(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 619 407**

(51) Int. CI.:

C12N 15/85 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C12P 21/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.10.2012 PCT/FR2012/052496**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **02.05.2013 WO2013061010**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.10.2012 E 12794398 (3)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.12.2016 EP 2771470**

(54) Título: **Unidades de transcripción y su utilización en vectores de expresión**

(30) Prioridad:

28.10.2011 FR 1159864

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.06.2017

(73) Titular/es:

LABORATOIRE FRANÇAIS DU FRACTIONNEMENT ET DES BIOTECHNOLOGIES (100.0%)
3, avenue des Tropiques BP 305
91958 Courtaboeuf Cedex, FR

(72) Inventor/es:

FONTAYNE, ALEXANDRE y
COUTARD, FRANÇOIS

(74) Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

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

DESCRIPCIÓN

Unidades de transcripción y su utilización en vectores de expresión

La presente invención se refiere a nuevas unidades de transcripción susceptibles de ser utilizadas en vectores de expresión.

En la actualidad, la expresión de proteínas recombinantes es siempre uno de los métodos principales para la producción de las proteínas terapéuticas, tales como unos anticuerpos farmacológicos.

Los ácidos nucleicos que codifican para las proteínas recombinantes se introducen generalmente en un vector de expresión que contiene unos elementos génicos que permiten la transcripción y la traducción de estas moléculas de interés.

Uno de los objetivos de la invención es proporcionar una unidad de transcripción que permite producir una proteína recombinante cuya ganancia de productividad no está relacionada con un anticuerpo de diana antigénica particular y por lo tanto con una proteína recombinante dada, ni relacionada con el medio de cultivo.

Uno de los objetivos de la invención es poner a disposición una unidad de transcripción universal que permita proporcionar una mejor capacidad de transcripción y de traducción de una proteína de interés con respecto a los vectores de expresión tradicionales para las células de mamíferos tales como la línea celular de rata YB2/0 y la emparentada, o la línea celular CHO y las emparentadas.

Uno de los otros objetivos de la invención es proporcionar una unidad de transcripción que permita limitar el tamaño del vector de expresión, a fin de limitar los problemas de clonación, de eficacia de transfección en las líneas de expresión o también de interferencia entre el vector de expresión y el genoma de la línea receptora que puede conducir a una inestabilidad genética y a la extinción del gen de interés.

Finalmente, otro de los objetivos es proporcionar una unidad de transcripción desprovista de los promotores virales, a fin de limitar los riesgos sanitarios potenciales.

La presente invención se refiere a unidades de transcripción para construir los vectores de expresión.

La invención se ilustra mediante una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) - el potenciador del virus hCMVie (E2), teniendo dicho potenciador la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o

- un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y

(ii) - la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de la ciclina (CDK9), teniendo dicha región promotora la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o

- un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora de la transcripción.

Según un aspecto general, la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) - el potenciador del virus hCMVie (E2), teniendo dicho potenciador la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, y

(ii) - la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de la ciclina (CDK9), teniendo dicha región promotora la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2.

Se entiende por “**elementos reguladores**” en el sentido de la presente invención, unos elementos génicos que no codifican que permiten controlar la transcripción y/o la traducción de un ácido nucleico que codifica para una proteína de interés.

Se entiende por “**unidad de transcripción”** un polinucleótido que contiene los elementos reguladores necesarios para la transcripción de un ácido nucleico de interés en ARN. Una ARN polimerasa, que permite sintetizar un ARNm a partir de un gen de interés unido a dicha unidad de transcripción, así como unos factores de transcripción activadores o inhibidores que modularán en + o en - la transcripción en ARNm, pueden fijarse sobre tal unidad de transcripción.

Se entiende por “**región promotora”**, una región de ADN que contiene una secuencia de ADN particular que permite inhibir la transcripción de un gen de interés particular.

En el sentido de la presente invención, los términos “región promotora” y “promotor” pueden ser sustituidos el uno por el otro.

La región promotora contiene la zona del ADN sobre la cual se fija inicialmente la ARN polimerasa, antes de iniciar la síntesis del ARN.

Un promotor está en general cerca (de una veintena a un centenar de nucleótidos) del ácido nucleico de interés a controlar y está situado secuencia arriba del sitio de inicio de la transcripción de un gen. La presencia de un promotor es esencial para la transcripción de un gen particular.

El promotor del gen CDK9 representado por la secuencia SEC ID NO: 2 es un promotor rico en GC y desprovisto de TATA box.

Un “ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID: NO 2 y que posee esencialmente una actividad promotora” contenido en una unidad de transcripción según la presente divulgación, es un ácido nucleotídico que posee esencialmente la misma capacidad para iniciar la transcripción de gen que la de la región promotora del gen CDK9, representada por la secuencia SEC ID NO: 2.

La capacidad de la región promotora del gen CDK9 para iniciar la transcripción de un gen se puede determinar según el método descrito por Liu y *al*. (Gene 252, 51-59 (2000)).

Se entiende por “**potenciador**”, un segmento de ADN que puede fijar unas proteínas como los factores de transcripción para estimular la transcripción de un gen. Un potenciador no está necesariamente cerca del gen de interés a controlar, y puede estar situado en 5' o en 3', o incluso en el centro del gen a controlar o en un intrón.

La presencia de un potenciador en un vector de expresión permite aumentar el nivel de transcripción de un gen.

Un “ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID: NO 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción” es un ácido nucleotídico que posee esencialmente la misma capacidad para estimular la transcripción de gen que el del potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia SEC ID NO: 1, designado a continuación también E2.

Las propiedades de activación de la transcripción de un gen pueden ser determinadas por la utilización de genes indicadores como la luciferasa.

Varios potenciadores pueden coexistir en una unidad de transcripción según la presente invención; esto permite estimular más la transcripción de un gen.

Una unidad de transcripción según la presente divulgación puede comprender:

- el potenciador del virus hCMVie, teniendo dicho potenciador la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1 (E2), o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y

- al menos otro potenciador seleccionado entre un potenciador SV40 y un potenciador Eμ.

Una unidad de transcripción según la presente invención puede comprender:

- el potenciador del virus hCMVie, teniendo dicho potenciador la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1 (E2), y

- al menos otro potenciador seleccionado entre un potenciador SV40 y un potenciador Eμ.

En lo anterior y en los siguiente, el porcentaje de identidad entre dos secuencias de ácidos nucleicos se puede calcular según la fórmula siguiente:

$$\frac{\text{el número de restos idénticos x 100}}{\text{el número de residuos de la secuencia más corta}}$$

En un modo de realización particular de la invención, el potenciador se sitúa secuencia arriba de la región promotora. Dicho de otra manera, el potenciador está situado en el extremo 5' del ADN de la región promotora, para facilitar la clonación de las secuencias que codifican en el vector de expresión. El potenciador es un elemento génico no posicional.

Una unidad de transcripción según la presente divulgación está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) - el potenciador del virus hCMVie (E2), teniendo dicho potenciador la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o

- un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y

(ii) - la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de la ciclina (CDK9), teniendo dicha región promotora la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o

- un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID: NO 2 y que posee esencialmente una actividad promotora, estando el potenciador situado secuencia arriba de la región promotora.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la presente invención está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) - el potenciador del virus hCMVie (E2), teniendo dicho potenciador la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, y

(ii) - la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de la ciclina (CDK9), teniendo dicha región promotora la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, estando el potenciador situado secuencia arriba de la región promotora.

Una unidad de transcripción según la presente invención puede comprender también un ácido nucleotídico situado secuencia abajo de la región promotora y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción, comprendiendo dicho ácido nucleotídico al menos una de las regiones 5' no traducidas (5' UTR) seleccionada entre las siguientes:

(i) - la región reguladora R del 5' “Repetición terminal larga” (LTR) (RU-5') del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3 (U1), o

- un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3,

(ii) - la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4 (U2), o

- un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4,

(iii) - la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5 (U3), o

- un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5,

Teniendo susodichos ácidos nucleotídicos al menos un 70% de identidad de secuencia con una de las secuencias representadas por las secuencias SEC ID NO: 3, SEC ID NO: 4 o SEC ID NO: 5 y teniendo esencialmente unas propiedades de estabilización de los ARNm y de un facilitador de la traducción.

Las propiedades de estabilización de los ARNm y de un facilitador de la traducción se pueden medir por Fritz *et al.* (Sci. STKE, 5 diciembre de 2000. Vol. 2000, Issue 61, p. p11) y *Ross et al.* (Microbiol Rev. Septiembre de 1995; 59(3):423-50).

La facilitación de la traducción se puede realizar comparando la cantidad de ARNm que permanece constante analizada por q-RT-PCR mostrando al mismo tiempo un aumento del porcentaje de proteína.

La región 5' no traducida en un gen corresponde a la porción del ARN mensajero (ARNm) colocado secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción. Esta región permite la fijación del ribosoma y puede estar implicada en la regulación de la expresión del gen en cuestión.

El sitio de inicio de la traducción es un triplete de nucleótidos que dirige el inicio de la traducción proteica. Este triplete es frecuentemente el triplete ATG.

Los “ácidos nucleotídicos que tienen al menos un 70% de identidad de secuencia con una de las secuencias representadas por las secuencias SEC ID NO: 3, SEC ID NO: 4 o SEC ID NO: 5” contenidos en las unidades de transcripción según la presente invención permiten la fijación de ribosoma y la estabilización de los ARNm.

Susodicho ácido nucleotídico situado secuencia abajo de la región promotora y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción puede comprender una única región 5'UTR seleccionada entre:

(i) - la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3 (U1), o

- un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3,

(ii) - la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4 (U2), o

- un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4,

(iii) - la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5 (U3), o

- un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5.

Se entiende por una región 5'UTR “situada secuencia abajo de la región promotora y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción” una región 5'UTR situada después del extremo 3' del ADN de la región promotora y antes del extremo 5'del ADN del sitio de inicio de la traducción.

El susodicho ácido nucleotídico situado secuencia abajo de la región promotora y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción puede comprender dos regiones 5'UTR.

La presencia de dos o más regiones 5'UTR en una unidad de transcripción según la invención permite acumular o sinergizar los efectos positivos sobre la estabilidad de los ARNm y la eficacia de traducción.

Un susodicho ácido nucleotídico utilizado en una unidad de transcripción según la presente invención puede comprender la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 y la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF), estando dicho ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 6, o siendo un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 6.

Un susodicho ácido nucleotídico utilizado en una unidad de transcripción según la presente invención puede también comprender la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 y la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI), estando dicho ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 7, o siendo un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 7.

Un susodicho ácido nucleotídico utilizado en una unidad de transcripción según la presente invención puede también comprender la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) y la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI), estando dicho ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 8 o siendo un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 8.

Susodicho ácido nucleotídico situado secuencia abajo de la región promotora y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción puede también comprender tres regiones 5'UTR, a saber la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1, la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) y la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI), estando dicho ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 9 o siendo un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 9.

Una unidad de transcripción según la presente divulgación está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID: NO 2 y que posee esencialmente una actividad promotora, y

(iii) la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3,

estando dicha región 5' UTR situada secuencia abajo de la región promotora y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción.

En un modo de realización particular de la invención, una unidad de transcripción según la presente invención está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO:1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, y

(iii) la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3,

estando dicha región 5' UTR situada secuencia abajo de la región promotora y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción.

Las ventajas de los elementos combinados son aportadas con una potencial sinérgica entre la región 5'UTR y los otros elementos en una unidad de transcripción.

En un modo de realización más particular, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 14 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia SEC ID NO: 2, y

(iii) la región 5'UTR du LTR del virus HTLV-1, representada por la secuencia SEC ID NO:3,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 14.

Una unidad de transcripción según la presente divulgación está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID: NO 2 y que posee esencialmente una actividad promotora, y

(iii) la región 5' UTR del gen factor represor NF-κB (NRF) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4,

estando dicha región 5' UTR situada secuencia abajo de la región promotora y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción.

En otro modo de realización particular de la invención, una unidad de transcripción según la presente invención está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, y

(iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4,

estando dicha región 5' UTR situada secuencia abajo de la región promotora y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción.

En un modo de realización más particular, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 15 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia SEC ID NO: 2, y

(iii) la región 5' UTR del gen NRF, representada por la secuencia SEC ID NO: 4,

o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 15.

Una unidad de transcripción según la presente divulgación está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID: NO 2 y que posee esencialmente una actividad promotora, y

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5,

estando dicha región 5’ UTR situada secuencia abajo de la región promotora y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción.

En otro modo de realización particular de la invención, una unidad de transcripción según la presente invención está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO:1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, y

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5,

estando dicha región 5’ UTR situada secuencia abajo de la región promotora y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción.

En un modo de realización más particular, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 16 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia SEC ID NO: 2, y

(iii) la región 5' UTR del gen eIF4GI representada por la secuencia SEC ID NO: 5,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 16.

Una unidad de transcripción según la presente divulgación puede comprender dos regiones 5'UTR. Tal unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3, y

(iv) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4,

estando las regiones 5' UTR situadas secuencia abajo de la región promotora y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción.

En otro modo de realización particular de la invención, una unidad de transcripción según la presente invención puede comprender dos regiones 5'UTR. Tal unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3, y

(iv) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4,

estando las regiones 5' UTR situadas secuencia abajo de la región promotora y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción.

En un modo de realización más particular, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 17 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia SEC ID NO: 2, y

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 6,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 17.

Una unidad de transcripción según la presente divulgación puede comprender dos regiones 5'UTR. Tal unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID: NO 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3, y

(iv) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5,

estando las regiones 5' UTR situadas secuencia abajo de la región promotora y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción.

En otro modo de realización particular de la invención, una unidad de transcripción según la presente invención puede comprender dos regiones 5'UTR. Tal unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO:1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3, y

(iv) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5,

estando las regiones 5’ UTR situadas secuencia abajo de la región promotora y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción.

En un modo de realización más particular, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 18 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia SEC ID NO: 2, y

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 7,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 18.

Una unidad de transcripción según la presente divulgación puede comprender dos regiones 5'UTR. Tal unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID: NO 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4, y

(iv) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5,

estando las regiones 5’ UTR situadas secuencia abajo de la región promotora y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción.

En otro modo de realización particular de la invención, una unidad de transcripción según la presente invención puede comprender dos regiones 5'UTR. Tal unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4, y

(iv) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5,

estando las regiones 5’ UTR situadas secuencia abajo de la región promotora y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción.

En un modo de realización más particular, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 19 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia SEC ID NO: 2, y

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 8,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 19.

Una unidad de transcripción según la presente divulgación puede comprender tres regiones 5'UTR. Tal unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID: NO 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3,

(iv) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4, y

(v) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5,

estando las regiones 5’ UTR situadas secuencia abajo de la región promotora y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción.

En otro modo de realización particular de la invención, una unidad de transcripción según la presente invención puede comprender tres regiones 5'UTR. Tal unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3,

(iv) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4, y

(v) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5,

estando las regiones 5’ UTR situadas secuencia abajo de la región promotora y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción.

En un modo de realización más particular, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 20 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia SEC ID NO: 2, y

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 9,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 20.

Una unidad de transcripción según la presente invención puede comprender también uno o varios intrones situados secuencia abajo de dicha región promotora.

Se entiende por “intrón”, una parte no codificante de un gen. Un intrón está situado frecuentemente entre dos exones. Después de la transcripción, esta parte se escinde del ARN pre-mensajero (empalme de los intrones) para dar el ARN mensajero. La presencia de un intrón heterólogo permite optimizar la expresión de los genes exógenos en una construcción de ADN. En efecto, este último puede contener unos elementos de regulación que pueden estabilizar el ARNm o favorecer su transcripción.

En la construcción de una unidad de transcripción según la presente invención, uno o varios intrones pueden estar situados:

(i) secuencia abajo de la región 5' UTR y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción, y/o

(ii) secuencia abajo del promotor y secuencia arriba de la región 5'UTR, y/o

(iii) después del sitio de inicio de la traducción y en el interior de una secuencia codificante, y/o

(iv) entre el codón stop de la secuencia codificante y la señal de poliadenilación.

Cuando un intrón está situado después del sitio de inicio de la traducción y en el interior de una secuencia codificante, es importante no cambiar el marco de lectura del ARNm durante la traducción y conservar los sitios donantes y aceptores, así como la caja de conexión de la secuencia (UAUAAC) que permite el empalme por el espliceosoma.

Se entiende por “un intrón situado secuencia abajo de dicha región promotora” un intrón situado en 3' del ADN de la región promotora.

Dicho intrón se puede seleccionar entre los siguientes:

- el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 10, tal como la secuencia SEC ID NO: 71.

- el intrón ROSA murino que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 11,

- el intrón 5'-repetición terminal larga (5'-LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 12,

- el intrón quimérico pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 13,

- el intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 53,

- el intrón del gen humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 54.

[0073] El ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 10 se designa en la presente solicitud mediante « EF1α » o « EFss ».

El ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 71 se designa en la presente solicitud mediante “EF1α con exón” o «EF». Este ácido nucleotídico contiene el intrón EF1α de la secuencia SEC ID NO: 10 y una secuencia exónica en región 5'.

Una unidad de transcripción según la presente divulgación puede comprender:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) una región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9), teniendo dicha región promotora la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora, y

(iii) un intrón seleccionado entre:

- el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 10,

- el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 11,

- el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 12,

- el intrón quimérico pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 13,

- el intrón del gen ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 53,

- intrón del gen humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 54,

estando dicho potenciador situado en 5' o en 3' de la unidad de transcripción, o en el interior de la secuencia codificante a nivel de un intrón;

estando dicho intrón situado:

(i) secuencia abajo de la región 5' UTR y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción, o

(ii) secuencia abajo del promotor y secuencia arriba de la región 5'UTR, o

(iii) después del sitio de inicio de la traducción y en el interior de la secuencia codificante, o

(iv) entre el codón stop de la secuencia codificante y la señal de poliadenilación.

Una unidad de transcripción según la presente invención puede comprender:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) una región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9), teniendo dicha región promotora la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, y

(iii) un intrón seleccionado entre:

- el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 10,

- el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 11,

- el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 12,

- el intrón quimérico pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 13,

- el intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 53,

- el intrón del gen humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 54,

estando dicho potenciador situado en 5' o en 3' de la unidad de transcripción, o en el interior de la secuencia codificante a nivel de un intrón;

estando dicho intrón situado:

(i) secuencia abajo de la región 5' UTR y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción, o

(ii) secuencia abajo del promotor y secuencia arriba de la región 5'UTR, o

(iii) después del sitio de inicio de la traducción y en el interior de la secuencia codificante, o

(iv) entre el codón stop de la secuencia codificante y la señal de poliadenilación.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID: NO 2 y que posee esencialmente una actividad promotora, y

(iii) el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 10.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, y

(iii) el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 10.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 21 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, y

(iii) el intrón del gen EF1α representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 21.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID: NO 2 y que posee esencialmente una actividad promotora, y

(iii) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 11.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO:1, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, y

(iii) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 11.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 22 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, y

(iii) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 22.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora, y

(iii) el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 12.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, y

(iii) el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 12.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 23 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, y

(iii) el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12,

o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 23.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID: NO 2 y que posee esencialmente una actividad promotora, y

(iii) el intrón pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 13.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, y

(iii) el intrón pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 13.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 24 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO:1,

(ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, y

(iii) el intrón quimérico pCI-neo representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 24.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID: NO 2 y que posee esencialmente una actividad promotora, y

(iii) el intrón del gen ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 53.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, y

(iii) el intrón del gen ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 53.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 55 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, y

(iii) el intrón del gen ubiquitina representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 55.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID: NO 2 y que posee esencialmente una actividad promotora, y

(iii) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 54.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, y

(iii) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 54.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 56 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, y

(iii) el intrón humano ROSA representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 56.

Una unidad de transcripción según la presente divulgación puede comprender:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) una región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9), teniendo dicha región promotora la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) al menos una de las regiones 5' no traducida (5' UTR) seleccionada entre:

- la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3,

- la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4,

- la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5, y

(iv) al menos un intrón seleccionado entre:

- el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 10,

- el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 11,

- el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 12,

- el intrón quimérico pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 13,

- el intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 53,

- el intrón del gen humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 54,

estando dicho potenciador situado en 5' o en 3' de la unidad de transcripción, entre el promotor y la región 5'UTR o en un intrón;

estando dicha región promotora situada secuencia arriba de la región 5'UTR;

estando dichos intrones situados:

(i) secuencia abajo de la región 5' UTR y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción, y/o

(ii) secuencia abajo del promotor y secuencia arriba de la región 5'UTR, y/o

(iii) después del sitio de inicio de la traducción y en el interior de la secuencia codificante, y/o

(iv) entre el codón stop de la secuencia codificante y la señal de poliadenilación.

Una unidad de transcripción según la presente invención puede comprender:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) una región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9), teniendo dicha región promotora la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) al menos una de las regiones 5' no traducida (5' UTR) seleccionada entre:

- la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3,

- la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4,

- la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5, y

(iv) al menos un intrón seleccionado entre:

- el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 10,

- el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 11,

- intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 12,

- el intrón quimérico pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 13,

- intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 53,

- intrón del gen humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 54,

estando dicho potenciador situado en 5' o en 3' de la unidad de transcripción, entre el promotor y la región 5'UTR o en un intrón;

estando dicha región promotora situada secuencia arriba de la región 5'UTR;

estando dichos intrones situados:

(i) secuencia abajo de la región 5' UTR y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción, y/o

(ii) secuencia abajo del promotor y secuencia arriba de la región 5'UTR, y/o

(iii) después del sitio de inicio de la traducción y en el interior de la secuencia codificante, y/o

(iv) entre el codón stop de la secuencia codificante y la señal de poliadenilación.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3, y

(iv) el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 10.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3, y

(iv) el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 10.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 25 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región R del LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, y

(iv) el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 25.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 11.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 11.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 26 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región R del LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 26.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3, y

(iv) el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 12.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3, y

(iv) el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 12.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 27 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región R del LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, y

(iv) el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 27.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3, y

(iv) intrón quimérico del pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 13.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3, y

(iv) intrón quimérico del pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 13.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 28 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región R del LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, y

(iv) intrón quimérico del pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 28.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3, y

(iv) intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 53.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3, y

(iv) intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 53.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 57 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región R del LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, y

(iv) intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 57.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3, y

(iv) intrón del gen humano ROSA representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 54.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región R del Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3, y

(iv) intrón del gen humano ROSA representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 54.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 64 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región R del LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, y

(iv) intrón del gen humano ROSA representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 64.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la quinasa 9 dependiente de la ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4, y

(iv) el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 10.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO:1,

(ii) la región promotora de la quinasa 9 dependiente de la ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4, y

(iv) el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 10.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 29 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de la ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, y

(iv) el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 29.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 11.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 11.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 30 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO:1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 30.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4, y

(iv) el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 12.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4, y

(iv) el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 12.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 31 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO:1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, y

(iv) el intrón del gen 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12,
o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 31.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4, y

(iv) intrón quimérico del pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 13.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4, y

(iv) intrón quimérico del pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 13.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 32 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, y

(iv) intrón quimérico del pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 32.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4, y

(iv) intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 53.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4, y

(iv) intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 53.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 58 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO:1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, y

(iv) intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 58.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4, y

(iv) intrón del gen humano ROSA representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 54.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4, y

(iv) intrón del gen humano ROSA representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 54.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 65 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO:1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, y

(iv) intrón del gen humano ROSA representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54,
o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 65.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5, y

(iv) el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 10.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO:1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5, y

(iv) el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 10.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 33 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO:1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, y

(iv) el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10,
o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 33.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 11.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 11.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 34 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 34.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5, y

(iv) el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 12.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5, y

(iv) el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 12.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 35 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, y

(iv) el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 35.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5, y

(iv) intrón quimérico del pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 13.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5, y

(iv) intrón quimérico del pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 13.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 36 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, y

(iv) intrón quimérico del pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 36.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5, y

(iv) intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 53.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5, y

(iv) intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 53.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 59 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, y

(iv) intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 59.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5, y

(iv) intrón del gen humano ROSA representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 54.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5, y

(iv) intrón del gen humano ROSA representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 54.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 66 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 5, y

(iv) intrón del gen humano ROSA representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 66.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 6,

(iv) el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 10.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 6,

(iv) el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 10.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 37 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 6, y

(iv) el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 37.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 6, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 11.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 6, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 11.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 38 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 6, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 38.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 6, y

(iv) el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 12.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 6, y

(iv) el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 12.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 39 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 6, y

(iv) el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 39.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 6, y

(iv) el intrón quimérico del pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 13.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 6, y

(iv) el intrón quimérico del pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 13.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 40 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 6, y

(iv) el intrón quimérico del pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 40.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 6, y

(iv) intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 53.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 6, y

(iv) intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 53.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 60 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 6, y

(iv) intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 60.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 6, y

(iv) intrón del gen humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 54.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 6, y

(iv) intrón del gen humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 54.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 67 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 6, y

(iv) intrón del gen humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 67.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 7, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 7, y

(iv) el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 10.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 7, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 7, y

(iv) el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 10.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 41 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 7, y

(iv) el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 41.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 7, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 7, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 11.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 7, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 7, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 11.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 42 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 7, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 42.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 7, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 7, y

(iv) el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 12.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 7, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 7, y

(iv) el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 12.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 43 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de la ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 7, y

(iv) el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 43.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 7, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 7, y

(iv) el intrón quimérico del pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 13.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 7, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 7, y

(iv) el intrón quimérico del pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 13.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 44 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 7, y

(iv) el intrón quimérico del pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 44.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 7, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 7, y

(iv) el intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 53.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de unpolinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 7, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 7, y

(iv) el intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 53.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 61 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 7, y

(iv) el intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 61.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 7, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 7, y

(iv) intrón del gen humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 54.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 7, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 7, y

(iv) intrón del gen humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 54.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 68 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 7, y

(iv) intrón del gen humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 68.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 8, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 8, y

(iv) el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 10.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, y

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 8, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 8, y

(iv) el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 10.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 45 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 8, y

(iv) el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 45.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 8, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 8,

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 11.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 8, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 8,

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 11.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 46 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 8, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 46.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 8, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 8, y

(iv) el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 12.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 8, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 8, y

(iv) el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 12.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 47 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 8, y

(iv) el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 47.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 8, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 8, y

(iv) el intrón quimérico del pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 13.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 8, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 8, y

(iv) el intrón quimérico del pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 13.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 48 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 8, y

(iv) el intrón quimérico del pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 48.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 8, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 8, y

(iv) intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 53.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 8, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 8, y

(iv) intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 53.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 62 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 8, y

(iv) intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 62.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 8, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 8, y

(iv) intrón del gen humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 54.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 8, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 8, y

(iv) intrón del gen humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 54.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 69 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 8, y

(iv) intrón del gen humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 69.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 9, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 9, y

(iv) el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 10.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 9, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 9, y

(iv) el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 10.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 49 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 9, y

(iv) el intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 49.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 9, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 9, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 11.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 9, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 9, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 11.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 50 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 9, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 11,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 50.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 9, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 9, y

(iv) el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 12.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 9, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 9, y

(iv) el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 12.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 51 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 9, y

(iv) el intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 51.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 9, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 9, y

(iv) el intrón quimérico del pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 13.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 9, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 9, y

(iv) el intrón quimérico del pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 13.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 52 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 9, y

(iv) el intrón quimérico del pCI-neo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 52.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 9, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 9, y

(iv) intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 53.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 9, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 9, y

(iv) intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 53.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 63 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 9, y

(iv) intrón del gen de la ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 63.

La presente divulgación describe una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 9, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 9, y

(iv) intrón del gen humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 54.

Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la Quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEC ID NO: 9, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 9, y

(iv) intrón del gen humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 54.

En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEC ID NO: 70 y constituido de:

(i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1,

(ii) la región promotora de la quinasa 9 dependiente de ciclina (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 9, y

(iv) intrón del gen humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 70.

En un modo de realización ventajoso, la presente invención se refiere a una unidad de transcripción, en la que la región promotora es la de CDK9, la región 5' UTR es la del gen eIF4GI (U3) y el intrón es el del gen EF1α, dicha unidad de transcripción que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 33, o una secuencia nucleotídica que presenta al menos un 70% de identidad con la secuencia SEC ID NO: 33 y que permite una producción volúmica de una proteína de interés superior a la obtenida con la combinación del potenciador CMV asociado a la región promotora de CDK9.

Se entiende por una “producción volúmica”, una cantidad de proteína expresada en masa por unidad de volumen (g/l) también denominada título de proteína o concentración de la proteína de interés.

La presente invención se refiere también un vector de expresión que comprende al menos una unidad de transcripción tal como se ha definido anteriormente, y al menos un sitio de clonación que permite la integración de un ácido nucleico que codifica para una proteína de interés.

Dicho ácido nucleico puede ser un ADN genómico, un ADN complementario (ADNc), un ácido nucleico sintético o un ácido nucleico quimérico.

Mediante la expresión “sitio de clonación”, se entiende un segmento corto de ADN que comprende uno o varios sitios de restricción, reconocidos respectivamente por una o varias enzimas de restricción y que permite la inserción de una secuencia nucleotídica de interés.

La presente invención se refiere también un vector de expresión que comprende al menos una unidad de transcripción tal como se ha definido anteriormente y al menos un sitio para la recombinación del sitio específico que permite la integración de un ácido nucleotídico que codifica para una proteína de interés.

Dicho ácido nucleotídico puede ser un ADN genómico o un ADN complementario (ADNc).

Mediante la expresión “sitio para la recombinación del sitio específico”, se entiende un segmento corto de ADN que es reconocido por una recombinasa, tal como el sitio *loxP* que es reconocido por la recombinasa Cre, el sitio *xis* que es reconocido por la integrasa Int, el sitio FRT que es reconocido por la recombinasa FLP.

Un vector de expresión según la presente invención puede comprender además un gen de resistencia eucariota, un gen de resistencia bacteriana, un origen de replicación bacteriana y una unidad dedicada a la amplificación génica.

Un gen de resistencia eucariota puede ser un gen de resistencia a la Geneticina (G418), Blasticidina, Zeocina.

Un gen de resistencia bacteriana puede ser un gen de resistencia a la ampicilina, Kanamicina, Puromicina, Blasticidina, Zeocina.

Un origen de replicación (Ori) bacteriana es una secuencia de ADN particular de origen bacteriano que permite el inicio de la replicación del material genético como un vector de expresión y condicionar en la bacteria el número de copias de vector por bacteria. Tal origen de replicación se puede seleccionar entre Ori-P, Ori-C, Ori-f1, ColE1, pSC101 Ori, p15A Ori, pACYC Ori, SV40 Ori, pMB1 Ori, pUC ori.

Mediante la expresión “una unidad dedicada a la amplificación génica”, se entiende cualquier unidad que permite realizar una amplificación génica y/o un enriquecimiento fuerte en células fuertemente productoras. Lo más frecuentemente, esta unidad permite la expresión de un gen de resistencia a un inhibidor que actúa de manera dependiente de la dosis; mediante el aumento de la dosis del inhibidor, se seleccionan variantes celulares que expresan más fuertemente el gen de resistencia, en particular tras una amplificación génica o integración en un sitio de fuerte expresión. Lo más frecuentemente, los genes próximos de esta unidad son también amplificados genéticamente y/o tienen una expresión aumentada. Tal unidad puede ser el gen dhfr (dihidrofolato reductasa) cuyo inhibidor es el metotrexato o el gen glutamina sintasa cuyo inhibidor es la metionilsulfoximina, un sistema de

amplificación de fragmentos génicos que se basa en la selección de transformantes que resisten al metotrexato (MTX). Necesita la introducción previa de una unidad de transcripción que comprende el ácido nucleico que codifica para la enzima DHFR (dihidrofolato reductasa) en el vector de expresión para la producción de la molécula recombinante de interés (SHITARI *et al*., 1994).

Una proteína recombinante de interés susceptible de ser producida por un vector según la invención es una proteína natural o modificada en su secuencia primaria y seleccionada entre el grupo constituido de las proteínas implicadas en la cascada de la coagulación o una inmunoglobulina, unas enzimas metabólicas, unas citoquinas, quimioquinas, unas hormonas, unos factores de crecimiento o factores del complemento y de cualquier proteína de fusión

La presente invención tiene también como objetivo proporcionar las células hospedantes que comprenden un vector de expresión tal como se describe en la presente invención.

Dichas células hospedantes pueden ser una línea celular de mamífero tal como una línea celular YB2/0 (N°**ATCC**: **CRL-1662**), o una línea celular CHO.

La presente invención se refiere también a la utilización de un vector de expresión descrito anteriormente, para transfectar una célula hospedante.

Otro objetivo de la presente invención es poner a disposición un sistema de expresión que comprende un vector de expresión según la presente invención y una célula hospedante tal como se ha descrito anteriormente, que permite la expresión de una proteína de interés codificada por un ácido nucleotídico.

La presente invención se refiere también a la utilización de un vector de expresión que comprende al menos una unidad de transcripción según la presente invención, en una célula hospedante tal como se ha descrito anteriormente, para producir una proteína codificada por un ácido nucleotídico, estando dicha proteína producida con un título más elevado que en el vector de expresión de referencia que comprende al menos un promotor RSV, un intrón quimérico que proviene del vector pCI-neo, una secuencia de poliadenilación, un gen de resistencia eucariota, un gen de resistencia bacteriana, un origen de replicación bacteriana y una unidad dedicada a la amplificación génica, comprendiendo dicho vector de referencia la misma secuencia nucleotídica.

La presente invención tiene también por objeto un procedimiento de producción *in viltro* de una proteína recombinante de interés que comprende las etapas de:

- introducir el vector de expresión que comprende al menos una unidad de transcripción según la presente invención y una secuencia nucleotídica en forma genómica o de ADNc que codifica para una proteína de interés en una célula hospedante,

- seleccionar e identificar unas células hospedantes obtenidas en la etapa anterior que expresa de manera estable dicha proteína de interés,

- extraer y purificar dicha proteína de interés.

En otro modo de realización particular, el procedimiento de producción según la presente invención comprende las etapas de:

- introducir el vector de expresión que comprende al menos una unidad de transcripción según la presente invención y una secuencia nucleotídica en forma genómica o de ADNc que codifica para una proteína de interés en una célula hospedante por transfección transitoria,

- extraer y purificar dicha proteína de interés.

Tal proteína recombinante puede ser una proteína implicada en la cascada de la coagulación o una inmunoglobulina, unas enzimas metabólicas, unas citoquinas, quimioquinas, unas hormonas, unos factores de crecimiento o factores del complemento y de cualquier proteína de fusión.

Un procedimiento según la presente invención puede comprender además una etapa de selección y de identificación de las células hospedantes obtenidas que expresan de manera estable dicha proteína de interés.

La presente invención se ilustra mediante las figuras y los ejemplos siguientes. No obstante, la presente invención no está limitada en ningún caso a las figuras y ejemplos siguientes.

Figuras

La figura 1 ilustra el vector E2-CDK9-U1U2U3 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie (E2), la región promotora del gen CDK9, la región R del LTR del virus HTLV-1 (U1), la región 5'UTR del gen NRF (U2) y la región 5'UTR del gen eIF4G1 (U3).

La figura 2 ilustra el vector E2- CDK9-U2U3 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora del gen CDK9, la región 5'UTR del gen NRF y la región 5'UTR del gen eIF4G1.

La figura 3 ilustra el vector E2-CDK9-U2 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora del gen CDK9 y la región 5'UTR del gen NRF.

La figura 4 ilustra el vector E2-CDK9-U1 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora del gen CDK9 y la región R del LTR del virus HTLV-1.

La figura 5 ilustra el vector E2- CDK9-U3 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora del gen CDK9, y la región 5'UTR del gen eIF4G1.

La figura 6 ilustra el vector E2-CDK9-U1U3 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora del gen CDK9, la región R del LTR del virus HTLV-1 y la región 5'UTR del gen eIF4G1.

La figura 7 ilustra el vector E2-CDK9-EF1α que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora del gen CDK9 y el primer intrón del gen EF1α.

La figura 8 ilustra el vector E2-CDK9-UIU2U3-EF1α que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora del gen CDK9, la región R del LTR del virus HTLV-1, la región 5'UTR del gen NRF, la región 5'UTR del gen eIF4GI y el primer intrón del gen EF1α.

La figura 9 ilustra el vector E2-CDK9-U1U3-EF1α que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora del gen CDK9, la región R del LTR del virus HTLV-1, la región 5'UTR del gen eIF4G1 y el primer intrón del gen EF1α.

La figura 10 ilustra el vector E2-CDK9-U2U3-EF1α que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora del gen CDK9, la región 5'UTR del gen NRF, la región 5'UTR del gen eIF4G1 y el primer intrón del gen EF1α.

La figura 11 ilustra el vector E2-CDK9-U2-EF1α que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora del gen CDK9, la región 5'UTR del gen NRF y el primer intrón del gen EF1α.

La figura 12A ilustra el vector E2-CDK9-U1-EF1α que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora del gen CDK9, la región R del LTR del virus HTLV-1 y el primer intrón del gen EF1α.

La figura 12B ilustra el vector E2-CDK9-U3-EF1α, que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora del gen CDK9, la región 5'UTR del gen eIF4G1 y el primer intrón del gen EF1α.

La figura 13 ilustra el vector E2-CDK9-U1U2-EF1α que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora del gen CDK9, el primer intrón del gen EF1α, la región R del LTR del virus HTLV-1 y la región 5'UTR del gen NRF.

La figura 14 ilustra el vector bicistrónico CHK622-21 para expresar una IgG1/K. Las unidades de transcripción de interés están bajo la dependencia del promotor LTR RSV en asociación con el intrón quimérico pCI-neo.

La figura 15 ilustra el vector HK622-21_138H11B que comprende la cadena ligera y la cadena pesada del anticuerpo anti-GGT 138H11B. Las unidades de transcripción de interés están bajo la dependencia del promotor LTR RSV en asociación con el intrón quimérico pCI-neo.

La figura 16 ilustra el vector HK622-21_138H11B_MB7 que comprende la cadena ligera con el péptido señal MB7 y la cadena pesada el péptido señal MB7 del anticuerpo anti-GGT 138H11B. Las unidades de transcripción de interés están bajo la dependencia del promotor LTR RSV en asociación con el intrón quimérico pCIneo.

La figura 17 ilustra el vector bicistrónico E2-CDK9-U3-Gen para expresar una IgG1/K. Las unidades de transcripción de interés están bajo la dependencia del potenciador E2 (hCMVie) del promotor CDK9 y la región 5'UTR del gen eIF4GI (U3).

La figura 18 ilustra el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B_MB7 que comprende la cadena ligera con el péptido señal MB7 y la cadena pesada el péptido señal MB7 del anticuerpo anti-GGT 138H11B la cadena ligera con el péptido señal MB7 y la cadena pesada el péptido señal MB7 del anticuerpo anti-GGT 138H11B. Las unidades de transcripción de interés están bajo la dependencia del potenciador E2 (hCMVie) del promotor CDK9 y la región 5'UTR del gen eIF4G1 (U3)

La figura 19 ilustra el vector HK1358-4 que comprende la cadena ligera con el péptido señal MB7 y la cadena pesada el péptido señal MB7 del anticuerpo anti-GGT 138H11B. Las unidades de transcripción de interés están bajo la dependencia del potenciador E2 (hCMVie) del promotor CDK9, la región 5'UTR del gen eIF4G1 (U3) y el intrón quimérico pCI-neo.

La figura 20 ilustra el vector HK1358-5 que comprende la cadena ligera con el péptido señal MB7 y la cadena pesada el péptido señal MB7 del anticuerpo anti-GGT 138H11B. Las unidades de transcripción de interés están bajo la dependencia del potenciador E2 (hCMVie) del promotor CDK9, la región 5'UTR del gen eIF4GI (U3) y el intrón EF1α.

La figura 21 ilustra el vector HK1358-8 que comprende la cadena ligera con el péptido señal MB7 y la cadena pesada el péptido señal MB7 del anticuerpo anti-GGT 138H11B. Las unidades de transcripción de interés están bajo la dependencia del potenciador E2 (hCMVie) del promotor CDK9, la región 5'UTR del gen eIF4G1 (U3) y el intrón mROSA.

La figura 22 ilustra el vector HK1358-11 que comprende la cadena ligera con el péptido señal MB7 y la cadena pesada el péptido señal MB7 del anticuerpo anti-GGT 138H11B. Las unidades de transcripción de interés están bajo la dependencia del potenciador E2 (hCMVie) del promotor CDK9, la región 5'UTR del gen eIF4G1 (U3) y el intrón 5'LTR HTLV1.

La figura 23 ilustra el vector HK1358-10 que comprende la cadena ligera con el péptido señal MB7 y la cadena pesada el péptido señal MB7 del anticuerpo anti-GGT 138H11B. Las unidades de transcripción de interés están bajo la dependencia del potenciador E2 (hCMVie) del promotor CDK9, la región 5'UTR del gen eIF4G1 (U3) y el intrón pEF con exón.

La figura 24 ilustra el vector HK1358-6 que comprende la cadena ligera con el péptido señal MB7 y la cadena pesada el péptido señal MB7 del anticuerpo anti-GGT 138H11B. Las unidades de transcripción de interés están bajo la dependencia del potenciador E2 (hCMVie) del promotor CDK9, la región 5'UTR del gen eIF4G1 (U3) y el intrón humano ROSA.

La figura 25 ilustra el vector HK1358-9 que comprende la cadena ligera con el péptido señal MB7 y la cadena pesada el péptido señal MB7 del anticuerpo anti-GGT 138H11B. Las unidades de transcripción de interés están bajo la dependencia del potenciador E2 (hCMVie) del promotor CDK9, la región 5'UTR del gen eIF4G1 (U3) y el intrón del gen ubiquitina.

La figura 26 ilustra la productividad del anticuerpo anti-GGT (138H11B) en el contexto E2CDK9U3 con diferentes intrones, en pools estables en medio con suero, en comparación con la referencia LTR RSV + intrón pCI neo.”EF” corresponde al intrón representado por la secuencia SEC ID NO: 71. “EFss” corresponde al intrón representado por la secuencia SEC ID NO: 10.

La figura 27 ilustra la productividad del anticuerpo anti-AMHRII (3C23K) en el contexto E2CDK9U3 con diferentes intrones, en pool en medio sin suero, en comparación con la referencia LTR RSV + intrón pCI neo. “EF” corresponde al intrón representado por la secuencia SEC ID NO: 71. “EFss”·corresponde al intrón representado por la secuencia SEC ID NO: 10.

La figura 28 ilustra la productividad de los 3 anticuerpos anti-GGT (138H11B), anti-AMHRII (3C23K) y anti-CD20 (R603) en el contexto E2CDK9U3 y intrón EFss, en comparación con la referencia LTR RSV + intrón pCI neo.

La figura 29 ilustra la comparación del efecto de los diferentes intrones en asociación con LTR RSV sobre la expresión en transfección transitoria de la cadena kappa libre del anticuerpo anti-Rh(D) T125 en la línea CHO-S evaluada en transfección transitoria. Las columnas de puntos, de izquierda a derecha, representan respectivamente el porcentaje de expresión de la cadena kappa libre bajo el control de los intrones: β-actina (Bact), EF1α, mROSA, hROSA, 5'-LTR HTLV1, ubiquitina (ubc), pCI neo. El vector de referencia es RSV_T125_K2. El eje de las ordenadas representa la concentración en cadenas kappa libres en el medio de cultivo.

La figura 30 ilustra la comparación del efecto de los diferentes intrones en asociación con la unidad de transcripción E2-CDK9-U3 o el LTR RSV sobre la expresión de la cadena kappa libre del anticuerpo anti-Rh(D) T125 en la línea CHO-S evaluada en transfección transitoria. Las columnas de puntos, de izquierda a derecha, representan el porcentaje de expresión de la cadena kappa libre bajo el control de las asociaciones: E2-CDK9-U3 sin intrón, E2-

CDK9-U3 con intrón hROSA, E2-CDK9-U3 con intrón mROSA, LTR RSV con intrón EF1α, LTR RSV con intrón mROSA, E2-CDK9-U3 con intrón EF1α, LTR RSV con intrón hROSA. Los vectores de referencia son RSV_T125_K2 y pRep4KT125. El eje de las ordenadas representa la concentración en cadenas kappa libres en el medio de cultivo. E2 representa el potenciador hCMVie. U3 corresponde a la región 5'UTR del gen eIF4G1.

La figura 31 ilustra la comparación de la expresión en pools estables de transfectantes que expresan IgG anti-Rh(D) en la línea CHO-S en función del vector (E2CDK9U3 / LTR RSV intrón pCIneo) y más precisamente la productividad en pools estables del anticuerpo entero anti-Rh(D) T125 con el vector que contiene la unidad de transcripción E2-CDK9-U3 (HK E2 CDK9 U3) en comparación con la referencia con LTR RSV intrón pCIneo (HK463-18). E2 representa el potenciador hCMVie. U3 corresponde a la región 5'UTR del gen eIF4G1.

La figura 32 es un diagrama de distribución de los transfectantes que expresan IgG anti-Rh(D) en la línea CHO-S en función del vector (E2CDK9U3 / LTR RSV intrón pCI neo). Este diagrama ilustra la productividad de clones que producen el anticuerpo entero anti-Rh(D) T125 con el vector que contiene la unidad de transcripción E2-CDK9-U3 (HK E2 CDK9 U3) en comparación con la referencia con LTR RSV intrón pCIneo (HK463-18).

La figura 33 ilustra la comparación de los títulos medios de cadenas kappa T125 obtenidos en la línea YB2/0 a partir de los vectores que contienen diferentes unidades de transcripción según la invención, a saber E2-CDK9-U1, E2-CDK9-U2, E2-CDK9-U3, E2-CDK9-U2U3, E2-CDK9-U1U2U3. Los 6 medios obtenidos son comparados a fin de determinar cuales son significativamente diferentes los unos de los otros (ensayos de extensiones múltiples).

La figura 34 ilustra la comparación de los títulos medios en inmunoglobulina entera anti-Rh(D) obtenidas en la línea YB2/0 a partir del vector E2-CDK9-U3 y del vector de referencia HK463-18 que contiene RSV + intrón pCIneo. Se comparan los medios obtenidos a fin de determinar si son significativamente diferentes el uno del otro (ensayo de extensiones múltiple).

La figura 35 ilustra la comparación de los títulos medios de la inmunoglobulina anti-CD71 (H7) obtenida en la línea YB2/0 a partir del vector E2-CDK9-U3 que contiene el intrón EF1α con la obtenida a partir del vector de referencia RSV_pCLneo que contiene también el intrón EF. Los medios obtenidos son comparados a fin de determinar cuales son significativamente diferentes los unos de los otros (ensayos de extensiones múltiples).

Ejemplos:

1. Materiales y métodos

1.1. Transfección transitoria

En YB2/0, las células parentales son sembradas el día anterior de la transfección (D-1) a 2^E5 cv/ml en EMS (Invitrogen, medio por encargo) + 5% SVF (Invitrogen) en Flask. El día de la electroporación (D0), centrifugación de 4^E6 células por pila (Biorad) de 4 mm recogidos en 100 µl de tampón V (Cell line nucleofector kitV, Lonza) que son nucleofectadas por AMAXA con 4 µg de ADN plasmídico utilizando el programa T020 del aparato. Las células son cultivadas en pocillos placa P6 a 37°C, 7% de CO_2 en 3 ml de medio EMS + 5% de SVF. Los sobrenadantes son recogidos para la determinación ELISA a D+5.

En CHO-S, las secuencias a expresar son evaluadas en transfección transitoria según el protocole del kit FreeStyle (Invitrogen). Las células parentales son inoculadas 24h antes de la transfección (D-1) en Erlenmeyer (VWR) a 6^E5 cv/ml en FreeStyle CHO EM (Fisher Bioblock scientific) e incubadas bajo agitación a 120 rpm, 37°C, 8% de CO_2. El día de la transfección, se forma un complejo FreeStyle MAX Reagent (Fisher Bioblock Scientific) /ADN, en la relación 1:1, en Opti Pro SFM (Invitrogen). El complejo se deposita después sobre las células en suspensión previamente centrifugadas y recogidas a 1^E6 cv/ml en FreeStyle CHO EM en un cultiflask (Sartorius) (5ml) e incubado a 200 rpm a 37°C, 8% de CO_2. Los sobrenadantes son recogidos D+5 para la evaluación del porcentaje de moléculas segregadas en el medio.

1.2. Transfección estable

1.2.1 Transfección estable de la línea YB2/0 en medio con suero

Las células deben tener un crecimiento estabilizado y estar descongeladas desde al menos 4 semanas en medio EMS (LFB) + 5% SVF en unos flask F150 (80 ml). Las células se trasplantan el día anterior a 2E5 cv/ml en medio EMS + 5% SVF.

El día de la electroporación, las células son electroporadas por Gene Pulser Xcell (BioRad) con un voltaje de 230 V y una capacitancia de 960 µF en cubetas (Biorad) de 4 mm con 5E6 cv (csp 500 µl de tampón de electroporación del kit electrobuffer (Ozyme) que contiene el ADN plasmídico linealizado). Después de la electroporación, se realiza el esparcimiento en placas de 24 pocillos (P24) (25000 células/pocillo) en medio EMS + 5% SVF.

A D+3: Puesta en medio selectivo para obtener las concentraciones finales siguientes: EMS + 5%SVF + G418 1 mg/ml + rojo de fenol 1%.

A D+7: Renovación de las placas con el medio correspondiente.

A D+10: Cuando las células están próximas a la confluencia, se realizan 3 pools de 8 pocillos P24, se transplantan las células a 2E5 cv/ml en F25 y se realiza una producción máxima (Prod max a D+7), estando el sobrenadante recogido y determinado en el kit Fast ELYSA (RD-biotech).

1.2.2 Transfección estable de la línea YB2/0 en medio sin suero

Las células deben tener un crecimiento estabilizado, y estar descongeladas desde por lo menos 3 semanas, en medio EMABPRO1 (LFB) en cultiflask bajo una agitación de 250 rpm. Las células se transplantan el día anterior a 3E5 cv/ml en medio EMABPRO1.

El día de la electroporación, las células son electroporadas por Gene Pulser Xcell (BioRad) con un voltaje de 230 V y una capacitencia de 950 µF en cubetas (Biorad) de 4 mm con 5E6 cv (csp 500 µl de tampón de electroporación del kit electrobuffer (Ozyme) que contiene el ADN plasmídico linealizado). Después de la electroporación las células son recogidas a 3E5 cv/ml en medio EMABPRO1 en frasco de cultivo F75.

A D+3: Puesta en medio selectivo para obtener las concentraciones finales siguientes: EMABPRO1+aditivo LFB para la clonación celular de baja densidad LDCC + G418 1 mg/ml.

A D+10: si la densidad celular es superior a 6E5 cv/ml, trasplantar las células a 3E5 cv/ml EMABPRO1+G418 1 mg/ml en F25, sino diluirlos de mitad en EMABPRO1 +aditivo LFB para LDCC + G418 1 mg/ml.

A partir de D+12 y 3 veces por semana: si la densidad celular es superior a 6E5 cv/ml, trasplantar las células a 3E5 cv/ml en F25.

A partir de D+17 y si la viabilidad es superior al 80%, realizar una producción en modo fed batch simplificado: inocular unos cultiflasks a $3^{E}5$ cv/ml, cultivar bajo agitación a 250rpm, añadir un feed de glucosa y glutamina a D+3, D+5 y D+7.

El sobrenadante se recoge a D+10 y determinado con el kit Fast ELYSA (RD-biotech).

1.2.3 Transfección estable de la línea CHO-S

Las evaluaciones son realizadas en pools de transfectantes (“transfección en pool estable”) a fin de comparar las diferentes construcciones en la base de un nivel de expresión medio en un gran número de transfectantes (varios miles) así como los mejores clones seleccionados por ClonePixFL sobre estos pools.

1.2.3.1. Obtención de pools y evaluaciones en pools

La línea CHO-S se cultiva en medio Freestyle CHO EM + 8 mM de glutamina, en flask a 37°C, 8% CO2, bajo agitación a 135 rpm.

Las células se trasplantan el día anterior a $6x10^{5}$ cel./ml.

El día de la electroporación, las células son electroporadas por Gene Pulser Xcell (BioRad) con un voltaje de 300 V y una capacitencia de 500 µF en cubetas (Biorad) de 4 mm con 5E6 cv (csp 500 µl de tampón de electroporación del kit electrobuffer (Ozyme) que contiene el ADN plasmídico linealizado). Después de la electroporación las células son recogidas a 3E5 cv/ml en frasco de cultivo F75.

A D+3: Puesta en medio selectivo para obtener las concentraciones finales siguientes: Freestyle CHO EM + aditivos LFB para la clonación celular de baja densidad LDCC + G418 1 mg/ml.

A D+10: Dilución de mitad en Freestyle CHO EM + aditivos LFB para la clonación celular de baja densidad LDCC + G418 1 mg/ml.

A partir de D+12 y 3 veces por semana: si la densidad celular es superior a 6E5 cv/ml, trasplantar las células a 3E5 cv/ml en F25.

A partir de D+17 trasplante en frasco F25 o F75 en Freestyle CHO EM + G418 1 mg/ml.

A partir de D+25, realizar una producción en modo discontinuo: inocular F25 a 3^E5 cv/ml en Freestyle CHO EM + G418 1 mg/ml (producción en pool).

Se recoge el sobrenadante a D+12 y se determina con el kit Fast ELYSA (RD-biotech).

1.2.3.2. Obtención de clones y evaluaciones de los clones

Los pools de células obtenidos anteriormente son esparcidos en medio semi-sólido (CloneMedia CHO - Molecular Devices) en presencia de anticuerpos fluorescentes de detección.

Los clones más fuertes productores de cada pool se seleccionan en primer lugar en función de su intensidad de fluorescencia ("cribado" y "picking" por ClonePix^{FL}) después en función de su título de saturación en P24.

Los mejores clones son entonces evaluados en producción en modo discontinuo por inoculación de cultiflasks a 3^E5 cv/ml en Freestyle CHO EM + G418 1 mg/ml y cultivo bajo agitación a 250rpm.

Se recoge el sobrenadante cuando la viabilidad es inferior al 50% y determinado con el kit Fast ELYSA (RD-biotech).

1.3. Evaluación del porcentaje de proteína recombinante segregada

La evaluación del porcentaje de cadena kappa libre del anticuerpo anti-Rh(D) T125 así como la producción de IgG1 de anti-CD20, anti-AMHRII o de anti-GGT son determinados por la técnica Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

La cadena kappa libre presente en el sobrenadante de cultivo está capturada durante 2h por un anticuerpo de cabra anti-kappa humano (Caltag Lab) que está absorbido en placas de 96 pocillos. El anticuerpo capturado se revela después por un anti-kappa humano de cabra biotinilado (Pierce) después se añade estreptavidina acoplada con peroxidasa (Pierce). Entre cada etapa, se efectúan 4 lavados para eliminar las proteínas y reactivos que no entran en la formación del complejo. La revelación se realiza mediante adición del sustrato de la enzima, el OPD (Sigma) y detención de la reacción por HCl 1N. La lectura se realiza con espectofotómetro a 492nm. La concentración de anticuerpos se determina en comparación de una gama patrón.

Las IgG1 producidas en transfecciones transitorias y estables son evaluadas por el kit Fast ELYSA (RD-biotech) según las instrucciones del proveedor. La lectura de la densidad óptica se realiza en espectofotómetro a 450 nm. La concentración de anticuerpos se determina en comparación de una gama patrón contenida en el kit.

1.4. Análisis estadísticas

Los resultados de producción de cadena Kappa libre o de las inmunoglobulinas enteras se comparan en valores normalizados por las medianas de un experimento con otro. Los análisis estadísticos se realizan con la ayuda del programa STATGRAPHICS Centurion XV. Se aplican unos ensayos extendidos múltiples a los datos con el método 95,0% LSD. Los pares de datos tienen unas diferencias estadísticamente significativas a nivel de confianza del 95,0%.

Ejemplo 1: Construcción del vector E2-CDK9-U1U2U3 (Figura 1)

- Digestión del vector E2-CDK9 por BamHI y NheI
- Recuperación del fragmento de 5630 bases, eliminación del fragmento de 204 bases
- Digestión del inserto sintético por BamHI y NheI
- Recuperación sobre gel del inserto de 1271 bases
- Ligación y obtención de E2-CDK9-U1U2U3
- Cribado de los clones bacterianos mediante una técnica adaptada como la PCR, con la ayuda de cebadores apropiados

Ejemplo 2: Construcción del vector E2-CDK9-U2U3 (Figura 2)

- Digestión PmeI sobre E2- CDK9-U1U2U3
- Recuperación del fragmento 6620 bases eliminación del fragmento de 281 bases
- Ligación y obtención de E2-CDK9-U2U3
- Cribado de los clones bacterianos mediante una técnica adaptada como la PCR, con la ayuda de cebadores apropiados

Ejemplo 3: Construcción del vector E2-CDK9-U2 (Figura 3)

- Digestión SpeI+NheI de E2- CDK9-U2U3
- Recuperación sobre gel del fragmento a 6296 bases, eliminación del fragmento a 324 bases
- Ligación y obtención de E2-CDK9-U2
- Cribado de los clones bacterianos mediante una técnica adaptada como la PCR, con la ayuda de cebadores apropiados

Ejemplo 4: Construcción del vector E2-CDK9-U1 (Figura 4)

- Digestión SpeI+NheI E2-CDK9-U1U2U3
- Recuperación sobre gel del fragmento a 5911 bases, eliminación del fragmento a 990 bases
- Ligación y obtención de E2- CDK9-U1
- Cribado de los clones bacterianos mediante una técnica adaptada como la PCR, con la ayuda de cebadores apropiados

Ejemplo 5: Construcción del vector E2-CDK9-U3 (Figura 5)

- Digestión HpaI+PmeI sobre E2- CDK9-U1U2U3
- Recuperación sobre gel del fragmento a 5957 bases, eliminación del fragmento a 944 bases
- Ligación y obtención de E2- CDK9-U3
- Cribado de los clones bacterianos mediante una técnica adaptada como la PCR, con la ayuda de cebadores apropiados

Ejemplo 6: Construcción del vector E2-CDK9-U1U3 (Figura 6)

- Digestión SpeI sobre E2-CDK9-U1U2U3 para liberar la región 5'UTR U2
- Recuperación sobre gel del fragmento a 6235 bases, eliminación del fragmento a 666 bases
- Ligación y obtención de E2-CDK9-U1U3
- Cribado de los clones bacterianos mediante una técnica adaptada como la PCR, con la ayuda de cebadores apropiados

Ejemplo 7: Construcción del vector E2-CDK9-EF1α (figura 7)

- Digestión SpeI+NheI de E2- CDK9
- Recuperación sobre gel del fragmento a 5636 bases, eliminación del fragmento a 198 bases
- Digestión del inserto sintético por SpeI y NheI
- Recuperación sobre gel del inserto de 1001 bases
- Ligación y obtención de E2-CDK9- EF1α
- Cribado de los clones bacterianos mediante una técnica adaptada como la PCR, con la ayuda de cebadores apropiados

Ejemplo 8: Construcción del vector E2-CDK9-EF1α-U1U2U3 (figura 8)

- Digestión SpeI+BamHI de E2- CDK9-EF1α
- Recuperación sobre gel del fragmento a ??? bases, eliminación del fragmento a ??? bases
- Digestión del inserto sintético por BamHI y NheI
- Recuperación sobre gel del inserto de 1271 bases
- Ligación y obtención de E2-CDK9- EF1α-U1U2U3
- Cribado de los clones bacterianos mediante una técnica adaptada como la PCR, con la ayuda de cebadores apropiados

Ejemplo 9: Construcción del vector E2-CDK9-EF1α-U1U3 (figura 9)

- Digestión SpeI sobre E2- CDK9-EF1α-U1U2U3
- Recuperación del fragmento 7236 bases y eliminación del fragmento de 666 bases
- Ligación y obtención de E2- CDK9-EF1α-U1U3
- Cribado de los clones bacterianos mediante una técnica adaptada como la PCR, con la ayuda de cebadores apropiados

Ejemplo 10: Construcción del vector E2-CDK9-EF1α-U2U3 (figura 10)

- Digestión HpaI/PmeI sobre E2- CDK9-EF1α-U1U2U3

- Recuperación del fragmento 7230 bases eliminación del fragmento de 672 bases
- Ligación y obtención de E2- CDK9-EF1α-U2U3
- Cribado de los clones bacterianos mediante una técnica adaptada como la PCR, con la ayuda de cebadores apropiados

Ejemplo 11: Construcción del vector E2-CDK9-EF1α-U2 (figura 11)

- Digestión SpeI de E2- CDK9-EF1α
- Recuperación sobre gel del fragmento a 6637 bases,
- Digestión del inserto sintético por SpeI
- Recuperación sobre gel del inserto de 666 bases
- Ligación y obtención de E2-CDK9- EF1α-U2
- Cribado de los clones bacterianos mediante una técnica adaptada como la PCR, con la ayuda de cebadores apropiados

Ejemplo 12: Construcción del vector E2-CDK9-EF1α-U1 (figura 12A)

- Digestión BamI+SpeI de E2- CDK9-EF1α
- Recuperación sobre gel
- Digestión del inserto sintético por BamI+SpeI
- Recuperación sobre gel del inserto de 947 bases
- Ligación y obtención de E2-CDK9- EF1α-U1
- Cribado de los clones bacterianos mediante una técnica adaptada como la PCR, con la ayuda de cebadores apropiados

Ejemplo 13: Construcción del vector E2-CDK9-EF1α-U1U2 (figura 13)

- Digestión SpeI de E2-CDK9-EF1α-U1
- Recuperación sobre gel del fragmento a 9612 bases
- Digestión del inserto sintético por SpeI
- Recuperación sobre gel del inserto de 947 bases
- Ligación y obtención de E2-CDK9- EF1α-U1U2
- Cribado de los clones bacterianos mediante una técnica adaptada como la PCR, con la ayuda de cebadores apropiados

Ejemplo 14: Construcción del vector E2-CDK9-U3-HK138H11B para la expresión del anticuerpo anti-GGT en YB2/0

El vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7 se construye para la expresión en pools estable del anticuerpo quimérico anti-GGT 138H11_B en la línea YB2/0 teniendo en cuenta los resultados de secuenciación por 5' RACE del hibridoma fuente.

El ácido nucleotídico de la cadena pesada del anticuerpo 138H11 y el ácido nucleotídico de la cadena ligera de dicho anticuerpos son clonados en el vector CHK622-21.

<u>Clonación de las cadenas ligeras del anticuerpo 138H11 sin péptido señal</u>

- ➢ Digestión del vector CHK622-21 (figura 14) por DraIII y SpeI,
- ➢ Recuperación de un fragmento de 9917 pb por estracto nucleoespinoso,
- ➢ 1ª PCR de 15 ciclos de dímeros con TAQ Proof Reading utilizando los cebadores GGT-KP1 (acagctcttactagtgccgccaccatggacatgagggtgccagctcagctgctgggac) y GGT-KP2 (ctggatgtcgcatctagcgcctggcagccacagcagcagcagtcccagcagctgag) para obtener un fragmento de 99 pb,
- ➢ 2º PCR de 15 ciclos utilizando los cebadores GGT-KP3 (gcgctagatgcgacatccagatgacacaatctagctcctctttcagtgtgag) y GGT-KD3 (CAAAAGTCCAGGGTGTGGACAGATAC) para obtener un fragmento de 306 pb,
- ➢ 3º PCR de 15 ciclos en dímeros utilizando los cebadores GGT-KD1 (CACCCTGGACTTTTGGCGGAGGGACCAAGCTGGAAATCAAAAG) y GGT-KD2 (GAAAGATGAAGACACTTGGTGCAGCCACGGTTCTTTTGATTTCC) para obtener un fragmento de 75 pb,
- ➢ Purificación sobre gel y extracto nucleoespinoso del producto obtenido por la 2° PCR,
- ➢ Purificación y extracto nucleoespinoso de los productos obtenidos por la 1er PCR1 y la 3° PCR3,

➢ Ensamblaje de los 3 fragmentos por PCR con los cebadores GGT-KP1 y GGT-KD2 para obtener un fragmento de 445 pb,
➢ Digestión del fragmento de 445 pb por DraIII+SpeI y recuperación de un fragmento de 420 pb por purificación y extracto nucleoespinoso,
➢ Ligación de dicho fragmento digerido en el vector CHK622-21 digerido para obtener el vector CHK622-21_138H11B de 10337 pb,
➢ Cribado por PCR con los cebadores 5'1PLC y GGT-KP2 que da un amplicón de 143pb.

Clonación de las cadenas ligeras del anticuerpo 138H11 con péptido señal MB7

➢ Digestión del vector CHK622-21 por DraIII y SpeI,
➢ Recuperación de un fragmento de 9917 pb por extracto nucleoespinoso,
➢ 1ª PCR de 15 ciclos en dímeros con TAQ Proof Reading utilizando los cebadores GGT-KP1MB7 (tacagctcttactagtgccgccaccatgcgatggagctggatcttcctg) y GGT-KP2MB7 (atctggatgtcggcgttggcgctggtgatgctcagcagcagcaggaagatc) para obtener un fragmento de 90 pb,
➢ 2° PCR de 15 ciclos utilizando los cebadores GGT-KP3MB7 (gccaacgccgacatccagatgacacaatctagctcctctttcagtgtgag) y GGT-KD3 para obtener un fragmento de 304 pb,
➢ 3ª PCR de 15 ciclos en dímeros utilizando los cebadores GGT-KD1 y GGT-KD2 para obtener un fragmento de 75 pb,
➢ Purificación sobre gel y extracto nucleoespinoso del producto obtenido por la 2° PCR,
➢ Purificación y extracto nucleoespinoso de los productos obtenidos por la 1er PCR1 y la 3° PCR3,
➢ Ensamblaje de los 3 fragmentos por PCR con los cebadores GGT-KP1MB7 y GGT-KD2 para obtener un fragmento de 434 pb,
➢ Digestión del fragmento de 434 pb por DraIII+SpeI y recuperación de un fragmento de 408 pb por purificación y extracto nucleoespinoso,
➢ Ligación de dicho fragmento digerido en el vector CHK622-21 digerido para obtener el vector CHK622-21_138H11B_MB7 de 10325 pb,
➢ Cribado por PCR con los cebadores 5'1PLC y GGT-KP2 que da un amplicón de 133pb.

Clonación de las cadenas pesadas del anticuerpo 138H11 sin péptido señal

➢ Digestión del vector CHK622-21_138H11B por NheI y ApaI,
➢ Recuperación de un fragmento de 10316 pb por extracto nucleoespinoso,
➢ 1ª PCR de 15 ciclos utilizando los cebadores GGT-GP1 (tacagctcttgctagcgccgccaccatg) y GGT-GP2 (caccagctgcacttggcactgcacccctccaggatg) para obtener un fragmento de 97 pb,
➢ 2° PCR de 15 ciclos utilizando los cebadores GGT-GP3 (caagtgcagctggtggagagcggcggaaccctggtgaag) y GGT-GApaI (gggggaacacggatgggcccttagtg) para obtener un fragmento de 400 pb,
➢ Purificación y extracto nucleoespinoso de los productos obtenidos por las dos PCR,
➢ Ensamblaje de los 3 fragmentos por PCR con los cebadores GGT-GP1 y GGT-GApaI para obtener un fragmento de 482 pb,
➢ Digestión del fragmento de 482 pb por NheI y ApaI y recuperación de un fragmento de 456 pb por purificación y extracto nucleoespinoso,
➢ Ligación de dicho fragmento digerido en el vector CHK622-21 digerido para obtener el vector HK622-21_138H11B de 10772 pb (figura 15),
➢ Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 604 pb.

Clonación de las cadenas pesadas del anticuerpo 138H11 con péptido señal MB7

➢ Digestión del vector CHK622-21_138H11B_MB7 por NheI y ApaI,
➢ Recuperación de un fragmento de 10304 pb por extracto nucleoespinoso,
1ª PCR de 15 ciclos utilizando los cebadores GGT-GP1MB7 (tacagctcttgctagcgccgccaccatgcgatggagctggatcttcctgctgctgctgag) y GGT-GP2MB7 (caccagctgcacttgggcgttggcgctggtgatgctcagcagcagcaggaagatc) para obtener un fragmento de 94 pb,
➢ 2° PCR de 15 ciclos utilizando los cebadores GGT-GP3 y GGT-GApaI para obtener un fragmento de 400 pb,
➢ Purificación y extracto nucleoespinoso de los productos obtenidos por la dos PCR,
➢ Ensamblaje de los 3 fragmentos por PCR con los cebadores GGT-GP1 y GGT-GApaI para obtener un fragmento de 479 pb,
➢ Digestión del fragmento de 479 pb por NheI y ApaI y recuperación de un fragmento de 453 pb por purificación y extracto nucleoespinoso,

➢ Ligación de dicho fragmento digerido en el vector CHK622-21 digerido para obtener el vector HK622-21_138H11B_MB7 de 10757 pb (figura 16),
➢ Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 601 pb.

Clonación de las cadenas pesadas del anticuerpo 138H11 con péptido señal MB7 en el vector genérico E2-CDK9-U3-Gen

➢ Digestión del vector E2-CDK9-U3-Gen (figura 17) por NheI y AseI
➢ Recuperación de un fragmento de 8928 pb por extracto nucleoespinoso
➢ Digestión del vector HK622-21_138H11B_MB7 por NheI y AseI
➢ Recuperación de un fragmento de 1435 pb por extracto nucleoespinoso
➢ Ligación de dicho fragmento digerido en el vector E2-CDK9-U3-Gen digerido para obtener el vector E2-CDK9-U3-H138H11B_MB7
➢ Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 512 pb

Clonación de las cadenas ligeras del anticuerpo 138H11 con péptido señal MB7 en el vector genérico E2-CDK9-U3-Gen

➢ Digestión del vector E2-CDK9-U3-H138H11B_MB7 por SpeI y XbaI
➢ Desfosforilación del vector digerido y recuperación de un fragmento de 10347 pb por extracto nucleoespinoso
➢ Digestión del vector HK622-21_138H11B_MB7 por SpeI y XbaI
➢ Recuperación de un fragmento de 709 pb por extracto nucleoespinoso
➢ Ligación de dicho fragmento digerido en el vector E2-CDK9-U3-Gen digerido para obtener el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B_MB7 (figura 18)
➢ Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 407 pb

Ejemplo 15: Construcción del vector E2-CDK9-U3-pCI-neo-HK138H11B

El vector HK1358-4 (figura 19), en el que el intrón quimérico del pCI-neo está insertado en el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7, se construye para la expresión en pools estable del anticuerpo quimérico anti-GGT 138H11_B en la línea YB2/0.

Clonación del intrón quimérico del pCI-neo en el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7

El vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7 está digerido por NheI y SpeI. Se obtienen 2 fragmentos de 7978 pb y 3088 pb por extracto nucleoespinoso. El ácido nucleotídico del intrón quimérico pCI-neo está amplificado a partir del vector CHK622-21 utilizando los cebadores P1pCiNeo-NheI (acagaggagagctaggtaagtatcaaggttacaagac) y P2p-pCI-neo-NheI (tacgcattgagctagctgtggagagaaaggcaaagtg) que da un amplicón de 163 pb y los cebadores P1pCiNeo-SpeI (acagaggagaactaggtaagtatcaaggttacaagac) y P2p-pCI-neo-SpeI (cagccacagtactagctgtggagagaaaggcaaagtg) que da un amplicón de 164 pb.

Las PCR son realizadas con la enzima KAPAHIFI. Cada cebador está compuesto de 15 bases complementarias a la secuencia del vector E2-CDK9-U3-HK138H11B_MB7 a nivel del sitio de inserción y de una veintena de bases que pertenecen a la secuencia del intrón a reinsertar.

Se ha añadido une base suplementaria a fin de recrear el sitio de inserción.

El intrón quimérico pCI-neo se inserta en el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7 digerido mediante el método IN-FUSION. El método IN-FUSION es un método descrito en el kit comercial de Ozyme (ref 639690).

Los dos fragmentos de 163 pb y 164 pb obtenidos por PCR, así como el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7 digerido son reunidos en una sola etapa para obtener el vector HK1358-4. La inserción del intrón en el vector se verifica por los cebadores 5'1PLC/CHoptiREV que da un amplicón de 570 pb y los cebadores 5'PLC/GGT KD3 que da un amplicón de 387 pb.

Ejemplo 16: Construcción del vector E2-CDK9-U3-pEF

El vector HK1358-5 (figura 20), en el que el intrón EF1α está insertado en el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7, se construye para la expresión en pools estable del anticuerpo quimérico anti-GGT 138H11_B en la línea YB2/0.

El vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7 está digerido por NheI y SpeI. Dos fragmentos de 7978 pb y 3088 pb son obtenidos por extracto nucleoespinoso. El ácido nucleotídico del intrón EF1α está amplificado a partir del vector K622-37EF utilizando los cebadores P1EF-NheI (ACAGAGGAGAGCTAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCC) y P22-

pEF-NheI (tggtggcggcgctagctgaaatggaagaaaaaaactttgaac) que da un amplicón de 969 pb y los cebadores P1pEF-SpeI (ACAGAGGAGAACTAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCC) y P22-pEF-SpeI (tggtggcggcactagtctgaaatggaagaaaaaaactttgaac) que da un amplicón de 970 pb.

El intrón EF1α está insertado en el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7 digerido por el método IN-FUSION.

Los dos fragmentos de 969 pb y 970 pb obtenidos por PCR, así como el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7 digerido son reunidos en una sola etapa para obtener el vector HK1358-5. La inserción del intrón en el vector se verifica por los cebadores eIF4g1-1/CHoptiREV que da un amplicón de 1534 pb y los cebadores eIF4gl-1/GGT KD3 que da un amplicón de 1351 pb.

Ejemplo 17: Construcción del vector E2-CDK9-U3-mROSA

El vector HK1358-8 (figura 21), en el que el intrón mROSA está insertado en el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7, se construye para la expresión en pools estable del anticuerpo quimérico anti-GGT 138H11_B en la línea YB2/0.

El vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7 está digerido por NheI y SpeI. Dos fragmentos de 7978 pb y 3088 pb son obtenidos por extracto nucleoespinoso. El ácido nucleotídico del intrón mROSA está amplificado a partir del vector K622-37 mROSA utilizando los cebadores P1p-mROSA-NheI (acagaggagagctaggtaggggatcgggactctgg) y P22-hROSA-NheI (tggtggcggcgctagctgtcaggagaggaaagagaag) que da un amplicón de 381 pb y los cebadores P1pmROSA-SpeI (acagaggagaactaggtaggggatcgggactctgg) y P22-hROSA-SpeI (tggtggcggcactagtctgtcaggagaggaaagagaag) que da un amplicón de 382 pb.

El intrón mROSA está insertado en el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7 digerido por el método IN-FUSION.

Los dos fragmentos de 381 pb y 382 pb obtenidos por PCR, así como el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7 digerido son reunidos en una sola etapa para obtener el vector HK1358-8. La inserción del intrón en el vector se verifica por los cebadores eIF4g1-1/CHoptiREV que da un amplicón de 949 pb y los cebadores eIF4g1-1/GGT KD3 que da un amplicón de 765 pb.

Ejemplo 18: Construcción del vector E2-CDK9-U3-HTLV1

El vector HK1358-11 (figura 22), en el que el intrón 5'-LTR HTLV1 está insertado en el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7, se construye para la expresión en pools estable del anticuerpo quimérico anti-GGT 138H11_B en la línea YB2/0.

El vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7 está digerido por NheI y SpeI. Dos fragmentos de 7978 pb y 3088 pb son obtenidos por extracto nucleoespinoso. El ácido nucleotídico del intrón HCLV-1 está amplificado a partir del vector K622-37 HTLV utilizando los cebadores P1htlv-NheI (acagaggagagctagggctcgcatctctccttcac) y P22-htlv-NheI (tggtggcggcgctagGTAGGCGCCGGTCACAGC) que da un amplicón de 318 pb y los cebadores P1htlv-SpeI (acagaggagaactaggctcgcatctctccttcac) y P22-htlv-SpeI (tggtggcggcactagtGTAGGCGCCGGTCACAGC) que da un amplicón de 318 pb.

El intrón 5'-LTR HTLV1 está insertado en el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7 digerido por el método IN-FUSION.

Los dos fragmentos de 318 pb obtenidos por PCR, así como el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7 digerido son reunidos en una sola etapa para obtener el vector HK1358-11. La inserción del intrón en el vector se verifica por los cebadores 5'HTLV/CHoptiREV que da un amplicón de 519 pb y los cebadores 5'HTLV/GGT KD3 que da un amplicón de 702 pb.

Ejemplo 19: Construcción del vector E2-CDK9-U3-pEF-exon

El vector HK1358-10 (figura 23), en el que el intrón EF1α con unas bases exónicas está insertado en el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7, se construye para la expresión en pools estable del anticuerpo quimérico anti-GGT 138H11_B en la línea YB2/0.

El vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7 está digerido por NheI y SpeI. Dos fragmentos de 7978 pb y 3088 pb son obtenidos por extracto nucleoespinoso. El ácido nucleotídico del intrón EF1α-exón está amplificado a partir del vector K622-37 EF utilizando los cebadores P12EF-NheI (ACAGAGGAGAGCTAGCGGGTTTGCCGCCAGAACACAG) y P22-pEF-NheI (TGGTGGCGGCGCTAGCTGAAATGGAAGAAAAAAACTTTGAAC) que da un amplicón de 991 pb y los cebadores P12EF-SpeI (ACAGAGGAGAACTAGCGGGTTTGCCGCCAGAACACAG) y P22-pEF-SpeI (TGGTGGCGGCACTAGTCTGAAATGGAAGAAAAAAACTTTGAAC) que da un amplicón de 992 pb.

El intrón EF1α-exón está insertado en el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7 digerido por el método IN-FUSION.

Los dos fragmentos de 991 pb y 992 pb obtenidos por PCR, así como el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7 digerido son reunidos en una sola etapa para obtener el vector HK1358-10. La inserción del intrón en el vector se verifica por los cebadores 5'EF/CHoptiREV que da un amplicón de 843 pb y los cebadores 5'EF1/GGT KD3 que da un amplicón de 1023 pb.

Ejemplo 20: Construcción del vector E2-CDK9-U3-hROSA

El vector HK1358-6 (figura 24), en el que el intrón hROSA está insertado en el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7, se construye para la expresión en pools estable del anticuerpo quimérico anti-GGT 138H11_B en la línea YB2/0.

El vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7 está digerido por NheI y SpeI. Dos fragmentos de 7978 pb y 3088 pb son obtenidos por extracto nucleoespinoso. El ácido nucleotídico del intrón hROSA está amplificado a partir del vector K622-37hROSA utilizando P1hROSA-NheI (acagaggagagctaggtaggggagcggaactctggtg) y P22-hROSA-NheI (tggtggcggcgctagctgtcaggagaggaaagagaag) que da un amplicón de 1247 pb y los cebadores P1hROSA-SpeI (acagaggagaactaggtaggggagcggaactctggtg) y P22-hROSA-SpeI (tggtggcggcactagtctgtcaggagaggaaagagaag) que da un amplicón de 1248 pb.

El intrón hROSA está insertado en el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7 digerido por el método IN-FUSION.

Los dos fragmentos de 1247 pb y 1248 pb obtenidos por PCR, así como el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7 digerido son reunidos en una sola etapa para obtener el vector HK1358-6. La inserción del intrón en el vector se verifica por los cebadores apropiados que da un amplicón de 1812 pb y los cebadores eIF4g1-1/GGT KD3 que da un amplicón de 1629 pb.

Ejemplo 21: Construcción del vector E2-CDK9-U3-UBC

El vector HK1358-9 (figura 25), en el que el intrón del gen ubiquitina está insertado en el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7, se construye para la expresión en pools estable del anticuerpo quimérico anti-GGT 138H11_B en la línea YB2/0.

El vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7 está digerido por NheI y SpeI. Dos fragmentos de 7978 pb y 3088 pb son obtenidos por extracto nucleoespinoso. El ácido nucleotídico del intrón UBC está amplificado a partir del vector K622-37UBC utilizando los cebadores P12UBC-NheI (ACAGAGGAGAGCTAGAGTTCCGTCGCAGCCGGGATTTG) y P22-UBC-NheI (tggtggcggcgctagCTAACAAAAAAGCCAAAAACGGC) que da un amplicón de 906 pb y los cebadores P1UBC-SpeI (acagaggagaactaGTGAGTAGCGGGCTGCTGG) y P22-UBC-SpeI (tggtggcggcactagtCTAACAAAAAAGCCAAAAACGGC) que da un amplicón de 906 pb.

El intrón ubiquitina está insertado en el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7 digerido por el método IN-FUSION.

Los dos fragmentos de 906 pb y 906 pb obtenidos por PCR, así como el vector E2-CDK9-U3-HK138H11B MB7 digerido son reunidos en una sola etapa para obtener el vector HK1358-6. La inserción del intrón en el vector se verifica por los cebadores apropiados que da un amplicón de 830 pb y los cebadores 5'UBC/GGT KD3 que da un amplicón de 1629 pb.

Ejemplo 22: Producción de 2 anticuerpos enteros, anti-GGT y anti-AMHRII, por los vectores que contienen la unidad de transcripción E2CDK9U3 con diferentes intrones

Les anticuerpos enteros anti-GGT (138H11B MB7) y anti-AMHRII (3C23K) se han producido a partir de pools estables en YB2/0, respectivamente en medio con suero y sin suero, por los vectores en el contexto E2CDK9U3 respectivamente con el intrón EF1α con exón (EF), el intrón EF1α sin exón (EFss), el intrón ubiquitina, el intrón hROSA, el intrón mROSA, el intrón 5'LTR HTLV1, el intrón quimérico pCI-neo, el intrón β-actina o sin intrón. Los títulos en anticuerpos obtenidos con estos vectores son mostrados en las figuras 26 y 27.

La ganancia aportada por la estructura E2CDK9U3+intrón se estima por comparación con un vector de referencia que codifica para la misma IgG pero con una estructura de UT que comprende el LTR RSV + intrón pCIneo en lugar de la estructura E2CDK9U3+intrón.

La figura 26 ilustra la productividad del anticuerpo anti-GGT (138H11B) en el contexto E2CDK9U3 con diferentes intrones, en pool en medio con suero, en comparación con la referencia LTR RSV + intrón pCI neo. Muestra en particular que:

- ➢ la combinación E2CDK9U3 sin intrón adicional aporta ya una ganancia sustancial (x2,2) con respecto a LTR RSV + intrón pCI neo.

➢ todos los intrones ensayados aportan una ganancia suplementaria a la combinación E2CDK9U3: más modesta para los intrones beta-actina, pCIneo y HTLV, bastante importante para los intrones murino y humano ROSA, muy importantes para los intrones ubiquitina y EF (con o sin el pequeño exón en 5') que permite unas ganancias máximas de aproximadamente 6x con respecto a la referencia LTR RSV + intrón pCI neo.

La figura 27 muestra en particular que:

➢ La jerarquía global de los intrones en combinación con E2CDK9U3 está mantenida con respecto al ensayo con el anticuerpo anti-GGT. En particular, los intrones EF (con y sin exón) y ubiquitina son los más fuertes (aproximadamente x2 con respecto a la referencia LTR RSV + intrón pCI neo), el intrón mROSA guarda un efecto importante (x1,6). El intrón hROSA no se ha ensayado en este ensayo.

➢ Las ganancias con respecto a la referencia LTR RSV + intrón pCI neo son menos importantes en este ensayo sin causa identificada. La jerarquía de los intrones no está, no obstante, cuestionada y unos ensayos ulteriores, con el mismo anticuerpo a expresar y el mismo procedimiento en medio sin suero, han mostrado unas ganancias más elevadas y similares a las obtenidas en medio con suero (x5 para el intrón EFss; véase la figura 28).

Ejemplo 23: Producción de 3 anticuerpos diferentes en YB2/0, con y sin suero, por un vector que contiene la unidad de transcripción E2CDK9U3+EFss (o EF).

Las secuencias que codifican para 3 anticuerpos: anti-CD20 (R603), anti-GGT (138H11B MB7) y anti-AMHRII (3C23K) se han integrado en un vector que contienen la unidad de transcripción E2CDK9U3+EFss. Estos vectores, así como sus vectores homologues salvo que la unidad de transcripción está bajo el control del LTR RSV+intrón pCI neo (control de referencia) en lugar de E2CDK9U3+EFss, se han expresado en pool, con y sin suero para anti-CD20 y anti-AMHRII, con suero para anti-GGT, en transfecciones independientes.

La ganancia aportado por la estructura E2CDK9U3+intrón EF se estima por comparación con el vector de referencia que codifica para la misma IgG pero con una estructura de UT que comprende el LTR RSV + intrón pCIneo en lugar de la estructura E2CDK9U3+intrón EF.

La figura 28 ilustra la productividad de los 3 anticuerpos anti-GGT (138H11B), anti-AMHRII (3C23K) y anti-CD20 (R603) en el contexto E2CDK9U3 + intrón EFss, en comparación con la referencia LTR RSV + intrón pCI neo.

Muestra en particular que la combinación E2CDK9U3+intrón EFss aporta siempre una ganancia significativa con respecto a LTR RSV + intrón pCI neo: de 4,6 a 6,1x para los 3 anticuerpos en medio con suero. En medio sin suero, para los 2 anticuerpos ensayados, los resultados son más variables pero muestran también un efecto importante de la combinación E2CDK9U3+intrón EFss (la ganancia más baja de 2x es la ya mostrada en la figura 27).

Ejemplo 24: Comparación de los intrones en asociación con el LTR RSV

Los intrones a ensayar (Bact (β-actina), EF1α, mROSA, hROSA, 5'-LTR HTLV1, ubc (ubiquitina) son insertados en el vector de expresión K622_37, que comprende el LTR RSV, para producir la cadena ligera kappa del anticuerpo T125. La ganancia de productividad de los vectores así construidos se compara con la de los vectores de referencia RSV_int_KT125_2STP y RSV_T125_K2.

Los resultados obtenidos a partir de 3 transfecciones realizadas sobre 3 semanas diferentes son ilustrados en la figura 29 y permiten observar unas diferencias significativas entre los intrones.

Une comparación múltiple se realiza para las medias (ng/ml) de producción de cadena ligera de Ig obtenidas con los diferentes intrones en la línea CHO-S (Tabla 1). El método actualmente utilizado para discriminar entre las medias es el procedimiento de las diferencias significativas mínimas de Fisher (LSD). Se efectúan unos ensayos de las extensiones múltiples con el método 95,0% LSD. Estos pares tienen diferencias estadísticamente significativas a nivel de confianza del 95,0%.

Tabla 1

	Efectivo	*Media*	*Grupo homogéneo*
RSV_int_KT125_2STP	18	25506,3	X
K622_37_HTLV	18	26511,3	X
K622_37_Ubc	18	28790,0	XX
K622_37_Bact	17	31992,3	XX
K622_37_hROSA	18	33561,0	X
RSV_T125_K2	16	34362,8	X
K622_37_mROSA	15	38874,8	X

K622_37_EF	14	44104,4	X

Se identifican cinco grupos homogéneos utilizando unas columnas de X. El intrón EF1α es significativamente el más eficaz. En segunda posición se sitúa el intrón mROSA. Los otros intrones no tienen efecto positivo en asociación con el LTR RSV.

Ejemplo 25: Comparación de las unidades de transcripción en los contextos E2-CDK9-U3 y LTR RSV

Las diferentes unidades de transcripción a ensayar son ensayadas para la producción de la cadena ligera kappa del anticuerpo T125. La ganancia de productividad de los vectores así construidos se compara con la de los vectores de referencia pRep4KT125 y RSV_T125_K2.

Los resultados obtenidos a partir de 3 transfecciones realizadas en 3 semanas diferentes son ilustrados en la figura 30 y permiten observar unas diferencias significativas entre las asociaciones ensayadas.

Se realiza una comparación múltiple para las medias (ng/ml) de producción de cadena ligera obtenidas con las diferentes asociaciones en la línea CHO-S (Tabla 2). El método actualmente utilizado para discriminar entre los medios es el procedimiento de las diferencias significativas mínimas de Fisher (LSD). Se efectúan unos ensayos de extensiones múltiples con el método 95,0% LSD. Estos pares tienen diferencias estadísticamente significativas a nivel de confianza del 95,0%.

Tabla 2

	Efectivo	*Media*	*Grupo homogéneo*
RSVT125K2	12	10940,2	X
E2CDK9U3 hRosa	12	15847,6	X
K622_37 hRosa	12	23340,0	X
pRep4KT125	12	23843,2	X
E2CDK9U3	12	31903,9	X
K622_37 mRosa	12	35041,1	X
E2CDK9U3 mRosa	12	40688,4	X
K622_37 EF	12	41708,2	X
E2CDK9U3 EF	12	51907,2	X

Se identifican cinco grupos que utilizan unas columnas de X.

La asociación de E2-CDK9-U3 con el intrón EF1α es significativamente la más eficaz. En el contexto E2-CDK9-U3, el intrón EF1α aporta así una ganancia del 63%.

Las asociaciones LTR RSV con intrón EF y E2-CDK9-U3 con intrón mROSA son también significativamente muy eficaces.

En una menor medida, las otras asociaciones ensayadas son más eficaces que la referencia RSV T125 K2.

Ejemplo 26: Producción del anticuerpo anti-Rh(D) entero (HK) por unos vectores que contienen E2CDK9U3 en las células CHO-S

Los anticuerpos anti-Rh(D) enteros (HK) son producidos respectivamente en las células CHO-S transfectadas por los vectores que contienen una unidad de transcripción de estructura E2-CDK9-U3 y en las células CHO-S transfectadas por los vectores que contienen una unidad de transcripción de estructura RSV-intrón pCineo (vector de referencia).

La tabla 3 siguiente muestra los resultados de determinación de los anticuerpos anti-Rh(D) enteros producidos por unos pools de células transfectadas por el vector HK463-18 o por el vector HK E2-CDK9-U3. La figura 31 ilustra estos resultados.

Tabla 3: F6-2= pool procedente de transfección con HK463-18, F11-2 = pool procedente de transfección con HK E2-CDK9-U3

Pool	Medio	Tipo de producción discontinuo	Análisis IgG ELISA en ng/ml	Ganancia E2CDK9U3 / RSV+intronpCl
F6-2	Freestyle + G418	D+12 F25	2324	
F11-2	Freestyle + G418	D+12 F25	14 193	6,1

La unidad de transcripción E2CDK9U3 permite obtener una ganancia de productividad del orden de 6 veces más elevada que la obtenida con el vector de referencia.

La tabla 4 siguiente muestra los resultados de determinación de los anticuerpos anti-Rh(D) enteros producidos por los mejores clones (procedentes del procedimiento de cribado descrito en materiales y métodos, sobre un número limitado de colonias) procedente de los pools anteriormente descritos, transfectados por el vector HK463-18 o por el vector HK E2-CDK9-U3. La figura 32 ilustra estos resultados.

Tabla 4

	cultiflask	
Nombre del vector	**Prod. Max D-1 ELISA IgG en ng/ml**	**Prod. max ELISA IgG en ng/ml**
HK 463-18	NA	<min
HK 463-18	NA	2071
H K 463-18	NA	2732
HK 463-18	NA	4110
HK 463-18	NA	16 937
HK-E2-CDK9-U3	NA	4061
HK-E2-CDK9-U3	NA	10 585
HK-E2-CDK9-U3	6863	13 235
HK-E2-CDK9-U3	13389	14221
HK-E2-CDK9-U3	21 318	20 203
HK-E2-CDK9-U3	29 860	33 069
HK-E2-CDK9-U3	37611	33 402
HK-E2-CDK9-U3	NA	36 830
HK-E2-CDK9-U3	NA	43 851
HK-E2-CDK9-U3	NA	47 315
HK-E2-CDK9-U3	58 007	58 007
HK-E2-CDK9-U3	47 056	60 304
HK-E2-CDK9-U3	61 902	74233

Ejemplo 27: Producción de la cadena kappa T125 en las células YB2/0

Se ha expresado la cadena kappa T125 en la línea YB2/0 transfectada transitoriamente por diferentes vectores que contienen diferentes construcciones de unidad de transcripción según la presente invención. Las construcciones de unidad de transcripción ensayadas, así como los resultados de expresión obtenidos son mostrados en la figura 33.

Ejemplo 28: Producción del anticuerpo anti-Rh(D) entero (HK) por unos vectores que contienen E2CDK9U3 en las células YB2/0

Les anticuerpos anti-Rh(D) enteros (HK) son producidos respectivamente en las células YB2/0 en transfección estable por los vectores que contienen una unidad de transcripción de estructura E2-CDK9-U3 o por los vectores que contienen una unidad de transcripción de estructura RSV-intrón pCineo (vector de referencia). El resultado de expresión del anticuerpo anti-Rh(D) en µg/ml se muestra en la figura 34.

Ejemplo 29: Producción del anticuerpo anti-CD71 entero (H7) en las células YB2/0 por unos vectores que contienen E2CDK9U3

Los anticuerpos anti-CD71 son producidos respectivamente en las células YB2/0 transfectadas por un vector que contiene la unidad de transcripción E2-CDK9-U3 y el intrón EF o por el vector de referencia que contiene RSV-intrón pCineo. El resultado de expresión del anticuerpo anti-CD71 en µg/ml se muestra en la figura 35.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> LFB BIOTECHNOLOGIES

<120> UNIDADES DE TRANSCRIPCIÓN Y SU UTILIZACIÓN EN VECTORES DE EXPRESIÓN

<130> WOB 11 CO LFB UTRA

<150> FR1159864

<151> 2011-10-28

<160> 71

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 306

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> CMV

<400> 1

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatgg 306

<210> 2

<211> 352

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> CDK9

<400> 2

catgcagcgg gacgcgccac cccgagcccc agctccggcg ccccggctcc ccgcgccccc 60

gatcggggcc gccgctagta gtggcggcgg cggaggcggg ggcagcggcg gcggcggcgg 120

aggcgcctct gcagctccgg ctccccctgg cctctcggga actacaagtc ccaggggccc 180

tggcggtggg cggcgggcgg aagaggcggg gtcggcgccg cgaggccgga agtggccgtg 240

gaggcggaag tggcgcggcc gcggaggggc ctggagtgcg gcggcggcgg gacccggagc 300

aggagcggcg gcagcagcga ctgggggcgg cggcggcgcg ttggaggcgg cc 352

<210> 3

<211> 267

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> U1

<400> 3

ggctcgcatc tctccttcac gcgcccgccg ccctacctga ggccgccatc cacgccggtt 60

gagtcgcgtt ctgccgcctc ccgcctgtgg tgcctcctga actgcgtccg ccgtctaggt 120

aagtttaaag ctcaggtcga gaccgggcct ttgtccggcg ctcccttgga gcctacctag 180

actcagccgg ctctccacgc tttgcctgac cctgcttgct caactctacg tctttgtttc 240

gttttctgtt ctgcgccgtt acagatc 267

<210> 4

<211> 653

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> U2

<400> 4

cagagtaatg acatggttcc ttccatcctc caaaggtgac caataatagt ttgtaagtat 60

cattatgaac taatgaattt tcaacatatt tgatatattt caatccattg ccatcattgt 120

tcttatcgat atttgagttg gctcactttg ccagtaagag tctattcaaa ttggcttctg 180

agtccatttg acacaacacc tttgatcttt gacagtttcc ttggttttag gtgctagatg 240

atttctcagg ctcaccttag acatttcctg ccacagactt agaatcagcc atttctctaa 300

ggaccctgat tccatttcat gagaaatgat agagaccaca atcaaaacaa gtcatgaatt 360

tatactgata ttttcaattc aaattaaaga tgaggttttt gctaaatttt tttgagttta 420

tatttgtatg tcttatgctg aaaaatcttg tttcctaatt agtaacataa ttattcattt 480

gatgggtaaa tattttaggg ccgattcttt ggttttatag ccaagatacc ctgttgataa 540

agtcttgtgg gagcaattat aagactggct tattttgaag ctttttaaaa aagacatcct 600

tacctgtttt aactgtagat tatattaact taaataggta cagcccacgc ttg 653

<210> 5

<211> 314

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> U3

<400> 5

gctggtgggt agggatgagg gagggagggg cattgtgatg tacagggctg ctctgtgaga 60

tcaagggtct cttaagggtg ggagctgggg cagggactac gagagcagcc agatgggctg 120

aaagtggaac tcaaggggtt tctggcacct acctacctgc ttcccgctgg ggggtgggga 180

gttggcccag agtcttaaga ttggggcagg gtggagaggt gggctcttcc tgcttcccac 240

tcatcttata gctttctttc cccagatccg aattcgagat ccaaaccaag gaggaaagga 300

tatcacagag gaga 314

<210> 6

<211> 933

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> U1U2

<400> 6

ggctcgcatc tctccttcac gcgcccgccg ccctacctga ggccgccatc cacgccggtt 60

gagtcgcgtt ctgccgcctc ccgcctgtgg tgcctcctga actgcgtccg ccgtctaggt 120

aagtttaaag ctcaggtcga gaccgggcct ttgtccggcg ctcccttgga gcctacctag 180

actcagccgg ctctccacgc tttgcctgac cctgcttgct caactctacg tctttgtttc 240

gttttctgtt ctgcgccgtt acagatcact agtgtttaaa cagagtaatg acatggttcc 300

ttccatcctc caaaggtgac caataatagt ttgtaagtat cattatgaac taatgaattt 360

tcaacatatt tgatatattt caatccattg ccatcattgt tcttatcgat atttgagttg 420

gctcactttg ccagtaagag tctattcaaa ttggcttctg agtccatttg acacaacacc 480

tttgatcttt gacagtttcc ttggttttag gtgctagatg atttctcagg ctcaccttag 540

acatttcctg ccacagactt agaatcagcc atttctctaa ggaccctgat tccatttcat 600

gagaaatgat agagaccaca atcaaaacaa gtcatgaatt tatactgata ttttcaattc 660

aaattaaaga tgaggttttt gctaaatttt tttgagttta tatttgtatg tcttatgctg 720

aaaaatcttg tttcctaatt agtaacataa ttattcattt gatgggtaaa tattttaggg 780

ccgattcttt ggttttatag ccaagatacc ctgttgataa agtcttgtgg gagcaattat 840

aagactggct tattttgaag ctttttaaaa aagacatcct tacctgtttt aactgtagat 900

tatattaact taaataggta cagcccacgc ttg 933

<210> 7

<211> 591

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> U1U3

<400> 7

ggctcgcatc tctccttcac gcgcccgccg ccctacctga ggccgccatc cacgccggtt 60

gagtcgcgtt ctgccgcctc ccgcctgtgg tgcctcctga actgcgtccg ccgtctaggt 120

aagtttaaag ctcaggtcga gaccgggcct ttgtccggcg ctcccttgga gcctacctag 180

actcagccgg ctctccacgc tttgcctgac cctgcttgct caactctacg tctttgtttc 240

gttttctgtt ctgcgccgtt acagatcact agttaacgct ggtgggtagg gatgagggag 300

ggaggggcat tgtgatgtac agggctgctc tgtgagatca agggtctctt aagggtggga 360

gctggggcag ggactacgag agcagccaga tgggctgaaa gtggaactca aggggtttct 420

ggcacctacc tacctgcttc ccgctggggg gtggggagtt ggcccagagt cttaagattg 480

gggcagggtg gagaggtggg ctcttcctgc ttcccactca tcttatagct ttctttcccc 540

agatccgaat tcgagatcca aaccaaggag gaaaggatat cacagaggag a 591

<210> 8

<211> 977

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> U2U3

<400> 8

cagagtaatg acatggttcc ttccatcctc caaaggtgac caataatagt ttgtaagtat 60

cattatgaac taatgaattt tcaacatatt tgatatattt caatccattg ccatcattgt 120

tcttatcgat atttgagttg gctcactttg ccagtaagag tctattcaaa ttggcttctg 180

agtccatttg acacaacacc tttgatcttt gacagtttcc ttggttttag gtgctagatg 240

atttctcagg ctcaccttag acatttcctg ccacagactt agaatcagcc atttctctaa 300

ggaccctgat tccatttcat gagaaatgat agagaccaca atcaaaacaa gtcatgaatt 360

tatactgata ttttcaattc aaattaaaga tgaggttttt gctaaatttt tttgagttta 420

tatttgtatg tcttatgctg aaaaatcttg tttcctaatt agtaacataa ttattcattt 480

gatgggtaaa tattttaggg ccgattcttt ggttttatag ccaagatacc ctgttgataa 540

agtcttgtgg gagcaattat aagactggct tattttgaag ctttttaaaa aagacatcct 600

tacctgtttt aactgtagat tatattaact taaataggta cagcccacgc ttgactagtt 660

aacgctggtg ggtagggatg agggagggag gggcattgtg atgtacaggg ctgctctgtg 720

agatcaaggg tctcttaagg gtgggagctg gggcagggac tacgagagca gccagatggg 780

ctgaaagtgg aactcaaggg gtttctggca cctacctacc tgcttcccgc tgggggggtgg 840

ggagttggcc cagagtctta agattggggc agggtggaga ggtgggctct tcctgcttcc 900

cactcatctt atagctttct ttccccagat ccgaattcga gatccaaacc aaggaggaaa 960

ggatatcaca gaggaga 977

<210> 9

<211> 1257

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> U1U2U3

<400> 9

ggctcgcatc tctccttcac gcgcccgccg ccctacctga ggccgccatc cacgccggtt 60

gagtcgcgtt ctgccgcctc ccgcctgtgg tgcctcctga actgcgtccg ccgtctaggt 120

aagtttaaag ctcaggtcga gaccgggcct ttgtccggcg ctcccttgga gcctacctag 180

actcagccgg ctctccacgc tttgcctgac cctgcttgct caactctacg tctttgtttc 240

gttttctgtt ctgcgccgtt acagatcact agtgtttaaa cagagtaatg acatggttcc 300

ttccatcctc caaaggtgac caataatagt ttgtaagtat cattatgaac taatgaattt 360

tcaacatatt tgatatattt caatccattg ccatcattgt tcttatcgat atttgagttg 420

gctcactttg ccagtaagag tctattcaaa ttggcttctg agtccatttg acacaacacc 480

tttgatcttt gacagtttcc ttggttttag gtgctagatg atttctcagg ctcaccttag 540

acatttcctg ccacagactt agaatcagcc atttctctaa ggaccctgat tccatttcat 600

gagaaatgat agagaccaca atcaaaacaa gtcatgaatt tatactgata ttttcaattc 660

aaattaaaga tgaggttttt gctaaatttt tttgagttta tatttgtatg tcttatgctg 720

aaaaatcttg tttcctaatt agtaacataa ttattcattt gatgggtaaa tattttaggg 780

ccgattcttt ggttttatag ccaagatacc ctgttgataa agtcttgtgg gagcaattat 840

aagactggct tattttgaag ctttttaaaa aagacatcct tacctgtttt aactgtagat 900

tatattaact taaataggta cagcccacgc ttgactagtt aacgctggtg ggtagggatg 960

agggagggag gggcattgtg atgtacaggg ctgctctgtg agatcaaggg tctcttaagg 1020

gtgggagctg gggcagggac tacgagagca gccagatggg ctgaaagtgg aactcaaggg 1080

gtttctggca cctacctacc tgcttcccgc tgggggggtgg ggagttggcc cagagtctta 1140

agattggggc agggtggaga ggtgggctct tcctgcttcc cactcatctt atagctttct 1200

ttccccagat ccgaattcga gatccaaacc aaggaggaaa ggatatcaca gaggaga 1257

<210> 10

<211> 939

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> EF1A

<400> 10

gtaagtgccg tgtgtggttc ccgcgggcct ggcctcttta cgggttatgg cccttgcgtg 60

ccttgaatta cttccacctg gctgcagtac gtgattcttg atcccgagct tcgggttgga 120

agtgggtggg agagttcgag gccttgcgct taaggagccc cttcgcctcg tgcttgagtt 180

gaggcctggc ctgggcgctg gggccgccgc gtgcgaatct ggtggcacct tcgcgcctgt 240

ctcgctgctt tcgataagtc tctagccatt taaaattttt gatgacctgc tgcgacgctt 300

tttttctggc aagatagtct tgtaaatgcg ggccaagatc tgcacactgg tatttcggtt 360

tttggggccg cgggcggcga cggggcccgt gcgtcccagc gcacatgttc ggcgaggcgg 420

ggcctgcgag cgcggccacc gagaatcgga cgggggtagt ctcaagctgg ccggcctgct 480

ctggtgcctg gcctcgcgcc gccgtgtatc gccccgccct gggcggcaag gctggcccgg 540

tcggcaccag ttgcgtgagc ggaaagatgg ccgcttcccg gccctgctgc agggagctca 600

aaatggagga cgcggcgctc gggagagcgg gcgggtgagt cacccacaca aaggaaaagg 660

gcctttccgt cctcagccgt cgcttcatgt gactccacgg agtaccgggc gccgtccagg 720

cacctcgatt agttctcgag cttttggagt acgtcgtctt taggttgggg ggagggggttt 780

tatgcgatgg agtttcccca cactgagtgg gtggagactg aagttaggcc agcttggcac 840

ttgatgtaat tctccttgga atttgccctt tttgagtttg gatcttggtt cattctcaag 900

cctcagacag tggttcaaag tttttttctt ccatttcag 939

<210> 11

<211> 351

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> MROSA

<400> 11

gtaggggatc gggactctgg cgggagggcg gcttggtgcg tttgcgggga tgggcggccg 60

cggcaggccc tccgagcgtg gtggagccgt tctgtgagac agccgggtac gagtcgtgac 120

gctggaaggg gcaagcgggt ggtgggcagg aatgcggtcc gccctgcagc aaccggaggg 180

ggagggagaa gggagcggaa aagtctccac cggacgcggc catggctcgg gggggggggg 240

gcagcggagg agcgcttccg gccgacgtct cgtcgctgat tggcttcttt tcctcccgcc 300

gtgtgtgaaa acacaattgt actaaccttc ttctctttcc tctcctgaca g 351

<210> 12

<211> 288

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> HTLV-1

<400> 12

ggctcgcatc tctccttcac gcgcccgccg ccctacctga ggccgccatc cacgccggtt 60

gagtcgcgtt ctgccgcctc ccgcctgtgg tgcctcctga actgcgtccg ccgtctaggt 120

aagtttaaag ctcaggtcga gaccgggcct ttgtccggcg ctcccttgga gcctacctag 180

actcagccgg ctctccacgc tttgcctgac cctgcttgct caactctacg tctttgtttc 240

gttttctgtt ctgcgccgtt acagatccaa gctgtgaccg gcgcctac 288

<210> 13

<211> 133

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> PCINEO

<400> 13

gtaagtatca aggttacaag acaggtttaa ggagaccaat agaaactggg cttgtcgaga 60

cagagaagac tcttgcgttt ctgataggca cctattggtc ttactgacat ccactttgcc 120

tttctctcca cag 133

<210> 14

<211> 951

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 14

```
gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat      60
tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc     120
aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc     180
caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt     240
acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta     300
ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc     360
ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg     420
cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac     480
tacaagtccc aggggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg     540
aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc     600
ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt     660
ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc gccgccctac     720
ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc     780
ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc     840
ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct     900
tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat c              951
```

<210> 15

<211> 1336

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 15

```
gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat      60
tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc     120
aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc     180
caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt     240
acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta     300
ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc     360
ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg     420
cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac     480
tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg     540
aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc     600
ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt     660
ggaggcggcc ggatccgttt aaacagagta atgacatggt tccttccatc ctccaaaggt     720
gaccaataat agtttgtaag tatcattatg aactaatgaa ttttcaacat atttgatata     780
tttcaatcca ttgccatcat tgttcttatc gatatttgag ttggctcact ttgccagtaa     840
gagtctattc aaattggctt ctgagtccat ttgacacaac acctttgatc tttgacagtt     900
tccttggttt taggtgctag atgatttctc aggctcacct tagacatttc ctgccacaga     960
cttagaatca gccatttctc taaggaccct gattccattt catgagaaat gatagagacc    1020
acaatcaaaa caagtcatga atttatactg atattttcaa ttcaaattaa agatgaggtt    1080
tttgctaaat ttttttgagt ttatatttgt atgtcttatg ctgaaaaatc ttgtttccta    1140
attagtaaca taattattca tttgatgggt aaatatttta gggccgattc tttggtttta    1200
tagccaagat accctgttga taaagtcttg tgggagcaat tataagactg gcttattttg    1260
aagcttttta aaaaagacat ccttacctgt tttaactgta gattatatta acttaaatag    1320
gtacagccca cgcttg                                                    1336
```

<210> 16

<211> 997

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 16

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aacgctggtg ggtagggatg agggagggag gggcattgtg 720

atgtacaggg ctgctctgtg agatcaaggg tctcttaagg gtgggagctg gggcagggac 780

tacgagagca gccagatggg ctgaaagtgg aactcaaggg gtttctggca cctacctacc 840

tgcttcccgc tgggggggtgg ggagttggcc cagagtctta agattggggc agggtggaga 900

ggtgggctct tcctgcttcc cactcatctt atagctttct ttccccagat ccgaattcga 960

gatccaaacc aaggaggaaa ggatatcaca gaggaga 997

<210> 17

<211> 1617

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 17

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc gccgccctac 720

ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc 780

ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc 840

ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct 900

tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat cactagtgtt 960

taaacagagt aatgacatgg ttccttccat cctccaaagg tgaccaataa tagtttgtaa 1020

gtatcattat gaactaatga attttcaaca tatttgatat atttcaatcc attgccatca 1080

ttgttcttat cgatatttga gttggctcac tttgccagta agagtctatt caaattggct 1140

tctgagtcca tttgacacaa caccttttgat ctttgacagt ttccttggtt ttaggtgcta 1200

gatgatttct caggctcacc ttagacattt cctgccacag acttagaatc agccatttct 1260

ctaaggaccc tgattccatt tcatgagaaa tgatagagac cacaatcaaa acaagtcatg 1320

aatttatact gatattttca attcaaatta aagatgaggt ttttgctaaa ttttttgag 1380

tttatatttg tatgtcttat gctgaaaaat cttgtttcct aattagtaac ataattattc 1440

atttgatggg taaatatttt agggccgatt ctttggtttt atagccaaga taccctgttg 1500

ataaagtctt gtgggagcaa ttataagact ggcttatttt gaagcttttt aaaaaagaca 1560

tccttacctg ttttaactgt agattatatt aacttaaata ggtacagccc acgcttg 1617

<210> 18

<211> 1275

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 18

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc gccgccctac 720

ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc 780

ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc 840

ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct 900

tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat cactagttaa 960

cgctggtggg tagggatgag ggagggaggg gcattgtgat gtacagggct gctctgtgag 1020

atcaagggtc tcttaagggt gggagctggg gcagggacta cgagagcagc cagatgggct 1080

gaaagtggaa ctcaaggggt ttctggcacc tacctacctg cttcccgctg gggggtgggg 1140

agttggccca gagtcttaag attggggcag ggtggagagg tgggctcttc ctgcttccca 1200

ctcatcttat agctttcttt ccccagatcc gaattcgaga tccaaaccaa ggaggaaagg 1260

atatcacaga ggaga 1275

<210> 19

<211> 1660

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 19

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacagagta atgacatggt tccttccatc ctccaaaggt 720

gaccaataat agtttgtaag tatcattatg aactaatgaa ttttcaacat atttgatata 780

tttcaatcca ttgccatcat tgttcttatc gatatttgag ttggctcact ttgccagtaa 840

gagtctattc aaattggctt ctgagtccat ttgacacaac acctttgatc tttgacagtt 900

tccttggttt taggtgctag atgatttctc aggctcacct tagacatttc ctgccacaga 960

cttagaatca gccatttctc taaggaccct gattccattt catgagaaat gatagagacc 1020

acaatcaaaa caagtcatga atttatactg atattttcaa ttcaaattaa agatgaggtt 1080

tttgctaaat ttttttgagt ttatatttgt atgtcttatg ctgaaaaatc ttgtttccta 1140

attagtaaca taattattca tttgatgggt aaatatttta gggccgattc tttggtttta 1200

tagccaagat accctgttga taaagtcttg tgggagcaat tataagactg gcttattttg 1260

aagcttttta aaaaagacat ccttacctgt tttaactgta gattatatta acttaaatag 1320

gtacagccca cgcttgacta gttaacgctg gtgggtaggg atgagggagg gaggggcatt 1380

gtgatgtaca gggctgctct gtgagatcaa gggtctctta agggtgggag ctggggcagg 1440

gactacgaga gcagccagat gggctgaaag tggaactcaa ggggtttctg gcacctacct 1500

acctgcttcc cgctgggggg tggggagttg gcccagagtc ttaagattgg ggcagggtgg 1560

agaggtgggc tcttcctgct tcccactcat cttatagctt tctttcccca gatccgaatt 1620

cgagatccaa accaaggagg aaaggatatc acagaggaga 1660

<210> 20

<211> 1941

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 20

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc gccgccctac 720

ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc 780

ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc 840

ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct 900

tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat cactagtgtt 960

taaacagagt aatgacatgg ttccttccat cctccaaagg tgaccaataa tagtttgtaa 1020

gtatcattat gaactaatga attttcaaca tatttgatat atttcaatcc attgccatca 1080

ttgttcttat cgatatttga gttggctcac tttgccagta agagtctatt caaattggct 1140

tctgagtcca tttgacacaa caccttttgat ctttgacagt ttccttggtt ttaggtgcta 1200

gatgatttct caggctcacc ttagacattt cctgccacag acttagaatc agccatttct 1260

ctaaggaccc tgattccatt tcatgagaaa tgatagagac cacaatcaaa acaagtcatg 1320

aatttatact gatattttca attcaaatta aagatgaggt ttttgctaaa tttttttgag 1380

tttatatttg tatgtcttat gctgaaaaat cttgtttcct aattagtaac ataattattc 1440

atttgatggg taaatatttt agggccgatt ctttggtttt atagccaaga taccctgttg 1500

ataaagtctt gtgggagcaa ttataagact ggcttatttt gaagcttttt aaaaaagaca 1560

tccttacctg ttttaactgt agattatatt aacttaaata ggtacagccc acgcttgact 1620

agttaacgct ggtgggtagg gatgagggag ggaggggcat tgtgatgtac agggctgctc 1680

tgtgagatca agggtctctt aagggtggga gctggggcag ggactacgag agcagccaga 1740

tgggctgaaa gtggaactca aggggtttct ggcacctacc tacctgcttc ccgctggggg 1800

gtggggagtt ggcccagagt cttaagattg gggcagggtg gagaggtggg ctcttcctgc 1860

ttcccactca tcttatagct ttctttcccc agatccgaat tcgagatcca aaccaaggag 1920

gaaaggatat cacagaggag a 1941

<210> 21

<211> 1643

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 21

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccacta gtcgggtttg ccgccagaac acaggtaagt gccgtgtgtg 720

gttcccgcgg gcctggcctc tttacgggtt atggcccttg cgtgccttga attacttcca 780

cctggctgca gtacgtgatt cttgatcccg agcttcgggt tggaagtggg tgggagagtt 840

cgaggccttg cgcttaagga gcccccttcgc ctcgtgcttg agttgaggcc tggcctgggc 900

gctggggccg ccgcgtgcga atctggtggc accttcgcgc ctgtctcgct gctttcgata 960

agtctctagc catttaaaat ttttgatgac ctgctgcgac gctttttttc tggcaagata 1020

gtcttgtaaa tgcgggccaa gatctgcaca ctggtatttc ggtttttggg gccgcgggcg 1080

gcgacggggc ccgtgcgtcc cagcgcacat gttcggcgag gcggggcctg cgagcgcggc 1140

caccgagaat cggacggggg tagtctcaag ctggccggcc tgctctggtg cctggcctcg 1200

cgccgccgtg tatcgccccg ccctgggcgg caaggctggc ccggtcggca ccagttgcgt 1260

gagcggaaag atggccgctt cccggccctg ctgcagggag ctcaaaatgg aggacgcggc 1320

gctcgggaga gcgggcgggt gagtcaccca cacaaaggaa aagggccttt ccgtcctcag 1380

ccgtcgcttc atgtgactcc acggagtacc gggcgccgtc caggcacctc gattagttct 1440

cgagcttttg gagtacgtcg tctttaggtt gggggggaggg gttttatgcg atggagtttc 1500

cccacactga gtgggtggag actgaagtta ggccagcttg gcacttgatg taattctcct 1560

tggaatttgc ccttttgag tttggatctt ggttcattct caagcctcag acagtggttc 1620

aaagtttttt tcttccattt cag 1643

<210> 22

<211> 1051

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 22

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

```
aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc      180
caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt      240
acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta      300
ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc      360
ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg      420
cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac      480
tacaagtccc aggggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg      540
aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc      600
ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt      660
ggaggcggcc ggatccacta gttcagagag cctcggctag gtaggggatc gggactctgg      720
cgggagggcg gcttggtgcg tttgcgggga tgggcggccg cggcaggccc tccgagcgtg      780
gtggagccgt tctgtgagac agccgggtac gagtcgtgac gctggaaggg gcaagcgggt      840
ggtgggcagg aatgcggtcc gccctgcagc aaccggaggg ggagggagaa gggagcggaa      900
aagtctccac cggacgcggc catggctcgg ggggggggggg gcagcggagg agcgcttccg      960
gccgacgtct cgtcgctgat tggcttcttt tcctcccgcc gtgtgtgaaa acacaattgt     1020
actaaccttc ttctctttcc tctcctgaca g                                    1051
```

<210> 23

<211> 978

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 23

```
gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat       60
tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc      120
aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc      180
caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt      240
acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta      300
ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc      360
ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg      420
cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac      480
tacaagtccc aggggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg      540
aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc      600
ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt      660
```

ggaggcggcc ggatccacta gtcttcgagg ggctcgcatc tctccttcac gcgcccgccg 720

ccctacctga ggccgccatc cacgccggtt gagtcgcgtt ctgccgcctc ccgcctgtgg 780

tgcctcctga actgcgtccg ccgtctaggt aagtttaaag ctcaggtcga gaccgggcct 840

ttgtccggcg ctcccttgga gcctacctag actcagccgg ctctccacgc tttgcctgac 900

cctgcttgct caactctacg tctttgtttc gttttctgtt ctgcgccgtt acagatccaa 960

gctgtgaccg gcgcctac 978

<210> 24

<211> 844

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 24

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccacta gtgcagaagt tggtcgtgag gcactgggca ggtaagtatc 720

aaggttacaa gacaggttta aggagaccaa tagaaactgg gcttgtcgag acagagaaga 780

ctcttgcgtt tctgataggc acctattggt cttactgaca tccactttgc ctttctctcc 840

acag 844

<210> 25

<211> 1918

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 25

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc gccgccctac 720

ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc 780

ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc 840

ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct 900

tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat cactagtcgg 960

gtttgccgcc agaacacagg taagtgccgt gtgtggttcc cgcgggcctg gcctctttac 1020

gggttatggc ccttgcgtgc cttgaattac ttccacctgg ctgcagtacg tgattcttga 1080

tcccgagctt cgggttggaa gtgggtggga gagttcgagg ccttgcgctt aaggagcccc 1140

ttcgcctcgt gcttgagttg aggcctggcc tgggcgctgg ggccgccgcg tgcgaatctg 1200

gtggcacctt cgcgcctgtc tcgctgcttt cgataagtct ctagccattt aaaatttttg 1260

atgacctgct gcgacgcttt ttttctggca agatagtctt gtaaatgcgg gccaagatct 1320

gcacactggt atttcggttt ttggggccgc gggcggcgac ggggcccgtg cgtcccagcg 1380

cacatgttcg gcgaggcggg gcctgcgagc gcggccaccg agaatcggac ggggggtagtc 1440

tcaagctggc cggcctgctc tggtgcctgg cctcgcgccg ccgtgtatcg ccccgccctg 1500

ggcggcaagg ctggcccggt cggcaccagt tgcgtgagcg gaaagatggc cgcttcccgg 1560

ccctgctgca gggagctcaa aatggaggac gcggcgctcg ggagagcggg cgggtgagtc 1620

acccacacaa aggaaaaggg cctttccgtc ctcagccgtc gcttcatgtg actccacgga 1680

gtaccgggcg ccgtccaggc acctcgatta gttctcgagc ttttggagta cgtcgtcttt 1740

aggttggggg gaggggtttt atgcgatgga gtttccccac actgagtggg tggagactga 1800

agttaggcca gcttggcact tgatgtaatt ctccttggaa tttgcccttt ttgagtttgg 1860

atcttggttc attctcaagc ctcagacagt ggttcaaagt ttttttcttc catttcag 1918

<210> 26

<211> 1326

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 26

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc gccgccctac 720

ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc 780

ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc 840

ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct 900

tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat cactagttca 960

gagagcctcg gctaggtagg ggatcgggac tctggcggga gggcggcttg gtgcgtttgc 1020

ggggatgggc ggccgcggca ggccctccga gcgtggtgga gccgttctgt gagacagccg 1080

ggtacgagtc gtgacgctgg aaggggcaag cgggtggtgg gcaggaatgc ggtccgccct 1140

gcagcaaccg gaggggggagg gagaagggag cggaaaagtc tccaccggac gcggccatgg 1200

ctcgggggggg ggggggcagc ggaggagcgc ttccggccga cgtctcgtcg ctgattggct 1260

tcttttcctc ccgccgtgtg tgaaaacaca attgtactaa ccttcttctc tttcctctcc 1320

tgacag 1326

<210> 27

<211> 1263

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 27

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccacta ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc 720

gccgccctac ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct 780

gtggtgcctc ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg 840

gcctttgtcc ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc 900

tgaccctgct tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat 960

cactagtctt cgaggggctc gcatctctcc ttcacgcgcc cgccgcccta cctgaggccg 1020

ccatccacgc cggttgagtc gcgttctgcc gcctcccgcc tgtggtgcct cctgaactgc 1080

gtccgccgtc taggtaagtt taaagctcag gtcgagaccg ggcctttgtc cggcgctccc 1140

ttggagccta cctagactca gccggctctc cacgctttgc ctgaccctgc ttgctcaact 1200

ctacgtcttt gtttcgtttt ctgttctgcg ccgttacaga tccaagctgt gaccggcgcc 1260

tac 1263

<210> 28

<211> 1119

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 28

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc gccgccctac 720

ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc 780

ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc 840

ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct 900

tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat cactagtgca 960

gaagttggtc gtgaggcact gggcaggtaa gtatcaaggt tacaagacag gtttaaggag 1020

accaatagaa actgggcttg tcgagacaga gaagactctt gcgtttctga taggcaccta 1080

ttggtcttac tgacatccac tttgcctttc tctccacag 1119

<210> 29

<211> 2309

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 29

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccacta gtgtttaaac agagtaatga catggttcct tccatcctcc 720

aaaggtgacc aataatagtt tgtaagtatc attatgaact aatgaatttt caacatattt 780

gatatatttc aatccattgc catcattgtt cttatcgata tttgagttgg ctcactttgc 840

cagtaagagt ctattcaaat tggcttctga gtccatttga cacaacacct ttgatctttg 900

acagtttcct tggttttagg tgctagatga tttctcaggc tcaccttaga catttcctgc 960

cacagactta gaatcagcca tttctctaag gaccctgatt ccatttcatg agaaatgata 1020

gagaccacaa tcaaaacaag tcatgaattt atactgatat tttcaattca aattaaagat 1080

gaggtttttg ctaaattttt ttgagtttat atttgtatgt cttatgctga aaaatcttgt 1140

ttcctaatta gtaacataat tattcatttg atgggtaaat attttagggc cgattctttg 1200

gttttatagc caagataccc tgttgataaa gtcttgtggg agcaattata agactggctt 1260

attttgaagc tttttaaaaa agacatcctt acctgtttta actgtagatt atattaactt 1320

aaataggtac agcccacgct tgactagtcg ggtttgccgc cagaacacag gtaagtgccg 1380

tgtgtggttc ccgcgggcct ggcctcttta cgggttatgg cccttgcgtg ccttgaatta 1440

cttccacctg gctgcagtac gtgattcttg atcccgagct tcgggttgga agtgggtggg 1500

agagttcgag gccttgcgct taaggagccc cttcgcctcg tgcttgagtt gaggcctggc 1560

ctgggcgctg gggccgccgc gtgcgaatct ggtggcacct tcgcgcctgt ctcgctgctt 1620

tcgataagtc tctagccatt taaaattttt gatgacctgc tgcgacgctt tttttctggc 1680

aagatagtct tgtaaatgcg ggccaagatc tgcacactgg tatttcggtt tttggggccg 1740

cgggcggcga cggggcccgt gcgtcccagc gcacatgttc ggcgaggcgg ggcctgcgag 1800

cgcggccacc gagaatcgga cgggggtagt ctcaagctgg ccggcctgct ctggtgcctg 1860

gcctcgcgcc gccgtgtatc gccccgccct gggcggcaag gctggcccgg tcggcaccag 1920

ttgcgtgagc ggaaagatgg ccgcttcccg gccctgctgc agggagctca aaatggagga 1980

cgcggcgctc gggagagcgg gcgggtgagt cacccacaca aaggaaaagg gcctttccgt 2040

cctcagccgt cgcttcatgt gactccacgg agtaccgggc gccgtccagg cacctcgatt 2100

agttctcgag cttttggagt acgtcgtctt taggttgggg ggaggggttt tatgcgatgg 2160

agtttcccca cactgagtgg gtggagactg aagttaggcc agcttggcac ttgatgtaat 2220

tctccttgga atttgccctt tttgagtttg gatcttggtt cattctcaag cctcagacag 2280

tggttcaaag tttttttctt ccatttcag 2309

<210> 30

<211> 1717

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 30

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccacta gtgtttaaac agagtaatga catggttcct tccatcctcc 720

aaaggtgacc aataatagtt tgtaagtatc attatgaact aatgaatttt caacatattt 780

gatatatttc aatccattgc catcattgtt cttatcgata tttgagttgg ctcactttgc 840

cagtaagagt ctattcaaat tggcttctga gtccatttga cacaacacct ttgatctttg 900

acagtttcct tggttttagg tgctagatga tttctcaggc tcaccttaga catttcctgc 960

cacagactta gaatcagcca tttctctaag gaccctgatt ccatttcatg agaaatgata 1020

gagaccacaa tcaaaacaag tcatgaattt atactgatat tttcaattca aattaaagat 1080

gaggtttttg ctaaattttt ttgagtttat atttgtatgt cttatgctga aaaatcttgt 1140

ttcctaatta gtaacataat tattcatttg atgggtaaat attttagggc cgattctttg 1200

gttttatagc caagataccc tgttgataaa gtcttgtggg agcaattata agactggctt 1260

attttgaagc tttttaaaaa agacatcctt acctgtttta actgtagatt atattaactt 1320

aaataggtac agcccacgct tgactagttc agagagcctc ggctaggtag gggatcggga 1380

ctctggcggg agggcggctt ggtgcgtttg cggggatggg cggccgcggc aggccctccg 1440

agcgtggtgg agccgttctg tgagacagcc gggtacgagt cgtgacgctg gaaggggcaa 1500

gcgggtggtg ggcaggaatg cggtccgccc tgcagcaacc ggaggggggag ggagaaggga 1560

gcggaaaagt ctccaccgga cgcggccatg gctcgggggg ggggggggcag cggaggagcg 1620

cttccggccg acgtctcgtc gctgattggc ttcttttcct cccgccgtgt gtgaaaacac 1680

aattgtacta accttcttct ctttcctctc ctgacag 1717

<210> 31

<211> 1625

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 31

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc cagagtaatg acatggttcc ttccatcctc caaaggtgac caataatagt 720

ttgtaagtat cattatgaac taatgaattt tcaacatatt tgatatattt caatccattg 780

ccatcattgt tcttatcgat atttgagttg gctcactttg ccagtaagag tctattcaaa 840

ttggcttctg agtccatttg acacaacacc tttgatcttt gacagtttcc ttggttttag 900

gtgctagatg atttctcagg ctcaccttag acatttcctg ccacagactt agaatcagcc 960

atttctctaa ggaccctgat tccatttcat gagaaatgat agagaccaca atcaaaacaa 1020

gtcatgaatt tatactgata ttttcaattc aaattaaaga tgaggttttt gctaaatttt 1080

tttgagttta tatttgtatg tcttatgctg aaaaatcttg tttcctaatt agtaacataa 1140

ttattcattt gatgggtaaa tattttaggg ccgattcttt ggttttatag ccaagatacc 1200

ctgttgataa agtcttgtgg gagcaattat aagactggct tattttgaag ctttttaaaa 1260

aagacatcct tacctgtttt aactgtagat tatattaact taaataggta cagcccacgc 1320

ttgactagtc ttcgaggggc tcgcatctct ccttcacgcg cccgccgccc tacctgaggc 1380

cgccatccac gccggttgag tcgcgttctg ccgcctcccg cctgtggtgc ctcctgaact 1440

gcgtccgccg tctaggtaag tttaaagctc aggtcgagac cgggcctttg tccggcgctc 1500

ccttggagcc tacctagact cagccggctc tccacgcttt gcctgaccct gcttgctcaa 1560

ctctacgtct ttgtttcgtt ttctgttctg cgccgttaca gatccaagct gtgaccggcg 1620

cctac 1625

<210> 32

<211> 1491

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 32

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc cagagtaatg acatggttcc ttccatcctc caaaggtgac caataatagt 720

ttgtaagtat cattatgaac taatgaattt tcaacatatt tgatatattt caatccattg 780

ccatcattgt tcttatcgat atttgagttg gctcactttg ccagtaagag tctattcaaa 840

ttggcttctg agtccatttg acacaacacc tttgatcttt gacagtttcc ttggttttag 900

gtgctagatg atttctcagg ctcaccttag acatttcctg ccacagactt agaatcagcc 960

atttctctaa ggaccctgat tccatttcat gagaaatgat agagaccaca atcaaaacaa 1020

gtcatgaatt tatactgata ttttcaattc aaattaaaga tgaggttttt gctaaatttt 1080

tttgagttta tatttgtatg tcttatgctg aaaaatcttg tttcctaatt agtaacataa 1140

ttattcattt gatgggtaaa tattttaggg ccgattcttt ggttttatag ccaagatacc 1200

ctgttgataa agtcttgtgg gagcaattat aagactggct tattttgaag ctttttaaaa 1260

aagacatcct tacctgtttt aactgtagat tatattaact taaataggta cagcccacgc 1320

ttgactagtg cagaagttgg tcgtgaggca ctgggcaggt aagtatcaag gttacaagac 1380

aggtttaagg agaccaatag aaactgggct tgtcgagaca gagaagactc ttgcgtttct 1440

gataggcacc tattggtctt actgacatcc actttgcctt tctctccaca g 1491

<210> 33

<211> 1964

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 33

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aacgctggtg ggtagggatg agggagggag gggcattgtg 720

atgtacaggg ctgctctgtg agatcaaggg tctcttaagg gtgggagctg gggcagggac 780

tacgagagca gccagatggg ctgaaagtgg aactcaaggg gtttctggca cctacctacc 840

tgcttcccgc tggggggtgg ggagttggcc cagagtctta agattggggc agggtggaga 900

ggtgggctct tcctgcttcc cactcatctt atagctttct ttccccagat ccgaattcga 960

gatccaaacc aaggaggaaa ggatatcaca gaggagagct agtcgggttt gccgccagaa 1020

cacaggtaag tgccgtgtgt ggttcccgcg ggcctggcct ctttacgggt tatggccctt 1080

gcgtgccttg aattacttcc acctggctgc agtacgtgat tcttgatccc gagcttcggg 1140

ttggaagtgg gtgggagagt tcgaggcctt gcgcttaagg agcccccttcg cctcgtgctt 1200

gagttgaggc ctggcctggg cgctggggcc gccgcgtgcg aatctggtgg caccttcgcg 1260

cctgtctcgc tgctttcgat aagtctctag ccatttaaaa tttttgatga cctgctgcga 1320

cgctttttt ctggcaagat agtcttgtaa atgcgggcca agatctgcac actggtattt 1380

cggtttttgg ggccgcgggc ggcgacgggg cccgtgcgtc ccagcgcaca tgttcggcga 1440

ggcggggcct gcgagcgcgg ccaccgagaa tcggacgggg gtagtctcaa gctggccggc 1500

ctgctctggt gcctggcctc gcgccgccgt gtatcgcccc gccctgggcg gcaaggctgg 1560

cccggtcggc accagttgcg tgagcggaaa gatggccgct tcccggccct gctgcaggga 1620

gctcaaaatg gaggacgcgg cgctcgggag agcgggcggg tgagtcaccc acacaaagga 1680

aaagggcctt tccgtcctca gccgtcgctt catgtgactc cacggagtac cgggcgccgt 1740

ccaggcacct cgattagttc tcgagctttt ggagtacgtc gtctttaggt tgggggggagg 1800

ggttttatgc gatggagttt ccccacactg agtgggtgga gactgaagtt aggccagctt 1860

ggcacttgat gtaattctcc ttggaatttg ccctttttga gtttggatct tggttcattc 1920

tcaagcctca gacagtggtt caaagttttt ttcttccatt tcag 1964

<210> 34

<211> 1372

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 34

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aacgctggtg ggtagggatg agggagggag gggcattgtg 720

atgtacaggg ctgctctgtg agatcaaggg tctcttaagg gtgggagctg gggcagggac 780

tacgagagca gccagatggg ctgaaagtgg aactcaaggg gtttctggca cctacctacc 840

tgcttcccgc tgggggggtgg ggagttggcc cagagtctta agattggggc agggtggaga 900

ggtgggctct tcctgcttcc cactcatctt atagctttct ttccccagat ccgaattcga 960

gatccaaacc aaggaggaaa ggatatcaca gaggagagct agttcagaga gcctcggcta 1020

ggtaggggat cgggactctg gcgggagggc ggcttggtgc gtttgcgggg atgggcggcc 1080

gcggcaggcc ctccgagcgt ggtggagccg ttctgtgaga cagccgggta cgagtcgtga 1140

cgctggaagg ggcaagcggg tggtgggcag gaatgcggtc cgccctgcag caaccggagg 1200

gggagggaga agggagcgga aaagtctcca ccggacgcgg ccatggctcg gggggggggg 1260

ggcagcggag gagcgcttcc ggccgacgtc tcgtcgctga ttggcttctt ttcctcccgc 1320

cgtgtgtgaa aacacaattg tactaacctt cttctctttc ctctcctgac ag 1372

<210> 35

<211> 1302

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 35

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccacta gttaacgctg gtgggtaggg atgagggagg gaggggcatt 720

gtgatgtaca gggctgctct gtgagatcaa gggtctctta agggtgggag ctggggcagg 780

gactacgaga gcagccagat gggctgaaag tggaactcaa ggggtttctg gcacctacct 840

acctgcttcc cgctgggggg tggggagttg gcccagagtc ttaagattgg ggcagggtgg 900

agaggtgggc tcttcctgct tcccactcat cttatagctt tctttcccca gatccgaatt 960

cgagatccaa accaaggagg aaaggatatc acagaggaga gctagtcttc gaggggctcg 1020

catctctcct tcacgcgccc gccgccctac ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg 1080

cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt 1140

aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc ggcgctccct tggagcctac ctagactcag 1200

ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc 1260

tgttctgcgc cgttacagat ccaagctgtg accggcgcct ac 1302

<210> 36

<211> 1168

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 36

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccacta gttaacgctg gtgggtaggg atgagggagg gaggggcatt 720

gtgatgtaca gggctgctct gtgagatcaa gggtctctta agggtgggag ctggggcagg 780

gactacgaga gcagccagat gggctgaaag tggaactcaa ggggtttctg gcacctacct 840

acctgcttcc cgctgggggg tggggagttg gcccagagtc ttaagattgg ggcagggtgg 900

agaggtgggc tcttcctgct tcccactcat cttatagctt tctttcccca gatccgaatt 960

cgagatccaa accaaggagg aaaggatatc acagaggaga gctagtgcag aagttggtcg 1020

tgaggcactg ggcaggtaag tatcaaggtt acaagacagg tttaaggaga ccaatagaaa 1080

ctgggcttgt cgagacagag aagactcttg cgtttctgat aggcacctat tggtcttact 1140

gacatccact ttgcctttct ctccacag 1168

<210> 37

<211> 2584

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 37

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgccccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc gccgccctac 720

ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc 780

ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc 840

ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct 900

tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat cactagtgtt 960

taaacagagt aatgacatgg ttccttccat cctccaaagg tgaccaataa tagtttgtaa 1020

gtatcattat gaactaatga attttcaaca tatttgatat atttcaatcc attgccatca 1080

ttgttcttat cgatatttga gttggctcac tttgccagta agagtctatt caaattggct 1140

tctgagtcca tttgacacaa caccttttgat ctttgacagt ttccttggtt ttaggtgcta 1200

gatgatttct caggctcacc ttagacattt cctgccacag acttagaatc agccatttct 1260

ctaaggaccc tgattccatt tcatgagaaa tgatagagac cacaatcaaa acaagtcatg 1320

aatttatact gatattttca attcaaatta aagatgaggt ttttgctaaa ttttttgag 1380

tttatatttg tatgtcttat gctgaaaaat cttgtttcct aattagtaac ataattattc 1440

atttgatggg taaatatttt agggccgatt ctttggtttt atagccaaga taccctgttg 1500

ataaagtctt gtgggagcaa ttataagact ggcttatttt gaagcttttt aaaaaagaca 1560

tccttacctg ttttaactgt agattatatt aacttaaata ggtacagccc acgcttgact 1620

agtcgggttt gccgccagaa cacaggtaag tgccgtgtgt ggttcccgcg ggcctggcct 1680

ctttacgggt tatggcccttt gcgtgccttg aattacttcc acctggctgc agtacgtgat 1740

tcttgatccc gagcttcggg ttggaagtgg gtgggagagt tcgaggcctt gcgcttaagg 1800

agcccctcg cctcgtgctt gagttgaggc ctggcctggg cgctggggcc gccgcgtgcg 1860

aatctggtgg caccttcgcg cctgtctcgc tgctttcgat aagtctctag ccatttaaaa 1920

tttttgatga cctgctgcga cgctttttttt ctggcaagat agtcttgtaa atgcgggcca 1980

agatctgcac actggtattt cggtttttgg ggccgcgggc ggcgacgggg cccgtgcgtc 2040

ccagcgcaca tgttcggcga ggcggggcct gcgagcgcgg ccaccgagaa tcggacgggg 2100

gtagtctcaa gctggccggc ctgctctggt gcctggcctc gcgccgccgt gtatcgcccc 2160

gccctgggcg gcaaggctgg cccggtcggc accagttgcg tgagcggaaa gatggccgct 2220

tcccggccct gctgcaggga gctcaaaatg gaggacgcgg cgctcgggag agcgggcggg 2280

tgagtcaccc acacaaagga aaagggcctt tccgtcctca gccgtcgctt catgtgactc 2340

cacggagtac cgggcgccgt ccaggcacct cgattagttc tcgagctttt ggagtacgtc 2400

gtctttaggt tgggggggagg ggttttatgc gatggagttt ccccacactg agtgggtgga 2460

gactgaagtt aggccagctt ggcacttgat gtaattctcc ttggaatttg ccctttttga 2520

gtttggatct tggttcattc tcaagcctca gacagtggtt caaagttttt ttcttccatt 2580

tcag 2584

<210> 38

<211> 1992

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 38

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc gccgccctac 720

ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc 780

ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc 840

ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct 900

tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat cactagtgtt 960

taaacagagt aatgacatgg ttccttccat cctccaaagg tgaccaataa tagtttgtaa 1020

gtatcattat gaactaatga attttcaaca tatttgatat atttcaatcc attgccatca 1080

ttgttcttat cgatatttga gttggctcac tttgccagta agagtctatt caaattggct 1140

tctgagtcca tttgacacaa cacctttgat ctttgacagt ttccttggtt ttaggtgcta 1200

gatgatttct caggctcacc ttagacattt cctgccacag acttagaatc agccatttct 1260

ctaaggaccc tgattccatt tcatgagaaa tgatagagac cacaatcaaa acaagtcatg 1320

aatttatact gatattttca attcaaatta aagatgaggt ttttgctaaa tttttttgag 1380

tttatatttg tatgtcttat gctgaaaaat cttgtttcct aattagtaac ataattattc 1440

atttgatggg taaatatttt agggccgatt ctttggtttt atagccaaga taccctgttg 1500

ataaagtctt gtgggagcaa ttataagact ggcttatttt gaagcttttt aaaaaagaca 1560

tccttacctg ttttaactgt agattatatt aacttaaata ggtacagccc acgcttgact 1620

agttcagaga gcctcggcta ggtaggggat cgggactctg gcgggagggc ggcttggtgc 1680

gtttgcgggg atgggcggcc gcggcaggcc ctccgagcgt ggtggagccg ttctgtgaga 1740

cagccgggta cgagtcgtga cgctggaagg ggcaagcggg tggtgggcag gaatgcggtc 1800

cgccctgcag caaccggagg gggagggaga agggagcgga aaagtctcca ccggacgcgg 1860

ccatggctcg gggggggggg ggcagcggag gagcgcttcc ggccgacgtc tcgtcgctga 1920

ttggcttctt ttcctcccgc cgtgtgtgaa aacacaattg tactaacctt cttctctttc 1980

ctctcctgac ag 1992

<210> 39

<211> 1929

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 39

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccacta ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc 720

gccgccctac ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct 780

gtggtgcctc ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg 840

gcctttgtcc ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc 900

tgaccctgct tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat 960

cactagtgtt taaacagagt aatgacatgg ttccttccat cctccaaagg tgaccaataa 1020

tagtttgtaa gtatcattat gaactaatga attttcaaca tatttgatat atttcaatcc 1080

attgccatca ttgttcttat cgatatttga gttggctcac tttgccagta agagtctatt 1140

caaattggct tctgagtcca tttgacacaa caccttttgat ctttgacagt ttccttggtt 1200

ttaggtgcta gatgatttct caggctcacc ttagacattt cctgccacag acttagaatc 1260

agccatttct ctaaggaccc tgattccatt tcatgagaaa tgatagagac cacaatcaaa 1320

acaagtcatg aatttatact gatattttca attcaaatta aagatgaggt ttttgctaaa 1380

ttttttgag tttatatttg tatgtcttat gctgaaaaat cttgtttcct aattagtaac 1440

ataattattc atttgatggg taaatatttt agggccgatt ctttggtttt atagccaaga 1500

taccctgttg ataaagtctt gtgggagcaa ttataagact ggcttatttt gaagcttttt 1560

aaaaaagaca tccttacctg ttttaactgt agattatatt aacttaaata ggtacagccc 1620

acgcttgact agtcttcgag gggctcgcat ctctccttca cgcgcccgcc gccctacctg 1680

aggccgccat ccacgccggt tgagtcgcgt tctgccgcct cccgcctgtg gtgcctcctg 1740

aactgcgtcc gccgtctagg taagtttaaa gctcaggtcg agaccgggcc tttgtccggc 1800

gctcccttgg agcctaccta gactcagccg gctctccacg ctttgcctga ccctgcttgc 1860

tcaactctac gtctttgttt cgttttctgt tctgcgccgt tacagatcca agctgtgacc 1920

ggcgcctac 1929

<210> 40

<211> 1785

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 40

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc gccgccctac 720

ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc 780

ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc 840

ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct 900

tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat cactagtgtt 960

taaacagagt aatgacatgg ttccttccat cctccaaagg tgaccaataa tagtttgtaa 1020

gtatcattat gaactaatga attttcaaca tatttgatat atttcaatcc attgccatca 1080

ttgttcttat cgatatttga gttggctcac tttgccagta agagtctatt caaattggct 1140

tctgagtcca tttgacacaa caccttttgat ctttgacagt ttccttggtt ttaggtgcta 1200

gatgatttct caggctcacc ttagacattt cctgccacag acttagaatc agccatttct 1260

ctaaggaccc tgattccatt tcatgagaaa tgatagagac cacaatcaaa acaagtcatg 1320

aatttatact gatattttca attcaaatta aagatgaggt ttttgctaaa tttttttgag 1380

tttatatttg tatgtcttat gctgaaaaat cttgtttcct aattagtaac ataattattc 1440

atttgatggg taaatatttt agggccgatt ctttggtttt atagccaaga taccctgttg 1500

ataaagtctt gtgggagcaa ttataagact ggcttatttt gaagcttttt aaaaaagaca 1560

tccttacctg ttttaactgt agattatatt aacttaaata ggtacagccc acgcttgact 1620

agtgcagaag ttggtcgtga ggcactgggc aggtaagtat caaggttaca agacaggttt 1680

aaggagacca atagaaactg ggcttgtcga gacagagaag actcttgcgt ttctgatagg 1740

cacctattgg tcttactgac atccactttg cctttctctc cacag 1785

<210> 41

<211> 2242

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 41

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc gccgccctac 720

ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc 780

ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc 840

ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct 900

tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat cactagttaa 960

cgctggtggg tagggatgag ggagggaggg gcattgtgat gtacagggct gctctgtgag 1020

atcaagggtc tcttaagggt gggagctggg gcagggacta cgagagcagc cagatgggct 1080

gaaagtggaa ctcaaggggt ttctggcacc tacctacctg cttcccgctg gggggtgggg 1140

agttggccca gagtcttaag attggggcag ggtggagagg tgggctcttc ctgcttccca 1200

ctcatcttat agctttcttt ccccagatcc gaattcgaga tccaaaccaa ggaggaaagg 1260

atatcacaga ggagagctag tcgggtttgc cgccagaaca caggtaagtg ccgtgtgtgg 1320

ttcccgcggg cctggcctct ttacgggtta tggcccttgc gtgccttgaa ttacttccac 1380

ctggctgcag tacgtgattc ttgatcccga gcttcgggtt ggaagtgggt gggagagttc 1440

gaggccttgc gcttaaggag ccccttcgcc tcgtgcttga gttgaggcct ggcctgggcg 1500

ctggggccgc cgcgtgcgaa tctggtggca ccttcgcgcc tgtctcgctg ctttcgataa 1560

gtctctagcc atttaaaatt tttgatgacc tgctgcgacg ctttttttct ggcaagatag 1620

tcttgtaaat gcgggccaag atctgcacac tggtatttcg gttttgggg ccgcgggcgg 1680

cgacggggcc cgtgcgtccc agcgcacatg ttcggcgagg cggggcctgc gagcgcggcc 1740

accgagaatc ggacgggggt agtctcaagc tggccggcct gctctggtgc ctggcctcgc 1800

gccgccgtgt atcgccccgc cctgggcggc aaggctggcc cggtcggcac cagttgcgtg 1860

agcggaaaga tggccgcttc ccggccctgc tgcagggagc tcaaaatgga ggacgcggcg 1920

ctcgggagag cgggcgggtg agtcacccac acaaaggaaa agggcctttc cgtcctcagc 1980

cgtcgcttca tgtgactcca cggagtaccg ggcgccgtcc aggcacctcg attagttctc 2040

gagcttttgg agtacgtcgt ctttaggttg gggggagggg ttttatgcga tggagtttcc 2100

ccacactgag tgggtggaga ctgaagttag gccagcttgg cacttgatgt aattctcctt 2160

ggaatttgcc ctttttgagt ttggatcttg gttcattctc aagcctcaga cagtggttca 2220

aagtttttt cttccatttc ag 2242

<210> 42

<211> 1650

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 42

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc gccgccctac 720

ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc 780

ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc 840

ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct 900

tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat cactagttaa 960

cgctggtggg tagggatgag ggagggaggg gcattgtgat gtacagggct gctctgtgag 1020

atcaagggtc tcttaagggt gggagctggg gcagggacta cgagagcagc cagatgggct 1080

gaaagtggaa ctcaaggggt ttctggcacc tacctacctg cttcccgctg gggggtgggg 1140

agttggccca gagtcttaag attggggcag ggtggagagg tgggctcttc ctgcttccca 1200

ctcatcttat agctttcttt ccccagatcc gaattcgaga tccaaaccaa ggaggaaagg 1260

atatcacaga ggagagctag ttcagagagc ctcggctagg taggggatcg ggactctggc 1320

gggagggcgg cttggtgcgt ttgcggggat gggcggccgc ggcaggccct ccgagcgtgg 1380

tggagccgtt ctgtgagaca gccgggtacg agtcgtgacg ctggaagggg caagcgggtg 1440

gtgggcagga atgcggtccg ccctgcagca accggagggg gagggagaag ggagcggaaa 1500

agtctccacc ggacgcggcc atggctcggg gggggggggg cagcggagga gcgcttccgg 1560

ccgacgtctc gtcgctgatt ggcttctttt cctcccgccg tgtgtgaaaa cacaattgta 1620

ctaaccttct tctctttcct ctcctgacag 1650

<210> 43

<211> 1587

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 43

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccacta ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc 720

gccgccctac ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct 780

gtggtgcctc ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg 840

gcctttgtcc ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc 900

tgaccctgct tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat 960

cactagttaa cgctggtggg tagggatgag ggagggaggg gcattgtgat gtacagggct 1020

gctctgtgag atcaagggtc tcttaagggt gggagctggg gcagggacta cgagagcagc 1080

cagatgggct gaaagtggaa ctcaaggggt ttctggcacc tacctacctg cttcccgctg 1140

gggggtgggg agttggccca gagtcttaag attggggcag ggtggagagg tgggctcttc 1200

ctgcttccca ctcatcttat agctttcttt ccccagatcc gaattcgaga tccaaaccaa 1260

ggaggaaagg atatcacaga ggagagctag tcttcgaggg gctcgcatct ctccttcacg 1320

cgcccgccgc cctacctgag gccgccatcc acgccggttg agtcgcgttc tgccgcctcc 1380

cgcctgtggt gcctcctgaa ctgcgtccgc cgtctaggta agtttaaagc tcaggtcgag 1440

accgggcctt tgtccggcgc tcccttggag cctacctaga ctcagccggc tctccacgct 1500

ttgcctgacc ctgcttgctc aactctacgt ctttgtttcg ttttctgttc tgcgccgtta 1560

cagatccaag ctgtgaccgg cgcctac 1587

<210> 44

<211> 1443

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 44

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gacgcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cgccgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gccgcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catcctcctt tcacgcgccc gccgccctac 720

ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtcgtgcctc 780

ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc 840

ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct 900

tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat cactagttaa 960

cgctggtggg tagggatgag ggagggaggg gcattgtgat gtacagggct gctctgtgag 1020

atcaagggtc tcttaagggt gggagctggg gcagggacta cgagagcagc cacatgggct 1080

gaaagtggaa ctcaaggggt ttctggcacc tacctacctg cttcccgctg gggggtgggg 1140

agttggccca gagtcttaag attggggcag ggtggagagg tgggctcttc ctgcttccca 1200

ctcatcttat agctttcttt ccccagatcc gaattcgaga tccaaaccaa ggaggaaagg 1260

atatcacaga ggagagctag tgcagaagtt ggtcgtgagg cactgggcag gtaagtatca 1320

aggttacaag acaggtttaa ggagaccaat agaaactggg cttgtcgaga cagagaagac 1380

tcttgcgttt ctgataggca cctattggtc ttactgacat ccactttgcc tttctctcca 1440

cag 1443

<210> 45

<211> 2627

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 45

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacagagta atgacatggt tccttccatc ctccaaaggt 720

gaccaataat agtttgtaag tatcattatg aactaatgaa ttttcaacat atttgatata 780

tttcaatcca ttgccatcat tgttcttatc gatatttgag ttggctcact ttgccagtaa 840

gagtctattc aaattggctt ctgagtccat ttgacacaac acctttgatc tttgacagtt 900

tccttggttt taggtgctag atgatttctc aggctcacct tagacatttc ctgccacaga 960

cttagaatca gccatttctc taaggaccct gattccattt catgagaaat gatagagacc 1020

acaatcaaaa caagtcatga atttatactg atattttcaa ttcaaattaa agatgaggtt 1080

tttgctaaat ttttttgagt ttatatttgt atgtcttatg ctgaaaaatc ttgtttccta 1140

attagtaaca taattattca tttgatgggt aaatatttta gggccgattc tttggtttta 1200

tagccaagat accctgttga taaagtcttg tgggagcaat tataagactg gcttattttg 1260

aagcttttta aaaaagacat ccttacctgt tttaactgta gattatatta acttaaatag 1320

gtacagccca cgcttgacta gttaacgctg gtgggtaggg atgagggagg gaggggcatt 1380

gtgatgtaca gggctgctct gtgagatcaa gggtctctta agggtgggag ctggggcagg 1440

gactacgaga gcagccagat gggctgaaag tggaactcaa ggggtttctg gcacctacct 1500

acctgcttcc cgctgggggg tggggagttg gcccagagtc ttaagattgg ggcagggtgg 1560

agaggtgggc tcttcctgct tcccactcat cttatagctt tctttcccca gatccgaatt 1620

cgagatccaa accaaggagg aaaggatatc acagaggaga gctagtcggg tttgccgcca 1680

gaacacaggt aagtgccgtg tgtggttccc gcgggcctgg cctctttacg ggttatggcc 1740

cttgcgtgcc ttgaattact tccacctggc tgcagtacgt gattcttgat cccgagcttc 1800

gggttggaag tgggtgggag agttcgaggc cttgcgctta aggagcccct tcgcctcgtg 1860

cttgagttga ggcctggcct gggcgctggg gccgccgcgt gcgaatctgg tggcaccttc 1920

gcgcctgtct cgctgctttc gataagtctc tagccattta aaatttttga tgacctgctg 1980

cgacgctttt tttctggcaa gatagtcttg taaatgcggg ccaagatctg cacactggta 2040

tttcggtttt tggggccgcg ggcggcgacg gggcccgtgc gtcccagcgc acatgttcgg 2100

cgaggcgggg cctgcgagcg cggccaccga gaatcggacg ggggtagtct caagctggcc 2160

ggcctgctct ggtgcctggc ctcgcgccgc cgtgtatcgc cccgccctgg gcggcaaggc 2220

tggcccggtc ggcaccagtt gcgtgagcgg aaagatggcc gcttcccggc cctgctgcag 2280

ggagctcaaa atggaggacg cggcgctcgg gagagcgggc gggtgagtca cccacacaaa 2340

ggaaaagggc ctttccgtcc tcagccgtcg cttcatgtga ctccacggag taccgggcgc 2400

cgtccaggca cctcgattag ttctcgagct tttggagtac gtcgtcttta ggttgggggg 2460

aggggtttta tgcgatggag tttccccaca ctgagtgggt ggagactgaa gttaggccag 2520

cttggcactt gatgtaattc tccttggaat ttgcccttt tgagtttgga tcttggttca 2580

ttctcaagcc tcagacagtg gttcaaagtt tttttcttcc atttcag 2627

<210> 46

<211> 1946

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 46

gtaacgccaa tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc 60

cacttggcag tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac 120

ggtaaatggc ccgcctggca ttatgcccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg 180

cagtacatct acgtattagt catcgctatt accatggccc gggtcgcgac atgcagcggg 240

acgcgccacc ccgagcccca gctccggcgc cccggctccc cgcgcccccg atcggggccg 300

ccgctagtag tggcggcggc ggaggcgggg gcagcggcgg cggcggcgga ggcgcctctg 360

cagctccggc tccccctggc ctctcgggaa ctacaagtcc caggggggcct ggcggtgggc 420

ggcgggcgga agaggcgggg tcggcgccgc gaggccggaa gtggccgtgg aggcggaagt 480

ggcgcggccg cggaggggcc tggagtgcgg cggcggcggg acccggagca ggagcggcgg 540

cagcagcgac tgggggcggc ggcggcgcgt tggaggcggc cggatccgtt taaacagagt 600

aatgacatgg ttccttccat cctccaaagg tgaccaataa tagtttgtaa gtatcattat 660

gaactaatga attttcaaca tatttgatat atttcaatcc attgccatca ttgttcttat 720

cgatatttga gttggctcac tttgccagta agagtctatt caaattggct tctgagtcca 780

tttgacacaa caccttttgat ctttgacagt ttccttggtt ttaggtgcta gatgatttct 840

caggctcacc ttagacattt cctgccacag acttagaatc agccatttct ctaaggaccc 900

tgattccatt tcatgagaaa tgatagagac cacaatcaaa acaagtcatg aatttatact 960

gatattttca attcaaatta aagatgaggt ttttgctaaa tttttttgag tttatatttg 1020

tatgtcttat gctgaaaaat cttgtttcct aattagtaac ataattattc atttgatggg 1080

taaatatttt agggccgatt ctttggtttt atagccaaga taccctgttg ataaagtctt 1140

gtgggagcaa ttataagact ggcttatttt gaagcttttt aaaaaagaca tccttacctg 1200

ttttaactgt agattatatt aacttaaata ggtacagccc acgcttgact agttaacgct 1260

ggtgggtagg gatgagggag ggaggggcat tgtgatgtac agggctgctc tgtgagatca 1320

agggtctctt aagggtggga gctggggcag ggactacgag agcagccaga tgggctgaaa 1380

gtggaactca aggggtttct ggcacctacc tacctgcttc ccgctggggg gtggggagtt 1440

ggcccagagt cttaagattg gggcagggtg gagaggtggg ctcttcctgc ttcccactca 1500

tcttatagct ttctttcccc agatccgaat tcgagatcca aaccaaggag gaaaggatat 1560

cacagaggag agctagttca gagagcctcg gctaggtagg ggatcgggac tctggcggga 1620

gggcggcttg gtgcgtttgc ggggatgggc ggccgcggca ggccctccga gcgtggtgga 1680

gccgttctgt gagacagccg ggtacgagtc gtgacgctgg aaggggcaag cgggtggtgg 1740

gcaggaatgc ggtccgccct gcagcaaccg gaggggggagg gagaagggag cggaaaagtc 1800

tccaccggac gcggccatgg ctcgggggggg ggggggcagc ggaggagcgc ttccggccga 1860

cgtctcgtcg ctgattggct tcttttcctc ccgccgtgtg tgaaaacaca attgtactaa 1920

ccttcttctc tttcctctcc tgacag 1946

<210> 47

<211> 1968

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 47

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccacta gtgtttaaac agagtaatga catggttcct tccatcctcc 720

aaaggtgacc aataatagtt tgtaagtatc attatgaact aatgaatttt caacatattt 780

gatatatttc aatccattgc catcattgtt cttatcgata tttgagttgg ctcactttgc 840

cagtaagagt ctattcaaat tggcttctga gtccatttga cacaacacct ttgatctttg 900

acagtttcct tggttttagg tgctagatga tttctcaggc tcaccttaga catttcctgc 960

cacagactta gaatcagcca tttctctaag gaccctgatt ccatttcatg agaaatgata 1020

gagaccacaa tcaaaacaag tcatgaattt atactgatat tttcaattca aattaaagat 1080

gaggtttttg ctaaattttt ttgagtttat atttgtatgt cttatgctga aaaatcttgt 1140

ttcctaatta gtaacataat tattcatttg atgggtaaat attttagggc cgattctttg 1200

gttttatagc caagataccc tgttgataaa gtcttgtggg agcaattata agactggctt 1260

attttgaagc tttttaaaaa agacatcctt acctgtttta actgtagatt atattaactt 1320

aaataggtac agcccacgct tgactagtta acgctggtgg gtagggatga gggagggagg 1380

ggcattgtga tgtacagggc tgctctgtga gatcaagggt ctcttaaggg tgggagctgg 1440

ggcagggact acgagagcag ccagatgggc tgaaagtgga actcaagggg tttctggcac 1500

ctacctacct gcttcccgct ggggggtggg gagttggccc agagtcttaa gattggggca 1560

gggtggagag gtgggctctt cctgcttccc actcatctta tagctttctt tccccagatc 1620

cgaattcgag atccaaacca aggaggaaag gatatcacag aggagagcta gtcttcgagg 1680

ggctcgcatc tctccttcac gcgcccgccg ccctacctga ggccgccatc cacgccggtt 1740

gagtcgcgtt ctgccgcctc ccgcctgtgg tgcctcctga actgcgtccg ccgtctaggt 1800

aagtttaaag ctcaggtcga gaccgggcct ttgtccggcg ctcccttgga gcctacctag 1860

actcagccgg ctctccacgc tttgcctgac cctgcttgct caactctacg tctttgtttc 1920

gttttctgtt ctgcgccgtt acagatccaa gctgtgaccg gcgcctac 1968

<210> 48

<211> 1834

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 48

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccacta gtgtttaaac agagtaatga catggttcct tccatcctcc 720

aaaggtgacc aataatagtt tgtaagtatc attatgaact aatgaatttt caacatattt 780

gatatatttc aatccattgc catcattgtt cttatcgata tttgagttgg ctcactttgc 840

cagtaagagt ctattcaaat tggcttctga gtccatttga cacaacacct ttgatctttg 900

acagtttcct tggttttagg tgctagatga tttctcaggc tcaccttaga catttcctgc 960

cacagactta gaatcagcca tttctctaag gaccctgatt ccatttcatg agaaatgata 1020

gagaccacaa tcaaaacaag tcatgaattt atactgatat tttcaattca aattaaagat 1080

gaggtttttg ctaaattttt ttgagtttat atttgtatgt cttatgctga aaaatcttgt 1140

ttcctaatta gtaacataat tattcatttg atgggtaaat attttagggc cgattctttg 1200

10

gttttatagc caagataccc tgttgataaa gtcttgtggg agcaattata agactggctt 1260

attttgaagc tttttaaaaa agacatcctt acctgtttta actgtagatt atattaactt 1320

aaataggtac agcccacgct tgactagtta acgctggtgg gtagggatga gggagggagg 1380

ggcattgtga tgtacagggc tgctctgtga gatcaagggt ctcttaaggg tgggagctgg 1440

ggcagggact acgagagcag ccagatgggc tgaaagtgga actcaagggg tttctggcac 1500

ctacctacct gcttcccgct ggggggtggg gagttggccc agagtcttaa gattggggca 1560

gggtggagag gtgggctctt cctgcttccc actcatctta tagctttctt tccccagatc 1620

cgaattcgag atccaaacca aggaggaaag gatatcacag aggagagcta gtgcagaagt 1680

tggtcgtgag gcactgggca ggtaagtatc aaggttacaa gacaggttta aggagaccaa 1740

tagaaactgg gcttgtcgag acagagaaga ctcttgcgtt tctgataggc acctattggt 1800

cttactgaca tccactttgc ctttctctcc acag 1834

<210> 49

<211> 2908

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 49

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc gccgccctac 720

ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc 780

ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc 840

ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct 900

tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat cactagtgtt 960

taaacagagt aatgacatgg ttccttccat cctccaaagg tgaccaataa tagtttgtaa 1020

gtatcattat gaactaatga attttcaaca tatttgatat atttcaatcc attgccatca 1080

ttgttcttat cgatatttga gttggctcac tttgccagta agagtctatt caaattggct 1140

tctgagtcca tttgacacaa cacctttgat ctttgacagt ttccttggtt ttaggtgcta 1200

gatgatttct caggctcacc ttagacattt cctgccacag acttagaatc agccatttct 1260

ctaaggaccc tgattccatt tcatgagaaa tgatagagac cacaatcaaa acaagtcatg 1320

aatttatact gatattttca attcaaatta aagatgaggt ttttgctaaa ttttttgag 1380

tttatatttg tatgtcttat gctgaaaaat cttgtttcct aattagtaac ataattattc 1440

atttgatggg taaatatttt agggccgatt ctttggtttt atagccaaga taccctgttg 1500

ataaagtctt gtgggagcaa ttataagact ggcttatttt gaagcttttt aaaaaagaca 1560

tccttacctg ttttaactgt agattatatt aacttaaata ggtacagccc acgcttgact 1620

agttaacgct ggtgggtagg gatgagggag ggaggggcat tgtgatgtac agggctgctc 1680

tgtgagatca agggtctctt aagggtggga gctggggcag ggactacgag agcagccaga 1740

tgggctgaaa gtggaactca aggggtttct ggcacctacc tacctgcttc ccgctggggg 1800

gtggggagtt ggcccagagt cttaagattg gggcagggtg gagaggtggg ctcttcctgc 1860

ttcccactca tcttatagct ttctttcccc agatccgaat tcgagatcca aaccaaggag 1920

gaaaggatat cacagaggag agctagtcgg gtttgccgcc agaacacagg taagtgccgt 1980

gtgtggttcc cgcgggcctg gcctctttac gggttatggc ccttgcgtgc cttgaattac 2040

ttccacctgg ctgcagtacg tgattcttga tcccgagctt cgggttggaa gtgggtggga 2100

gagttcgagg ccttgcgctt aaggagcccc ttcgcctcgt gcttgagttg aggcctggcc 2160

tgggcgctgg ggccgccgcg tgcgaatctg gtggcacctt cgcgcctgtc tcgctgcttt 2220

cgataagtct ctagccattt aaaatttttg atgacctgct gcgacgcttt ttttctggca 2280

agatagtctt gtaaatgcgg gccaagatct gcacactggt atttcggttt ttggggccgc 2340

gggcggcgac ggggcccgtg cgtcccagcg cacatgttcg gcgaggcggg gcctgcgagc 2400

gcggccaccg agaatcggac gggggtagtc tcaagctggc cggcctgctc tggtgcctgg 2460

cctcgcgccg ccgtgtatcg ccccgccctg ggcggcaagg ctggcccggt cggcaccagt 2520

tgcgtgagcg gaaagatggc cgcttcccgg ccctgctgca gggagctcaa aatggaggac 2580

gcggcgctcg ggagagcggg cgggtgagtc acccacacaa aggaaaaggg cctttccgtc 2640

ctcagccgtc gcttcatgtg actccacgga gtaccgggcg ccgtccaggc acctcgatta 2700

gttctcgagc ttttggagta cgtcgtcttt aggttggggg gaggggtttt atgcgatgga 2760

gtttccccac actgagtggg tggagactga agttaggcca gcttggcact tgatgtaatt 2820

ctccttggaa tttgcccttt ttgagtttgg atcttggttc attctcaagc ctcagacagt 2880

ggttcaaagt ttttttcttc catttcag 2908

<210> 50

<211> 2316

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 50

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc gccgccctac 720

ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc 780

ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc 840

ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct 900

tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat cactagtgtt 960

taaacagagt aatgacatgg ttccttccat cctccaaagg tgaccaataa tagtttgtaa 1020

gtatcattat gaactaatga attttcaaca tatttgatat atttcaatcc attgccatca 1080

ttgttcttat cgatatttga gttggctcac tttgccagta agagtctatt caaattggct 1140

tctgagtcca tttgacacaa caccttttgat ctttgacagt ttccttggtt ttaggtgcta 1200

gatgatttct caggctcacc ttagacattt cctgccacag acttagaatc agccatttct 1260

ctaaggaccc tgattccatt tcatgagaaa tgatagagac cacaatcaaa acaagtcatg 1320

aatttatact gatattttca attcaaatta aagatgaggt ttttgctaaa tttttttgag 1380

tttatatttg tatgtcttat gctgaaaaat cttgtttcct aattagtaac ataattattc 1440

atttgatggg taaatatttt agggccgatt ctttggtttt atagccaaga taccctgttg 1500

ataaagtctt gtgggagcaa ttataagact ggcttatttt gaagcttttt aaaaaagaca 1560

tccttacctg ttttaactgt agattatatt aacttaaata ggtacagccc acgcttgact 1620

agttaacgct ggtgggtagg gatgagggag ggaggggcat tgtgatgtac agggctgctc 1680

tgtgagatca agggtctctt aagggtggga gctggggcag ggactacgag agcagccaga 1740

tgggctgaaa gtggaactca aggggtttct ggcacctacc tacctgcttc ccgctggggg 1800

gtggggagtt ggcccagagt cttaagattg gggcagggtg gagaggtggg ctcttcctgc 1860

ttcccactca tcttatagct ttctttcccc agatccgaat tcgagatcca aaccaaggag 1920

gaaaggatat cacagaggag agctagttca gagagcctcg gctaggtagg ggatcgggac 1980

tctggcggga gggcggcttg gtgcgtttgc ggggatgggc ggccgcggca ggccctccga 2040

gcgtggtgga gccgttctgt gagacagccg ggtacgagtc gtgacgctgg aaggggcaag 2100

cgggtggtgg gcaggaatgc ggtccgccct gcagcaaccg gagggggagg gagaagggag 2160

cggaaaagtc tccaccggac gcggccatgg ctcgggggggg ggggggcagc ggaggagcgc 2220

ttccggccga cgtctcgtcg ctgattggct tcttttcctc ccgccgtgtg tgaaaacaca 2280

attgtactaa ccttcttctc tttcctctcc tgacag 2316

<210> 51

<211> 2253

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 51

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccacta ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc 720

gccgccctac ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct 780

gtggtgcctc ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg 840

gcctttgtcc ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc 900

tgaccctgct tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat 960

cactagtgtt taaacagagt aatgacatgg ttccttccat cctccaaagg tgaccaataa 1020

tagtttgtaa gtatcattat gaactaatga attttcaaca tatttgatat atttcaatcc 1080

attgccatca ttgttcttat cgatatttga gttggctcac tttgccagta agagtctatt 1140

caaattggct tctgagtcca tttgacacaa caccttttgat ctttgacagt ttccttggtt 1200

ttaggtgcta gatgatttct caggctcacc ttagacattt cctgccacag acttagaatc 1260

agccatttct ctaaggaccc tgattccatt tcatgagaaa tgatagagac cacaatcaaa 1320

acaagtcatg aatttatact gatattttca attcaaatta aagatgaggt ttttgctaaa 1380

ttttttgag tttatatttg tatgtcttat gctgaaaaat cttgtttcct aattagtaac 1440

ataattattc atttgatggg taaatatttt agggccgatt ctttggtttt atagccaaga 1500

taccctgttg ataaagtctt gtgggagcaa ttataagact ggcttatttt gaagcttttt 1560

aaaaaagaca tccttacctg ttttaactgt agattatatt aacttaaata ggtacagccc 1620

acgcttgact agttaacgct ggtgggtagg gatgagggag ggaggggcat tgtgatgtac 1680

agggctgctc tgtgagatca agggtctctt aagggtggga gctggggcag ggactacgag 1740

agcagccaga tgggctgaaa gtggaactca aggggtttct ggcacctacc tacctgcttc 1800

ccgctggggg gtggggagtt ggcccagagt cttaagattg gggcagggtg gagaggtggg 1860

ctcttcctgc ttcccactca tcttatagct ttctttcccc agatccgaat tcgagatcca 1920

aaccaaggag gaaaggatat cacagaggag agctagtctt cgaggggctc gcatctctcc 1980

ttcacgcgcc cgccgcccta cctgaggccg ccatccacgc cggttgagtc gcgttctgcc 2040

gcctcccgcc tgtggtgcct cctgaactgc gtccgccgtc taggtaagtt taaagctcag 2100

gtcgagaccg ggcctttgtc cggcgctccc ttggagccta cctagactca gccggctctc 2160

cacgctttgc ctgaccctgc ttgctcaact ctacgtcttt gtttcgtttt ctgttctgcg 2220

ccgttacaga tccaagctgt gaccggcgcc tac 2253

<210> 52

<211> 2109

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> UBC

<400> 52

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc gccgccctac 720

ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc 780

ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc 840

ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct 900

tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat cactagtgtt 960

taaacagagt aatgacatgg ttccttccat cctccaaagg tgaccaataa tagtttgtaa 1020

gtatcattat gaactaatga attttcaaca tatttgatat atttcaatcc attgccatca 1080

ttgttcttat cgatatttga gttggctcac tttgccagta agagtctatt caaattggct 1140

tctgagtcca tttgacacaa caccttgat ctttgacagt ttccttggtt ttaggtgcta 1200

gatgatttct caggctcacc ttagacattt cctgccacag acttagaatc agccatttct 1260

ctaaggaccc tgattccatt tcatgagaaa tgatagagac cacaatcaaa acaagtcatg 1320

aatttatact gatattttca attcaaatta aagatgaggt ttttgctaaa ttttttgag 1380

tttatatttg tatgtcttat gctgaaaaat cttgtttcct aattagtaac ataattattc 1440

atttgatggg taaatatttt agggccgatt ctttggtttt atagccaaga taccctgttg 1500

ataaagtctt gtgggagcaa ttataagact ggcttatttt gaagcttttt aaaaaagaca 1560

tccttacctg ttttaactgt agattatatt aacttaaata ggtacagccc acgcttgact 1620

agttaacgct ggtgggtagg gatgagggag ggaggggcat tgtgatgtac agggctgctc 1680

tgtgagatca agggtctctt aagggtggga gctggggcag ggactacgag agcagccaga 1740

tgggctgaaa gtggaactca aggggtttct ggcacctacc tacctgcttc ccgctggggg 1800

gtggggagtt ggcccagagt cttaagattg gggcagggtg gagaggtggg ctcttcctgc 1860

ttcccactca tcttatagct ttctttcccc agatccgaat tcgagatcca aaccaaggag 1920

gaaaggatat cacagaggag agctagtgca gaagttggtc gtgaggcact gggcaggtaa 1980

gtatcaaggt tacaagacag gtttaaggag accaatagaa actgggcttg tcgagacaga 2040

gaagactctt gcgtttctga taggcaccta ttggtcttac tgacatccac tttgcctttc 2100

tctccacag 2109

<210> 53

<211> 812

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 53

gtgagtagcg ggctgctggg ctggccgggg ctttcgtggc cgccgggccg ctcggtggga 60

cggaagcgtg tggagagacc gccaagggct gtagtctggg tccgcgagca aggttgccct 120

gaactggggg ttgggggggag cgcagcaaaa tggcggctgt tcccgagtct tgaatggaag 180

acgcttgtga ggcgggctgt gaggtcgttg aaacaaggtg gggggcatgg tgggcggcaa 240

gaacccaagg tcttgaggcc ttcgctaatg cgggaaagct cttattcggg tgagatgggc 300

tggggcacca tctggggacc ctgacgtgaa gtttgtcact gactggagaa ctcggtttgt 360

cgtctgttgc gggggcggca gttatggcgg tgccgttggg cagtgcaccc gtacctttgg 420

gagcgcgcgc cctcgtcgtg tcgtgacgtc acccgttctg ttggcttata atgcagggtg 480

gggccacctg ccggtaggtg tgcggtaggc ttttctccgt cgcaggacgc agggttcggg 540

cctagggtag gctctcctga atcgacaggc gccggacctc tggtgagggg agggataagt 600

gaggcgtcag tttctttggt cggttttatg tacctatctt cttaagtagc tgaagctccg 660

gttttgaact atgcgctcgg ggttggcgag tgtgttttgt gaagtttttt aggcaccttt 720

tgaaatgtaa tcatttgggt caatatgtaa ttttcagtgt tagactagta aattgtccgc 780

taaattctgg ccgtttttgg ctttttttgtt ag 812

<210> 54

<211> 1217

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 54

gtaggggagc ggaactctgg tgggagggga ggtgcggtgc actgggggga tgggtggcta 60

gggggccgt ctggtggctt gcgggggttg cctttcccgt gggaagtcgg gaacataatg 120

tttgttacgt tgggagggaa aggggtggct ggatgcaggc gggagggagg cccgccctgc 180

ggcaaccgga gggggaggga gaagggagcg gaaaatgctc gaaaccggac ggagccattg 240

ctctcgcaga gggaggagcg cttccggcta gcctcttgtc gccgattggc cgtttctcct 300

cccgccgtgt gtgaaaacac aaatggcgta ttctggttgg agtaaagctc ctgtcagtta 360

caccgtcggg agtacgcagc cgcttagcga ctctcgcgtt gccccctggg tggggcgggt 420

aggtaggtgg ggtgtagaga tgctgggtgt gcgggcgcgg ccggcctcct gcggcgggag 480

gggagggtca gtgaaattgg ctctggcgcg ggcgtcctcc caccctcccc ttccttcggg 540

ggagtcggtt tacccgccgc ctgcttgtct tcgacacctg attggctgtc gaagctgtgg 600

gaccgggccc ttgctactgg ctcgagtctc acatgagcga aaccactgcg cggggcgcgg 660

gggtggcggg gaggcgggcg ttggtacggt cctccccgag gccgagcgcc gcagtgtctg 720

gccccgcgcc cctgcgcaac gtggcaggaa gcgcgcgctg gaggcggggg cgggctgccg 780

gccgagactt ctggatggcg gcggccgcgg ctccgccccg ggttcccacc gcctgaaggg 840

cgagacaagc ccgacctgct acaggcactc gtgggggtgg gggaggagcg ggggtcggtc 900

cggctggttt gtgggtggga ggcgcttgtt ctccaaaaac cggcgcgagc tgcaatcctg 960

agggagctgc ggtggaggag gtggagagaa ggccgcaccc ttctgggcag ggggagggga 1020

gtgccgcaat acctttatgg gagttctttg ctgcctcccg tcttgtaagg accgccctgg 1080

gcctggaaga agccctccct cctttcctcc tcgcgtgatc tcgtcatcgc ctccatgtcg 1140

agtcgcttct cgattatggg cgggattctt ttgcctagac aattgtacta accttcttct 1200

ctttcctctc ctgacag 1217

<210> 55

<211> 1494

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 55

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccacta gcgtgagtag cgggctgctg ggctggccgg ggctttcgtg 720

gccgccgggc cgctcggtgg gacggaagcg tgtggagaga ccgccaaggg ctgtagtctg 780

ggtccgcgag caaggttgcc ctgaactggg ggttgggggg agcgcagcaa aatggcggct 840

gttcccgagt cttgaatgga agacgcttgt gaggcgggct gtgaggtcgt tgaaacaagg 900

tgggggggcat ggtgggcggc aagaacccaa ggtcttgagg ccttcgctaa tgcgggaaag 960

ctcttattcg ggtgagatgg gctggggcac catctgggga ccctgacgtg aagtttgtca 1020

ctgactggag aactcggttt gtcgtctgtt gcgggggcgg cagttatggc ggtgccgttg 1080

ggcagtgcac ccgtaccttt gggagcgcgc gccctcgtcg tgtcgtgacg tcacccgttc 1140

tgttggctta taatgcaggg tggggccacc tgccggtagg tgtgcggtag gcttttctcc 1200

gtcgcaggac gcagggttcg ggcctagggt aggctctcct gaatcgacag gcgccggacc 1260

tctggtgagg ggagggataa gtgaggcgtc agtttctttg gtcggtttta tgtacctatc 1320

ttcttaagta gctgaagctc cggttttgaa ctatgcgctc ggggttggcg agtgtgtttt 1380

gtgaagtttt ttaggcacct tttgaaatgt aatcatttgg gtcaatatgt aattttcagt 1440

gttagactag taaattgtcc gctaaattct ggccgttttt ggcttttttg ttag 1494

<210> 56

<211> 1918

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 56

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccacta gtctcagaga gcctcggcta ggtaggggag cggaactctg 720

gtgggagggg aggtgcggtg cactgggggg atgggtggct agggggggccg tctggtggct 780

tgcgggggtt gcctttcccg tgggaagtcg ggaacataat gtttgttacg ttgggaggga 840

aaggggtggc tggatgcagg cgggagggag gcccgccctg cggcaaccgg agggggaggg 900

agaagggagc ggaaaatgct cgaaaccgga cggagccatt gctctcgcag agggaggagc 960

gcttccggct agcctcttgt cgccgattgg ccgtttctcc tcccgccgtg tgtgaaaaca 1020

caaatggcgt attctggttg gagtaaagct cctgtcagtt acaccgtcgg gagtacgcag 1080

ccgcttagcg actctcgcgt tgccccctgg gtggggcggg taggtaggtg gggtgtagag 1140

atgctgggtg tgcgggcgcg gccggcctcc tgcggcggga ggggagggtc agtgaaattg 1200

gctctggcgc gggcgtcctc ccaccctccc cttccttcgg gggagtcggt ttacccgccg 1260

cctgcttgtc ttcgacacct gattggctgt cgaagctgtg ggaccgggcc cttgctactg 1320

gctcgagtct cacatgagcg aaaccactgc gcggggcgcg ggggtggcgg ggaggcgggc 1380

gttggtacgg tcctccccga ggccgagcgc cgcagtgtct ggcccccgcgc ccctgcgcaa 1440

cgtggcagga agcgcgcgct ggaggcgggg gcgggctgcc ggccgagact tctggatggc 1500

ggcggccgcg gctccgcccc gggttcccac cgcctgaagg gcgagacaag cccgacctgc 1560

tacaggcact cgtgggggtg ggggaggagc gggggtcggt ccggctggtt tgtgggtggg 1620

aggcgcttgt tctccaaaaa ccggcgcgag ctgcaatcct gagggagctg cggtggagga 1680

ggtggagaga aggccgcacc cttctgggca gggggagggg agtgccgcaa tacctttatg 1740

ggagttcttt gctgcctccc gtcttgtaag gaccgccctg ggcctggaag aagccctccc 1800

tcctttcctc ctcgcgtgat ctcgtcatcg cctccatgtc gagtcgcttc tcgattatgg 1860

gcgggattct tttgcctaga caattgtact aaccttcttc tctttcctct cctgacag 1918

<210> 57

<211> 1779

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 57

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc gccgccctac 720

ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc 780

ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc 840

ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct 900

tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat cactaggatc 960

cactagcgtg agtagcgggc tgctgggctg gccggggctt tcgtggccgc cgggccgctc 1020

ggtgggacgg aagcgtgtgg agagaccgcc aagggctgta gtctgggtcc gcgagcaagg 1080

ttgccctgaa ctgggggttg gggggagcgc agcaaaatgg cggctgttcc cgagtcttga 1140

atggaagacg cttgtgaggc gggctgtgag gtcgttgaaa caaggtgggg ggcatggtgg 1200

gcggcaagaa cccaaggtct tgaggccttc gctaatgcgg gaaagctctt attcgggtga 1260

gatgggctgg ggcaccatct ggggaccctg acgtgaagtt tgtcactgac tggagaactc 1320

ggtttgtcgt ctgttgcggg ggcggcagtt atggcggtgc cgttgggcag tgcacccgta 1380

cctttgggag cgcgcgccct cgtcgtgtcg tgacgtcacc cgttctgttg gcttataatg 1440

cagggtgggg ccacctgccg gtaggtgtgc ggtaggcttt tctccgtcgc aggacgcagg 1500

gttcgggcct agggtaggct ctcctgaatc gacaggcgcc ggacctctgg tgaggggagg 1560

gataagtgag gcgtcagttt ctttggtcgg ttttatgtac ctatcttctt aagtagctga 1620

agctccggtt ttgaactatg cgctcggggt tggcgagtgt gttttgtgaa gtttttttagg 1680

caccttttga aatgtaatca tttgggtcaa tatgtaattt tcagtgttag actagtaaat 1740

tgtccgctaa attctggccg tttttggctt ttttgttag 1779

<210> 58

<211> 2168

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 58

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgccccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatcctagt gtttaaacag agtaatgaca tggttccttc catcctccaa 720

aggtgaccaa taatagtttg taagtatcat tatgaactaa tgaattttca acatatttga 780

tatatttcaa tccattgcca tcattgttct tatcgatatt tgagttggct cactttgcca 840

gtaagagtct attcaaattg gcttctgagt ccatttgaca caacaccttt gatctttgac 900

agtttccttg gttttaggtg ctagatgatt tctcaggctc accttagaca tttcctgcca 960

cagacttaga atcagccatt tctctaagga ccctgattcc atttcatgag aaatgataga 1020

gaccacaatc aaaacaagtc atgaatttat actgatattt tcaattcaaa ttaaagatga 1080

ggtttttgct aaattttttt gagtttatat ttgtatgtct tatgctgaaa aatcttgttt 1140

cctaattagt aacataatta ttcatttgat gggtaaatat tttagggccg attctttggt 1200

tttatagcca agataccctg ttgataaagt cttgtgggag caattataag actggcttat 1260

tttgaagctt tttaaaaaag acatccttac ctgttttaac tgtagattat attaacttaa 1320

ataggtacag cccacgcttg actaggatcc actagcgtga gtagcgggct gctgggctgg 1380

ccggggcttt cgtggccgcc gggccgctcg gtgggacgga agcgtgtgga gagaccgcca 1440

agggctgtag tctgggtccg cgagcaaggt tgccctgaac tgggggttgg ggggagcgca 1500

gcaaaatggc ggctgttccc gagtcttgaa tggaagacgc ttgtgaggcg ggctgtgagg 1560

tcgttgaaac aaggtggggg gcatggtggg cggcaagaac ccaaggtctt gaggccttcg 1620

ctaatgcggg aaagctctta ttcgggtgag atgggctggg gcaccatctg gggaccctga 1680

cgtgaagttt gtcactgact ggagaactcg gtttgtcgtc tgttgcgggg gcggcagtta 1740

tggcggtgcc gttgggcagt gcacccgtac ctttgggagc gcgcgccctc gtcgtgtcgt 1800

gacgtcaccc gttctgttgg cttataatgc agggtggggc cacctgccgg taggtgtgcg 1860

gtaggctttt ctccgtcgca ggacgcaggg ttcgggccta gggtaggctc tcctgaatcg 1920

acaggcgccg gacctctggt gaggggaggg ataagtgagg cgtcagtttc tttggtcggt 1980

tttatgtacc tatcttctta agtagctgaa gctccggttt tgaactatgc gctcggggtt 2040

ggcgagtgtg ttttgtgaag ttttttaggc acctttgaa atgtaatcat ttgggtcaat 2100

atgtaatttt cagtgttaga ctagtaaatt gtccgctaaa ttctggccgt ttttggcttt 2160

tttgttag 2168

<210> 59

<211> 1825

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 59

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aacgctggtg ggtagggatg agggagggag gggcattgtg 720

atgtacaggg ctgctctgtg agatcaaggg tctcttaagg gtgggagctg gggcagggac 780

tacgagagca gccagatggg ctgaaagtgg aactcaaggg gtttctggca cctacctacc 840

tgcttcccgc tgggggggtgg ggagttggcc cagagtctta agattggggc agggtggaga 900

ggtgggctct tcctgcttcc cactcatctt atagctttct ttccccagat ccgaattcga 960

gatccaaacc aaggaggaaa ggatatcaca gaggagagct aggatccact agcgtgagta 1020

gcgggctgct gggctggccg gggctttcgt ggccgccggg ccgctcggtg ggacggaagc 1080

gtgtggagag accgccaagg gctgtagtct gggtccgcga gcaaggttgc cctgaactgg 1140

gggttggggg gagcgcagca aaatggcggc tgttcccgag tcttgaatgg aagacgcttg 1200

tgaggcgggc tgtgaggtcg ttgaaacaag gtgggggggca tggtgggcgg caagaaccca 1260

aggtcttgag gccttcgcta atgcgggaaa gctcttattc gggtgagatg ggctggggca 1320

ccatctgggg accctgacgt gaagtttgtc actgactgga gaactcggtt tgtcgtctgt 1380

tgcgggggcg gcagttatgg cggtgccgtt gggcagtgca cccgtacctt tgggagcgcg 1440

cgccctcgtc gtgtcgtgac gtcacccgtt ctgttggctt ataatgcagg gtggggccac 1500

ctgccggtag gtgtgcggta ggcttttctc cgtcgcagga cgcagggttc gggcctaggg 1560

taggctctcc tgaatcgaca ggcgccggac ctctggtgag gggagggata agtgaggcgt 1620

cagtttcttt ggtcggtttt atgtacctat cttcttaagt agctgaagct ccggttttga 1680

actatgcgct cggggttggc gagtgtgttt tgtgaagttt tttaggcacc ttttgaaatg 1740

taatcatttg ggtcaatatg taattttcag tgttagacta gtaaattgtc cgctaaattc 1800

tggccgtttt tggctttttt gttag 1825

<210> 60

<211> 2447

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 60

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc gccgccctac 720

ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc 780

ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc 840

ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct 900

tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat cactagtgtt 960

taaacagagt aatgacatgg ttccttccat cctccaaagg tgaccaataa tagtttgtaa 1020

gtatcattat gaactaatga attttcaaca tatttgatat atttcaatcc attgccatca 1080

ttgttcttat cgatatttga gttggctcac tttgccagta agagtctatt caaattggct 1140

tctgagtcca tttgacacaa caccttttgat ctttgacagt ttccttggtt ttaggtgcta 1200

gatgatttct caggctcacc ttagacattt cctgccacag acttagaatc agccatttct 1260

ctaaggaccc tgattccatt tcatgagaaa tgatagagac cacaatcaaa acaagtcatg 1320

aatttatact gatattttca attcaaatta aagatgaggt ttttgctaaa tttttttgag 1380

tttatatttg tatgtcttat gctgaaaaat cttgtttcct aattagtaac ataattattc 1440

atttgatggg taaatatttt agggccgatt ctttggtttt atagccaaga taccctgttg 1500

ataaagtctt gtgggagcaa ttataagact ggcttatttt gaagcttttt aaaaaagaca 1560

tccttacctg ttttaactgt agattatatt aacttaaata ggtacagccc acgcttgact 1620

agttgatcca ctagcgtgag tagcgggctg ctgggctggc cggggctttc gtggccgccg 1680

ggccgctcgg tgggacggaa gcgtgtggag agaccgccaa gggctgtagt ctgggtccgc 1740

gagcaaggtt gccctgaact gggggttggg gggagcgcag caaaatggcg gctgttcccg 1800

agtcttgaat ggaagacgct tgtgaggcgg gctgtgaggt cgttgaaaca aggtgggggg 1860

catggtgggc ggcaagaacc caaggtcttg aggccttcgc taatgcggga aagctcttat 1920

tcgggtgaga tgggctgggg caccatctgg ggaccctgac gtgaagtttg tcactgactg 1980

gagaactcgg tttgtcgtct gttgcggggg cggcagttat ggcggtgccg ttgggcagtg 2040

cacccgtacc tttgggagcg cgcgccctcg tcgtgtcgtg acgtcacccg ttctgttggc 2100

ttataatgca gggtggggcc acctgccggt aggtgtgcgg taggcttttc tccgtcgcag 2160

gacgcagggt tcgggcctag ggtaggctct cctgaatcga caggcgccgg acctctggtg 2220

aggggaggga taagtgaggc gtcagtttct ttggtcggtt ttatgtacct atcttcttaa 2280

gtagctgaag ctccggtttt gaactatgcg ctcggggttg gcgagtgtgt tttgtgaagt 2340

tttttaggca ccttttgaaa tgtaatcatt tgggtcaata tgtaattttc agtgttagac 2400

tagtaaattg tccgctaaat tctggccgtt tttggctttt ttgttag 2447

<210> 61

<211> 2447

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 61

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc gccgccctac 720

ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc 780

ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc 840

ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct 900

tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat cactagtgtt 960

taaacagagt aatgacatgg ttccttccat cctccaaagg tgaccaataa tagtttgtaa 1020

gtatcattat gaactaatga attttcaaca tatttgatat atttcaatcc attgccatca 1080

ttgttcttat cgatatttga gttggctcac tttgccagta agagtctatt caaattggct 1140

tctgagtcca tttgacacaa cacctttgat ctttgacagt ttccttggtt ttaggtgcta 1200

gatgatttct caggctcacc ttagacattt cctgccacag acttagaatc agccatttct 1260

ctaaggaccc tgattccatt tcatgagaaa tgatagagac cacaatcaaa acaagtcatg 1320

aatttatact gatattttca attcaaatta aagatgaggt ttttgctaaa ttttttgag 1380

tttatatttg tatgtcttat gctgaaaaat cttgtttcct aattagtaac ataattattc 1440

atttgatggg taaatatttt agggccgatt ctttggtttt atagccaaga taccctgttg 1500

ataaagtctt gtgggagcaa ttataagact ggcttatttt gaagcttttt aaaaaagaca 1560

tccttacctg ttttaactgt agattatatt aacttaaata ggtacagccc acgcttgact 1620

agttgatcca ctagcgtgag tagcgggctg ctgggctggc cggggctttc gtggccgccg 1680

ggccgctcgg tgggacggaa gcgtgtggag agaccgccaa gggctgtagt ctgggtccgc 1740

gagcaaggtt gccctgaact gggggttggg gggagcgcag caaaatggcg gctgttcccg 1800

agtcttgaat ggaagacgct tgtgaggcgg gctgtgaggt cgttgaaaca aggtgggggg 1860

catggtgggc ggcaagaacc caaggtcttg aggccttcgc taatgcggga aagctcttat 1920

tcgggtgaga tgggctgggg caccatctgg ggaccctgac gtgaagtttg tcactgactg 1980

gagaactcgg tttgtcgtct gttgcggggg cggcagttat ggcggtgccg ttgggcagtg 2040

cacccgtacc tttgggagcg cgcgccctcg tcgtgtcgtg acgtcacccg ttctgttggc 2100

ttataatgca gggtggggcc acctgccggt aggtgtgcgg taggcttttc tccgtcgcag 2160

gacgcagggt tcgggcctag ggtaggctct cctgaatcga caggcgccgg acctctggtg 2220

aggggaggga taagtgaggc gtcagtttct ttggtcggtt ttatgtacct atcttcttaa 2280

gtagctgaag ctccggtttt gaactatgcg ctcggggttg gcgagtgtgt tttgtgaagt 2340

tttttaggca ccttttgaaa tgtaatcatt tgggtcaata tgtaattttc agtgttagac 2400

tagtaaattg tccgctaaat tctggccgtt tttggctttt ttgttag 2447

<210> 62

<211> 2483

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 62

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatcaaaca gagtaatgac atggttcctt ccatcctcca aaggtgacca 720

ataatagttt gtaagtatca ttatgaacta atgaattttc aacatatttg atatatttca 780

atccattgcc atcattgttc ttatcgatat ttgagttggc tcactttgcc agtaagagtc 840

tattcaaatt ggcttctgag tccatttgac acaacacctt tgatctttga cagtttcctt 900

ggttttaggt gctagatgat ttctcaggct caccttagac atttcctgcc acagacttag 960

aatcagccat ttctctaagg accctgattc catttcatga gaaatgatag agaccacaat 1020

caaaacaagt catgaattta tactgatatt ttcaattcaa attaaagatg aggtttttgc 1080

taaatttttt tgagtttata tttgtatgtc ttatgctgaa aaatcttgtt tcctaattag 1140

taacataatt attcatttga tgggtaaata ttttagggcc gattctttgg ttttatagcc 1200

aagataccct gttgataaag tcttgtggga gcaattataa gactggctta ttttgaagct 1260

ttttaaaaaa gacatcctta cctgttttaa ctgtagatta tattaactta aataggtaca 1320

gcccacgctt gactagttaa cgctggtggg tagggatgag ggagggaggg gcattgtgat 1380

gtacagggct gctctgtgag atcaagggtc tcttaagggt gggagctggg gcagggacta 1440

cgagagcagc cagatgggct gaaagtggaa ctcaaggggt ttctggcacc tacctacctg 1500

cttcccgctg gggggtgggg agttggccca gagtcttaag attggggcag ggtggagagg 1560

tgggctcttc ctgcttccca ctcatcttat agctttcttt ccccagatcc gaattcgaga 1620

tccaaaccaa ggaggaaagg atatcacaga ggagagctag gatccactag cgtgagtagc 1680

gggctgctgg gctggccggg gctttcgtgg ccgccgggcc gctcggtggg acggaagcgt 1740

gtggagagac cgccaagggc tgtagtctgg gtccgcgagc aaggttgccc tgaactgggg 1800

gttgggggga gcgcagcaaa atggcggctg ttcccgagtc ttgaatggaa gacgcttgtg 1860

aggcgggctg tgaggtcgtt gaaacaaggt gggggggcatg gtgggcggca agaacccaag 1920

gtcttgaggc cttcgctaat gcgggaaagc tcttattcgg gtgagatggg ctggggcacc 1980

atctggggac cctgacgtga agtttgtcac tgactggaga actcggtttg tcgtctgttg 2040

cgggggcggc agttatggcg gtgccgttgg gcagtgcacc cgtacctttg ggagcgcgcg 2100

ccctcgtcgt gtcgtgacgt cacccgttct gttggcttat aatgcagggt ggggccacct 2160

gccggtaggt gtgcggtagg cttttctccg tcgcaggacg cagggttcgg gcctagggta 2220

ggctctcctg aatcgacagg cgccggacct ctggtgaggg gagggataag tgaggcgtca 2280

gtttctttgg tcggttttat gtacctatct tcttaagtag ctgaagctcc ggttttgaac 2340

tatgcgctcg gggttggcga gtgtgttttg tgaagttttt taggcacctt ttgaaatgta 2400

atcatttggg tcaatatgta attttcagtg ttagactagt aaattgtccg ctaaattctg 2460

gccgtttttg gctttttttgt tag 2483

<210> 63

<211> 2769

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 63

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgccccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc gccgccctac 720

ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc 780

ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc 840

ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct 900

tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat cactagtgtt 960

taaacagagt aatgacatgg ttccttccat cctccaaagg tgaccaataa tagtttgtaa 1020

gtatcattat gaactaatga attttcaaca tatttgatat atttcaatcc attgccatca 1080

ttgttcttat cgatatttga gttggctcac tttgccagta agagtctatt caaattggct 1140

tctgagtcca tttgacacaa caccttttgat ctttgacagt ttccttggtt ttaggtgcta 1200

gatgatttct caggctcacc ttagacattt cctgccacag acttagaatc agccatttct 1260

ctaaggaccc tgattccatt tcatgagaaa tgatagagac cacaatcaaa acaagtcatg 1320

aatttatact gatattttca attcaaatta aagatgaggt ttttgctaaa ttttttgag 1380

tttatatttg tatgtcttat gctgaaaaat cttgtttcct aattagtaac ataattattc 1440

atttgatggg taaatatttt agggccgatt ctttggtttt atagccaaga taccctgttg 1500

ataaagtctt gtgggagcaa ttataagact ggcttatttt gaagcttttt aaaaaagaca 1560

tccttacctg ttttaactgt agattatatt aacttaaata ggtacagccc acgcttgact 1620

agttaacgct ggtgggtagg gatgagggag ggaggggcat tgtgatgtac agggctgctc 1680

tgtgagatca agggtctctt aagggtggga gctggggcag ggactacgag agcagccaga 1740

tgggctgaaa gtggaactca aggggtttct ggcacctacc tacctgcttc ccgctggggg 1800

gtggggagtt ggcccagagt cttaagattg gggcagggtg gagaggtggg ctcttcctgc 1860

ttcccactca tcttatagct ttctttcccc agatccgaat tcgagatcca aaccaaggag 1920

gaaaggatat cacagaggag agctaggatc cactagcgtg agtagcgggc tgctgggctg 1980

gccggggctt tcgtggccgc cgggccgctc ggtgggacgg aagcgtgtgg agagaccgcc 2040

aagggctgta gtctgggtcc gcgagcaagg ttgccctgaa ctgggggttg gggggagcgc 2100

agcaaaatgg cggctgttcc cgagtcttga atggaagacg cttgtgaggc gggctgtgag 2160

gtcgttgaaa caaggtgggg ggcatggtgg gcggcaagaa cccaaggtct tgaggccttc 2220

gctaatgcgg gaaagctctt attcgggtga gatgggctgg ggcaccatct ggggaccctg 2280

acgtgaagtt tgtcactgac tggagaactc ggtttgtcgt ctgttgcggg ggcggcagtt 2340

atggcggtgc cgttgggcag tgcacccgta cctttgggag cgcgcgccct cgtcgtgtcg 2400

tgacgtcacc cgttctgttg gcttataatg cagggtgggg ccacctgccg gtaggtgtgc 2460

ggtaggcttt tctccgtcgc aggacgcagg gttcgggcct agggtaggct ctcctgaatc 2520

gacaggcgcc ggacctctgg tgaggggagg gataagtgag gcgtcagttt ctttggtcgg 2580

ttttatgtac ctatcttctt aagtagctga agctccggtt ttgaactatg cgctcggggt 2640

tggcgagtgt gttttgtgaa gttttttagg caccttttga aatgtaatca tttgggtcaa 2700

tatgtaattt tcagtgttag actagtaaat tgtccgctaa attctggccg tttttggctt 2760

ttttgttag 2769

<210> 64

<211> 2193

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 64

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc gccgccctac 720

ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc 780

ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc 840

ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct 900

tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat cactagtctc 960

agagagcctc ggctaggtag gggagcggaa ctctggtggg aggggaggtg cggtgcactg 1020

gggggatggg tggctagggg ggccgtctgg tggcttgcgg gggttgcctt tcccgtggga 1080

agtcgggaac ataatgtttg ttacgttggg agggaaaggg gtggctggat gcaggcggga 1140

gggaggcccg ccctgcggca accggagggg gagggagaag ggagcggaaa atgctcgaaa 1200

ccggacggag ccattgctct cgcagaggga ggagcgcttc cggctagcct cttgtcgccg 1260

attggccgtt tctcctcccg ccgtgtgtga aaacacaaat ggcgtattct ggttggagta 1320

aagctcctgt cagttacacc gtcgggagta cgcagccgct tagcgactct cgcgttgccc 1380

cctgggtggg gcgggtaggt aggtggggtg tagagatgct gggtgtgcgg gcgcggccgg 1440

cctcctgcgg cgggagggga gggtcagtga aattggctct ggcgcgggcg tcctcccacc 1500

ctccccttcc ttcgggggag tcggtttacc cgccgcctgc ttgtcttcga cacctgattg 1560

gctgtcgaag ctgtgggacc gggcccttgc tactggctcg agtctcacat gagcgaaacc 1620

actgcgcggg gcgcgggggt ggcggggagg cgggcgttgg tacggtcctc cccgaggccg 1680

agcgccgcag tgtctggccc cgcgcccctg cgcaacgtgg caggaagcgc gcgctggagg 1740

cgggggcggg ctgccggccg agacttctgg atggcggcgg ccgcggctcc gccccgggtt 1800

cccaccgcct gaagggcgag acaagcccga cctgctacag gcactcgtgg gggtgggggа 1860

ggagcggggg tcggtccggc tggtttgtgg gtgggaggcg cttgttctcc aaaaaccggc 1920

gcgagctgca atcctgaggg agctgcggtg gaggaggtgg agagaaggcc gcacccttct 1980

gggcaggggg aggggagtgc cgcaatacct ttatgggagt tctttgctgc ctcccgtctt 2040

gtaaggaccg ccctgggcct ggaagaagcc ctccctcctt tcctcctcgc gtgatctcgt 2100

catcgcctcc atgtcgagtc gcttctcgat tatgggcggg attcttttgc ctagacaatt 2160

gtactaacct tcttctcttt cctctcctga cag 2193

<210> 65

<211> 2584

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 65

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgccccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccacta gtgtttaaac agagtaatga catggttcct tccatcctcc 720

aaaggtgacc aataatagtt tgtaagtatc attatgaact aatgaatttt caacatattt 780

gatatatttc aatccattgc catcattgtt cttatcgata tttgagttgg ctcactttgc 840

cagtaagagt ctattcaaat tggcttctga gtccatttga cacaacacct ttgatctttg 900

acagtttcct tggttttagg tgctagatga tttctcaggc tcaccttaga catttcctgc 960

cacagactta gaatcagcca tttctctaag gaccctgatt ccatttcatg agaaatgata 1020

gagaccacaa tcaaaacaag tcatgaattt atactgatat tttcaattca aattaaagat 1080

gaggtttttg ctaaattttt ttgagtttat atttgtatgt cttatgctga aaaatcttgt 1140

ttcctaatta gtaacataat tattcatttg atgggtaaat attttagggc cgattctttg 1200

gttttatagc caagataccc tgttgataaa gtcttgtggg agcaattata agactggctt 1260

attttgaagc tttttaaaaa agacatcctt acctgtttta actgtagatt atattaactt 1320

aaataggtac agcccacgct tgactagtct cagagagcct cggctaggta ggggagcgga 1380

actctggtgg gaggggaggt gcggtgcact ggggggatgg gtggctaggg gggccgtctg 1440

gtggcttgcg ggggttgcct ttcccgtggg aagtcgggaa cataatgttt gttacgttgg 1500

gagggaaagg ggtggctgga tgcaggcggg agggaggccc gccctgcggc aaccggaggg 1560

ggagggagaa gggagcggaa aatgctcgaa accggacgga gccattgctc tcgcagaggg 1620

aggagcgctt ccggctagcc tcttgtcgcc gattggccgt ttctcctccc gccgtgtgtg 1680

aaaacacaaa tggcgtattc tggttggagt aaagctcctg tcagttacac cgtcgggagt 1740

acgcagccgc ttagcgactc tcgcgttgcc ccctgggtgg ggcgggtagg taggtggggt 1800

gtagagatgc tgggtgtgcg ggcgcggccg gcctcctgcg gcgggagggg agggtcagtg 1860

aaattggctc tggcgcgggc gtcctcccac cctccccttc cttcgggggа gtcggtttac 1920

ccgccgcctg cttgtcttcg acacctgatt ggctgtcgaa gctgtgggac cgggcccttg 1980

ctactggctc gagtctcaca tgagcgaaac cactgcgcgg ggcgcggggg tggcggggag 2040

gcgggcgttg gtacggtcct ccccgaggcc gagcgccgca gtgtctggcc ccgcgcccct 2100

gcgcaacgtg gcaggaagcg cgcgctggag gcgggggcgg gctgccggcc gagacttctg 2160

gatggcggcg gccgcggctc cgccccgggt tcccaccgcc tgaagggcga gacaagcccg 2220

acctgctaca ggcactcgtg ggggtggggg aggagcgggg gtcggtccgg ctggtttgtg 2280

ggtgggaggc gcttgttctc caaaaaccgg cgcgagctgc aatcctgagg gagctgcggt 2340

ggaggaggtg gagagaaggc cgcacccttc tgggcagggg gaggggagtg ccgcaatacc 2400

tttatgggag ttctttgctg cctcccgtct tgtaaggacc gccctgggcc tggaagaagc 2460

cctccctcct ttcctcctcg cgtgatctcg tcatcgcctc catgtcgagt cgcttctcga 2520

ttatgggcgg gattcttttg cctagacaat tgtactaacc ttcttctctt tcctctcctg 2580

acag 2584

<210> 66

<211> 2239

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 66

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aacgctggtg ggtagggatg agggagggag gggcattgtg 720

atgtacaggg ctgctctgtg agatcaaggg tctcttaagg gtgggagctg gggcagggac 780

tacgagagca gccagatggg ctgaaagtgg aactcaaggg gtttctggca cctacctacc 840

tgcttcccgc tgggggggtgg ggagttggcc cagagtctta agattggggc agggtggaga 900

ggtgggctct tcctgcttcc cactcatctt atagctttct ttccccagat ccgaattcga 960

gatccaaacc aaggaggaaa ggatatcaca gaggagagct agtctcagag agcctcggct 1020

aggtagggga gcggaactct ggtgggaggg gaggtgcggt gcactggggg gatgggtggc 1080

taggggggcc gtctggtggc ttgcgggggt tgcctttccc gtgggaagtc gggaacataa 1140

tgtttgttac gttgggaggg aaaggggtgg ctggatgcag gcgggaggga ggcccgccct 1200

gcggcaaccg gaggggggagg gagaagggag cggaaaatgc tcgaaaccgg acggagccat 1260

tgctctcgca gagggaggag cgcttccggc tagcctcttg tcgccgattg gccgtttctc 1320

ctcccgccgt gtgtgaaaac acaaatggcg tattctggtt ggagtaaagc tcctgtcagt 1380

tacaccgtcg ggagtacgca gccgcttagc gactctcgcg ttgccccctg ggtggggcgg 1440

gtaggtaggt ggggtgtaga gatgctgggt gtgcgggcgc ggccggcctc ctgcggcggg 1500

aggggagggt cagtgaaatt ggctctggcg cgggcgtcct cccaccctcc ccttccttcg 1560

ggggagtcgg tttacccgcc gcctgcttgt cttcgacacc tgattggctg tcgaagctgt 1620

gggaccgggc ccttgctact ggctcgagtc tcacatgagc gaaaccactg cgcggggcgc 1680

gggggtggcg gggaggcggg cgttggtacg gtcctccccg aggccgagcg ccgcagtgtc 1740

tggccccgcg cccctgcgca acgtggcagg aagcgcgcgc tggaggcggg ggcgggctgc 1800

cggccgagac ttctggatgg cggcggccgc ggctccgccc cgggttccca ccgcctgaag 1860

ggcgagacaa gcccgacctg ctacaggcac tcgtgggggt gggggaggag cgggggtcgg 1920

tccggctggt ttgtgggtgg gaggcgcttg ttctccaaaa accggcgcga gctgcaatcc 1980

tgagggagct gcggtggagg aggtggagag aaggccgcac ccttctgggc agggggaggg 2040

gagtgccgca ataccttat gggagttctt tgctgcctcc cgtcttgtaa ggaccgccct 2100

gggcctggaa gaagccctcc ctcctttcct cctcgcgtga tctcgtcatc gcctccatgt 2160

cgagtcgctt ctcgattatg ggcgggattc ttttgcctag acaattgtac taaccttctt 2220

ctctttcctc tcctgacag 2239

<210> 67

<211> 2859

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 67

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggggctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc gccgccctac 720

ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc 780

ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc 840

ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct 900

tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat cactagtgtt 960

taaacagagt aatgacatgg ttccttccat cctccaaagg tgaccaataa tagtttgtaa 1020

gtatcattat gaactaatga attttcaaca tatttgatat atttcaatcc attgccatca 1080

ttgttcttat cgatatttga gttggctcac tttgccagta agagtctatt caaattggct 1140

tctgagtcca tttgacacaa caccttttgat ctttgacagt ttccttggtt ttaggtgcta 1200

gatgatttct caggctcacc ttagacattt cctgccacag acttagaatc agccatttct 1260

ctaaggaccc tgattccatt tcatgagaaa tgatagagac cacaatcaaa acaagtcatg 1320

aatttatact gatattttca attcaaatta aagatgaggt ttttgctaaa tttttttgag 1380

tttatatttg tatgtcttat gctgaaaaat cttgtttcct aattagtaac ataattattc 1440

atttgatggg taaatatttt agggccgatt ctttggtttt atagccaaga taccctgttg 1500

ataaagtctt gtgggagcaa ttataagact ggcttatttt gaagcttttt aaaaaagaca 1560

tccttacctg ttttaactgt agattatatt aacttaaata ggtacagccc acgcttgact 1620

agtctcagag agcctcggct aggtagggga gcggaactct ggtgggaggg gaggtgcggt 1680

gcactggggg gatgggtggc taggggggcc gtctggtggc ttgcgggggt tgcctttccc 1740

gtgggaagtc gggaacataa tgtttgttac gttgggaggg aaaggggtgg ctggatgcag 1800

gcgggaggga ggcccgccct gcggcaaccg gaggggggagg gagaagggag cggaaaatgc 1860

tcgaaaccgg acggagccat tgctctcgca gagggaggag cgcttccggc tagcctcttg 1920

tcgccgattg gccgtttctc ctcccgccgt gtgtgaaaac acaaatggcg tattctggtt 1980

ggagtaaagc tcctgtcagt tacaccgtcg ggagtacgca gccgcttagc gactctcgcg 2040

ttgccccctg ggtggggcgg gtaggtaggt ggggtgtaga gatgctgggt gtgcgggcgc 2100

ggccggcctc ctgcggcggg aggggagggt cagtgaaatt ggctctggcg cgggcgtcct 2160

cccaccctcc ccttccttcg ggggagtcgg tttacccgcc gcctgcttgt cttcgacacc 2220

tgattggctg tcgaagctgt gggaccgggc ccttgctact ggctcgagtc tcacatgagc 2280

gaaaccactg cgcggggcgc gggggtggcg gggaggcggg cgttggtacg gtcctccccg 2340

aggccgagcg ccgcagtgtc tggccccgcg cccctgcgca acgtggcagg aagcgcgcgc 2400

tggaggcggg ggcgggctgc cggccgagac ttctggatgg cggcggccgc ggctccgccc 2460

cgggttccca ccgcctgaag ggcgagacaa gcccgacctg ctacaggcac tcgtgggggt 2520

gggggaggag cgggggtcgg tccggctggt ttgtgggtgg gaggcgcttg ttctccaaaa 2580

accggcgcga gctgcaatcc tgagggagct gcggtggagg aggtggagag aaggccgcac 2640

ccttctgggc agggggaggg gagtgccgca ataccttat gggagttctt tgctgcctcc 2700

cgtcttgtaa ggaccgccct gggcctggaa gaagccctcc ctcctttcct cctcgcgtga 2760

tctcgtcatc gcctccatgt cgagtcgctt ctcgattatg ggcgggattc ttttgcctag 2820

acaattgtac taaccttctt ctctttcctc tcctgacag 2859

<210> 68

<211> 2517

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 68

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc gccgccctac 720

ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc 780

ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc 840

ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct 900

tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat cactagttaa 960

cgctggtggg tagggatgag ggagggaggg gcattgtgat gtacagggct gctctgtgag 1020

atcaagggtc tcttaagggt gggagctggg gcagggacta cgagagcagc cagatgggct 1080

gaaagtggaa ctcaaggggt ttctggcacc tacctacctg cttcccgctg gggggtgggg 1140

agttggccca gagtcttaag attggggcag ggtggagagg tgggctcttc ctgcttccca 1200

ctcatcttat agctttcttt ccccagatcc gaattcgaga tccaaaccaa ggaggaaagg 1260

atatcacaga ggagagctag tctcagagag cctcggctag gtaggggagc ggaactctgg 1320

tgggagggga ggtgcggtgc actgggggga tgggtggcta ggggggccgt ctggtggctt 1380

gcgggggttg cctttcccgt gggaagtcgg gaacataatg tttgttacgt tgggagggaa 1440

aggggtggct ggatgcaggc gggagggagg cccgccctgc ggcaaccgga gggggaggga 1500

gaagggagcg gaaaatgctc gaaaccggac ggagccattg ctctcgcaga gggaggagcg 1560

cttccggcta gcctcttgtc gccgattggc cgtttctcct cccgccgtgt gtgaaaacac 1620

aaatggcgta ttctggttgg agtaaagctc ctgtcagtta caccgtcggg agtacgcagc 1680

cgcttagcga ctctcgcgtt gccccctggg tggggcgggt aggtaggtgg ggtgtagaga 1740

tgctgggtgt gcgggcgcgg ccggcctcct gcggcgggag gggagggtca gtgaaattgg 1800

ctctggcgcg ggcgtcctcc caccctcccc ttccttcggg ggagtcggtt tacccgccgc 1860

ctgcttgtct tcgacacctg attggctgtc gaagctgtgg gaccgggccc ttgctactgg 1920

ctcgagtctc acatgagcga aaccactgcg cggggcgcgg gggtggcggg gaggcgggcg 1980

ttggtacggt cctccccgag gccgagcgcc gcagtgtctg gccccgcgcc cctgcgcaac 2040

gtggcaggaa gcgcgcgctg gaggcggggg cgggctgccg gccgagactt ctggatggcg 2100

gcggccgcgg ctccgccccg ggttcccacc gcctgaaggg cgagacaagc ccgacctgct 2160

acaggcactc gtgggggtgg gggaggagcg ggggtcggtc cggctggttt gtgggtggga 2220

ggcgcttgtt ctccaaaaac cggcgcgagc tgcaatcctg agggagctgc ggtggaggag 2280

gtggagagaa ggccgcaccc ttctgggcag ggggagggga gtgccgcaat acctttatgg 2340

gagttctttg ctgcctcccg tcttgtaagg accgccctgg gcctggaaga agccctccct 2400

cctttcctcc tcgcgtgatc tcgtcatcgc ctccatgtcg agtcgcttct cgattatggg 2460

cgggattctt ttgcctagac aattgtacta accttcttct ctttcctctc ctgacag 2517

<210> 69

<211> 2902

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 69

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc agggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacagagta atgacatggt tccttccatc ctccaaaggt 720

gaccaataat agtttgtaag tatcattatg aactaatgaa ttttcaacat atttgatata 780

tttcaatcca ttgccatcat tgttcttatc gatatttgag ttggctcact ttgccagtaa 840

gagtctattc aaattggctt ctgagtccat ttgacacaac acctttgatc tttgacagtt 900

tccttggttt taggtgctag atgatttctc aggctcacct tagacatttc ctgccacaga 960

cttagaatca gccatttctc taaggaccct gattccattt catgagaaat gatagagacc 1020

acaatcaaaa caagtcatga atttatactg atattttcaa ttcaaattaa agatgaggtt 1080

tttgctaaat ttttttgagt ttatatttgt atgtcttatg ctgaaaaatc ttgtttccta 1140

attagtaaca taattattca tttgatgggt aaatatttta gggccgattc tttggtttta 1200

tagccaagat accctgttga taaagtcttg tgggagcaat tataagactg gcttattttg 1260

aagcttttta aaaaagacat ccttacctgt tttaactgta gattatatta acttaaatag 1320

gtacagccca cgcttgacta gttaacgctg gtgggtaggg atgagggagg gaggggcatt 1380

gtgatgtaca gggctgctct gtgagatcaa gggtctctta agggtgggag ctggggcagg 1440

gactacgaga gcagccagat gggctgaaag tggaactcaa ggggtttctg gcacctacct 1500

acctgcttcc cgctgggggg tggggagttg gcccagagtc ttaagattgg ggcagggtgg 1560

agaggtgggc tcttcctgct tcccactcat cttatagctt tctttcccca gatccgaatt 1620

cgagatccaa accaaggagg aaaggatatc acagaggaga gctagtctca gagagcctcg 1680

gctaggtagg ggagcggaac tctggtggga ggggaggtgc ggtgcactgg ggggatgggt 1740

ggctaggggg gccgtctggt ggcttgcggg ggttgccttt cccgtgggaa gtcgggaaca 1800

taatgtttgt tacgttggga gggaaagggg tggctggatg caggcgggag ggaggcccgc 1860

cctgcggcaa ccggaggggg agggagaagg gagcggaaaa tgctcgaaac cggacggagc 1920

cattgctctc gcagagggag gagcgcttcc ggctagcctc ttgtcgccga ttggccgttt 1980

ctcctcccgc cgtgtgtgaa aacacaaatg gcgtattctg gttggagtaa agctcctgtc 2040

agttacaccg tcgggagtac gcagccgctt agcgactctc gcgttgcccc ctgggtgggg 2100

cgggtaggta ggtggggtgt agagatgctg ggtgtgcggg cgcggccggc ctcctgcggc 2160

gggaggggag ggtcagtgaa attggctctg gcgcgggcgt cctcccaccc tccccttcct 2220

tcgggggagt cggtttaccc gccgcctgct tgtcttcgac acctgattgg ctgtcgaagc 2280

tgtgggaccg ggcccttgct actggctcga gtctcacatg agcgaaacca ctgcgcgggg 2340

cgcgggggtg gcggggaggc gggcgttggt acggtcctcc ccgaggccga gcgccgcagt 2400

gtctggcccc gcgcccctgc gcaacgtggc aggaagcgcg cgctggaggc gggggcgggc 2460

tgccggccga gacttctgga tggcggcggc cgcggctccg ccccgggttc ccaccgcctg 2520

aagggcgaga caagcccgac ctgctacagg cactcgtggg ggtgggggag gagcgggggt 2580

cggtccggct ggtttgtggg tgggaggcgc ttgttctcca aaaaccggcg cgagctgcaa 2640

tcctgaggga gctgcggtgg aggaggtgga gagaaggccg cacccttctg ggcaggggga 2700

ggggagtgcc gcaatacctt tatgggagtt ctttgctgcc tcccgtcttg taaggaccgc 2760

cctgggcctg gaagaagccc tccctccttt cctcctcgcg tgatctcgtc atcgcctcca 2820

tgtcgagtcg cttctcgatt atgggcggga ttcttttgcc tagacaattg tactaacctt 2880

cttctctttc ctctcctgac ag 2902

<210> 70

<211> 3183

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia artificial

<400> 70

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 60

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 120

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 180

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 240

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 300

ccatggcccg ggtcgcgaca tgcagcggga cgcgccaccc cgagccccag ctccggcgcc 360

ccggctcccc gcgcccccga tcggggccgc cgctagtagt ggcggcggcg gaggcggggg 420

cagcggcggc ggcggcggag gcgcctctgc agctccggct ccccctggcc tctcgggaac 480

tacaagtccc aggggggcctg gcggtgggcg gcgggcggaa gaggcggggt cggcgccgcg 540

aggccggaag tggccgtgga ggcggaagtg gcgcggccgc ggaggggcct ggagtgcggc 600

ggcggcggga cccggagcag gagcggcggc agcagcgact gggggcggcg gcggcgcgtt 660

ggaggcggcc ggatccgttt aaacggctcg catctctcct tcacgcgccc gccgccctac 720

ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtcg cgttctgccg cctcccgcct gtggtgcctc 780

ctgaactgcg tccgccgtct aggtaagttt aaagctcagg tcgagaccgg gcctttgtcc 840

ggcgctccct tggagcctac ctagactcag ccggctctcc acgctttgcc tgaccctgct 900

tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat cactagtgtt 960

taaacagagt aatgacatgg ttccttccat cctccaaagg tgaccaataa tagtttgtaa 1020

gtatcattat gaactaatga attttcaaca tatttgatat atttcaatcc attgccatca 1080

ttgttcttat cgatatttga gttggctcac tttgccagta agagtctatt caaattggct 1140

tctgagtcca tttgacacaa caccttttgat ctttgacagt ttccttggtt ttaggtgcta 1200

gatgatttct caggctcacc ttagacattt cctgccacag acttagaatc agccatttct 1260

ctaaggaccc tgattccatt tcatgagaaa tgatagagac cacaatcaaa acaagtcatg 1320

aatttatact gatattttca attcaaatta aagatgaggt ttttgctaaa ttttttgag 1380

tttatatttg tatgtcttat gctgaaaaat cttgtttcct aattagtaac ataattattc 1440

atttgatggg taaatatttt agggccgatt ctttggtttt atagccaaga taccctgttg 1500

ataaagtctt gtgggagcaa ttataagact ggcttatttt gaagcttttt aaaaaagaca 1560

tccttacctg ttttaactgt agattatatt aacttaaata ggtacagccc acgcttgact 1620

agttaacgct ggtgggtagg gatgagggag ggaggggcat tgtgatgtac agggctgctc 1680

tgtgagatca agggtctctt aagggtggga gctggggcag ggactacgag agcagccaga 1740

tgggctgaaa gtggaactca aggggtttct ggcacctacc tacctgcttc ccgctggggg 1800

gtggggagtt ggcccagagt cttaagattg gggcagggtg gagaggtggg ctcttcctgc 1860

ttcccactca tcttatagct ttctttcccc agatccgaat tcgagatcca aaccaaggag 1920

gaaaggatat cacagaggag agctagtctc agagagcctc ggctaggtag gggagcggaa 1980

ctctggtggg aggggaggtg cggtgcactg gggggatggg tggctagggg ggccgtctgg 2040

tggcttgcgg gggttgcctt tcccgtggga agtcgggaac ataatgtttg ttacgttggg 2100

agggaaaggg gtggctggat gcaggcggga gggaggcccg ccctgcggca accggagggg 2160

gagggagaag ggagcggaaa atgctcgaaa ccggacggag ccattgctct cgcagaggga 2220

ggagcgcttc cggctagcct cttgtcgccg attggccgtt tctcctcccg ccgtgtgtga 2280

aaacacaaat ggcgtattct ggttggagta aagctcctgt cagttacacc gtcgggagta 2340

cgcagccgct tagcgactct cgcgttgccc cctgggtggg gcgggtaggt aggtggggtg 2400

tagagatgct gggtgtgcgg gcgcggccgg cctcctgcgg cgggagggga gggtcagtga 2460

aattggctct ggcgcgggcg tcctcccacc ctccccttcc ttcgggggag tcggtttacc 2520

cgccgcctgc ttgtcttcga cacctgattg gctgtcgaag ctgtgggacc gggcccttgc 2580

tactggctcg agtctcacat gagcgaaacc actgcgcggg gcgcgggggt ggcggggagg 2640

cgggcgttgg tacggtcctc cccgaggccg agcgccgcag tgtctggccc cgcgcccctg 2700

cgcaacgtgg caggaagcgc gcgctggagg cgggggcggg ctgccggccg agacttctgg 2760

atggcggcgg ccgcggctcc gccccgggtt cccaccgcct gaagggcgag acaagcccga 2820

cctgctacag gcactcgtgg gggtggggga ggagcggggg tcggtccggc tggtttgtgg 2880

gtgggaggcg cttgttctcc aaaaaccggc gcgagctgca atcctgaggg agctgcggtg 2940

gaggaggtgg agagaaggcc gcacccttct gggcaggggg aggggagtgc cgcaatacct 3000

ttatgggagt tctttgctgc ctcccgtctt gtaaggaccg ccctgggcct ggaagaagcc 3060

ctccctcctt tcctcctcgc gtgatctcgt catcgcctcc atgtcgagtc gcttctcgat 3120

tatgggcggg attcttttgc ctagacaatt gtactaacct tcttctcttt cctctcctga 3180

cag 3183

<210> 71

<211> 961

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Intrón EF+exón

<400> 71

cgggtttgcc gccagaacac aggtaagtgc cgtgtgtggt tcccgcgggc ctggcctctt 60

tacgggttat ggcccttgcg tgccttgaat tacttccacc tggctgcagt acgtgattct 120

tgatcccgag cttcgggttg gaagtgggtg ggagagttcg aggccttgcg cttaaggagc 180

cccttcgcct cgtgcttgag ttgaggcctg gcctgggcgc tggggccgcc gcgtgcgaat 240

ctggtggcac cttcgcgcct gtctcgctgc tttcgataag tctctagcca tttaaaattt 300

ttgatgacct gctgcgacgc tttttttctg gcaagatagt cttgtaaatg cgggccaaga 360

tctgcacact ggtatttcgg tttttggggc cgcgggcggc gacggggccc gtgcgtccca 420

gcgcacatgt tcggcgaggc ggggcctgcg agcgcggcca ccgagaatcg gacgggggta 480

gtctcaagct ggccggcctg ctctggtgcc tggcctcgcg ccgccgtgta tcgccccgcc 540

ctgggcggca aggctggccc ggtcggcacc agttgcgtga gcggaaagat ggccgcttcc 600

cggccctgct gcagggagct caaaatggag gacgcggcgc tcgggagagc gggcgggtga 660

gtcacccaca caaaggaaaa gggcctttcc gtcctcagcc gtcgcttcat gtgactccac 720

ggagtaccgg gcgccgtcca ggcacctcga ttagttctcg agcttttgga gtacgtcgtc 780

tttaggttgg ggggagggct tttatgcgat ggagtttccc cacactgagt gggtggagac 840

tgaagttagg ccagcttggc acttgatgta attctccttg gaatttgccc tttttgagtt 900

tggatcttgg ttcattctca agcctcagac agtggttcaa agtttttttc ttccatttca 960

g 961

REIVINDICACIONES

1. Unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- el potenciador del virus hCMVe, teniendo dicho potenciador la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 1, y

- la región promotora de las quinasas 9 dependiente de ciclina (CDK9), teniendo dicha región promotora la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 2.

2. Unidad de transcripción según la reivindicación 1, comprendiendo dicho polinucleótido también una secuencia nucleotídica situada secuencia abajo de dicha región promotora y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción, comprendiendo dicha secuencia nucleotídica al menos una de las regiones 5' no traducida (5' UTR) seleccionada entre las siguientes:

- región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 3,

- región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 4,

- región 5' UTR del gen eukaryotic Initiation Factor 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ IDNO: 5, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 5,

poseyendo dichos ácidos nuclotídicos al menos un 70% de identidad de secuencia con dichas secuencias SEC ID NO: 3, 4, 5 que tienen esencialmente unas propiedades de estabilización de los ARNm y de un facilitador de traducción.

3. Unidad de transcripción según la reivindicación 1, comprendiendo dicho polinucleótido también un intrón situado secuencia abajo de dicha región promotora y secuencia arriba del sitio de inicio de la traducción, estando dicho intrón seleccionado entre los siguientes:

- intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 10,

- intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ IDNO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 11,

- intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 12,

- intrón pcinéo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 13,

- intrón del gen ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 53,

- intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 54.

4. Unidad de transcripción según la reivindicación 2, comprendiendo dicho polinucleótido también un intrón, estando dicho intrón seleccionado entre los siguientes:

- intrón del gen factor 1α de elongación (EF1α) que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 10,

- intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ IDNO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 11,

- intrón 5'LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 12,

- intrón pcinéo que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 13,

- intrón ubiquitina que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 53, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 53,

- intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 54, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 54.

estando dicho intrón situado secuencia abajo de dicha región 5' UTR y secuencia arriba del sitio de inicio de la transcripción.

5. Unidad de transcripción según la reivindicación 4, en la que la región promotora es

- la de CDK9, la región 5' UTR es la del gen eIF4GI y el intrón es el del gen EF1α, teniendo dicha unidad transcripción la secuencia nucleotídica SEC ID NO: 33, o

- un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEC ID NO: 33 y que permite une producción volúmica de una proteína de interés superior a la obtenida con la combinación del potenciador CMV asociado a la región promotora de CDK9.

6. Vector de expresión que comprende al menos una unidad de transcripción tal como se define según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 y al menos un sitio de clonación que permite la integración de un ácido nucleotídico que codifica para una proteína de interés.

7. Vector de expresión que comprende al menos una unidad de transcripción tal como se define según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 y al menos un sitio para la recombinación, sitio específico que permite la integración de un ácido nucleotídico que codifica para una proteína de interés.

8. Vector de expresión según la reivindicación 6 o 7, que comprende además un gen de resistencia eucariota, un gen de resistencia bacteriana, un origen de replicación bacteriano y una unidad dedicada a la amplificación génica.

9. Vector de expresión según la reivindicación 6 o 7, en el que dicha proteína de interés se selecciona entre el grupo constituido de las proteínas que participan en la coagulación o una inmunoglobulina, unas citoquinas, unas hormonas, unos factores de crecimiento o factores del complemento y de cualquier proteína de fusión.

10. Célula hospedante que comprende un vector de expresión tal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, siendo dicha célula hospedante en particular la línea celular YB2/0.

11. Utilización de un vector de expresión según la reivindicación 6 para transfectar une célula hospedante.

12. Sistema de expresión que comprende un vector de expresión tal como se define según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9 y une célula hospedante tal como se define según la reivindicación 10 que permite la expresión de una proteína de interés codificada por un ácido nucleotídico.

13. Utilización de un vector de expresión que comprende al menos una unidad de transcripción según una cualquiera des reivindicaciones 1 a 5 en une célula hospedante según la reivindicación 10 para producir una proteína de interés codificada por un ácido nucleotídico, siendo dicha proteína de interés producida con un título más elevado que en el vector de expresión de referencia que comprende al menos un promotor RSV, un intrón pCInéo, una secuencia de poliadenilación, un gen de resistencia eucariota, un gen de resistencia bacteriana, un origen de replicación bacteriana y una unidad dedicada a la amplificación génica, comprendiendo dicho vector de referencia la misma secuencia nucleotídica.

14. Procedimiento de producción *in vitro* de una proteína recombinante que comprende las etapas de:

- introducir el vector de expresión que comprende al menos una unidad de transcripción según una cualquiera des reivindicaciones 1 a 5 y un ADNc que codifica para una proteína de interés en une célula hospedante,

- seleccionar e identificar unas células hospedantes obtenidas en la etapa anterior que expresan de manera estable dicha proteína de interés,

- extraer y purificar dicha proteína de interés.

15. Procedimiento según la reivindicación 14 que comprende además una etapa de selección y de identificación de las células hospedantes obtenidas que expresan de manera estable dicha proteína de interés.

Figura 1

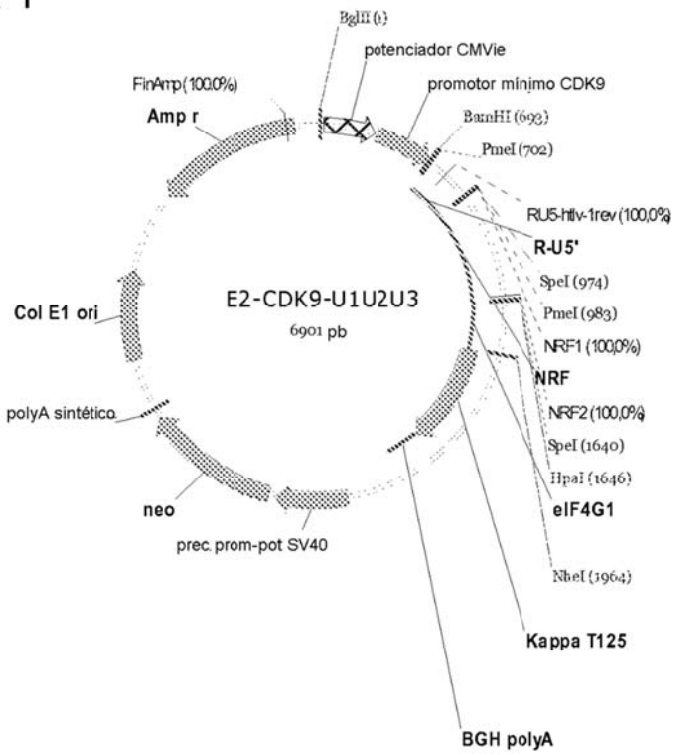


Figura 2

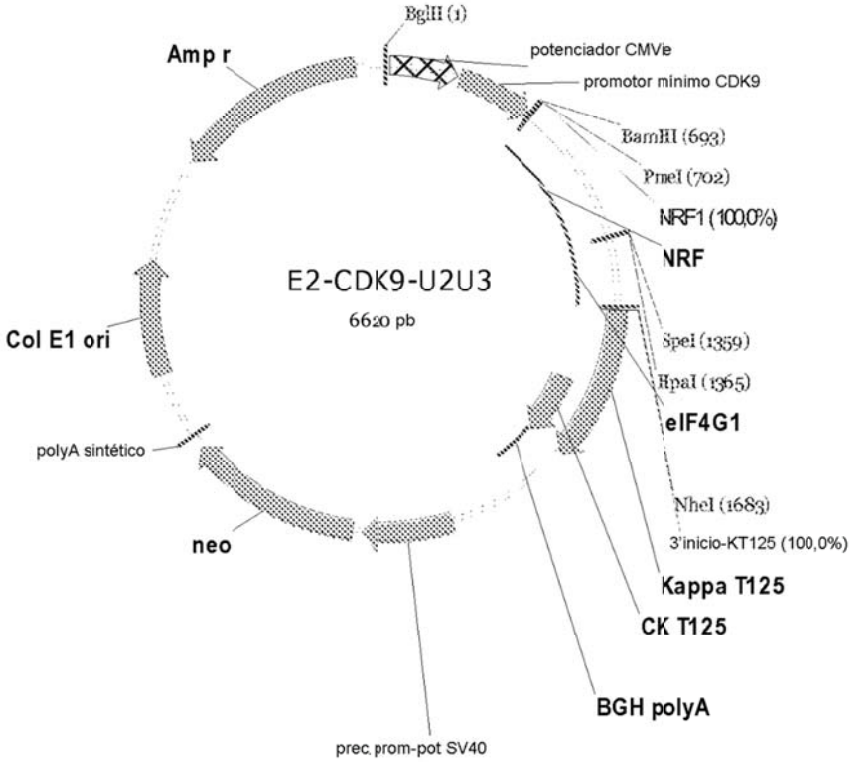


Figura 3

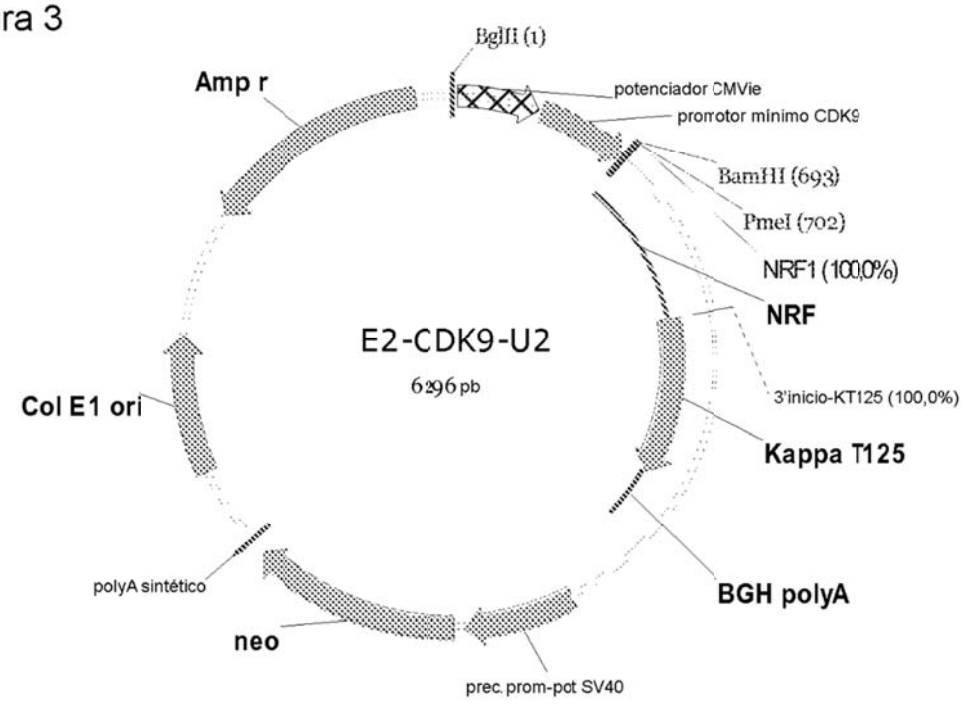


Figura 4

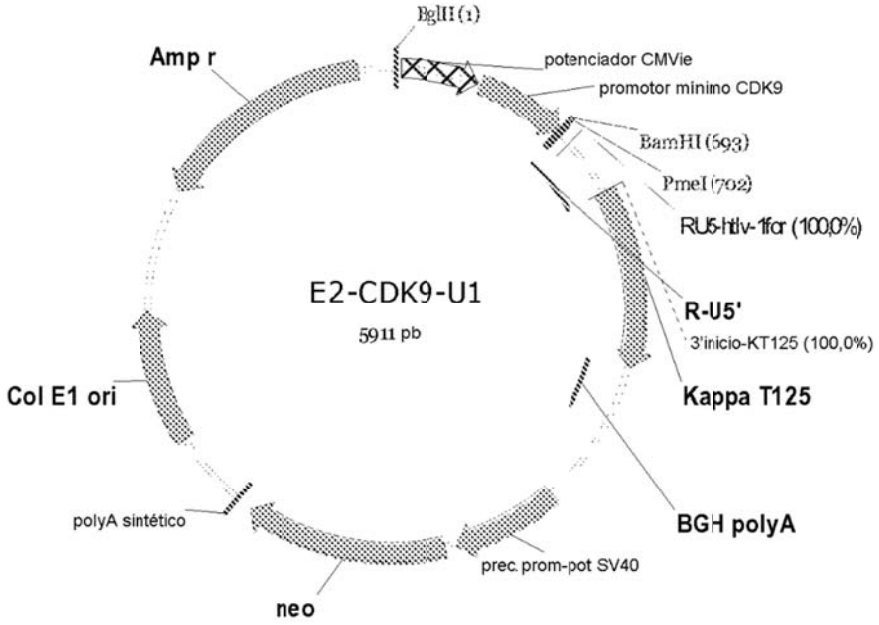


Figura 5

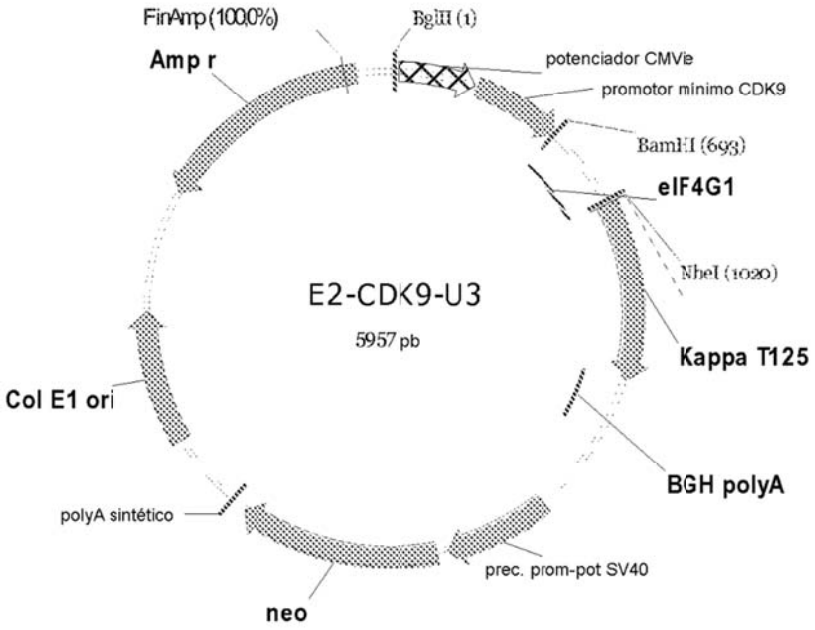


Figura 6

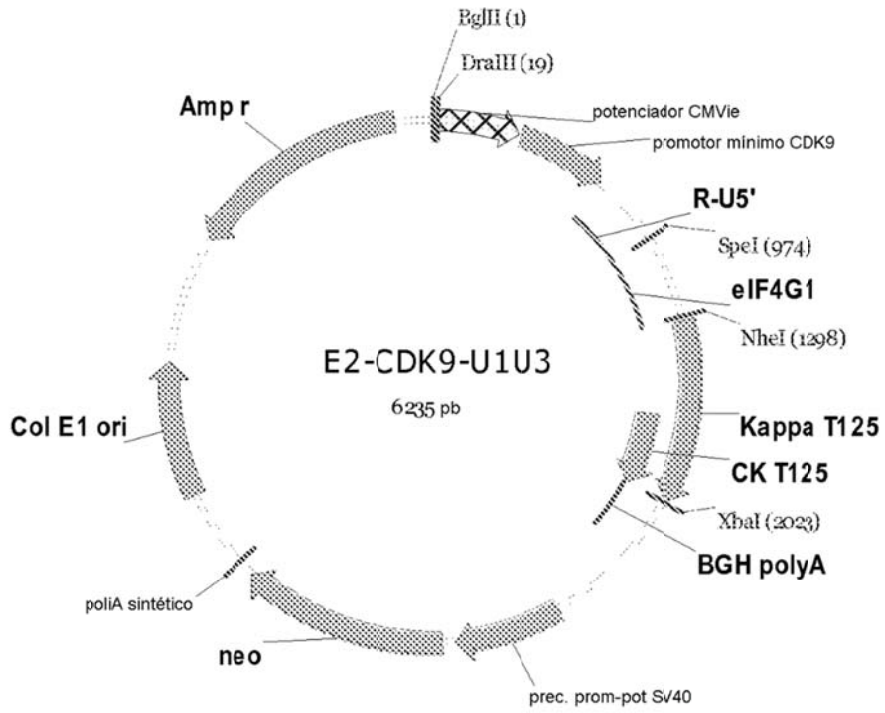


Figura 7

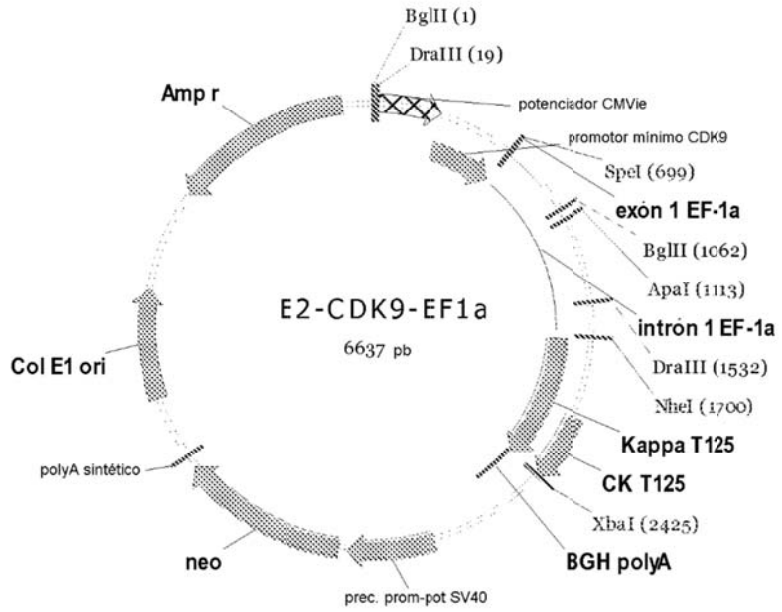


Figura 8

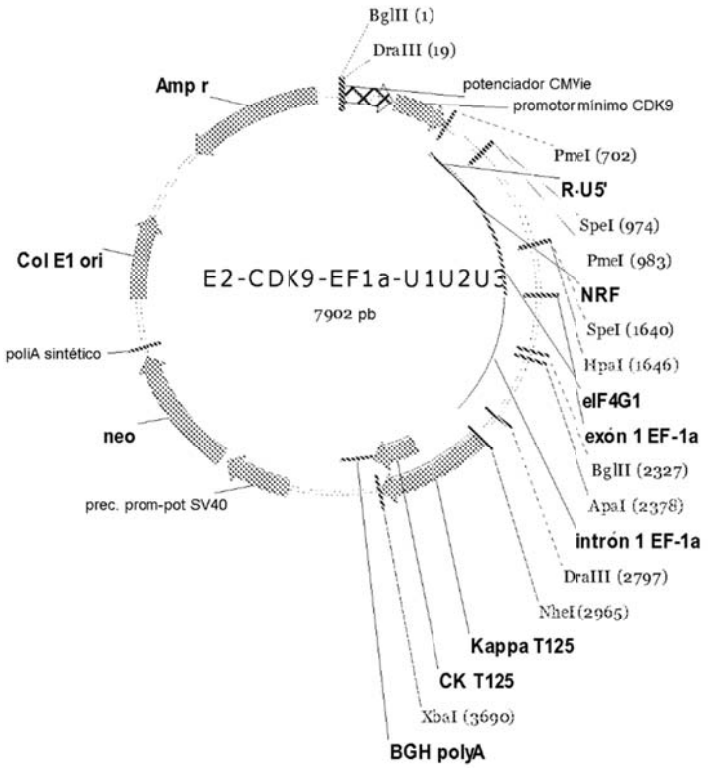


Figura 9

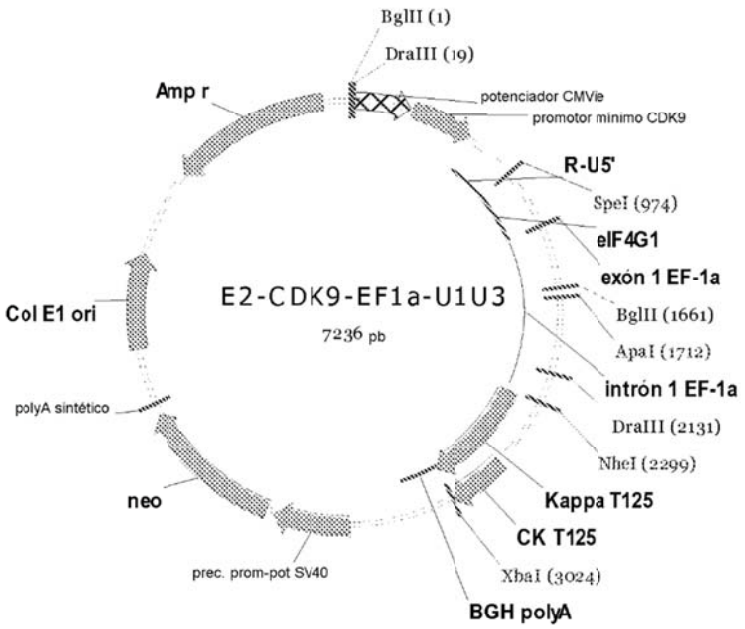


Figura 10

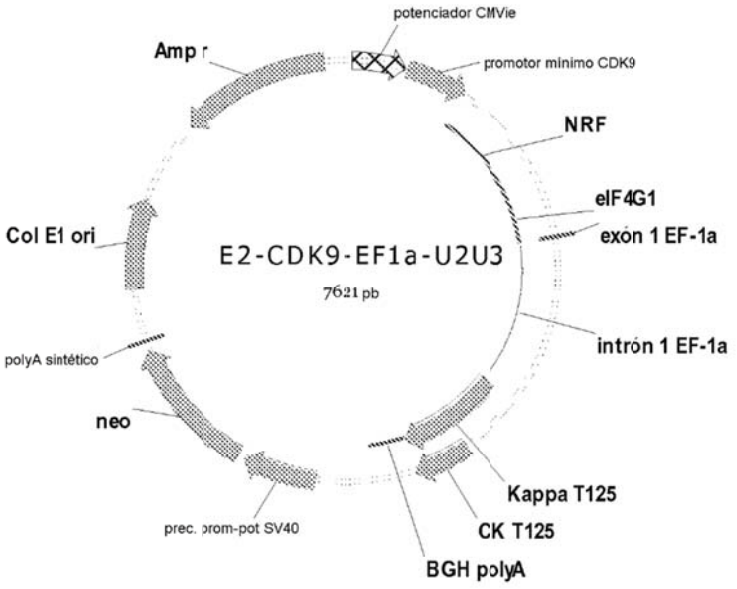


Figura 11

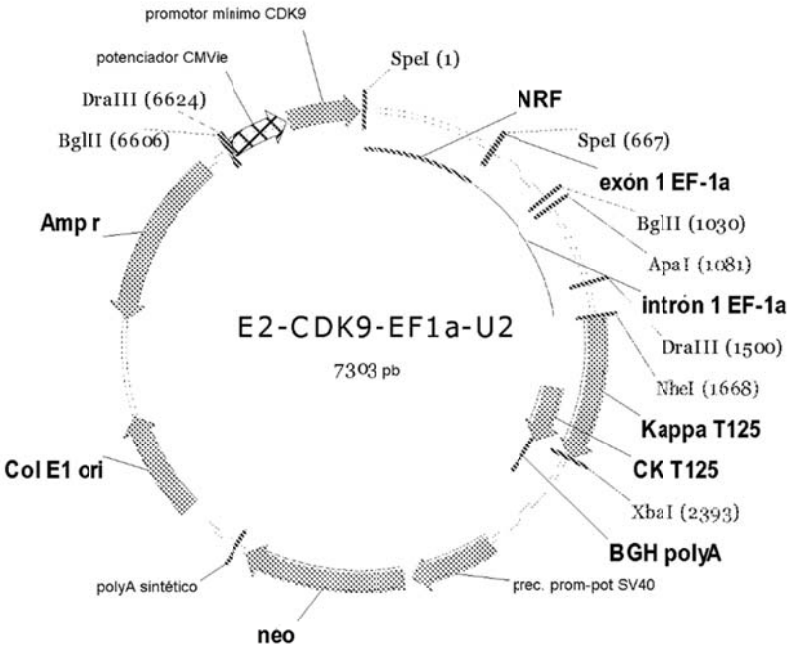


Figura 12A

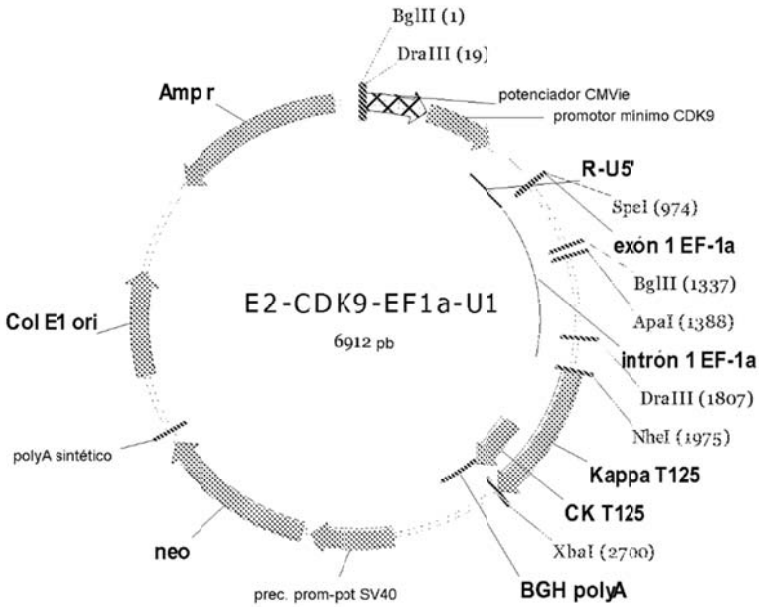


Figura 12B

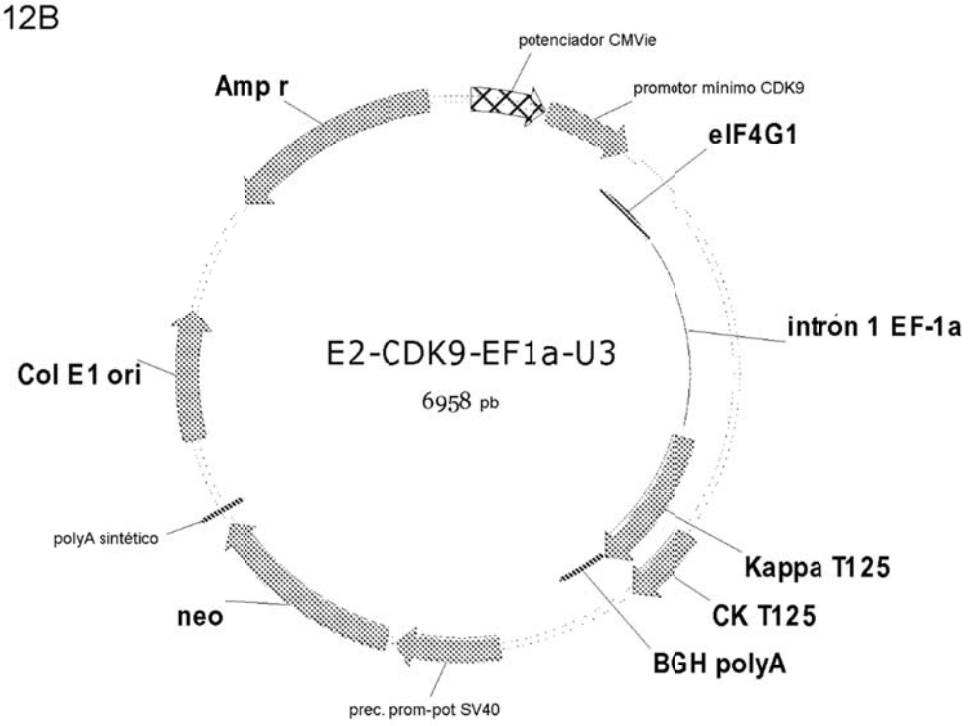


Figura 13

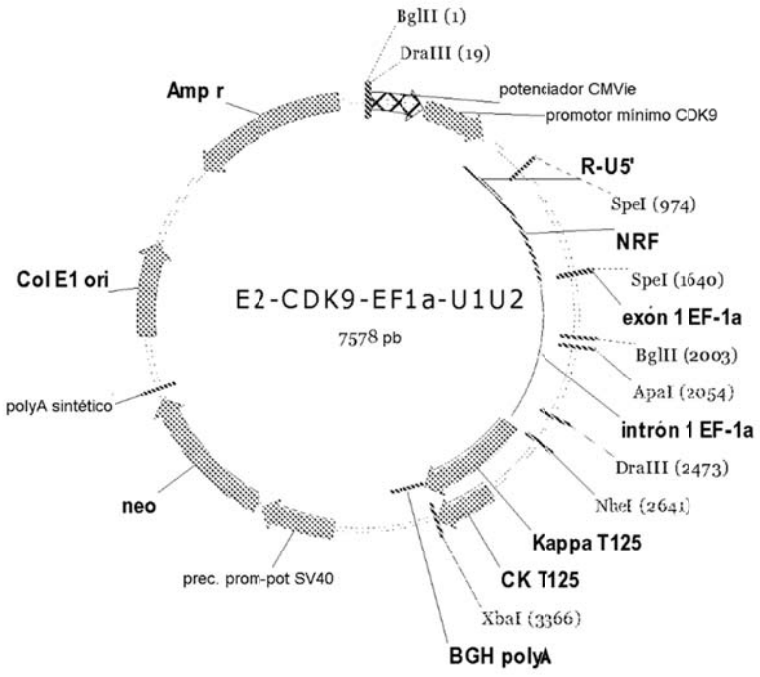


Figura 14

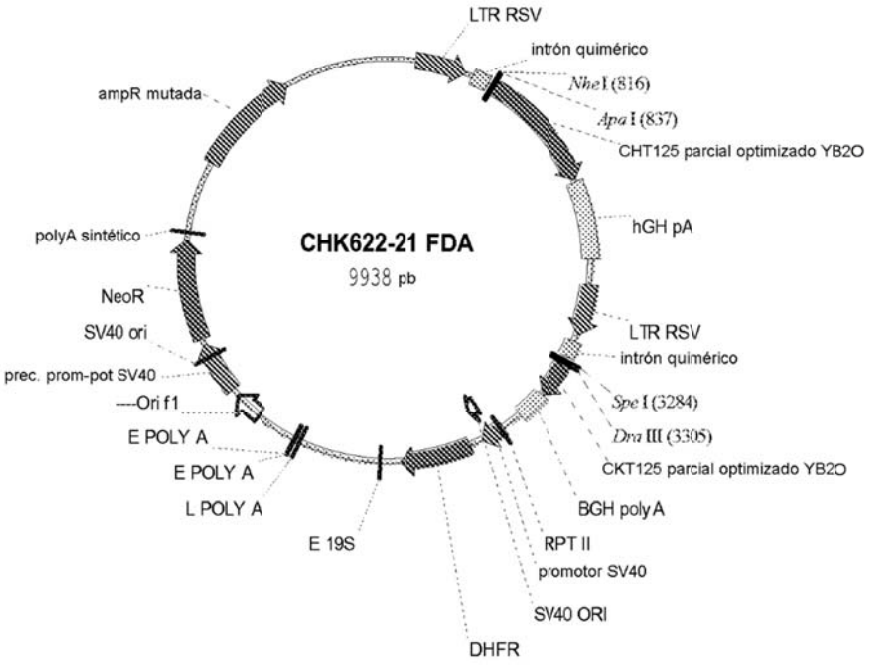

LTR RSV
intrón quimérico
NheI (816)
ApaI (837)
CHT125 parcial optimizado YB2O
hGH pA
LTR RSV
intrón quimérico
SpeI (3284)
DraIII (3305)
CKT125 parcial optimizado YB2O
BGH polyA
RPT II
promotor SV40
SV40 ORI
DHFR
E 19S
L POLY A
E POLY A
E POLY A
---Ori f1
prec. prom-pot SV40
SV40 ori
NeoR
polyA sintético
ampR mutada
CHK622-21 FDA
9938 pb

Figura 15

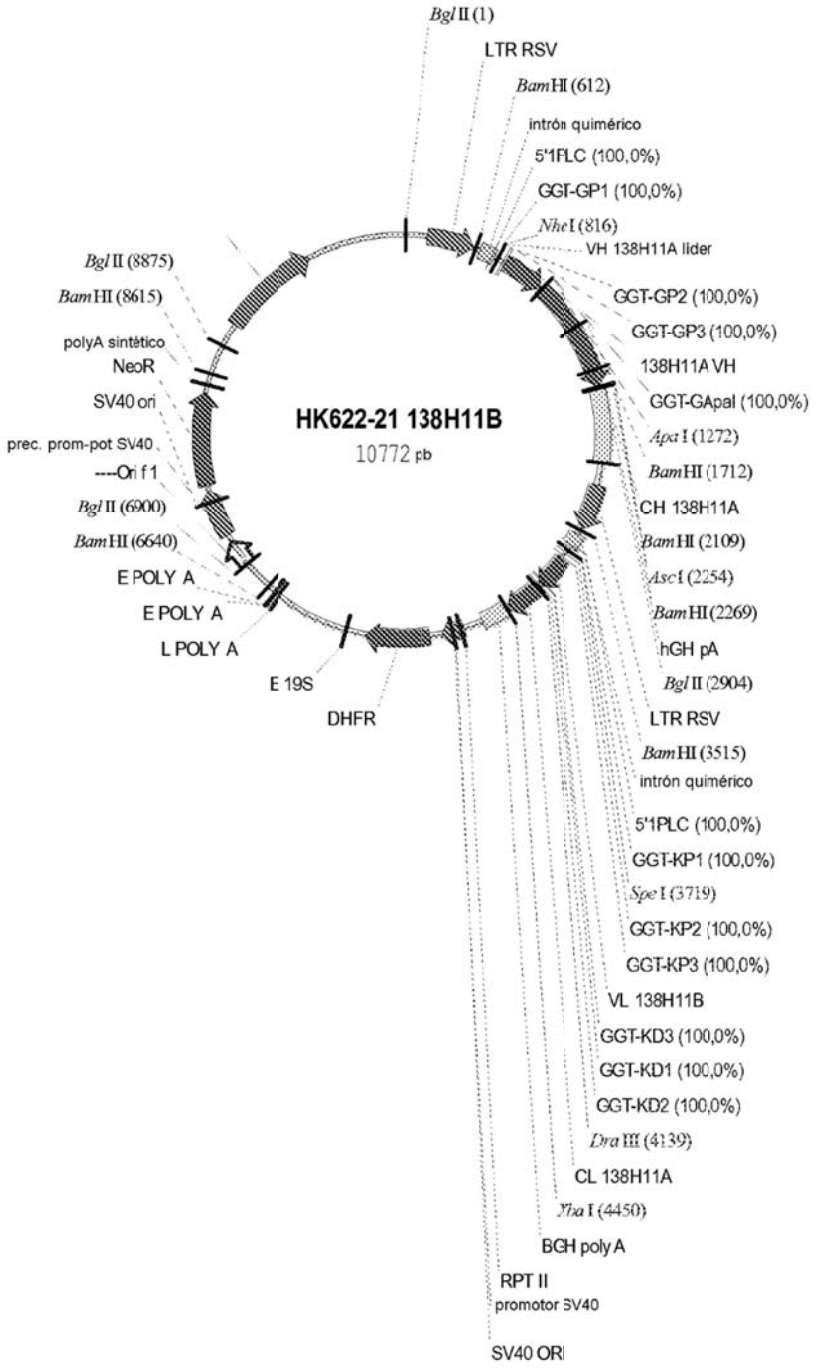

HK622-21 138H11B
10772 pb
Bgl II (1)
LTR RSV
BamHI (612)
intrón quimérico
5'1FLC (100,0%)
GGT-GP1 (100,0%)
NheI (816)
VH 138H11A líder
GGT-GP2 (100,0%)
GGT-GP3 (100,0%)
138H11A VH
GGT-GApaI (100,0%)
ApaI (1272)
BamHI (1712)
CH 138H11A
BamHI (2109)
AscI (2254)
BamHI (2269)
hGH pA
Bgl II (2904)
LTR RSV
BamHI (3515)
intrón quimérico
5'1FLC (100,0%)
GGT-KP1 (100,0%)
SpeI (3719)
GGT-KP2 (100,0%)
GGT-KP3 (100,0%)
VL 138H11B
GGT-KD3 (100,0%)
GGT-KD1 (100,0%)
GGT-KD2 (100,0%)
DraIII (4139)
CL 138H11A
NsiI (4450)
BGH poly A
RPT II
promotor SV40
SV40 ORI
DHFR
E 19S
L POLY A
E POLY A
E POLY A
BamHI (6640)
Bgl II (6900)
----Ori f1
prec. prom-pot SV40
SV40 ori
NeoR
polyA sintético
BamHI (8615)
Bgl II (8875)

Figura 16

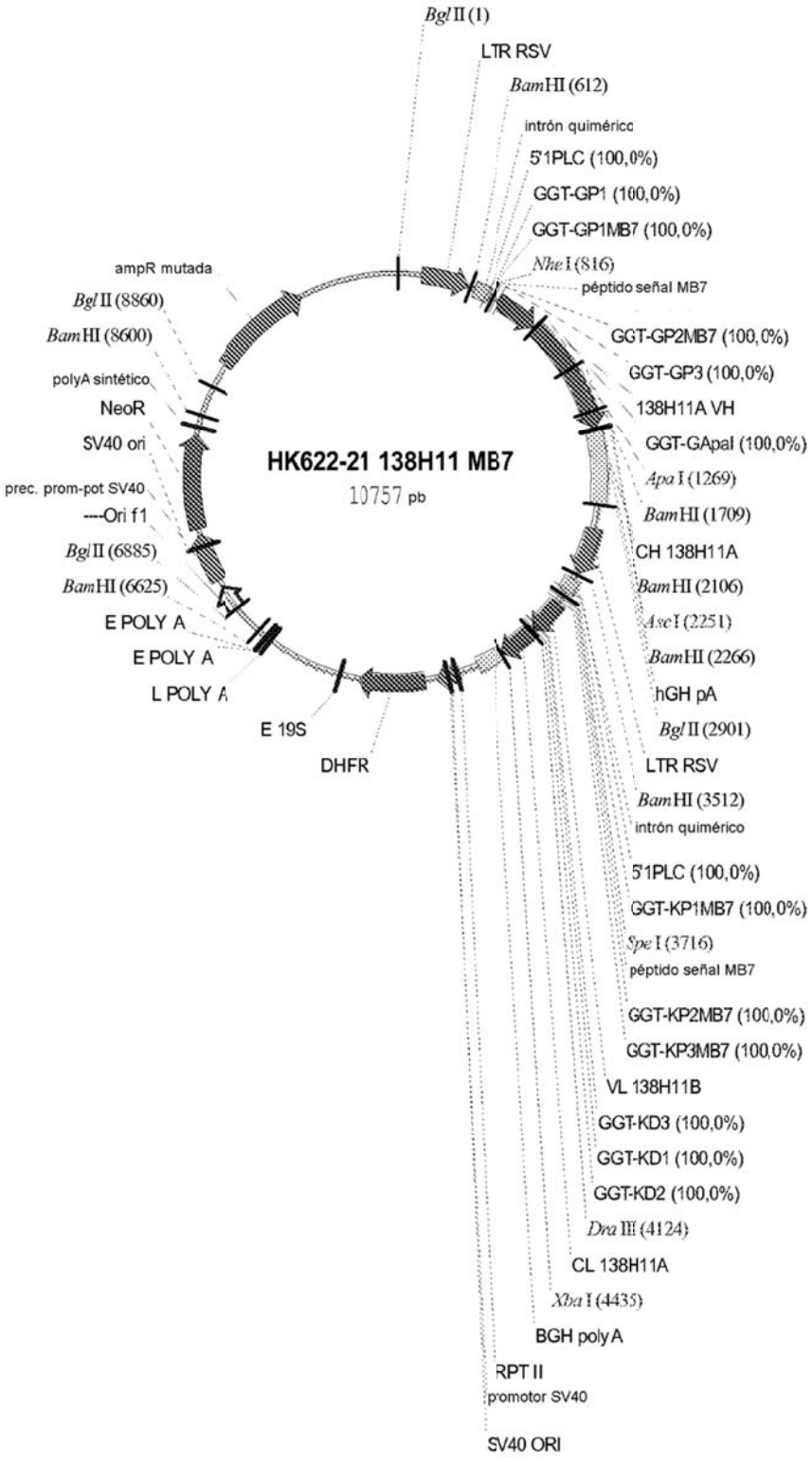

HK622-21 138H11 MB7
10757 pb
BglII (1)
LTR RSV
BamHI (612)
intrón quimérico
5'1PLC (100,0%)
GGT-GP1 (100,0%)
GGT-GP1MB7 (100,0%)
NheI (816)
péptido señal MB7
GGT-GP2MB7 (100,0%)
GGT-GP3 (100,0%)
138H11A VH
GGT-GApaI (100,0%)
ApaI (1269)
BamHI (1709)
CH 138H11A
BamHI (2106)
AscI (2251)
BamHI (2266)
hGH pA
BglII (2901)
LTR RSV
BamHI (3512)
intrón quimérico
5'1PLC (100,0%)
GGT-KP1MB7 (100,0%)
SpeI (3716)
péptido señal MB7
GGT-KP2MB7 (100,0%)
GGT-KP3MB7 (100,0%)
VL 138H11B
GGT-KD3 (100,0%)
GGT-KD1 (100,0%)
GGT-KD2 (100,0%)
DraIII (4124)
CL 138H11A
XbaI (4435)
BGH poly A
RPT II
promotor SV40
SV40 ORI
DHFR
E 19S
L POLY A
E POLY A
E POLY A
BglII (6885)
BamHI (6625)
---Ori f1
prec. prom-pot SV40
SV40 ori
NeoR
polyA sintético
BglII (8860)
BamHI (8600)
ampR mutada

Figura 17

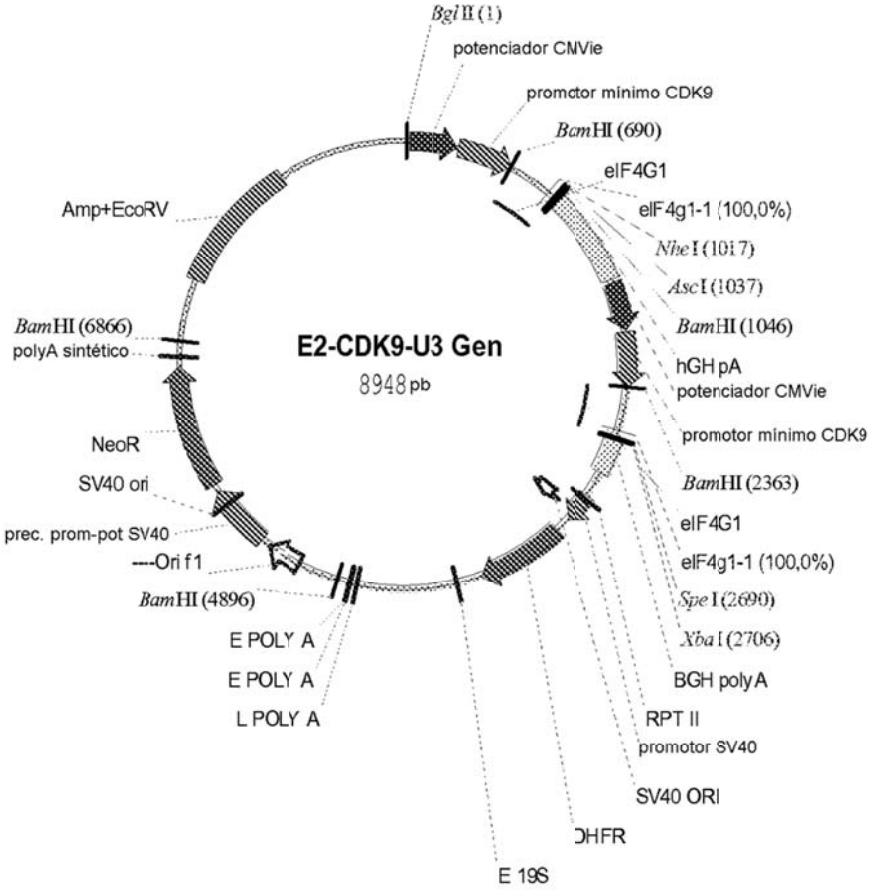

BglII (1)
potenciador CMVie
promotor mínimo CDK9
BamHI (690)
eIF4G1
eIF4g1-1 (100,0%)
NheI (1017)
AscI (1037)
BamHI (1046)
hGH pA
potenciador CMVie
promotor mínimo CDK9
BamHI (2363)
eIF4G1
eIF4g1-1 (100,0%)
SpeI (2690)
XbaI (2706)
BGH polyA
RPT II
promotor SV40
SV40 ORI
DHFR
E 19S
E POLY A
E POLY A
L POLY A
BamHI (4896)
---Ori f1
prec. prom-pot SV40
SV40 ori
NeoR
BamHI (6866)
polyA sintético
Amp+EcoRV
E2-CDK9-U3 Gen
8948 pb

Figura 18

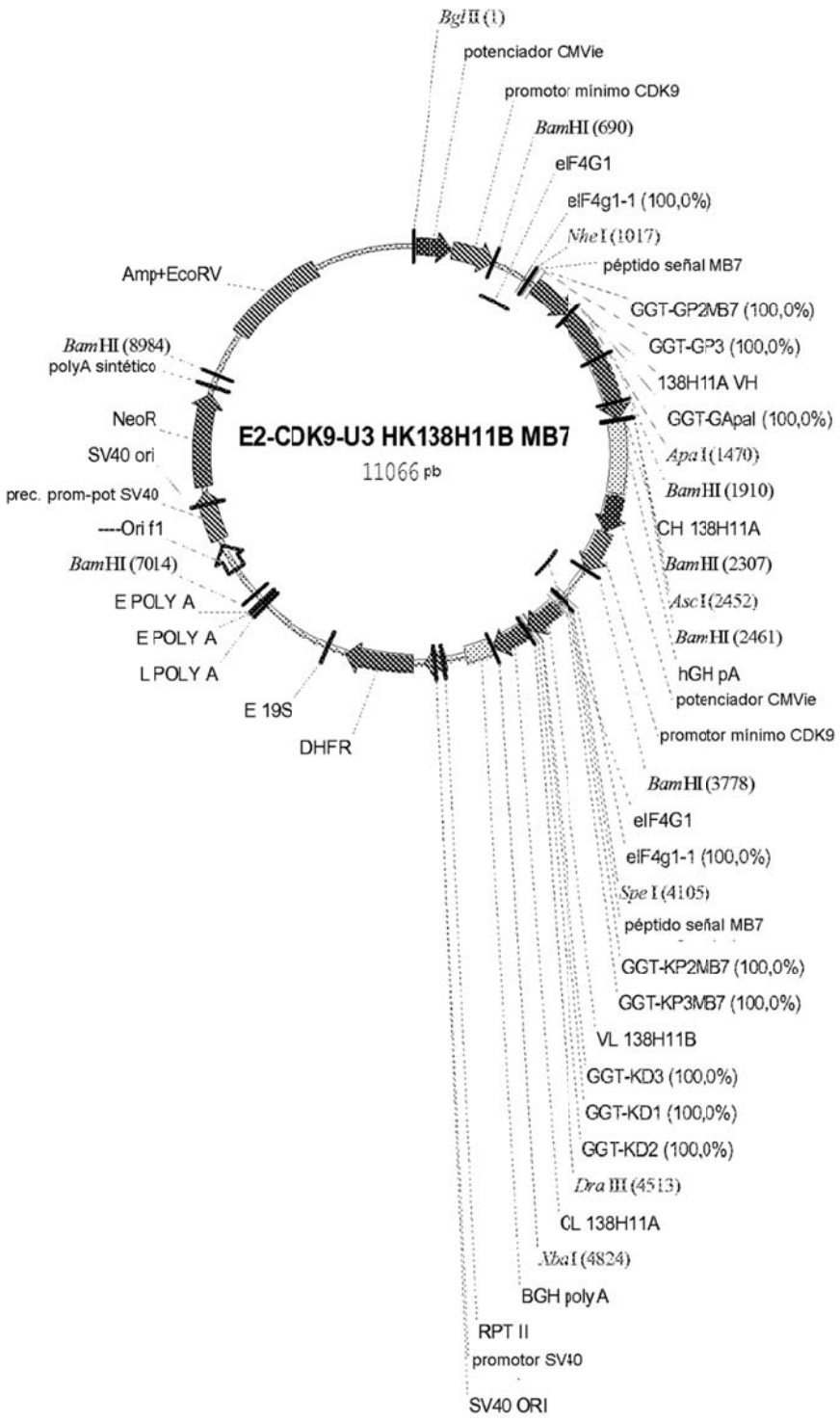

E2-CDK9-U3 HK138H11B MB7
11066 pb
BglII (1)
potenciador CMVie
promotor mínimo CDK9
BamHI (690)
eIF4G1
eIF4g1-1 (100,0%)
NheI (1017)
péptido señal MB7
GGT-GP2MB7 (100,0%)
GGT-GP3 (100,0%)
138H11A VH
GGT-GApaI (100,0%)
ApaI (1470)
BamHI (1910)
CH 138H11A
BamHI (2307)
AscI (2452)
BamHI (2461)
hGH pA
potenciador CMVie
promotor mínimo CDK9
BamHI (3778)
eIF4G1
eIF4g1-1 (100,0%)
SpeI (4105)
péptido señal MB7
GGT-KP2MB7 (100,0%)
GGT-KP3MB7 (100,0%)
VL 138H11B
GGT-KD3 (100,0%)
GGT-KD1 (100,0%)
GGT-KD2 (100,0%)
DraIII (4513)
CL 138H11A
XbaI (4824)
BGH polyA
RPT II
promotor SV40
SV40 ORI
DHFR
E 19S
L POLY A
E POLY A
E POLY A
BamHI (7014)
----Ori f1
prec. prom-pot SV40
SV40 ori
NeoR
BamHI (8984)
polyA sintético
Amp+EcoRV

Figura 19

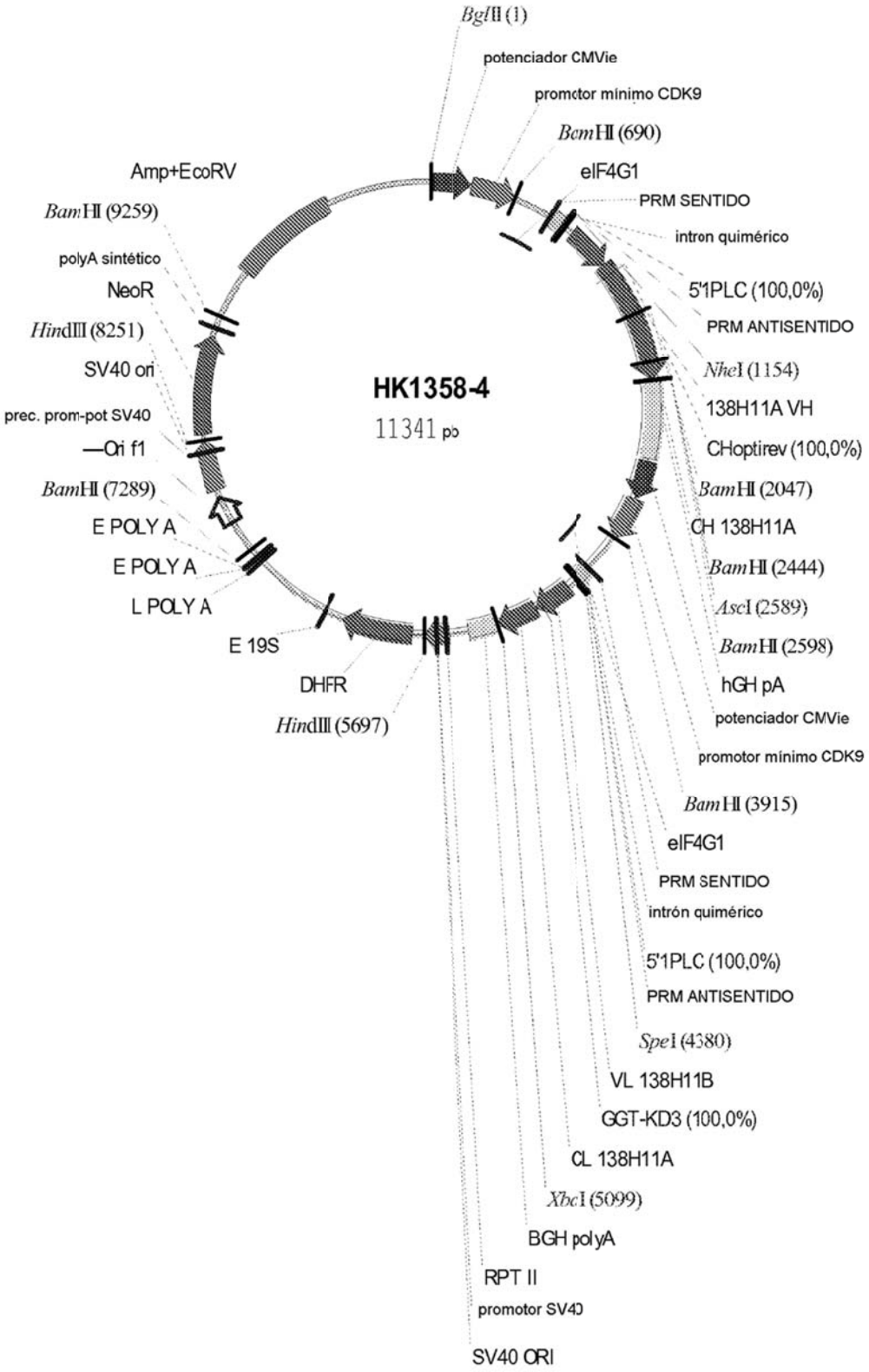

HK1358-4
11341 pb
BglII (1)
potenciador CMVie
promotor mínimo CDK9
BamHI (690)
eIF4G1
PRM SENTIDO
intron quimérico
5'1PLC (100,0%)
PRM ANTISENTIDO
NheI (1154)
138H11A VH
CHoptirev (100,0%)
BamHI (2047)
CH 138H11A
BamHI (2444)
AscI (2589)
BamHI (2598)
hGH pA
potenciador CMVie
promotor mínimo CDK9
BamHI (3915)
eIF4G1
PRM SENTIDO
intrón quimérico
5'1PLC (100,0%)
PRM ANTISENTIDO
SpeI (4380)
VL 138H11B
GGT-KD3 (100,0%)
CL 138H11A
XbcI (5099)
BGH polyA
RPT II
promotor SV40
SV40 ORI
DHFR
HindIII (5697)
E 19S
L POLY A
E POLY A
E POLY A
BamHI (7289)
—Ori f1
prec. prom-pot SV40
SV40 ori
HindIII (8251)
NeoR
polyA sintético
BamHI (9259)
Amp+EcoRV

Figura 20

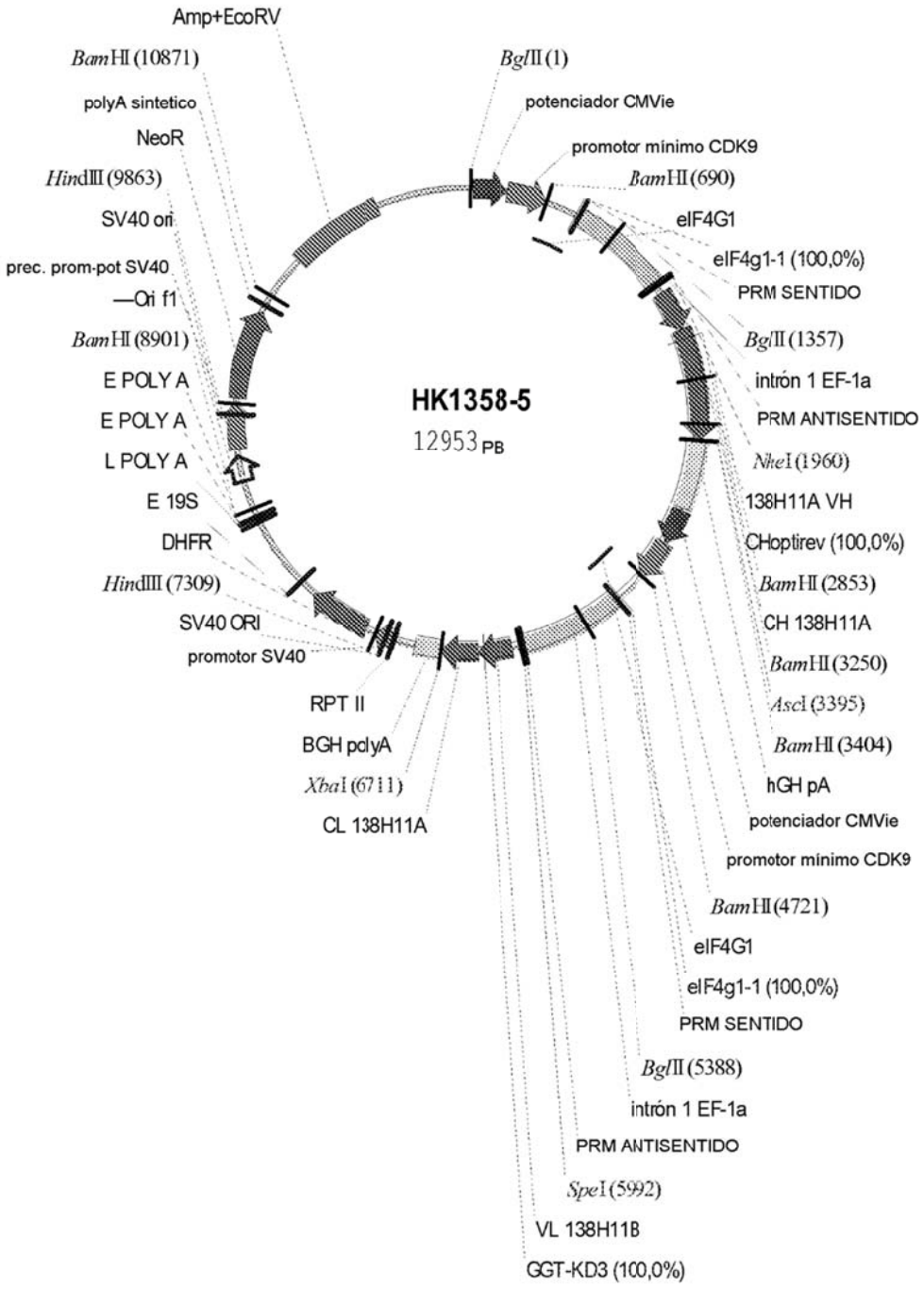

Amp+EcoRV
BamHI (10871)
polyA sintetico
NeoR
HindIII (9863)
SV40 ori
prec. prom-pot SV40
—Ori f1
BamHI (8901)
E POLY A
E POLY A
L POLY A
E 19S
DHFR
HindIII (7309)
SV40 ORI
promotor SV40
RPT II
BGH polyA
XbaI (6711)
CL 138H11A
BglII (1)
potenciador CMVie
promotor mínimo CDK9
BamHI (690)
eIF4G1
eIF4g1-1 (100,0%)
PRM SENTIDO
BglII (1357)
intrón 1 EF-1a
PRM ANTISENTIDO
NheI (1960)
138H11A VH
CHoptirev (100,0%)
BamHI (2853)
CH 138H11A
BamHI (3250)
AscI (3395)
BamHI (3404)
hGH pA
potenciador CMVie
promotor mínimo CDK9
BamHI (4721)
eIF4G1
eIF4g1-1 (100,0%)
PRM SENTIDO
BglII (5388)
intrón 1 EF-1a
PRM ANTISENTIDO
SpeI (5992)
VL 138H11B
GGT-KD3 (100,0%)
HK1358-5
12953 PB

Figura 21

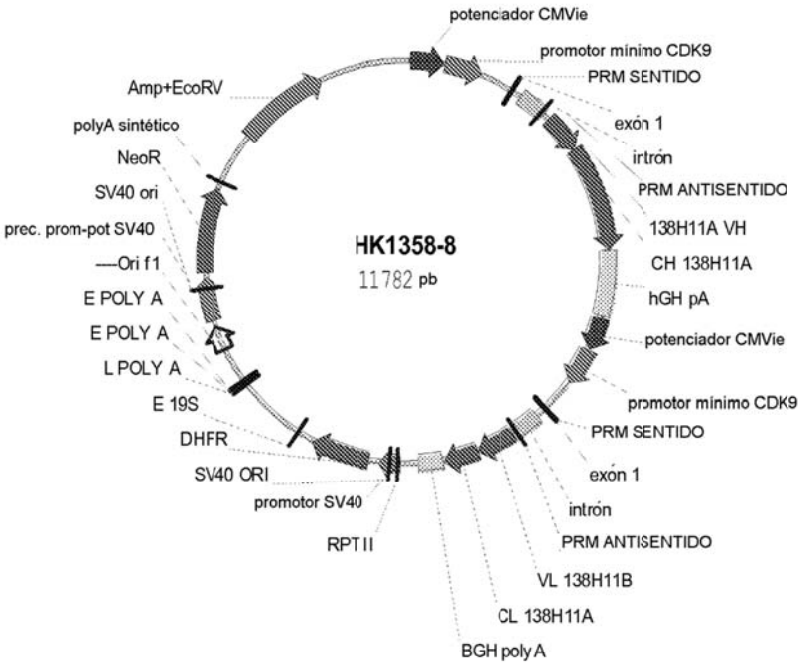


Figura 22

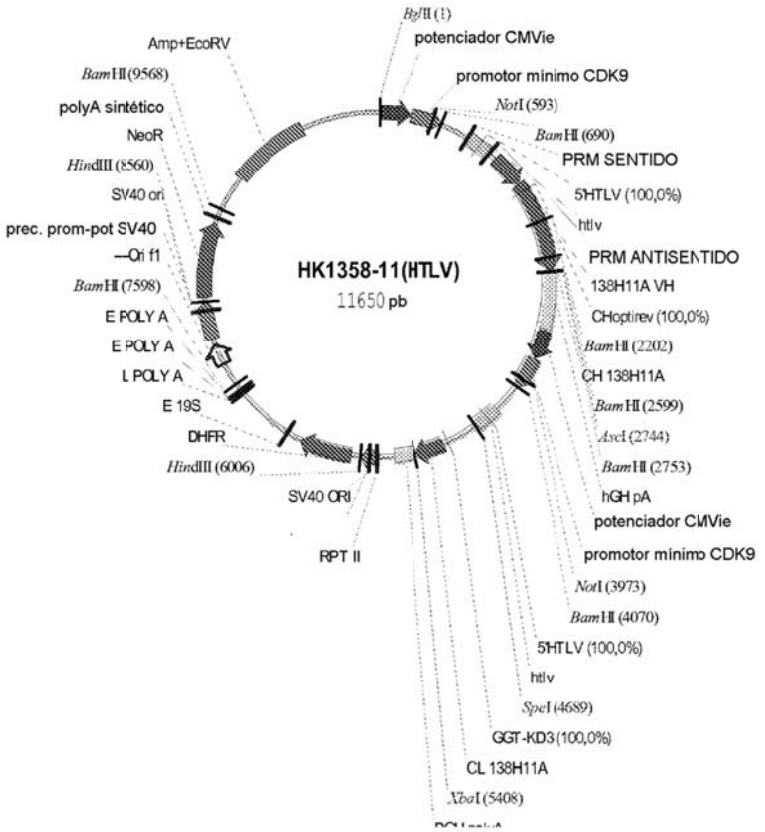


Figura 23

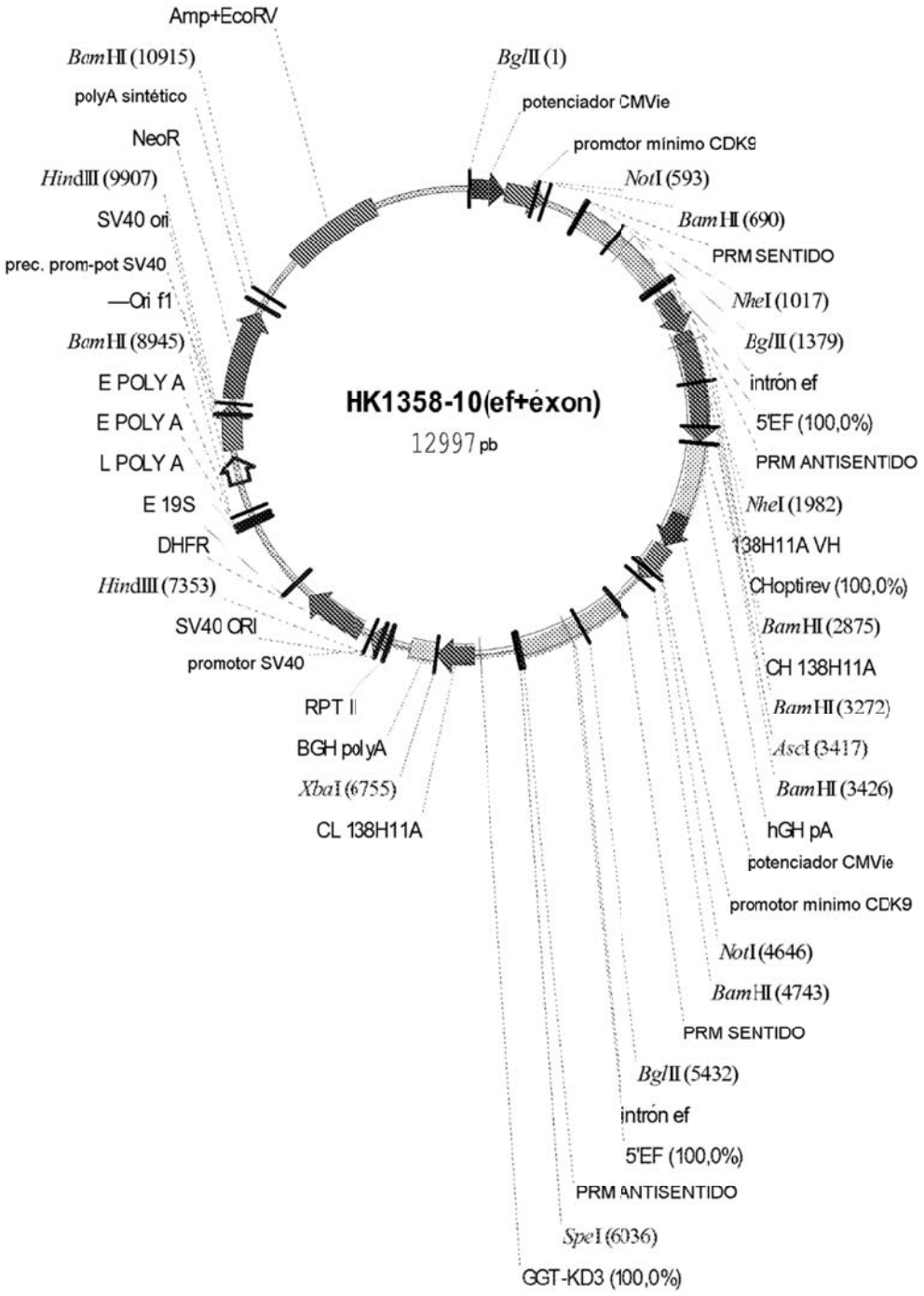

HK1358-10(ef+exon)
12997 pb
Amp+EcoRV
BamHI (10915)
polyA sintético
NeoR
HindIII (9907)
SV40 ori
prec. prom-pot SV40
—Ori f1
BamHI (8945)
E POLY A
E POLY A
L POLY A
E 19S
DHFR
HindIII (7353)
SV40 ORI
promotor SV40
RPT I
BGH polyA
XbaI (6755)
CL 138H11A
BglII (1)
potenciador CMVie
promotor mínimo CDK9
NotI (593)
BamHI (690)
PRM SENTIDO
NheI (1017)
BglII (1379)
intrón ef
5'EF (100,0%)
PRM ANTISENTIDO
NheI (1982)
138H11A VH
CHoptirev (100,0%)
BamHI (2875)
CH 138H11A
BamHI (3272)
AscI (3417)
BamHI (3426)
hGH pA
potenciador CMVie
promotor mínimo CDK9
NotI (4646)
BamHI (4743)
PRM SENTIDO
BglII (5432)
intrón ef
5'EF (100,0%)
PRM ANTISENTIDO
SpeI (6036)
GGT-KD3 (100,0%)

Figura 24

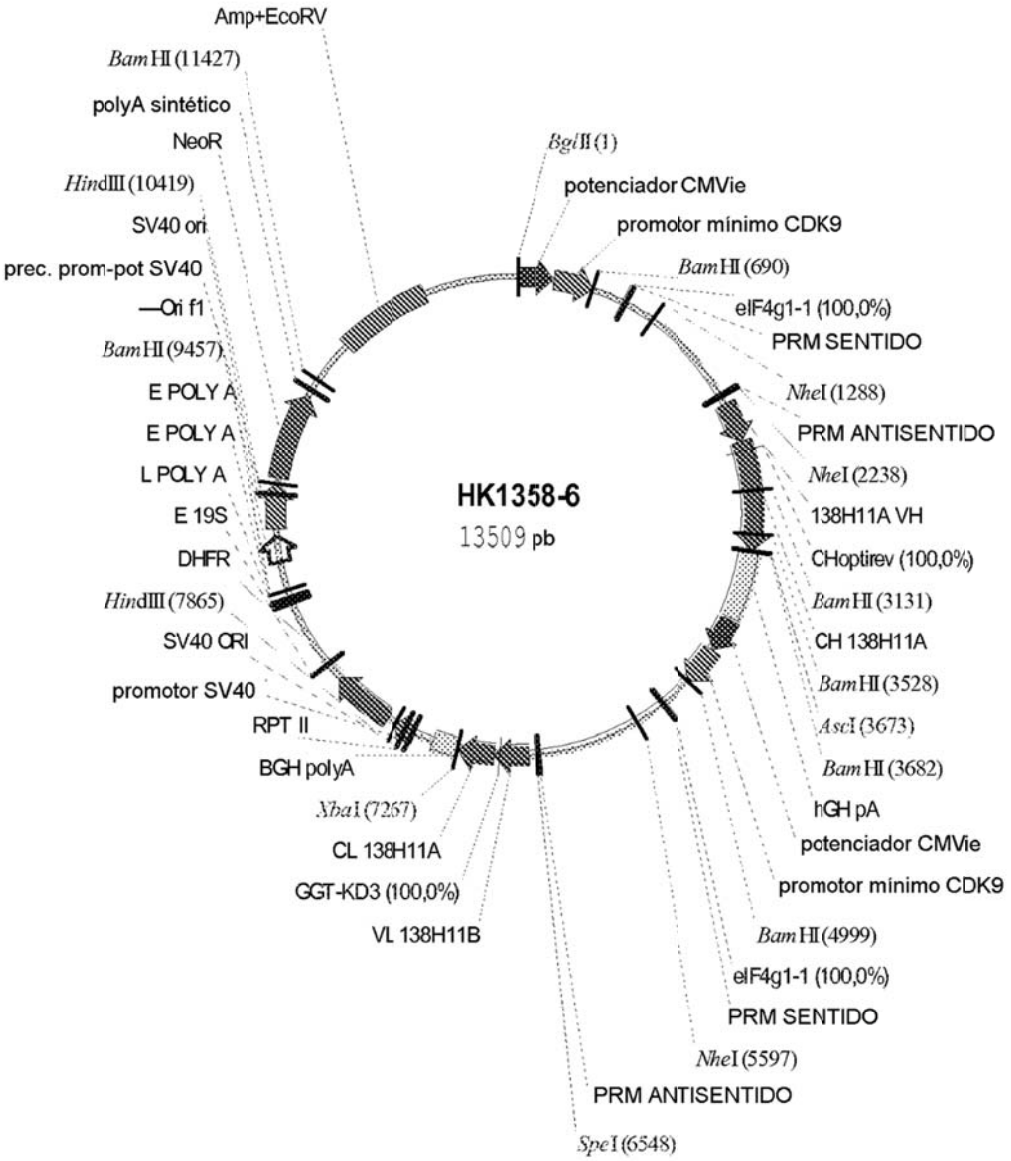

HK1358-6
13509 pb
Amp+EcoRV
BamHI (11427)
polyA sintético
NeoR
HindIII (10419)
SV40 ori
prec. prom-pot SV40
—Ori f1
BamHI (9457)
E POLY A
E POLY A
L POLY A
E 19S
DHFR
HindIII (7865)
SV40 ORI
promotor SV40
RPT II
BGH polyA
XbaI (7257)
CL 138H11A
GGT-KD3 (100,0%)
VL 138H11B
SpeI (6548)
PRM ANTISENTIDO
NheI (5597)
PRM SENTIDO
eIF4g1-1 (100,0%)
BamHI (4999)
promotor mínimo CDK9
potenciador CMVie
hGH pA
BamHI (3682)
AscI (3673)
BamHI (3528)
CH 138H11A
BamHI (3131)
CHoptirev (100,0%)
138H11A VH
NheI (2238)
PRM ANTISENTIDO
NheI (1288)
PRM SENTIDO
eIF4g1-1 (100,0%)
BamHI (690)
promotor mínimo CDK9
potenciador CMVie
BglII (1)

Figura 25

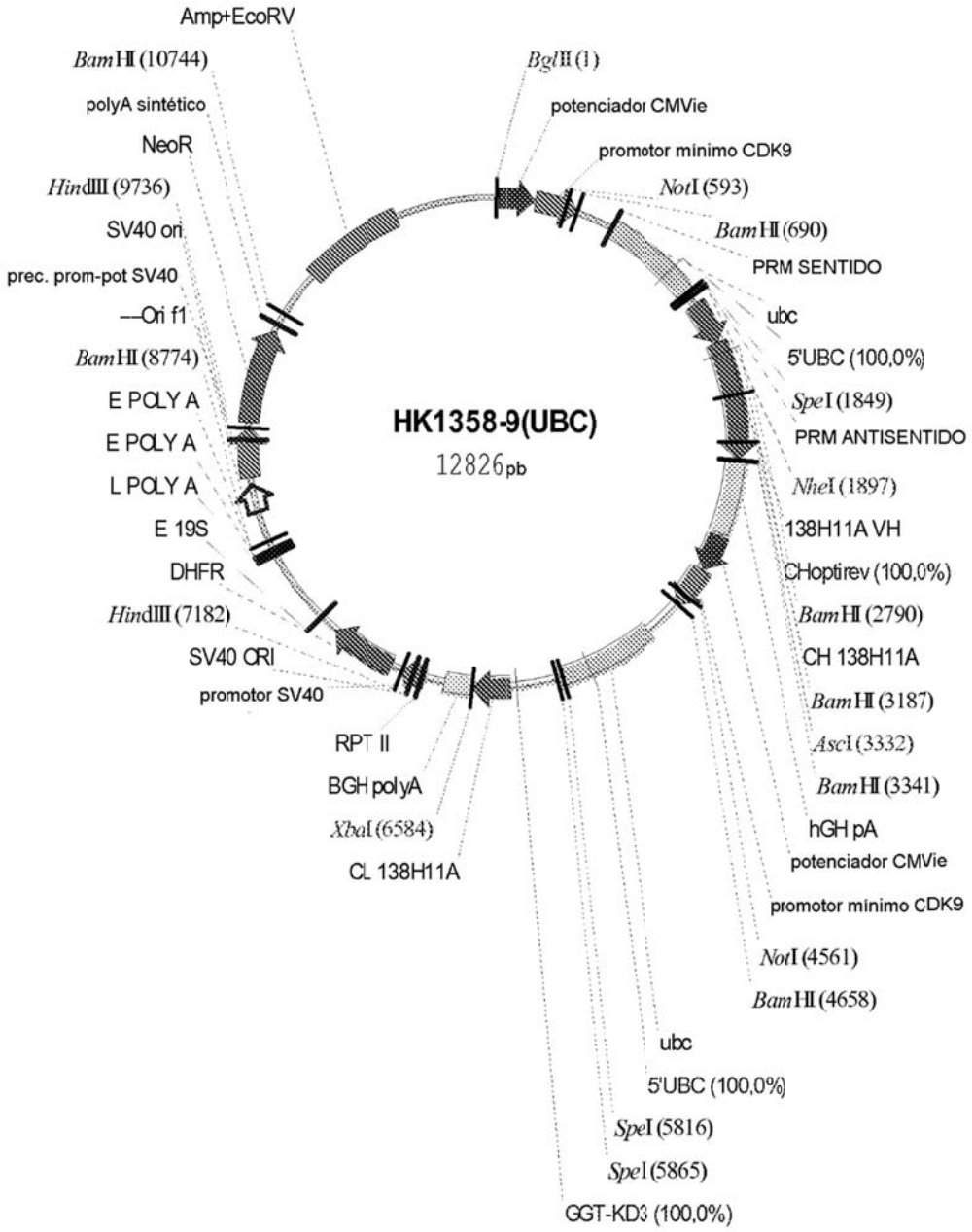

HK1358-9(UBC)
12826pb
Amp+EcoRV
BamHI (10744)
polyA sintético
NeoR
HindIII (9736)
SV40 ori
prec. prom-pot SV40
—Ori f1
BamHI (8774)
E POLY A
E POLY A
L POLY A
E 19S
DHFR
HindIII (7182)
SV40 ORI
promotor SV40
RPT II
BGH polyA
XbaI (6584)
CL 138H11A
BglII (1)
potenciador CMVie
promotor mínimo CDK9
NotI (593)
BamHI (690)
PRM SENTIDO
ubc
5'UBC (100,0%)
SpeI (1849)
PRM ANTISENTIDO
NheI (1897)
138H11A VH
CHoptirev (100,0%)
BamHI (2790)
CH 138H11A
BamHI (3187)
AscI (3332)
BamHI (3341)
hGH pA
potenciador CMVie
promotor mínimo CDK9
NotI (4561)
BamHI (4658)
ubc
5'UBC (100,0%)
SpeI (5816)
SpeI (5865)
GGT-KD3 (100,0%)

Figura 26

Efecto de la unidad de transcripción sobre la expresión del anticuerpo anti-gammaGT 138H11B en medio con suero: título en IgG a D7 y ganancia con respecto a la referencia LTR RSV + intrón Pcl neo.

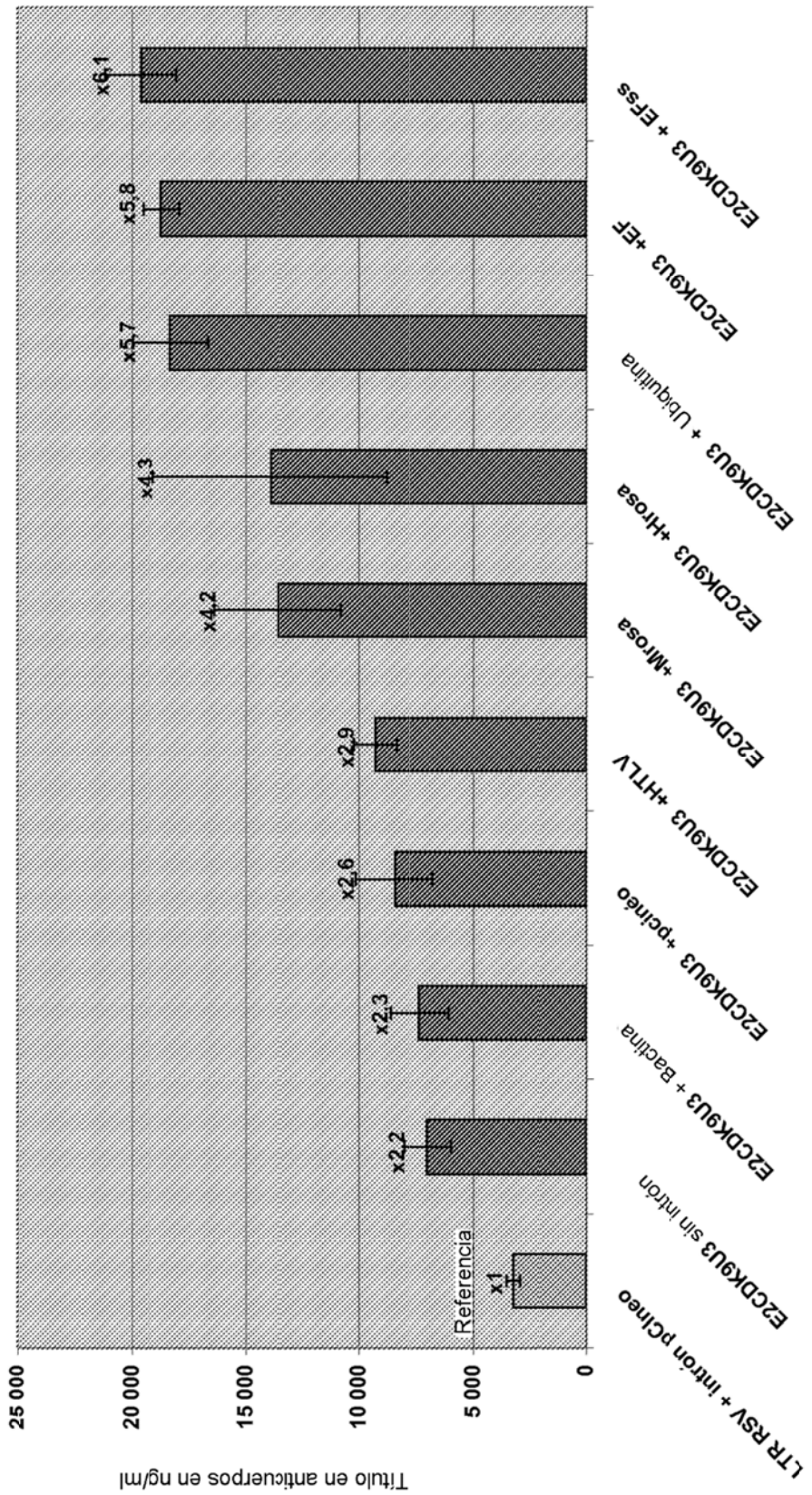


Figura 27

Efecto de la unidad de transcripción sobre la expresión del anticuerpo anti-AMHRII 3C23K en medio sin suero: título en IgG a D10 y ganancia con respecto a la referencia LTR RSV + intrón Pcl neo.

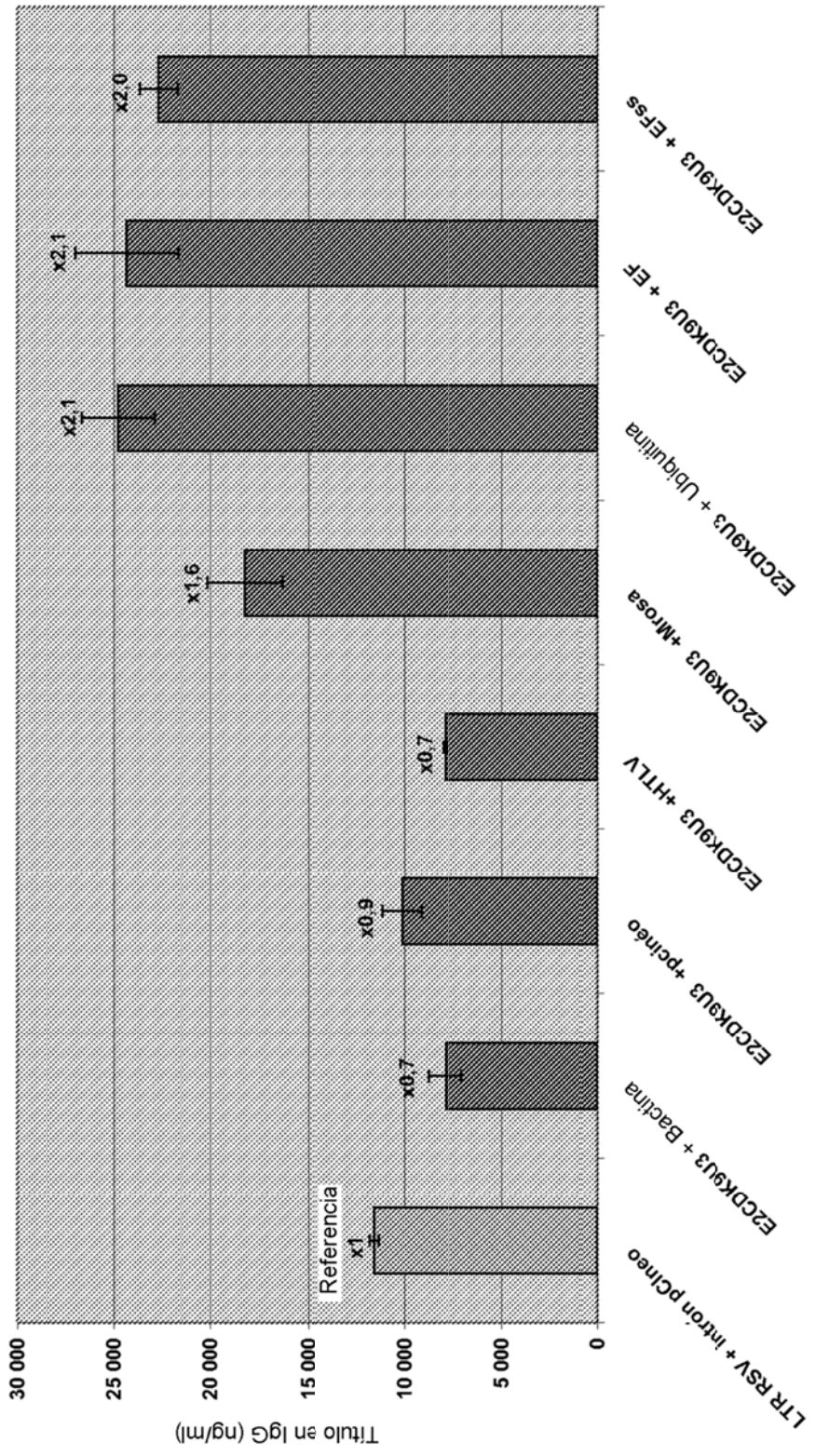


Figura 28

Efecto de la unidad de transcripción E2CDK9U3+EFss sobre la expresión en pool de 3 anticuerpos: título en IgG y ganancia con respecto a la referencia LTR RSV + intrón pCI neo.

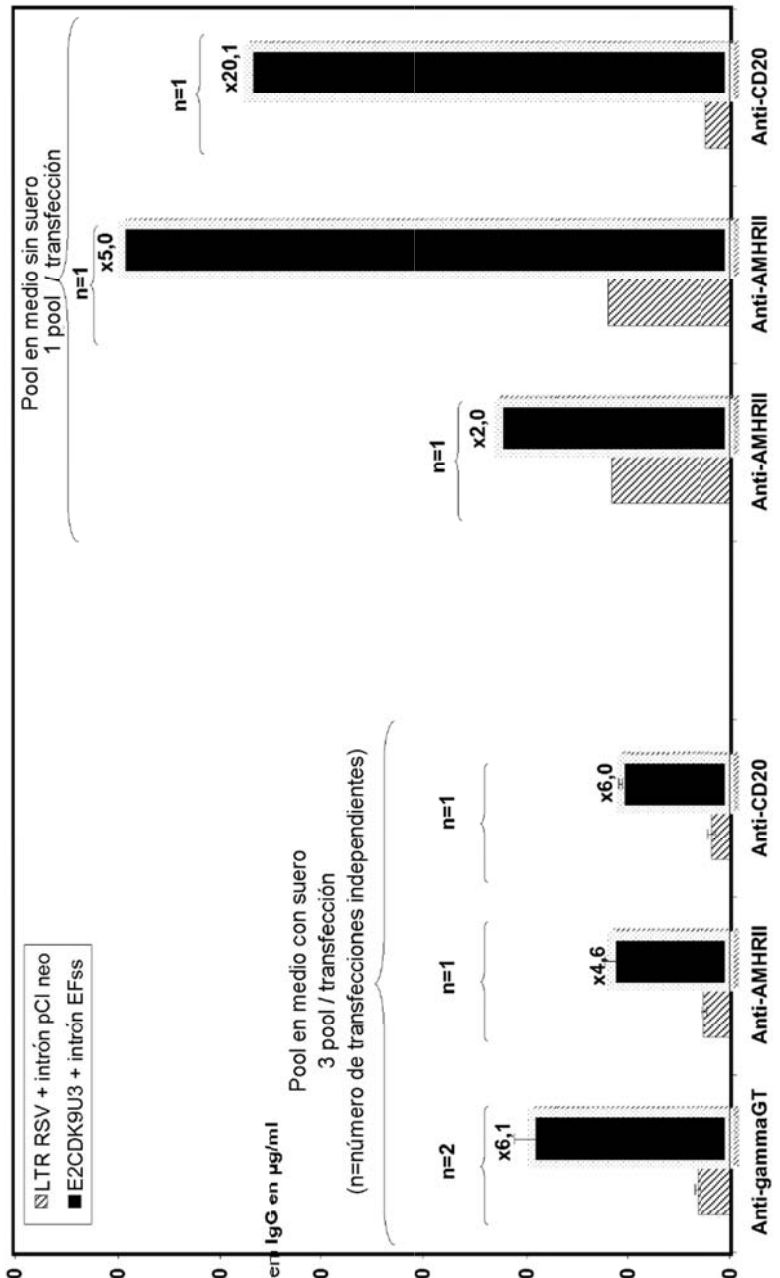


Figura 29

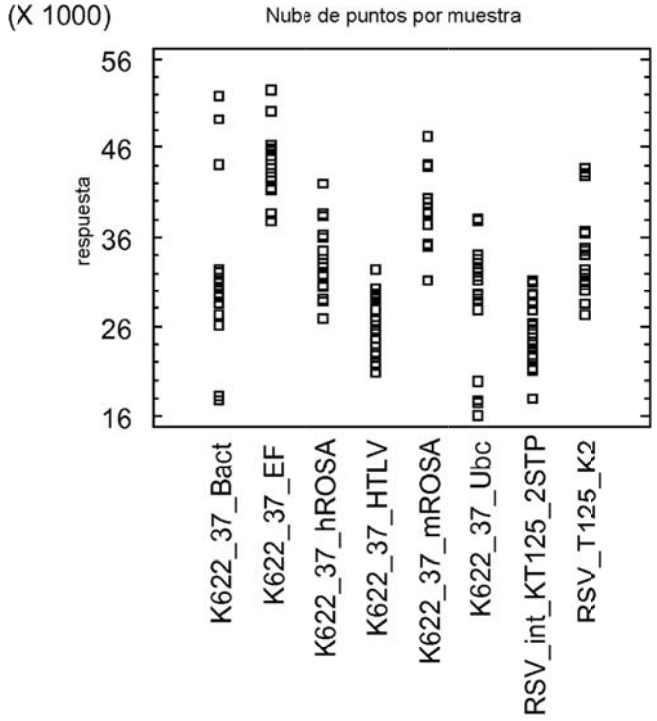


Figura 30

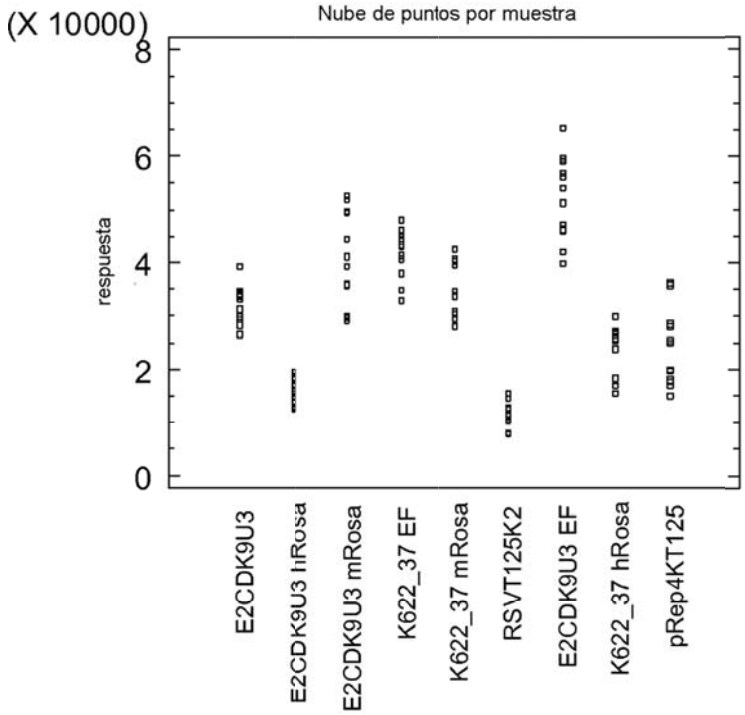


Figura 31

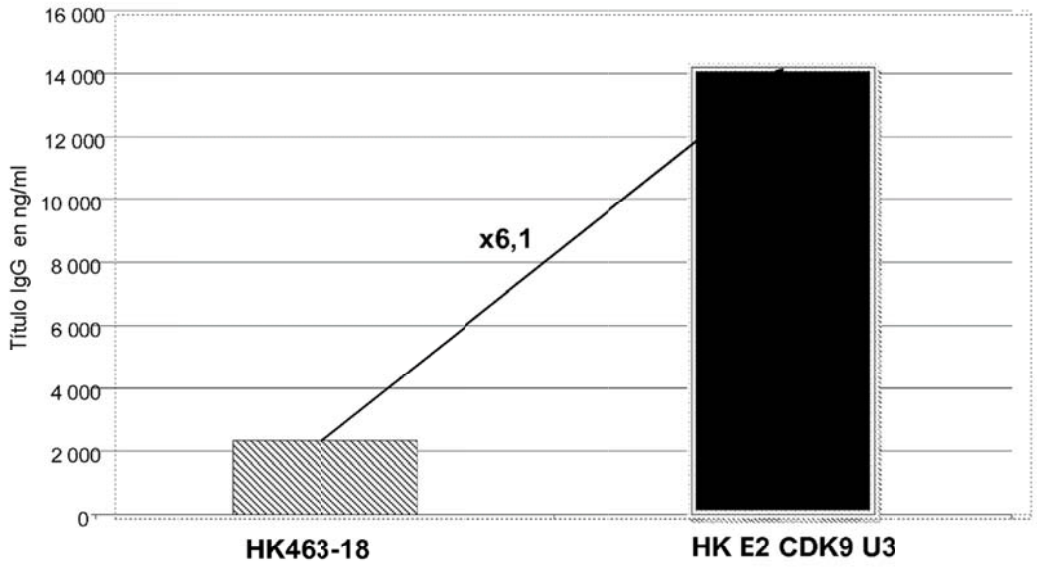


Figura 32

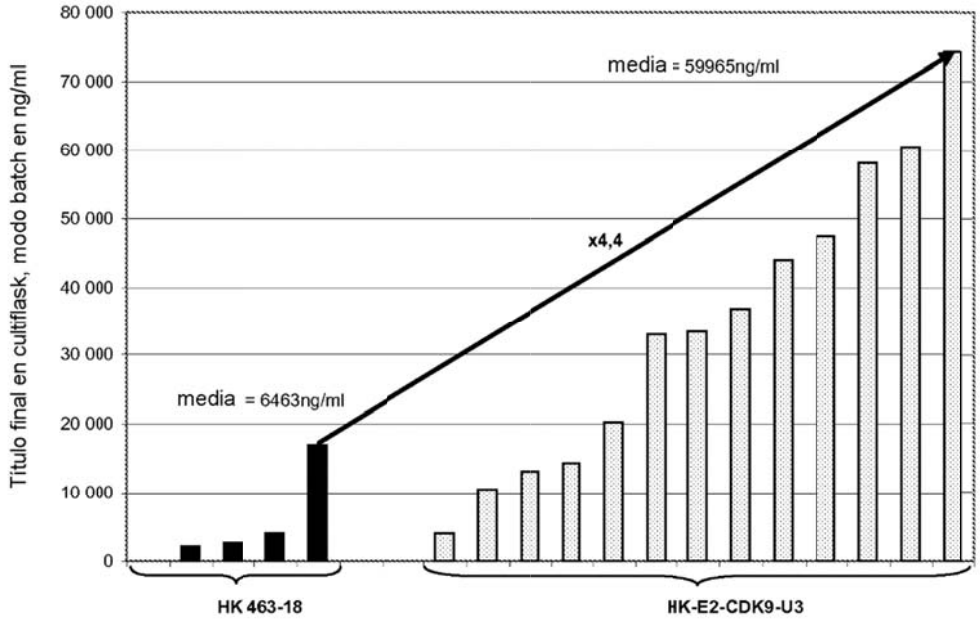


Figura 33

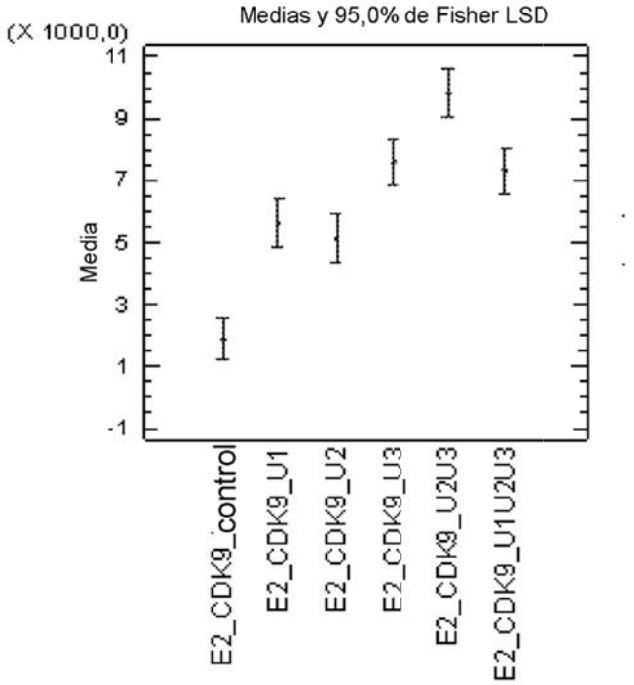


Figura 34

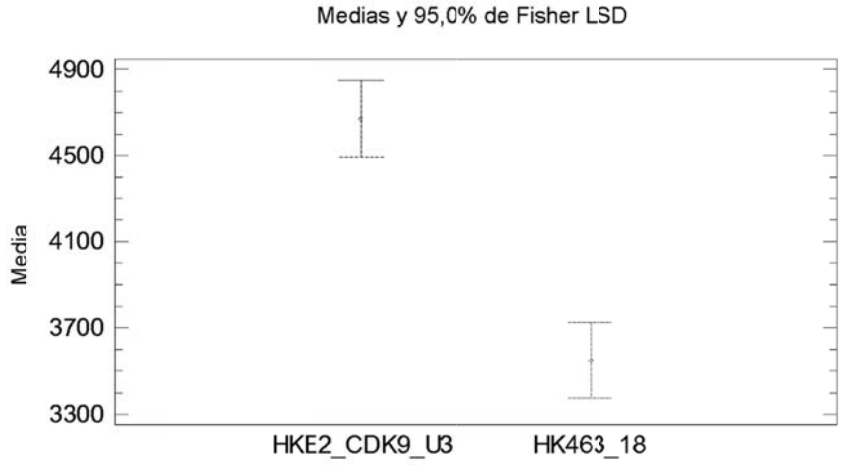
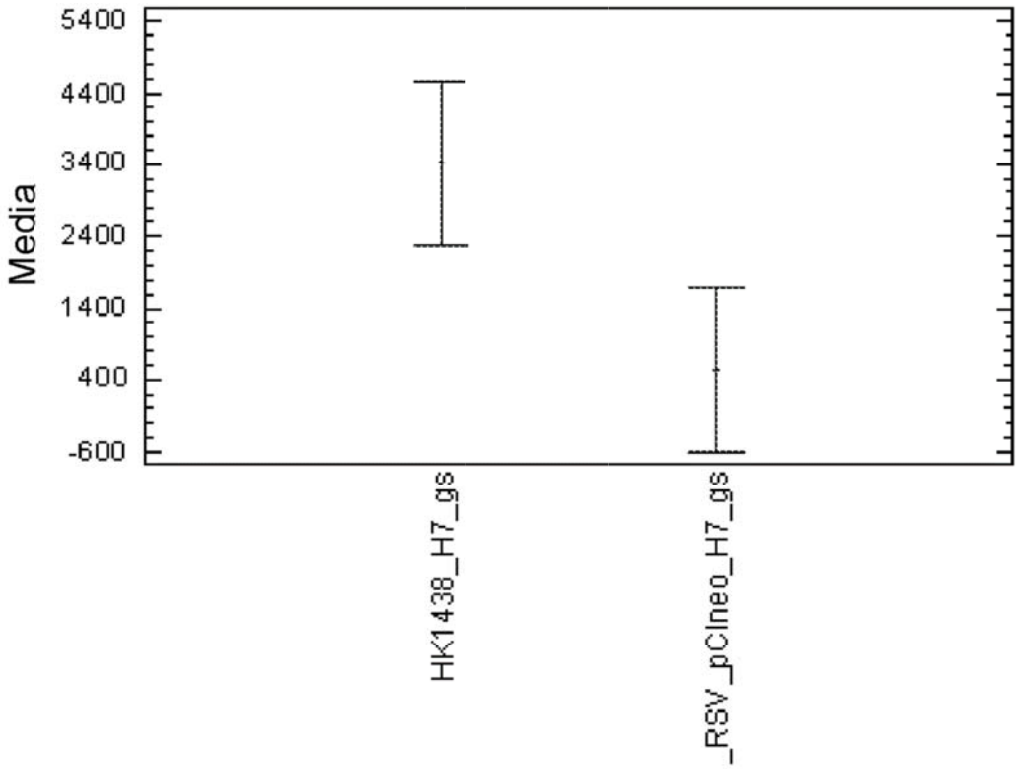


Figura 35


Media
5400
4400
3400
2400
1400
400
-600
HK1438_H7_gs
_RSV_pCIneo_H7_gs