga	ctcatcgtct	39720
catcgttgac	cagaagggtca	tcgagaacga	cttcaggacg	gcagagcagg	acatcaagta	39780
cagcctgttc	taccagatga	cccggatcac	ccgagacaag	ggtgccctgg	ctcatgatga	39840
ccgtctcgat	gcaactggcca	tcgctgttgc	ctactggacg	gagcatatgt	ccagggacaa	39900
cgataaggcc	gctgctgcga	tcaaggacaa	ggcgctgaag	gatgaactga	agaagttcgt	39960
tcacgggtgc	cttggggagca	aacccaagcg	aacctcgtgg	atgtcctcga	actcaggctc	40020
caggtgacat	tcgggtgccac	aataggagaa	ccctacgtgg	gttcttcggg	ggcttcatcc	40080
gtagctgata	tggatgccac	acaccgtgtg	gactcgggaa	acctcagtgt	gtggtgatgt	40140
agtcgctgca	ttctaggaca	cccgttagtc	tcctattcc	tcactctat	gggggtagg	40200
ggggctaact	taggtgttcc	tagtgttgat	gatatagcca	ctgagatgtc	aacctcagtg	40260
tcccttaagt	tgtctcttag	ggttgcatta	aggagacatc	atcaccatca	tctcccataa	40320
ggtcatcctc	cccatgttca	ctctactagt	cctcctctca	ggtgtccccg	tgggtttcct	40380
tctgggtctc	gttctgtatg	gctgttggga	caactgatgg	tgtccctgaa	gtgccccctt	40440
agggggaaaa	cttccgacgc	aaaaatttga	aagccccact	cgaaattcga	cgcgggcaga	40500
ttccccccgt	gccccccgc	ggccccggcc	tcgtggcccc	tgccgacca	cctccgggca	40560
ccctccaggc	tgtacgtcct	gctgactcc				40589



②¹ N.º solicitud: 201530730

②² Fecha de presentación de la solicitud: 26.05.2015

③² Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤¹ Int. Cl.: **C12N7/00** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤ ⁶ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	JP 2007252351 A (UNIV HIROSHIMA) 04.10.2007, (resumen) EPODOC [en línea, recuperado el 10.02.2016]. Recuperado de EPOQUENET.	1-31
A	JP 2005278513 A (SANIN KENSETSU KOGYO KK) 13.10.2005, (resumen) EPODOC [en línea, recuperado el 10.02.2016]. Recuperado de EPOQUENET.	1-31
A	KR 20120055801 A (UNIV DONG A RES FOUNDATION) 01.06.2012, (resumen) EPODOC [en línea, recuperado el 10.02.2016]. Recuperado de EPOQUENET.	1-31
A	BAE JU YOUNG et al. Biocontrol Potential of a Lytic Bacteriophage PE204 against Bacterial Wilt of Tomato. <i>Journal of Microbiology and Biotechnology</i> . 2012 VOL: 22 No: 12 Págs: 1613-1620.	1-31

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
10.02.2016

Examinador
I. Rueda Molíns

Página
1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C12N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, BIOSIS

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 10.02.2016

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-31	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-31	SI
	Reivindicaciones	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	JP 2007252351 A (UNIV HIROSHIMA)	04.10.2007
D02	JP 2005278513 A (SANIN KENSETSU KOGYO KK)	13.10.2005
D03	KR 20120055801 A (UNIV DONG A RES FOUNDATION)	01.06.2012
D04	BAE JU YOUNG et al. Biocontrol Potential of a Lytic Bacteriophage PE204 against Bacterial Wilt of Tomato. <i>Journal of Microbiology and Biotechnology</i> . 2012 VOL: 22 No: 12 Págs: 1613-1620	2012

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

En las reivindicaciones 1-2 de la solicitud de patente se reivindican bacteriófagos con capacidad de lisar células de *Ralstonia solanacearum*.

En las reivindicaciones 3-11 de la solicitud de patente se reivindica una composición que comprende al menos uno de los bacteriófagos citados anteriormente o combinaciones de los mismos.

En las reivindicaciones 12-17, de la solicitud de patente se reivindica el uso de un bacteriófago reivindicado anteriormente o de una composición, de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores para el control de *R. solanacearum* en agua de cursos naturales, corrientes de agua canalizadas, reservorios naturales de agua, reservorios artificiales de agua, agua de riego y reservorios de agua de riego, que va a ser utilizada para el riego de cultivos.

En las reivindicaciones 18-31 de la solicitud de patente se reivindica un procedimiento para prevenir o tratar la marchitez provocada por *R. solanacearum* en una planta.

Los documentos D01, D02, D03 y D04 divulgan diferentes bacteriófagos con capacidad de lisar células de *Ralstonia solanacearum*. En ninguno de los documentos citados se ha encontrado un bacteriófago que presente las mismas características que los bacteriófagos reivindicados en la solicitud de patente. Las características que presentan los bacteriófagos reivindicados en la solicitud de patente son muy importantes para el uso reivindicado. Por tanto, las reivindicaciones 1-31 de la solicitud de patente presentan novedad y actividad inventiva según lo establecido en los artículos 6 y 8 de la LP11/86.