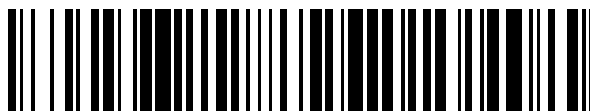


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 703 169**

51 Int. Cl.:

A01H 5/10 (2008.01)

C12N 9/10 (2006.01)

C12N 15/11 (2006.01)

C12N 15/82 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.05.2014 PCT/EP2014/059778**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.11.2014 WO14184196**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.05.2014 E 14724713 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.09.2018 EP 2996464**

54 Título: **Expresión selectiva mejorada de transgenes en plantas productoras de fibra**

30 Prioridad:

14.05.2013 US 201361823297 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.03.2019

73 Titular/es:

**BAYER CROPSCIENCE NV (50.0%)
J.E. Mommaertsiaan 14
1831 Diegem, BE y
TEXAS TECH UNIVERSITY (50.0%)**

72 Inventor/es:

**MEULEWAETER, FRANK;
XIE, ZHIXIN;
JIA, GENGXIANG;
GHOSH, ARNAB y
SHENG BAO, FORREST**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 703 169 T3

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

DESCRIPCIÓN

Expresión selectiva mejorada de transgenes en plantas productoras de fibra

Campo de la invención

5 Esta invención se refiere al campo de biotecnología agrícola, más específicamente al uso de técnicas de biología molecular para alterar el patrón de expresión de transgenes en plantas productoras de fibra tales como algodón. Se proporcionan microARN de origen natural con un perfil de expresión específico, particularmente con un perfil de expresión diferencial entre las células que conducen a las fibras y otras células de la planta productora de fibra. Mediante ingeniería e inclusión de sitios objetivo para dichos microARN en genes, particularmente en transgenes, el perfil de expresión del gen que comprende dicho sitio objetivo de microARN reflejará (espejo) el perfil de expresión del microARN en plantas. Dichos microARN y los sitios objetivo correspondientes pueden usarse para potenciar la expresión selectiva de transgenes bajo el control de un promotor selectivo de fibra, en fibras, particularmente fibras de algodón.

Antecedentes de la invención

15 El algodón (*Gossypium* spp.) es la fibra textil natural más importante del mundo y también es un importante cultivo de semillas oleaginosas. La producción de algodón proporciona ingresos para aproximadamente 100 millones de familias, y aproximadamente 150 países participan en la importación y exportación de algodón. Su impacto económico se estima en aproximadamente \$ 500 mil millones/año en todo el mundo. El consumo mundial de fibra de algodón es de aproximadamente 115 millones de balas o aproximadamente 27 millones de toneladas métricas por año (National Cotton Council, <http://www.cotton.org/>, 2006). El género *Gossypium* es relativamente complejo e incluye aproximadamente 45 especies diploides ($2n = 2x = 26$) y cinco tetraploides ($2n = 4x = 52$), todas exhibiendo patrones de herencia disómicos. Las especies diploides ($2n = 26$) se dividen en ocho grupos genómicos (A-G y K). El clado africano, que comprende los genomas A, B, E y F, se encuentra naturalmente en África y Asia, mientras que el clado del genoma D es originario de las Américas. Un tercer clado diploide, incluyendo C, G y K, se encuentra en Australia. Las 52 especies de cromosomas, incluyendo *Gossypium hirsutum* y *Gossypium barbadense*, son alotetraploides naturales clásicos que surgieron en el Nuevo Mundo a partir de la hibridación interespecífica entre una especie africana ancestral tipo genoma A y una especie americana tipo genoma D. Los parientes existentes más cercanos de los progenitores tetraploides originales son las especies del genoma A, *Gossypium herbaceum* (A1) y *Gossypium arboreum* (A2) y las especies del genoma D, *Gossypium raimondii* (D5) 'Ulbrich'. Se estima que la poliploidización ocurrió de 1 a 2 millones de años, dando lugar a cinco especies alotetraploides existentes. Curiosamente, las especies del genoma A producen fibra hilable y se cultivan en una escala limitada, mientras que las especies del genoma D no lo hacen. Más del 95% de la cosecha anual de algodón a nivel mundial es algodón *G. hirsutum*, Upland o americano, y el algodón extra largo o Pima (*G. barbadense*) representa menos del 2% (National Cotton Council, http://www.cotton.org, 2006).

35 Cada fibra de algodón es una célula epidérmica única diferenciada del óvulo. Aproximadamente medio millón de fibras se producen por cápsula de algodón, algunas forman pelusa y otras forman hilas. El inicio de una célula epidérmica en fibra requiere un cambio en el destino celular, que es un proceso biológico fundamental que involucra "interruptores" genéticos, fisiológicos y de desarrollo. Las mutaciones genéticas, la poliploidía, la polinización/fertilización y la regulación hormonal pueden afectar el número de células que se convierten en fibras o alterar las propiedades de las células de la fibra (pelusas frente a hilas). Sin embargo, no está claro cómo estos factores controlan los cambios en la expresión génica que organizan el patrón y el ritmo en las primeras etapas del desarrollo de la fibra.

40 Por el contrario, el desarrollo morfológico de las fibras de algodón está bien documentado en la técnica. Las fibras de algodón se someten a cuatro etapas de desarrollo superpuestas: inicio de células de fibra, alargamiento, biosíntesis de la pared secundaria y maduración. La iniciación de la fibra es un proceso rápido. Las fibras esponjosas blancas comienzan a desarrollarse inmediatamente después de la antesis y continúan hasta 3 días después de la antesis (DPA), lo que es seguido por el alargamiento de las células de la fibra (hasta 20 DPA). La biosíntesis de la pared secundaria inicia alrededor de 15 DPA y continúa hasta 45 DPA, seguido de un proceso de maduración hasta 45-60 DPA. Las fibras de algodón se derivan de células epidérmicas ovulares (tejidos maternos). Sin embargo, solo ~25-30% de las células epidérmicas se diferencian en las fibras de hilas comercialmente importantes. La mayoría de las células no se diferencian en fibras ni se desarrollan en fibras cortas o pelusas. Para las células comprometidas con el desarrollo de la fibra, el inicio y el alargamiento de las células son casi sincrónicos en cada óvulo, lo que indica que los cambios en la expresión génica se orquestan durante la diferenciación y el desarrollo de la fibra a través de la señalización intercelular y/o los mecanismos de sincronización.

55 En muchos casos, puede ser ventajoso expresar de manera preferencial, selectiva o específicamente genes en células o fibras que desarrollan fibra. Dicha expresión puede influir en el desarrollo de la fibra y dar como resultado fibras más largas o más fuertes. El documento WO 98/00549 describe la expresión del gen de celulosa sintasa en células que desarrollan fibra. Los documentos WO 08/012058 y WO02/45485 describen la expresión de genes de sacarosa sintasa en células que desarrollan fibra de algodón. El documento WO05/017157 describe la reducción de la expresión de β -1,3-glucanasa en células que desarrollan fibra.

- La fibra de algodón consiste en celulosa, un polímero natural compuesto de muchas moléculas del azúcar glucosa. Su estructura única es ideal para la producción textil. Cada fibra es básicamente un tubo hueco de unos pocos centímetros de longitud que, cuando se hila y se teje, proporciona el "tacto" característica muy especial del algodón. Sin embargo, las fibras que contienen celulosa natural no poseen la versatilidad química de las fibras sintéticas, debido a la naturaleza relativamente inerte de la celulosa que consiste en monómeros de glucosa unidos de forma β -1-4.
- Los documentos WO06/136351, WO11/089021 y WO12/048807 describen procedimientos y medios para alterar la reactividad de la pared celular en fibras de plantas productoras de fibra tales como algodón, mediante la inclusión de oligosacáridos o polisacáridos cargados positivamente en la pared celular. Con este fin, las N-acetilglucosamina transferasas, incluidas las quitina sintasas, se expresan en las fibras de las plantas y, opcionalmente, también glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa. Aunque la quitina podría producirse eficientemente en las paredes celulares de las plantas de algodón, también se observó que las plantas transgénicas usualmente exhibían un crecimiento reducido que puede atribuirse a un efecto negativo de la expresión del transgén en el algodón fuera de las fibras de algodón.
- Por lo tanto, sería ventajoso poder aumentar la selectividad tisular de la expresión de transgenes en plantas productoras de fibra, en particular poder aumentar la selectividad de expresión en fibras y/o células que desarrollan fibra, mientras que la expresión en otras células de la planta productora de fibra se reduce o elimina sustancialmente. Esto podría lograrse convenientemente mediante la inclusión en el constructo de ADN recombinante de interés, un sitio objetivo para un microARN, preferiblemente un miARN endógeno, expresado diferencialmente entre las fibras y el resto de la planta, preferiblemente ausente en las fibras y células que desarrollan fibras y expresado de manera ubicua en todas las demás partes de la planta, de modo que la expresión del miARN en células distintas de la fibra o en células que desarrollan fibra dirige la escisión postranscripcional de cualquier ARN mensajero originado por la transcripción adventicia del constructo de ADN recombinante de interés que incorpora el sitio objetivo del miARN, en células fuera de las células que desarrollan fibra o las fibras. También se puede prever un perfil de selectividad de reflejo (es decir, expresión limitada a células fuera de las células que desarrollan fibra).
- La incorporación de secuencias objetivo de miARN en constructos quiméricos también se ha descrito como un desencadenante para la producción de los llamados ARN^{pi} (ARN^{pi} que actúa en forma trans), por ejemplo, véase los documentos WO 2006/138638 o WO2007/039454.
- El documento WO2006/111512 describe procedimientos mejorados que controlan la expresión génica en el campo de la genética, especialmente la genética de plantas, y proporciona agentes capaces de controlar la expresión génica. El documento proporciona específicamente secuencias de microARN de origen natural expresados específicamente en tejidos. La solicitud de patente proporciona además constructos de expresión transgénica que comprenden secuencias que interactúan con dichos microARN. Mediante la incorporación de la secuencia codificante de microARN, la expresión de dicho constructo de expresión se silencia específicamente en el tejido donde el microARN natural se expresa naturalmente. De este modo, el perfil de expresión resultante del promotor se modula y se reduce la fuga. El documento proporciona además un procedimiento para modular la expresión transgénica incorporando secuencias que codifican dichos microARN en constructos de expresión transgénica. Las composiciones y procedimientos de la invención se pueden usar para mejorar el rendimiento de cultivos relevantes para la agricultura y para terapia, profilaxis, investigación y diagnóstico en enfermedades y trastornos que afectan a las especies de mamíferos.
- El documento WO2007/047016 describe procedimientos para producir semillas híbridas no naturales. También se divulgan miARN y sitios de reconocimiento de miARN útiles para conferir esterilidad inducible en una planta de cultivo, y constructos de ADN recombinante que incluyen dichos sitios de reconocimiento de miARN exógeno.
- El documento WO2008/133643 divulga nuevos microARN y sus precursores, y constructos de ADN recombinante que incluyen tales miARN nuevos, precursores de miARN, promotores de miARN y sitios de reconocimiento de miARN correspondientes a los miARN. Se incluyen nuevos miARN y precursores de miARN que exhiben una expresión que responde a los nutrientes. También se divulgan secuencias señuelo de miARN. Además, se proporcionan células de plantas transgénicas no naturales, plantas y semillas que contienen en su genoma un constructo de ADN recombinante como se describe en la solicitud de patente y procedimientos para controlar la expresión génica usando dichos constructos de ADN recombinante.
- El documento WO2009/003078 proporciona constructos moleculares y procedimientos para el control temporalmente específico de la expresión génica en plantas o en plagas o patógenos de plantas. Más específicamente, esta solicitud de patente proporciona genes de miARN de plantas que tienen nuevos patrones de expresión circadianos que son útiles para modificar constructos de ADN recombinante para la expresión temporalmente específica de al menos un gen. También se proporcionan células, plantas y semillas de plantas transgénicas no naturales que contienen en su genoma un constructo de ADN recombinante de esta invención.
- Kwak et al. (BMC Genomics 2009, 10: 457, titulado "Enrichment of a set of microRNAs during the cotton fiber development", describe un enfoque de secuenciación profunda para investigar la expresión global y la complejidad de los ARN pequeños durante el inicio y el desarrollo de la fibra de algodón. Se prepararon dos bibliotecas de ARN pequeño y se analizaron a partir de óvulos de algodón de tipo silvestre y pelusa/sin hilas. El estudio demostró diferencias significativas en la abundancia de expresión de miARN entre el tipo silvestre y el mutante y sugiere que

estos miARN diferencialmente expresados regulan potencialmente los transcritos claramente involucrados en el desarrollo de la fibra de algodón.

- 5 Wang et al., (Molecular Plant 2012, Volumen 5, Número 4, páginas 889-900, titulado "A comparative miRNAome analysis reveals seven fiber initiation-related and 36 novel miRNAs in developing cotton ovules" describe una secuenciación de alto rendimiento combinada con el análisis computacional para caracterizar los miARNomas de los óvulos de Algodón de tierras altas de tipo silvestre y un mutante sin fibra durante la iniciación de la fibra.

10 La técnica sigue siendo deficiente en la descripción de moléculas de microARN con el perfil de expresión apropiado, en particular microARN que se expresan y procesan en algunas o en todas las partes de plantas productoras de fibra, particularmente plantas de algodón, excepto fibras o células que desarrollan fibra, y cuyas secuencias objetivo podrían usarse para aumentar la especificidad de la expresión de transgenes (incluida la N-acetilglucosamina transferasa y/o glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa) en fibras o células que desarrollan fibra (en comparación con el resto de la planta). Estos y otros problemas se resuelven como se describe a continuación en las diferentes realizaciones, ejemplos y reivindicaciones.

Sumario de la invención

- 15 En una realización de la invención, se proporciona un gen recombinante para expresión espacialmente selectiva en una planta de algodón que comprende los siguientes elementos operativamente enlazados:

- (a) un promotor expresable en plantas, tal como un promotor constitutivo, un promotor inducible, un promotor específico de tejido, un promotor regulado por desarrollo o tal como un promotor preferencial de fibra o selectivo de fibra;
- 20 (b) una región que codifica una molécula de ARN que puede traducirse en un polipéptido o proteína;
- (c) opcionalmente una terminación de transcripción 3' y una región de poliadenilación

25 caracterizados porque el gen recombinante comprende además una secuencia objetivo heteróloga reconocida por un miARN endógeno, siendo el miARN expresado en forma menos abundantemente en células que conducen a fibras en la planta de algodón en comparación con las células de las plantas de algodón distintas de las células que conducen a las fibras. El miARN además tiene una secuencia de nucleótidos seleccionada de la secuencia de nucleótidos de las SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 20, SEQ ID NO. 21 o SEQ. ID NO. 22.

30 La secuencia objetivo reconocida por el miARN puede por lo tanto tener la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 5, la SEQ ID NO. 5 desde la posición del nucleótido 4 hasta la posición del nucleótido 24, la SEQ ID NO. 6, la SEQ ID NO. 6 desde la posición del nucleótido. 4 hasta la posición del nucleótido 24, la SEQ ID NO. 7 o la SEQ ID NO. 8, la SEQ ID NO. 23, la SEQ ID NO. 23 desde la posición del nucleótido 4 hasta 24, la SEQ ID NO. 23 desde la posición del nucleótido 11 hasta 32, la SEQ ID NO. 23 de las posiciones de nucleótidos 4 hasta 32 o puede tener una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos de Ghi_miR403, Ghi_miR408, Ghi_miRcan1230, Ghi_miR398, SEQ ID NO.1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3, o SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 20, SEQ ID NO. 21 o SEQ ID NO. 22, por lo que pueden ocurrir uno o más de las siguientes faltas de coincidencia:

- 35 (a) una falta de coincidencia entre el nucleótido en el extremo 5' del miARN y la correspondiente secuencia de nucleótidos en la secuencia de ARN objetivo;
- (b) una falta de coincidencia entre cualquiera de los nucleótidos en la posición 1 hasta la posición 9 del miARN y la correspondiente secuencia de nucleótidos en la secuencia de ARN objetivo;
- 40 (c) tres faltas de coincidencia entre cualquiera de los nucleótidos en la posición 12 hasta la posición 21 del miARN y la correspondiente secuencia de nucleótidos en la secuencia de ARN objetivo siempre que no haya más de dos faltas de coincidencia consecutivas; y
- (d) no se permite una falta de coincidencia en las posiciones 10 y 11 del miARN.

45 El gen recombinante de acuerdo con la invención puede codificar cualquier proteína o polipéptido que incluya un polipéptido con actividad de N-acetilglucosamina transferasa tal como una N-acetilglucosamina transferasa de tipo NODC, una actividad de N-acetilglucosamina transferasa que comprende una secuencia de anclaje de señal seleccionada de la secuencia de anclaje de señal de una sialil transferasa de rata, la secuencia de anclaje de señal de una galactosil transferasa humana, la secuencia de anclaje de señal del homólogo de *Arabidopsis* del receptor HDEL de levadura (AtERD2), la secuencia de anclaje de señal de la α -2,6-sialiltransferasa, la secuencia de anclaje de señal de la β 1,2-xilosiltransferasa de *Arabidopsis thaliana*, la secuencia de anclaje de señal de N-acetilglucosaminil transferasa I de tabaco o la secuencia de aminoácidos YYHDL o LKLEI, o quitina sintasa 2 de *Saprolegnia monoica*. El polipéptido también puede ser glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa.

50 La invención también proporciona células de plantas de algodón, particularmente células de plantas de algodón capaces de desarrollarse en una célula de fibra, así como plantas de algodón, partes o tejido de las mismas o semillas de una planta de algodón, que comprenden un gen o constructo recombinante de acuerdo con la invención. .

La invención se refiere además a un procedimiento para producir una planta de algodón con expresión espacialmente selectiva de un gen recombinante, que comprende las etapas de

(a) Introducción de un gen recombinante de acuerdo con la invención en al menos una célula de la planta productora de fibra; y

- 5 (b) Opcionalmente, regenerar una planta productora de fibra a partir de al menos una célula que comprende el gen recombinante.

En otra realización más de la invención, se proporciona el uso de un microARN y/o un sitio objetivo como se describe en este documento para aumentar la selectividad de la expresión selectiva de fibra de un gen recombinante en una célula productora de fibra de una planta de algodón.

- 10 La invención también proporciona un procedimiento para producir fibras a partir de una planta de algodón que comprende las etapas de cultivar una planta de algodón que comprende un gen recombinante de acuerdo con la invención y recoger fibras de plantas de algodón cultivadas así como fibras de la planta.

Breve descripción de las figuras.

- 15 Los siguientes Ejemplos, que no pretenden limitar la invención a realizaciones específicas descritas, pueden entenderse junto con las Figuras adjuntas.

Figura 1. Validación experimental del patrón de expresión espacial y temporal para varios miARN en algodón (*Gossypium hirsutum* L. var. FM958) que muestra un patrón diferencial entre fibras y otras partes de la planta. Los siguientes números de muestra se aplican a todos los paneles: 1) Raíz muestreada en la etapa de 2 hojas; 2) cotiledón muestreado en etapa de plántula; 3) Hoja muestreada en la etapa de 2 hojas; 4) Hoja muestreada en etapa de floración; 5) Tallo muestreado en la etapa de 2 hojas; 6) Tallo muestreado en etapa de floración; 7) brote de meristemos apicales (SAM) muestreados durante el crecimiento vegetativo; 8) Desarrollo de fibra de 8 días después de la antesis (dpa); 9) Desarrollo fibra 15 dpa; 10) Desarrollando fibra 20 dpa; 11) Desarrollo de fibra 25 dpa; 12) Desarrollo de fibra 30 dpa.

Panel A. Patrón de expresión espacial y temporal para Ghi_miR403 determinado por secuenciación profunda de ARN pequeño. Eje Y: abundancia de miARN (lecturas/millón). Eje X: Número de muestra.

25 Panel B. Patrón de expresión espacial y temporal para Ghi_miR403 de acuerdo con lo determinado por ensayos de transferencia Northern. Se muestra en el panel superior una transferencia Northern examinada para miR403. Se utilizaron oligos de ARN sintéticos derivados de GFP, de 21 y 24 nt como marcadores de tamaño para los ARN pequeños endógenos. La flecha indica miR403 maduro. El panel inferior muestra la sección del gel teñido con bromuro de etidio correspondiente a la zona 5S de ARNr y ARNt. Los números de la muestra se indican debajo de los paneles.

30 Panel C. Patrón de expresión espacial y temporal para Ghi_miR408 de acuerdo con lo determinado por secuenciación profunda de ARN pequeño. Eje Y: abundancia de miARN (lecturas/millón). Eje X: Número de muestra.

Panel D. Patrón de expresión espacial y temporal para Ghi_miR408 de acuerdo con lo determinado por ensayos de transferencia Northern. Se muestra en el panel superior una transferencia Northern examinada para miR408. Se utilizaron oligos de ARN sintéticos derivados de GFP, de 21 y 24 nt como marcadores de tamaño para los ARN pequeños endógenos. La flecha indica miR408 maduro. El panel inferior muestra la sección del gel teñido con bromuro de etidio correspondiente a la zona 5S de ARNr y ARNt. Los números de la muestra se indican debajo de los paneles.

Panel E. Patrón de expresión espacial y temporal para Ghi_miR398 de acuerdo con lo determinado por ensayos de transferencia Northern. Se muestra en el panel superior una transferencia Northern examinada para miR398. Se utilizaron oligos de ARN sintéticos derivados de GFP, de 21 y 24 nt como marcadores de tamaño para los ARN pequeños endógenos. La flecha indica miR398 maduro. El panel inferior muestra la sección del gel teñido con bromuro de etidio correspondiente a la zona 5S de ARNr y ARNt. Los números de la muestra se indican debajo de los paneles.

Panel F. Patrón de expresión espacial y temporal para Ghi_miRcan1230 como se determina por secuenciación profunda de ARN pequeño. Eje Y: abundancia de miARN (lecturas/millón). Eje X: Número de muestra.

Panel G. Patrón de expresión espacial y temporal para Ghi_miRcan1230 de acuerdo con lo determinado por ensayos de transferencia Northern. Se muestra en el panel superior una transferencia Northern examinada para miR1230. Se utilizaron oligos de ARN sintéticos derivados de GFP, de 21 y 24 nt como marcadores de tamaño para los ARN pequeños endógenos. La flecha indica miRcan1230. El panel inferior muestra la sección del gel teñido con bromuro de etidio correspondiente a la zona 5S de ARNr y ARNt. Los números de la muestra se indican debajo de los paneles.

Figura 2. Validación de la represión mediada por miR403 de la expresión del gen informador LUC en un sistema de ensayo transitorio mediado por *Agrobacterium* en *Nicotiana benthamiana*. Los números se refieren a la siguiente configuración experimental: 1) inyección de *Agrobacterium* que contiene solo el vector de control; 2) inyección de *Agrobacterium* que contiene un vector de T-ADN que expresa un informador basado en luciferasa de luciérnaga (LUC) bajo el control de un promotor de CaMV35S; 3) inyección de *Agrobacterium* que contiene un vector de T-ADN que expresa un informador con base en luciferasa de luciérnaga (LUC) bajo el control de un promotor de CaMV35S

modificado con un sitio objetivo miR403 en su 3'UTR; 4) inyección de *Agrobacterium* que contiene un vector de T-ADN que expresa un informador con base en luciferasa de luciérnaga (LUC) bajo el control de un promotor de CaMV35S modificado con un sitio que interactúa con miR403 mutado en su 3'UTR; 5) inyección conjunta de *Agrobacterium* que contiene un vector de T-ADN que expresa un informador con base en luciferasa de luciérnaga (LUC) bajo el control de un promotor de CaMV35S modificado con un sitio objetivo miR403 en su 3'UTR y *Agrobacterium* que contiene un vector de T-ADN de control; 6) inyección conjunta de *Agrobacterium* que contiene un vector de T-ADN que expresa un informador con base en luciferasa de luciérnaga (LUC) bajo el control de un promotor de CaMV35S modificado con un sitio objetivo miR403 en su 3'UTR y un *Agrobacterium* que contiene un vector de T-ADN que expresa pre-miARN de miR403 bajo el control de un promotor de CaMV35S; 7) inyección conjunta de *Agrobacterium* que contiene un vector de T-ADN que expresa un informador con base en luciferasa de luciérnaga (LUC) bajo el control de un promotor de CaMV35S modificado con un sitio que interactúa con miR403 mutado en su 3'UTR y un *Agrobacterium* que contiene un vector de T-ADN de control; 8) inyección conjunta de *Agrobacterium* que contiene un vector de T-ADN que expresa un informador con base en luciferasa de luciérnaga (LUC) bajo el control de un promotor de CaMV35S modificado con un sitio mutado que interactúa con miR403 en su 3'UTR y un *Agrobacterium* que contiene un vector de T-ADN que expresa pre-miARN de miR403 bajo el control de un promotor de CaMV35S.

El panel A y el panel H. La actividad LUC se detectó en los tejidos de las hojas de *Nicotiana benthamiana* muestreados 2 días después de la inyección (dpi) (panel A) o 3 dpi (panel H). Eje Y: actividad relativa de LUC ($\times 10^7$ unidades/mg de peso fresco); Eje X: número de muestra.

Panel B y Panel I. Acumulación de miR403 en tejidos de hojas de *Nicotiana benthamiana* muestreados en (B) 2 e (I) 3 días después de la inyección de acuerdo con lo detectado por transferencias Northern. Se utilizaron oligos de ARN sintéticos derivados de GFP, 21 y 24 nt como marcadores de tamaño para los ARN pequeños.

Panel C y Panel J. Transferencias Northern de los paneles B e I, sondeados con U6 ARN nuclear pequeño como control.

Panel D y Panel K. Sección de gel teñido con bromuro de etidio correspondiente a la zona 5S ARNr y ARNt de los tejidos de la hoja de *Nicotiana benthamiana* muestreados 2 días después de la inyección (dpi) (panel D) o 3 dpi (panel K).

Panel E y Panel L. Detección de la proteína luciferasa mediante ensayo de inmunotransferencia de tejidos de la hoja de *Nicotiana benthamiana* muestreados 2 días después de la inyección (panel E) o 3 dpi (panel L) utilizando un anticuerpo monoclonal anti-luciferasa producido en ratón.

Panel F y Panel M. Detección de la proteína del factor de elongación 1α mediante el ensayo de inmunotransferencia de los tejidos de la hoja de *Nicotiana benthamiana* muestreados 2 días después de la inyección (panel F) o 3 dpi (panel M) utilizando un anticuerpo policlonal anti-EIF en suero producido en conejo.

Panel G y Panel N. Acumulación de miR168 en tejidos de hojas de *Nicotiana benthamiana* muestreados en (G) 2 y (N) 3 días después de la inyección de acuerdo a lo detectado por transferencias Northern.

Panel O y Panel P. Acumulación de ARNm de LUC detectada a partir de tejidos de hojas de *Nicotiana benthamiana* muestreados 3 días después de la inyección. En el panel O se muestran los productos de RT-PCR resueltos en un gel de agarosa teñido con bromuro de etidio. La intensidad de banda relativa refleja el nivel de ARNm de LUC intacto que no se sometieron a escisión dirigida por miR403. El panel P muestra los productos de las reacciones de control RT-PCR para ARNm que codifica una proteína similar a la proteína 70 de choque térmico de *N. benthamiana*. Los números debajo del panel O indican la intensidad relativa de la señal medida por Image Quant.

Figura 3. Secuencia de nucleótidos miR403 y del sitio que interactúa con miR403 (sitio objetivo) (las secuencias se incluyen en el listado de secuencias como la SEQ ID NO 1 para Ghi_miR403 y Ath_miR403; como SEQ ID No. 18 para la secuencia de nucleótidos objetivo en el ARNm de Arabidopsis AGO2; como la SEQ ID No. 19 para el miR403 forma reproducida bajo el sitio objetivo, como la SEQ ID No. 5 para el sitio objetivo modificado para miR403, como la SEQ ID NO 5 para Ath_miR403_R y como la SEQ ID No. 1 para Ghi_miR403_R).

Figura 4. Secuencia de nucleótidos de las formas mayor y menor de miR408 madura detectada en algodón y de una secuencia objetivo de miR408. (Las secuencias se incluyen en el listado de secuencias como SEQ ID NO. 2 para ghi-miR408.1; como la SEQ ID NO. 20 para ghi-miR408.2; como la SEQ ID No. 6 para miR408 objetivo y como la SEQ ID No. 2 para ath-MiR408_R).

Figura 5. Secuencia de nucleótidos de la secuencia objetivo (arriba) y secuencia de miARN para el siguiente miARN detectado en el algodón: (A) Ghi_miRcan1230, tres formas; (B) Ghi_miR398. (Las secuencias se incluyen en el listado de secuencias como SEQ ID No. 10 y 23 para la secuencia objetivo de miRcan1230 (1) y se combinan para miRcan1230 (2) (3) respectivamente; como la SEQ ID No. 3 para miRcan1230 (1) como SEQ ID 21 para miRcan1230 (2), como la SEQ ID 22 para miRcan1230 (3), como la SEQ ID No. 4 para miR398 y como la SEQ ID No. 8 para la secuencia objetivo de miR398. La secuencia objetivo para miRcan1230 (3) corresponde a SEQ ID No. 23 del nucleótido 11 al 35, precedida por 5'-a g α 3'.

Figura 6. Validación de la represión mediada por miRcan1230 de la expresión del gen informador LUC en un sistema de ensayo transitorio mediado por *Agrobacterium* en *Nicotiana benthamiana*. Los números se refieren a la siguiente configuración experimental: 1) inyección de *Agrobacterium* que contiene solo el vector de control; 2) inyección de *Agrobacterium* que contiene un vector de T-ADN que expresa un pre-microARN miRcan1230 bajo el control de un promotor de CaMV35S; 3) inyección de *Agrobacterium* que contiene un vector de T-ADN que expresa un informador con base en luciferasa de luciérnaga (LUC) bajo el control de un promotor de CaMV35S; 4) inyección de *Agrobacterium* que contiene un vector de T-ADN que expresa un informador con base en luciferasa de luciérnaga (LUC) bajo el control de un promotor de CaMV35S modificado con un sitio objetivo miRcan1230 en su 3'UTR; 5) inyección de *Agrobacterium* que contiene el vector de T-ADN que expresa un informador con base en luciferasa de luciérnaga (LUC) bajo el control de un promotor de CaMV35S modificado con un sitio interactivo miRcan1230 mutado en su 3'UTR; 6) inyección conjunta de *Agrobacterium* que contiene un vector de T-ADN que expresa un informador con base en luciferasa de luciérnaga (LUC) bajo el control de un promotor de CaMV35S modificado con un sitio objetivo de miRcan1230get en su 3'UTR y *Agrobacterium* que contiene un vector T-ADN de control; 7) inyección conjunta de *Agrobacterium* que contiene un vector de T-ADN que expresa un informador con base en luciferasa de luciérnaga (LUC) bajo el control de un promotor de CaMV35S modificado con un sitio objetivo miRcan1230 en su 3'UTR y un *Agrobacterium* que contiene un vector de T-ADN que expresa pre-miARN de miRcan1230 bajo el control de un promotor de CaMV35S; 8) inyección conjunta de *Agrobacterium* que contiene un vector de T-ADN que expresa un informados con base en luciferasa de luciérnaga (LUC) bajo el control de un promotor de CaMV35S modificado con un sitio de interacción miRcan1230 mutado en su 3'UTR y un *Agrobacterium* que contiene un vector de T-ADN de control; 8) inyección conjunta de *Agrobacterium* que contiene un vector de T-ADN que expresa un informador con base en luciferasa de luciérnaga (LUC) bajo el control de un promotor de CaMV35S modificado con un sitio que interactúa con miRcan1230 mutado en su 3'UTR y un *Agrobacterium* que contiene un vector T-ADN que expresa pre-miARN de miRcan1230 bajo el control de un promotor de CaMV35S.

Panel A. Actividad de LUC detectada a partir de tejidos de hojas de *Nicotiana benthamiana* muestreados a los 3 días posteriores a la inyección (dpi). Eje Y: actividad relativa de LUC ($\times 10^7$ unidades/mg de peso fresco); Eje X: número de muestra.

Panel B. Acumulación de miRcan1230 en tejidos de hojas de *Nicotiana benthamiana* muestreados a los 3 días después de la inyección de acuerdo a lo detectado por transferencias Northern. Se utilizaron oligos de ARN sintéticos derivados de GFP, 21 y 24 nt como marcadores de tamaño para los ARN pequeños.

Panel C. Transferencias Northern del panel B, sondeado con ARN U6 nuclear pequeño como control.

Panel D. Sección de gel teñido con bromuro de etidio correspondiente a la zona 5S de ARNr y ARNt de tejidos de hoja de *Nicotiana benthamiana* muestreados a los 3 días después a la inyección (dpi).

Panel E y Panel F. Acumulación de ARNm de LUC detectada a partir de tejidos de hojas de *Nicotiana benthamiana* muestreados a los 3 días después de la inyección. En el panel E y F se muestran los productos de RT-PCR resueltos en un gel de agarosa teñido con bromuro de etidio. La intensidad relativa de la banda refleja el nivel de la región 5' de los ARNm de LUC que no se sometieron a escisión dirigida por miRcan1230 (panel E) o la región 3' de los ARNm de LUC (panel F).

Panel G muestra los productos de las reacciones de control de RT-PCR para los ARNm que codifican proteína similar a la 70 de choque térmico de *N. Benthamiana*. Los números debajo del panel E y F indican la intensidad relativa de la señal medida por Image Quant.

Descripción detallada de realizaciones preferidas

La presente invención se basa en la identificación fortuita de moléculas de miARN (y moléculas de pre-miARN así como sitios de reconocimiento objetivo) de algodón (*Gossypium hirsutum*) que no se expresan en el desarrollo de células de fibra de algodón mientras están presentes en la mayoría, si no en todas las otras partes de la planta de algodón. Dichos miARN, y/o sus sitios objetivo pueden usarse convenientemente para mejorar la selectividad tisular de la expresión en una planta productora de fibra, tal como algodón.

De este modo, en una realización, la invención proporciona un procedimiento para la expresión espacialmente selectiva en una planta productora de fibra, tal como algodón, que comprende las etapas de introducir un gen recombinante en al menos una célula de la planta productora de fibra, tal como algodón, y opcionalmente regenerar una planta a partir de dicha al menos una célula que comprende el constructo o gen recombinante, por lo que el constructo o gen recombinante comprende los siguientes elementos unidos operativamente (tal como los elementos de ADN):

- (a) un promotor expresable en plantas;
- (b) una región que codifica una molécula de ARN que puede traducirse en un polipéptido o proteína;
- (c) opcionalmente, una terminación de transcripción 3' y una región de poliadenilación y

en la que el constructo o gen recombinante comprende además una secuencia objetivo heteróloga reconocida por un miARN endógeno que se expresa menos abundantemente en células que conducen a fibras en la planta de algodón en comparación con las células de las plantas de algodón diferente de dichas células que conducen a dichas fibras y que tiene una secuencia de nucleótidos seleccionada de la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID No.1, SEQ ID No.2, SEQ ID No.3, SEQ ID No. 4, SEQ ID No. 20, SEQ ID No. 21 o SEQ ID No. 22.

Como se usa en el presente documento, el término "promotor" denota cualquier ADN que se reconoce y se une (directa o indirectamente) por una ARN-polimerasa dependiente de ADN durante el inicio de la transcripción. Un promotor incluye el sitio de iniciación de la transcripción y los sitios de unión para los factores de iniciación de la transcripción y la ARN polimerasa, y puede comprender varios otros sitios (por ejemplo, potenciadores), a los que se pueden unir las proteínas reguladoras de la expresión génica.

Como se usa en este documento, el término "promotor expresable en plantas" significa una secuencia de ADN que es capaz de controlar (iniciar) la transcripción en una célula vegetal. Esto incluye cualquier promotor de origen vegetal, pero también cualquier promotor de origen no vegetal que sea capaz de dirigir la transcripción en una célula vegetal, es decir, ciertos promotores de origen viral o bacteriano, como el CaMV35S, el promotor del virus del trébol subterráneo No 4 o No 7, o promotores del gen T-ADN y similares.

Quedará claro que los promotores constitutivos expresables en plantas pueden ser adecuados para la invención. En tales casos, la selectividad espacial o especificidad de tejido será proporcionada por el perfil de expresión del microARN, que a su vez determinará en qué tejidos o plantas de las partes, los productos de transcripción del gen recombinante incorporarán una secuencia objetivo para el miARN, será procesado post-transcripcionalmente por el miARN (y las proteínas asociadas) para escindir esa transcripción y así suprimir o prevenir la actividad adicional del ARN biológicamente activo (por ejemplo, prevenir la traducción de un péptido o proteína codificada por el ARN biológicamente activo).

También está claro que pueden usarse promotores inducibles, tales como un promotor inducible por temperatura o un promotor inducible químicamente o un promotor que responde a señales de desarrollo, de acuerdo con la invención. El perfil de expresión resultante del gen recombinante será un perfil de expresión combinado, que reflejará la distribución espacial del miARN en la planta y la respuesta a los factores de inducción o represión del promotor utilizado.

También se pueden usar promotores selectivos de tejidos. En una realización preferida de la invención, se usa un promotor preferente de fibra o selectivo de fibra.

El término "específico de fibra" o "específico de célula de fibra" o "selectivo de fibra", con respecto a la expresión de un gen o con respecto a un promotor, se refiere, para fines prácticos, a la expresión altamente específica de un gen o expresión dirigida por un promotor, en células de fibra de plantas, tales como plantas de algodón. En otras palabras, los niveles de transcripción de un ADN en tejidos diferentes de células fibrosas están por debajo del límite de detección o muy por debajo (menos de aproximadamente 0,2 picogramos por microgramo de ARN total).

El término "preferencial de fibra" o "preferencial de célula de fibra" con respecto a la expresión de un ADN de acuerdo con esta invención, se refiere a un patrón de expresión por el cual el ADN se expresa predominantemente en células de fibra o fibras, pero la expresión se puede identificar en otros tejidos de la planta. Preferiblemente, la expresión en células de fibra es de aproximadamente 2 a aproximadamente 10 veces mayor en las células de fibra que en otros tejidos.

Tales promotores incluyen el promotor de algodón de un gen de β -tubulina específico de fibra (como se describe en el documento WO0210377), el promotor de algodón de un gen de actina específico de fibra (como se describe en el documento WO0210413), el promotor de un gen de proteína de transferencia lipídica específica de fibra de algodón (como se describe en el documento US5792933), un promotor de un gen de expansina de algodón (documento WO9830698) o un promotor de un gen de quitinasa en algodón (documento US2003106097) o los promotores de los genes específicos de fibra descritos en los documentos US6259003 o US6166294. Los promotores selectivos de fibra como se describe en el documento WO08/083969 (de los genes de la glucanasa del algodón), documento WO12/093032 (del gen del algodón FS18 o SCW-PRP) o en la solicitud de los estadounidenses 13/630,119 (de genes similares FB8 de algodón) también son promotores adecuados expresables en plantas. También es adecuado para la invención el promotor que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 13 desde la posición del nucleótido 61 hasta la posición del nucleótido 1499.

Como se usa en este documento, un "miARN" es una molécula de ARN de aproximadamente 20 a 22 nucleótidos de longitud que se puede cargar en un complejo RISC y dirigir la escisión de otra molécula de ARN, en la que la otra molécula de ARN comprende una secuencia de nucleótidos esencialmente complementaria a la secuencia de nucleótidos de la molécula de miARN, por lo que pueden ocurrir uno o más de los siguientes faltas de coincidencia: una falta de coincidencia entre el nucleótido en el extremo 5' de dicho miARN y la correspondiente secuencia de nucleótidos en la molécula de ARN objetivo; una falta de coincidencia entre cualquiera de los nucleótidos en la posición 1 a la posición 9 de dicho miARN y la correspondiente secuencia de nucleótidos en la molécula de ARN objetivo; tres faltas de coincidencia entre cualquiera de los nucleótidos en la posición 12 a la posición 21 de dicho miARN y la

correspondiente secuencia de nucleótidos en la molécula de ARN objetivo siempre que no haya más de dos faltas de coincidencia consecutivas. No se permite una falta de coincidencia en las posiciones 10 y 11 del miARN (todas las posiciones del miARN se indican a partir del extremo 5' de la molécula del miARN).

- 5 Un miARN se procesa a partir de una molécula "pre-miARN" por proteínas, tales como las proteínas DCL, presentes en cualquier célula vegetal y cargadas en un complejo RISC donde puede guiar la escisión de las moléculas de ARN objetivo.

10 Como se usa en el presente documento, una molécula "pre-miARN" es una molécula de ARN de aproximadamente 100 a aproximadamente 200 nucleótidos, preferiblemente de aproximadamente 100 a aproximadamente 130 nucleótidos, que puede adoptar una estructura secundaria que comprende un tallo de ARN bicatenario y un bucle de ARN monocatenario y además comprende la secuencia de nucleótidos del miARN (y su secuencia complementaria) en el tallo de ARN bicatenario. Preferiblemente, el miARN y su complemento están localizados entre aproximadamente 10 y aproximadamente 20 nucleótidos de los extremos libres del tallo de ARN bicatenario del miARN. La longitud y la secuencia de la región de bucle monocatenaria no son críticas y pueden variar considerablemente, por ejemplo, entre 15 30 y 50 nt de longitud. Preferiblemente, la diferencia en la energía libre entre la estructura de ARN no apareada y apareada es entre -20 y -60 kcal/mol, particularmente alrededor de -40 kcal/mol. La complementariedad entre el miARN y el miARN* no necesita ser perfecta y se pueden tolerar de 1 a 3 protuberancias de nucleótidos no apareados. La estructura secundaria adoptada por una molécula de ARN puede predecirse mediante algoritmos informáticos convencionales en la técnica, tales como mFOLD. La cadena particular del tallo ARN bicatenario proviene del pre-miARN que se libera por la actividad DCL y se carga en el complejo RISC se determina por el grado de 20 complementariedad en el extremo 5', por lo que la cadena que en su extremo 5' esta al menos involucrada en el enlace de hidrógeno entre los nucleótidos de las diferentes cadenas del tallo de ARNbc escindido se carga en el complejo RISC y determinará la especificidad de secuencia de la degradación de la molécula de ARN objetivo. Sin embargo, si empíricamente la molécula de miARN de una molécula de pre-miARN sintética particular no es funcional (debido a que la cadena "incorrecta" está cargada en el complejo RISC, será inmediatamente evidente que este problema puede 25 resolverse intercambiando la posición de la molécula de miARN y su complemento en las cadenas respectivas del tallo de ARNbc de la molécula pre-miARN. Como se conoce en la técnica, la unión entre A y U que involucra dos enlaces de hidrógeno, o G y U que involucra dos enlaces de hidrógeno es menos fuerte que entre G y C que involucra tres enlaces de hidrógeno.

30 Un conjunto de miARN adecuado para los procedimientos de acuerdo con la invención incluye los miARN que se expresan menos abundantemente en células que conducen a fibras en plantas productoras de fibra en comparación con células de aquellas plantas productoras de fibras distintas de las células que conducen a dichas fibras. Son especialmente adecuados los miARN que no se expresan sustancialmente en las células que conducen a las fibras en una planta productora de fibra, sino que se expresan de forma ubicua en otras células distintas de dichas células que conducen a las fibras.

35 Tales miARN incluyen los siguientes microARN aislados de *Gossypium hirsutum*: Ghi_miR403, Ghi_miR408, Ghi_miRcan1230 y Ghi_miR398. Estos microARN comprenden una secuencia de nucleótidos seleccionada entre la SEQ ID NO.1, la SEQ ID NO.2, la SEQ ID NO.3 o la SEQ ID NO.4 (véase también las Figuras 3, 4 y 5). Se procesan en *Gossypium hirsutum* de pre-miARN que comprenden la secuencia de nucleótidos de las SEQ ID Nos. 9, 10, 11 o 12, o una secuencia de nucleótidos esencialmente similar a las mismas.

40 La indicación miRcanXXXX se refiere a la asignación de números provisionales para nuevos microARN, en correspondencia con las convenciones de nomenclatura para microARN.

Quedará claro que los ortólogos de estos miARN o pre-miARN pueden aislarse, o identificarse y usarse, también en otras plantas, particularmente en plantas productoras de fibra.

45 "Una secuencia objetivo reconocida por un miARN" se refiere a la secuencia de nucleótidos dentro de una molécula de ARN hacia la cual el miARN guía el complejo RISC con el que está asociada, de modo que la molécula de ARN es escindida por la actividad ribonucleasa de una proteína Argonauta (AGO) central para el complejo RISC. La secuencia objetivo es esencialmente complementaria o complementaria a la secuencia de nucleótidos de miARN. Como se usa en este documento, una secuencia de nucleótidos que es complementaria a otra secuencia de nucleótidos es una 50 secuencia de nucleótidos con polaridad opuesta en la cadena principal de fosforribosa como la otra secuencia y que tiene una secuencia de nucleótidos que permite el emparejamiento de bases entre las bases de la secuencia y otra secuencia. El emparejamiento de bases en este contexto incluye los pares de bases G:U, así como el emparejamiento de bases estándar de Watson-Crick. También estará claro que cuando las secuencias de ARN son las secuencias de nucleótidos que son esencialmente complementarias con las secuencias de ADN, la timina (T) en la secuencia de ADN se considera igual al uracilo (U) en la secuencia de ARN.

55 Se ha observado que uno o más de las siguientes faltas de coincidencia pueden ocurrir en el emparejamiento de bases entre los nucleótidos del sitio objetivo y los nucleótidos del miARN:

(a) una falta de coincidencia entre el nucleótido en el extremo 5' de dicho miARN y la correspondiente secuencia de nucleótidos en la secuencia de ARN objetivo;

(b) una falta de coincidencia entre cualquiera de los nucleótidos en la posición 1 a la posición 9 de dicho miARN y la correspondiente secuencia de nucleótidos en la secuencia de ARN objetivo;

5 (c) tres faltas de coincidencia entre cualquiera de los nucleótidos en la posición 12 y la posición 21 del miARN y la correspondiente secuencia de nucleótidos en la secuencia de ARN objetivo siempre que no haya más de dos faltas de coincidencia consecutivas; y

(d) no se permite una falta de coincidencia en las posiciones 10 y 11 del miARN.

10 Por lo tanto, los sitios objetivo adecuados para la invención pueden comprender una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos de cualquiera de las secuencias de nucleótidos de las SEQ ID NOS. 1 a 4 o que es esencialmente similar a esas secuencias de nucleótidos, y en la que se presenta una o más de las faltas de coincidencia anteriormente mencionados. Se pueden encontrar ejemplos de sitios objetivo reconocidos por miARN adecuados para la invención en las Figuras 3, 4 y 5 y en el listado de secuencias en las entradas SEQ ID NOS. 5 a 8 y la SEQ ID NO. 23 para una secuencia objetivo modificada reconocida por los microARN Ghi_miRcan1230 (2) y (3) respectivamente. La secuencia objetivo central reconocida por el microARN Ghi_miRcan1230 (2) corresponde a la SEQ ID NO. 23 del nucleótido 4 al 24. La secuencia objetivo central reconocida por el microARN Ghi_miRcan1230 (3) corresponde a la SEQ ID NO. 23 desde el nucleótido 11 al 32.

15 El uso de un sitio objetivo o secuencia complementaria a la secuencia de nucleótidos de miARN (denominado sitio objetivo central) generalmente será suficiente, pero puede ser ventajoso incluir uno, dos, tres o más nucleótidos que flanquean el sitio objetivo central en la secuencia de nucleótidos de la molécula de ARN objetivo natural. Un ejemplo del mismo puede encontrarse en la SEQ ID NO. 5, en la que la secuencia de nucleótidos desde la posición del nucleótido 4 a la posición del nucleótido 24 corresponde a la secuencia objetivo central de miR403, mientras que la secuencia de nucleótido adicional 1 a 3 y 25-27 corresponde a las secuencias que flanquean la secuencia objetivo central en la molécula de ARN objetivo natural. De manera similar, un ejemplo de la misma se puede encontrar en la SEQ ID NO. 6, en la que la secuencia de nucleótidos desde la posición del nucleótido 4 a la posición del nucleótido 24 corresponde a la secuencia objetivo central de miR408, mientras que la secuencia de nucleótido adicional 1 a 3 y 25-27 corresponde a las secuencias que flanquean la secuencia objetivo central en la molécula de ARN objetivo natural.

20 Se puede introducir un sitio objetivo exógeno para miARN en el constructo recombinante de interés de diversas maneras. La secuencia de nucleótidos del sitio objetivo puede insertarse como secuencia de nucleótidos adicional. Como se describe en el presente documento, el sitio objetivo de miARN puede modificarse modificando una secuencia de origen natural con un grado suficiente de similitud con el sitio objetivo, de acuerdo con las reglas mencionadas en otros lugares, para que llegue una secuencia de nucleótidos reconocida por los miARN descritos en este documento.

25 Los sitios objetivo exógenos para miARN pueden introducirse en cualquier lugar de la región transcrita del constructo recombinante. Sin embargo, si la molécula de ARN biológicamente activa transcrita codifica un polipéptido, se debe tener cuidado de que la introducción potencial del sitio objetivo para miARN en la región de codificación, preferiblemente no interrumpa el marco de lectura abierto o altere de otro modo la secuencia de aminoácidos del polipéptido codificado. Los sitios objetivo para miARN pueden incluirse convenientemente en las regiones no traducidas del transcrito, tales como la región no traducida 5' o la región no traducida 3'.

30 El experto en la materia tendrá claro que los procedimientos y medios descritos en el presente documento se pueden usar para obtener una expresión espacialmente selectiva de cualquier gen de interés. Sin embargo, los procedimientos de la invención se pueden usar para mejorar la especificidad de la expresión de genes que codifican productos potencialmente perjudiciales si y cuando se expresan en células distintas de las células de fibra (y limitan dicha expresión sustancialmente a células de fibra en plantas productoras de fibra).

35 Se han descrito ejemplos de tales secuencias de nucleótidos e incluyen un ácido nucleico que codifica un polipéptido con actividad de N-acetilglucosamina transferasa que puede ser una N-acetilglucosamina transferasa del tipo NODC, tal como una N-acetilglucosamina transferasa de tipo NODC obtenible a partir de una especie *Rhizobium*, una especie *Azorhizobium*, una especie *Bradyrhizobium*, una especie *Mesorhizobium*, una especie *Ralstonia*, una especie *Streptomyces*, una especie *Burkholderia*, una especie *Cupriavidus* o una especie *Sinorhizobium*. El ácido nucleico también puede codificar la actividad de N-acetilglucosamina transferasa, incluida la quitina sintasa, que comprende además una secuencia de anclaje de señal seleccionada de la secuencia de anclaje de señal de una sialil transferasa de rata, la secuencia de anclaje de señal de una galactosil transferasa humana, la secuencia de anclaje de señal de el homólogo de Arabidopsis del receptor HDEL de levadura (AtERD2), la secuencia de anclaje de señal de la α -2,6-sialiltransferasa, la secuencia de anclaje de señal de β 1,2-xilosiltransferasa de *Arabidopsis thaliana*, la secuencia de anclaje de señal de N-acetilglucosaminil transferasa I de tabaco o la secuencia de aminoácidos YYHDL o LKLEI. La N-acetilglucosamina transferasa puede comprender una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 13 desde la posición del nucleótido 1503 hasta la posición del nucleótido 4439 (también se describe en el documento WO 06/136351). La N-acetilglucosamina transferasa también puede ser quitina sintasa, preferiblemente quitina sintasa 2 de *Saprolegnia monoica* como se describe en el documento WO11/089021.

El ARN biológicamente activo transcrito del ADN recombinante, gen o constructo de acuerdo con la invención también puede codificar una glutamina:fructosa-6-fosfato amidotransferasa, tal como una glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia del nucleótidos de la SEQ ID NO. 13 desde la posición del nucleótido 6202 a la posición del nucleótido 8031 o una glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa de *Volvariella volvacea* que comprende una secuencia de aminoácidos como la representa en la entrada de GenBank AAT75220.

La invención también está dirigida hacia constructos o genes recombinantes como se describe en este documento en particular hacia un gen recombinante para expresión espacialmente selectiva en una planta de algodón que comprende los siguientes elementos unidos operativamente:

- (a) un promotor expresable en plantas;
- (b) una región que codifica una molécula de ARN que puede traducirse en un polipéptido o proteína;
- (c) opcionalmente una terminación de transcripción 3' y una región de poliadenilación

caracterizados porque el gen recombinante comprende además una secuencia objetivo heteróloga reconocida por un miARN endógeno que se expresa menos abundantemente en células que conducen a fibras en dicha planta de algodón en comparación con otras células de plantas de algodón y que tiene una secuencia de nucleótidos seleccionada de la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID No.1, SEQ ID No.2, SEQ ID No.3, SEQ ID No. 4, SEQ ID No. 20, SEQ ID No. 21 o SEQ ID No 22.

Una "fibra", tal como una "fibra de algodón", como se usa en el presente documento, se refiere a un tricoma de semilla, más específicamente a una sola célula de una planta productora de fibra, como el algodón, que se inicia desde la epidermis del integumento exterior de los óvulos, en o justo antes de la antesis. El desarrollo morfológico de las fibras de algodón ha sido bien documentado (Basra y Malik, 1984, Int Rev of Cytology 89: 65-113; Graves y Stewart, 1988, citado anteriormente; Ramsey y Berlin, 1976, American Journal of Botany 63 (6): 868-876; Ruan y Chourey, 1998, Plant Physiology 118: 399-406; Ruan et al., 2000, Aust. J. Plant Physiol. 27: 795-800; Stewart, 1975, Am. J. Bot. 62, 723-730). Las fibras de algodón, en particular de *Gossypium hirsutum*, se someten a cuatro etapas de desarrollo superpuestas: iniciación de las células de las fibras, elongación, biosíntesis de la pared celular secundaria y maduración. La iniciación de las células de la fibra es un proceso rápido. Las fibras blancas vellosas comienzan a desarrollarse inmediatamente después de la antesis y continúan hasta aproximadamente 3 días después de la antesis (DPA), lo que es seguido por el alargamiento de las células de la fibra (hasta aproximadamente 10 a aproximadamente 17 DPA). Dependiendo de las condiciones de crecimiento, la biosíntesis de la pared celular secundaria se inicia y continúa hasta aproximadamente 25 a aproximadamente 45 DPA, seguida de un proceso de maduración de aproximadamente 45 a aproximadamente 60 DPA. Las fases secundarias de síntesis y maduración de la pared celular se denominan aquí comúnmente "fase de construcción de resistencia de la fibra". Solo alrededor del 25 al 30% de las células epidérmicas se diferencian en las fibras de hilas comercialmente importantes (Kim y Triplett, 2001). La mayoría de las células no se diferencian en fibras ni se desarrollan en fibras cortas o pelusa. Durante la elongación de la fibra y el metabolismo de la pared secundaria, las células de la fibra se alargan rápidamente, sintetizan componentes de la pared secundaria y muestran cambios celulares, moleculares y fisiológicos dramáticos. El alargamiento de la fibra se combina con un rápido crecimiento y expansión celular (Seagull, 1991. En Biosynthesis and biodegradation of cellulose (Haigler, CH & Weimer, PJ, editores) páginas 1432163, Marcel Dekker, Nueva York) y una síntesis constante de una gran cantidad de metabolitos celulares y componentes de la pared celular tal como la celulosa. Alrededor del 95% del peso seco en las fibras de algodón maduras es celulosa (Pfluger y Zambryski, 2001, Curr Biol 11: R436-R439; Ruan et al., 2001, Plant Cell 13: 47-63). Los componentes no celulósicos también son importantes para el desarrollo de las células de la fibra (Hayashi y Delmer, 1988, Carbohydr. Res. 181: 273-277; Huwlyer et al., 1979, Planta 146: 635-642; Meinert y Delmer, 1977, Plant Physiol 59: 1088-1097; Peng et al., 2002, Science 295: 147-150). En comparación con otras células vegetales, las fibras de algodón no contienen lignina en las paredes secundarias, pero tienen vacuolas grandes que probablemente están relacionadas con el rápido crecimiento y expansión celular (Basora y Malik, 1984, citado anteriormente; Kim y Triplett, 2001, Plant Physiology 127: 1361). 1366; Mauney, 1984, citado anteriormente; Ruan y Chourey, 1998, citado anteriormente; Ruan et al., 2000, citado anteriormente; Van't Hof, 1999, American Journal of Botany 86: 776-779).

Una "planta productora de fibra" se refiere a una especie de planta que produce fibras tal como se definió anteriormente, tal como una planta de algodón. De las especies de *Gossypium*, se sabe que el genoma A de la especie *Gossypium* diploide y el genoma AD de la especie *Gossypium* alotetraploides producen fibras hilables. Botánicamente, hay tres grupos principales de algodón que son de importancia comercial. El primero, *Gossypium hirsutum* (AADD), es originario de México y América Central y se ha desarrollado para un uso extensivo en los Estados Unidos, representando más del 95% de la producción de los Estados Unidos. Este grupo se conoce en los Estados Unidos como el algodón Upland americano y sus fibras varían en longitud desde aproximadamente 7/8 a aproximadamente 1 5/16 pulgadas (aproximadamente 22 - aproximadamente 33 mm). En todo el mundo representa alrededor del 90% de la producción de algodón. Un segundo grupo botánico, *G. barbadense* (AADD), que representa alrededor del 5% de la producción de los Estados Unidos y alrededor del 8% de la producción mundial, es de origen Sur Americano con fibras que varían en longitud desde aproximadamente 1 1/4 a aproximadamente 1 9/16 pulgadas (aproximadamente 32 - aproximadamente 40 mm), se conoce en los Estados Unidos como Pima Americana, pero también se le conoce

comúnmente como algodón grapa extra largo (ELS). Un tercer grupo, *G. herbaceum* (AA) y *G. arboreum* (AA), abarca plantas de algodón con fibras de longitud más corta, de aproximadamente 1/2 hasta aproximadamente 1 pulgada (aproximadamente 13 - aproximadamente 25 mm), que son nativas de la India y del Este de Asia. Ninguno de estos grupos se cultiva en los Estados Unidos.

- 5 El término "gen" significa una secuencia de ADN que comprende una región (región transcrita), que se transcribe en una molécula de ARN (por ejemplo, en un pre-ARNm, que comprende secuencias de intrones, que luego se empalma en un ARNm maduro, o directamente en un ARNm sin secuencias de intrones) en una célula, operativamente enlazadas a regiones reguladoras (por ejemplo, un promotor). Por lo tanto, un gen (ADN genómico) puede comprender varias secuencias unidas operativamente, tales como un promotor, una secuencia líder 5' que comprende, por ejemplo, secuencias involucradas en el inicio de la traducción, una región codificante de (proteína) (con intrones) y una secuencia no traducida 3' que comprende, por ejemplo, sitios de terminación de la transcripción. "secuencia de ADNc" se refiere a una secuencia de ácido nucleico que comprende la región no traducida 5', la región codificante sin intrones y la región no traducida 3' y una cola poliA. El "gen endógeno" se usa para diferenciarse de un "gen foráneo", "transgén" o "gen quimérico", y se refiere a un gen de una planta de un determinado género, especie o variedad de planta, que no se ha introducido en esa planta por transformación (es decir, no es un "transgén"), pero que normalmente está presente en las plantas de ese género, especie o variedad, o que se introduce en esa planta a partir de plantas de otro género, especie o variedad de plantas, en la que se encuentra normalmente presente, por técnicas normales de fitomejoramiento o por hibridación somática, por ejemplo, por fusión de protoplastos. De manera similar, un "alelo endógeno" de un gen no se introduce en una planta o tejido vegetal por transformación de la planta, sino que, por ejemplo, se genera por mutagénesis y/o selección de la planta, se introduce de otras especies de plantas mediante, por ejemplo, ayuda de marcadores, selección, u obtenida por cribado de poblaciones naturales de plantas.

La "expresión de un gen" o "expresión génica" se refiere al proceso en el que una región de ADN, que está unida operativamente a regiones reguladoras apropiadas, particularmente un promotor, se transcribe en una molécula de ARN. Luego, la molécula de ARN se procesa más (mediante procesos postranscripcionales) dentro de la célula, por ejemplo, por empalme de ARN e inicio de la traducción y traducción a una cadena de aminoácidos (polipéptido), y terminación de la traducción por codones de parada de la traducción. El término "expresado funcionalmente" se usa en el presente documento para indicar que se produce una proteína funcional, es decir, biológicamente activa; el término "no expresado funcionalmente" para indicar que se produce una proteína con una funcionalidad significativamente reducida o nula (actividad biológica) o que se produce una cantidad de proteína nula o una cantidad significativamente reducida.

Los procedimientos para transformar plantas son bien conocidos en la técnica y tienen una importancia menor para la presente invención. Los procedimientos para transformar plantas de algodón también son bien conocidos en la técnica. La transformación del algodón mediada por *Agrobacterium* se ha descrito, por ejemplo en la patente de Estados Unidos No. 5.004.863 o en la patente de Estados Unidos No. 6.483.013 y se informa de la transformación de algodón por bombardeo de partículas, por ejemplo, en el documento WO 92/15675.

Los genes quiméricos de acuerdo con la invención pueden introducirse en plantas de manera estable o de manera transitoria usando procedimientos bien conocidos en la técnica. Los genes quiméricos pueden introducirse en plantas, o pueden generarse dentro de la célula vegetal como se describe, por ejemplo, en el documento EP 1339859.

La invención también está dirigida a plantas de algodón que comprenden un constructo recombinante de acuerdo con la invención.

"Algodón" tal como se usa en el presente documento incluye *Gossypium hirsutum*, *Gossypium barbadense*, *Gossypium arboreum* y *Gossypium herbaceum*. "Plantas progenitoras de algodón" incluyen *Gossypium arboreum*, *Gossypium herbaceum*, *Gossypium raimondii*, *Gossypium longicalyx* y *Gossypium kirkii*.

Las plantas de acuerdo con la invención se pueden usar en un esquema de fitomejoramiento convencional para producir más plantas con las mismas características o para introducir el gen quimérico de acuerdo con la invención en otras variedades de la misma especie de plantas o en especies relacionadas, o en plantas híbridas. Las semillas obtenidas a partir de las plantas transformadas contienen los genes quiméricos de la invención como un inserto genómico estable y también están abarcadas por la invención.

La invención también está dirigida hacia un procedimiento para producir fibras a partir de plantas de algodón que comprende las etapas de a) cultivar una planta de algodón que comprende un constructo recombinante de acuerdo con la invención y b) recoger fibras de las plantas de algodón cultivadas. Las fibras de algodón, obtenidas de estas plantas también están dentro del alcance de la invención.

También se divulgan en este documento nuevos pre-miARN de algodón, en particular pre-microARN de algodón que tienen una secuencia de nucleótidos de cualquiera de las SEQ ID NOs.: 9, 10, 11 o 12. Tales pre-miARN se pueden usar para pre-miARN de cualquier propósito en la técnica, incluyendo reemplazar o adaptar la región del microARN y microARN* para obtener un pre-miARN con una secuencia de nucleótidos esencialmente similar o idéntica a la misma en la región del microARN y opcionalmente la región complementaria a la región del microARN (región de microARN*) han sido alterados y reconocen nuevos sitios objetivo. Dichos pre-miARN modificados pueden expresarse desde su

región promotora asociada de forma natural, y el miARN modificado puede ganar un perfil de expresión similar al de los miARN (por ejemplo, específico de la fibra o expresión en todas las partes de la planta excepto las fibras).

5 Como se usa en este documento, "que comprende" se debe interpretar como que especifica la presencia de las características, números enteros, etapas o componentes indicados a los que se hace referencia, pero no excluye la presencia o adición de una o más características, números enteros, etapas o componentes, o grupos de los mismos. Por lo tanto, por ejemplo, un ácido nucleico o proteína que comprende una secuencia de nucleótidos o aminoácidos, puede comprender más nucleótidos o aminoácidos que los realmente citados, es decir, estar incrustados en un ácido nucleico o proteína más grande. Un gen quimérico que comprende una región de ADN, que se define funcional o estructuralmente, puede comprender regiones de ADN adicionales, etc.

10 Los siguientes ejemplos no limitativos describen la identificación de microARN de algodón que tienen una expresión baja o nula en fibras en diferentes etapas de desarrollo y el uso de sitios objetivo correspondientes a estos microARN en transgenes.

15 A menos que se indique lo contrario en los Ejemplos, todas las técnicas recombinantes se llevan a cabo de acuerdo con los protocolos estándar descritos en "Sambrook J y Russell DW (editores.) (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3a Edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York "y en" Ausubel FA, Brent R, Kingston RE, Moore DD, Seidman JG, Smith JA y Struhl K (editores) (2006) Current Protocols in Molecular Biology. John Wiley & Sons, New York".

20 Los materiales y referencias estándar se describen en "Croy RDD (editores) (1993) Plant Molecular Biology LabFax, BIOS Scientific Publishers Ltd., Oxford and Blackwell Scientific Publications, Oxford" y en "Brown TA, (1998) Molecular Biology LabFax, 2a Edición, Academic Press, San Diego". Los materiales y procedimientos estándar para las reacciones en cadena de la polimerasa (PCR) se pueden encontrar en "McPherson MJ y Møller SG (2000) PCR (The Basics), BIOS Scientific Publishers Ltd., Oxford" y en "PCR Applications Manual, 3a edición (2006), Roche Diagnostics GmbH, Mannheim o www.roche-applied-science.com".

En la descripción y los ejemplos, se hace referencia a las siguientes secuencias:

25 SEQ ID NO. 1: secuencia de nucleótidos del microARN Ghi_miR403

SEQ ID NO. 2: secuencia de nucleótidos del microARN Ghi_miR408

SEQ ID NO. 3: secuencia de nucleótidos del microARN Ghi_miRcan1230 (1)

SEQ ID NO. 4: secuencia de nucleótidos del microARN Ghi_miR398

30 SEQ ID NO. 5: secuencia de nucleótidos de la secuencia objetivo modificada por ingeniería genética reconocida por microARN Ghi_miR403

SEQ ID NO. 6: secuencia de nucleótidos de secuencia objetivo modificada por ingeniería genética reconocida por microARN Ghi_miR408

SEQ ID NO. 7: secuencia de nucleótidos de la secuencia objetivo reconocida por el microARN Ghi_miRcan1230 (1) o (2)

35 SEQ ID NO. 8: secuencia de nucleótidos de la secuencia objetivo reconocida por el microARN Ghi_miR398

SEQ ID NO. 9: secuencia de nucleótidos de pre-microARN Ghi_miR403

SEQ ID NO. 10: secuencia de nucleótidos de pre-microARN Ghi_miR408

SEQ ID NO. 11: secuencia de nucleótidos de pre-microARN Ghi_miRcan1230

SEQ ID No. 12: secuencia de nucleótidos de pre-microARN Ghi_miR398

40 SEQ ID NO. 13: secuencia de nucleótidos de pTBI312

SEQ ID NO. 14: secuencia de nucleótidos de pTEA1_v2

SEQ ID NO. 15: secuencia de nucleótidos de pEA2

SEQ ID NO. 16: secuencia de nucleótidos de pTEA3

SEQ ID NO. 17: secuencia de nucleótidos de pTEA6

45 SEQ ID NO. 18: secuencia objetivo del sitio que interactúa con miR403 en el ARNm de Arabidopsis AGO2

SEQ ID NO. 19: miR403 de *A. thaliana*

SEQ ID NO. 20: forma menor de Ghi_miR408

SEQ ID NO. 21: secuencia de nucleótidos de la forma alternativa microARN Ghi_miRcan1230 (2)

SEQ ID NO. 22: secuencia de nucleótidos de la forma alternativa microARN Ghi_miRcan1230 (3)

5 SEQ ID NO. 23: secuencia de nucleótidos de la secuencia objetivo modificada por ingeniería genética reconocida por el microARN Ghi_miRcan1230 (2) y (3)

SEQ ID NO. 24: secuencia de nucleótidos de pTEA9

SEQ ID NO. 25: secuencia de nucleótidos de pTEA10

Ejemplos

Ejemplo 1. Materiales y procedimientos.

10 Extracción de ARN total y fraccionamiento de ARN pequeño. Los ARN totales, incluida la fracción de ARN de bajo peso molecular (LMW), se extrajeron de los materiales vegetales y los ARNp se aislaron mediante electroforesis en gel de poliacrilamida al 17% (PAGE) esencialmente como se describió anteriormente [Qi, X., Bao, FS y Xie, Z. 2009]. La secuenciación profunda de ARN pequeño revela el papel de las ARN polimerasas dependientes de ARN de *Arabidopsis thaliana* en la biogénesis de ARNpi viral. PLoS One 4, e4971].

15 Construcción de biblioteca de ARN pequeño y secuenciación de Illumina. Los ARN pequeños purificados con PAGE se utilizaron para la construcción de bibliotecas de ARN pequeños personalizadas esencialmente como se describió previamente [Qi et al. citado anteriormente], excepto que el adaptador de ARN 5' no incluye ninguna secuencia de índice personalizada. Se enviaron ADNc purificados por PAGE para cada biblioteca de ARN pequeño para su secuenciación en el instrumento Hi-Seq2000 de Illumina.

20 Constructos de plásmidos y ensayo de expresión transitoria. Todos los vectores binarios se construyeron utilizando la cadena principal de pCB302 [Xiang, C., Han, P., Lutziger, I., Wang, K. y Oliver, D.J. (1999). A mini binary vector series for plant transformation. Plant Mol Biol 40, 711-717]. La cepa GV2260 de *Agrobacterium* transformada con los vectores binarios deseados se usó para el ensayo de expresión transitoria siguiendo el procedimiento establecido [Johans en, L.K., y Carrington, J.C. (2001). Silencing on the spot. Induction and suppression of RNA silencing in the Agrobacterium-mediated transient expression system. Plant Physiol 126, 930-938].

25 Ensayo de actividad de luciferasa. La actividad de la luciferasa se midió utilizando Sistemas de Ensayo de Luciferasa (Promega) siguiendo las instrucciones del fabricante.

30 Detección de ARN pequeño por transferencia Northern. La transferencia de ARN de LMW se realizó como se describió previamente [Xie, Z., Allen, E., Wilken, A. y Carrington, J.C. (2005). DICER-LIKE 4 functions in trans-acting small interfering RNA biogenesis and vegetative phase change in *Arabidopsis thaliana*. Proc Natl Acad Sci USA 102, 12984-12989]. Se usó una sonda de ácido nucleico bloqueada (LNA) (Exiqon) para la detección de miR403 con sensibilidad mejorada [Valoczi, A., Hornyik, C., Varga, N., Burgyan, J., Kauppinen, S., y Havelda, Z. (2004). Sensitive and specific detection of microRNAs by northern blot analysis using LNA-modified oligonucleotide probes. Nucleic Acids Res 32, e175].

35 Análisis de los niveles de ARNm de luciferasa mediante transcripción inversa acoplada con reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR). Los extractos de ARN total se enriquecieron para los ARNm de poli(A)⁺ usando el procedimiento Oligotex (Qiagen) siguiendo las instrucciones del fabricante. Los ARN enriquecidos con poli(A)⁺ (~125ng) se usaron luego para la transcripción inversa con Superscript III (Invitrogen), seguido por PCR utilizando cebadores específicos de genes.

40 Detección de proteína luciferasa mediante ensayo de inmunotransferencia. Los ensayos de inmunotransferencia se realizaron esencialmente como se describió anteriormente [Kasschau, K.D., Xie, Z., Allen, E., Llave, C., Chapman, E.J., Krizan, K.A. y Carrington, J.C. (2003). P1/HC-Pro, a viral suppressor of RNA silencing, interferes with *Arabidopsis* development and miRNA function. Dev Cell 4, 205-217] utilizando un anticuerpo monoclonal anti-luciferasa producido en ratón (Sigma). La transferencia de control para el factor de elongación 1-alfa se realizó con suero policlonal anti-EF1A preparado en conejo (Agrisera).

Ejemplo 2. Identificación y validación experimental de miARN con patrones de expresión deseados

50 La utilización de los "promotores específicos de tejido" actualmente disponibles en la ingeniería genética de plantas no siempre conduce a resultados satisfactorios debido a la expresión "defectuosa" de transgenes fuera de los dominios de expresión deseados. Para lograr una expresión mejorada específica del tejido y estado de desarrollo de transgenes para la ingeniería genética de la fibra de algodón, se utilizó una estrategia basada en microARN endógeno (miARN) para eliminar la expresión no deseada del transgén fuera de la fibra de algodón en desarrollo. Específicamente, cuando un transgén de interés se modifica con un sitio de interacción para un miARN endógeno, la expresión del transgén sería reprimida por dicho miARN cuando sus dominios de expresión se superponen espacial o temporalmente. Los

miARN endógenos que están ausentes en la fibra en desarrollo pero que se expresan en otros tejidos podrían, por lo tanto, usarse como agentes naturales para inactivar la expresión no deseada del transgén fuera de la fibra.

5 La tecnología de secuenciación de ADN de próxima generación surgida recientemente (NGS), permite un perfil de expresión de ARN pequeños utilizando plataformas de alto rendimiento de una manera relativamente rentable. Se utilizó la plataforma de síntesis por secuenciación (SBS) de Illumina para obtener el perfil de expresión de los miARN de algodón entre los diferentes tipos de tejidos, así como las etapas de desarrollo. Se incluyeron un total de 12 puntos de muestreo para los perfiles de expresión de ARN pequeños mediante secuenciación profunda (secuencia de ARNp; Tabla 1). Se obtuvieron más de 100 millones (M) de lecturas de alta calidad de cada biblioteca de ARN pequeño. Usando una fuente informática propia, se identificaron por primera vez los miARN putativos que se conservan en 10 múltiples especies de plantas. Luego se desarrolló un enfoque informático para la nueva identificación de los miARN que no se reportaron en ninguna otra especie de planta.

Tabla 1. Muestreo de tejido para perfiles de expresión de ARN pequeño

Muestra No.	Tipo de tejido	Etapas de desarrollo	Designación de la muestra
	Raíz	Etapas de 2 hojas	Raíz
2	Cotiledones	Planta de semillero	Cotiledones
3	Hoja	Etapas de 2 hojas	Hoja (1)
4	Hoja	Etapas de floración	Hoja (2)
5	Tallo	Etapas de 2 hojas	Tallo (1)
6	Tallo	Etapas de floración	Tallo (2)
7	brote meristemas apicales	Crecimiento vegetativo	SAM
8	Fibra en desarrollo	8 dpa	Fibra (8 dpa)
9	Fibra en desarrollo	15 dpa	Fibra (15 dpa)
10	Fibra en desarrollo	20 dpa	Fibra (20 dpa)
11	Fibra en desarrollo	25 dpa	Fibra (25 dpa)
12	Fibra en desarrollo	30 dpa	Fibra (30 dpa)

15 Los conjuntos de datos exhaustivos de ARN pequeño que se han generado permitieron un extenso y significativo perfil de expresión utilizando un enfoque informático. Se identificaron varios miARN de plantas en algodón que exhiben un patrón de expresión interesante y que de otro modo podrían considerarse candidatos con el fin de aumentar la expresión selectiva de tejidos.

20 Sin embargo, la mayoría de estos miARN resultó que solo representan miARN maduros que surgen de un subconjunto de loci MIARN parálogos que forman familias de miARN de varios miembros. Estos miARN fueron eliminados de la lista porque ciertos loci MIARN parálogos parecen exhibir patrones de expresión bastante diferentes, mientras que los miARN maduros que surgen de estos loci pueden ser casi idénticos en secuencia y, por lo tanto, pueden compartir objetivos reguladores.

25 Los candidatos restantes son aquellos miARN que probablemente surjan de solo uno o muy pocos loci parálogos. miR403 estaba presente en baja abundancia en muestras sin fibra, pero estaba casi ausente en las fibras en desarrollo. miR408, que está profundamente conservado en plantas terrestres, exhibió un perfil similar. Otros incluyen Ghi_miRcan1230 y Ghi_miR398.

Estos patrones de expresión se validaron experimentalmente y se confirmaron mediante ensayos basados en transferencia Northern (Figura 1).

Ejemplo 3. Validación de la represión mediada por miR403 del informador de LUC en un sistema de ensayo transitorio

5 Aunque se pueden considerar múltiples miARN para su uso como un agente natural para la eliminación de la expresión de transgenes no deseados en tejidos no fibrosos en algodón, se ha elegido miR403 como el primer sujeto para una validación experimental adicional debido a su naturaleza conservada e interacciones bien establecidas con su objetivo en Arabidopsis. En resumen, miR403 es un miARN de planta semiconservado que se ha encontrado solo en las especies dicotiledóneas [Cuperus, J.T., Fahlgren, N. y Carrington, J.C. (2011). Evolution and functional diversification of MIRNA genes. *Plant Cell* 23, 431-442]. En Arabidopsis, se ha demostrado que miR403 se dirige a la región 3' no traducida (3' UTR) de mRNA para ARGONAUTE2 (AGO2), una de las 10 proteínas de la familia AGO en esta especie de planta de referencia [Jones-Rhoades, MW, Bartel, DP, y Bartel, B. (2006). MicroRNAs and their regulatory roles in plants.. *Annu Rev Plant Biol* 57, 19-53; Vaucheret, H. (2008). Plant ARGONAUTES. *Trends Plant Sci* 13, 350-358]. El resultado de la interacción entre miR403 y su objetivo implica la escisión del ARNm de AGO2 [Allen, E., Xie, Z., Gustafson, A.M. y Carrington, J.C. (2005). microRNA-directed phasing during trans-acting siRNA biogenesis in plants. *Cell* 121, 207-221; Xie, Z., Allen, E., Fahlgren, N., Calamar, A., Givan, S.A., y Carrington, J.C. (2005). Expression of Arabidopsis MIRNA genes. *Plant Physiol* 138, 2145-2154]. Se cree que AGO2 de Arabidopsis desempeña un papel en la defensa contra ciertos patógenos virales [Harvey, JJ, Lewsey, MG, Patel, K., Westwood, J., Heimstadt, S., Carr, JP y Baulcombe, DC (2011). An antiviral defense role of AGO2 in plants. *PLoS One* 6, e14639; Jaubert, M., Bhattacharjee, S., Mello, A.F., Perry, K.L., and Moffett, P. (2011). ARGONAUTE2 mediates RNA-silencing antiviral defenses against Potato virus X in Arabidopsis. *Plant Physiol* 156, 1556-1564; Wang, X.B., Jovel, J., Udornporn, P., Wang, Y., Wu, Q., Li, W.X., Gascioli, V., Vaucheret, H., and Ding, S.W. (2011). The 21-nucleotide, but not 22-nucleotide, viral secondary small interfering RNAs direct potent antiviral defense by two cooperative argonautes in Arabidopsis thaliana. *Plant Cell* 23, 1625-1638]. Sin embargo, la AGO2 no parece desempeñar un papel esencial para el crecimiento y desarrollo normal, ya que las mutaciones de pérdida de función en la AGO2 no parecen producir ningún defecto notable [Vaucheret, H. (2008). Plant ARGONAUTES. *Trends Plant Sci* 13, 350-358; Mallory, A., y Vaucheret, H. (2010). Form, function, and Regulation of ARGONAUTE proteins. *Plant Cell* 22, 3879-3889].

Aprovechando las secuencias bien caracterizadas involucradas en la interacción objetivo con miR403 en Arabidopsis, se ha modificado un informador basado en luciferasa de luciérnaga (LUC) [Xiong, L., David, L., Stevenson, B. y Zhu, J. (1999). High throughput screening of signal transduction mutant with luciferase imaging. *Plant Molecular Biology Reporter* 17, 159-170] modificado con un sitio objetivo miR403 en su 3'UTR (designado como 35S::LUC-TAR^{miR403}). La eficacia de la subregulación mediada por miR403 de la expresión del informador de LUC se evaluó mediante la expresión del 35S::LUC-TAR^{miR403}, ya sea solo o expresado conjuntamente con el constructo que produce MIR403 impulsado por el promotor 35S (designado 35S::miR403) en un sistema de ensayo transitorio mediado por Agrobacterium en *Nicotiana benthamina* [Johansen, LK, y Carrington, JC (2001). Silencing on the spot. Induction and suppression of RNA silencing in the Agrobacterium-mediated transient expression system. *Plant Physiol* 126, 930-938]. Los constructos informadores de LUC que carecen del sitio objetivo miR403 (designado 35S::LUC) o que albergan un sitio de interacción de miR403 mutado (designado como 35S::LUC-TAR^{miR403m}) también se hicieron para servir como controles.

40 Se usó el siguiente esquema para la inyección conjunta.

1. Control de vector solamente
2. 35S::LUC solamente
3. 35S::LUC-TAR^{miR403} solamente
4. 35S::LUC-TAR^{miR403m} solamente
- 45 5. 35S::LUC-TAR^{miR403} + vector de control
6. 35S::LUC-TAR^{miR403} + 35S::miR403
7. 35S::LUC-TAR^{miR403m} + vector de control
8. 35S::LUC-TAR^{miR403m} + 35S::miR403

50 Dos días después de la inyección (2 dpi), las actividades de luciferasa eran fácilmente detectables en hojas infiltradas con 35S::LUC, pero no en aquellas infiltradas con el control de vector (Figura 2A). En hojas infiltradas con una versión objetivo miR403 del constructo LUC (35S::LUC-TAR^{miR403}), sin embargo, se detectaron actividades luciferasas sustancialmente más bajas cuando se compararon con las 35S::LUC (Figura 2A), probablemente debido a una represión causada por el miR403 endógeno expresado naturalmente en las hojas de *N. benthamiana*. Los análisis de transferencia Northern de ARN pequeño confirmaron que este era el caso, ya que se detectaron niveles bajos de acumulación de miR403 en las hojas infiltradas con el control del vector (Figura 2B e I). Consistente con una

"inactivación" postranscripcional eficiente de la expresión 35S::LUC-TAR^{miR403} por el miR403 endógeno de las hojas de *N. benthamiana* mutaciones que interrumpen el sitio de interacción de miR403 en el informador de LUC modificado restauraron la actividad de la luciferasa a un nivel comparable al detectado en el 35S::LUC (Figura 2A; véase la muestra marcada con 35S::LUC-TAR^{miR403m}). Tal tendencia general en la actividad de la luciferasa también se observó en muestras tomadas a los 3dpi (Figura 2B). Para examinar el efecto de miR403 exógeno en la expresión del informador de LUC, también se incluyó en el experimento los tratamientos de inyección de *Agrobacterium* "de dos componentes" en los que el informador de LUC se expresa conjuntamente con el miR403 transgénico. Como se muestra en la Figura 2, se observaron niveles sustancialmente elevados de acumulación de miR403 cuando se incluyó el constructo 35S::MIR403 en la infiltración conjunta (Figura 2B e I). Cuando la versión objetivo miR403 del constructo LUC (35S::LUC-TAR^{miR403}) se inyectó conjuntamente con 35S::MIR403, se observó una reducción adicional en la actividad de la luciferasa en comparación con la inyección conjunta del control con el vector. (Figura 2A y H), una indicación de que miR403 expresado de forma transgénica reforzó aún más el efecto de silenciamiento de miR403 endógeno sobre sus objetivos. Como era de esperar, independientemente de la inyección conjunta ya sea con 35S::MIR403 o con el control del vector, el informador de LUC que alberga un sitio de interacción de miR403 mutado (35S::LUC-TAR^{miR403m}) exhibió una elevada actividad de luciferasas cuando se comparó con su contraparte objetivo miR403 (Figura 2A y H). Estos datos fueron consistentes con y además avalados por los niveles de ARNm de LUC de longitud completa detectados mediante ensayos basados en RT-PCR (Figura 2O y P).

En resumen, se obtuvieron resultados consistentes que muestran que la expresión de 35S::LUC-TAR^{miR403} pueden ser eficazmente representados por miR403 endógeno de *N. benthamiana*, mientras que la expresión de un LUC no objetivo (35S::LUC) o la LUC con un objetivo miR403 mutado (35S::LUC-TAR^{miR403m}) no se vio afectada. La expresión de 35S::LUC-TAR^{miR403} puede ser además subregulada cuando se expresa conjuntamente con 35S::MIR403, que proporciona un miR403 maduro adicional.

Ejemplo 4. Validación de la represión mediada por miRcan1230 del informador de LUC en un sistema de ensayo transitorio

Utilizando las secuencias objetivo candidatas involucradas en la interacción objetivo de miRcan1230 en *Arabidopsis*, se ha designado un informador basado en luciferasa de luciérnaga (LUC) [Xiong, L., David, L., Stevenson, B. y Zhu, J. (1999). High Throughput screening of signal transduction mutant with luciferase imaging. *Plant Molecular Biology Reporter* 17, 159-170] modificado con un sitio objetivo miRcan1230 en su 3'UTR (designado como 35S::LUC-TAR^{miRcan1230}). La eficacia de miRcan1230 mediada por la disminución de la expresión del indicador LUC se evaluó mediante la expresión de 35S::LUC-TAR^{miRcan1230}, ya sea solo o expresado conjuntamente con un constructo productor de MIRcan1230 impulsado por el promotor 35S (designado 35S::miRcan1230) en un sistema de ensayo transitorio mediado por *Agrobacterium* en *Nicotiana benthamiana* [Johansen, LK, y Carrington, JC (2001). Silencing on the spot. Induction and suppression of RNA silencing in the *Agrobacterium*-mediated transient expression system. *Plant Physiol* 126, 930-938]. Los constructos del informador de LUC que carecen del sitio objetivo miRcan1230 (designado 35S::LUC) o que albergan un sitio que interactúa con miRcan1230 mutado (designado como 35S::LUC-TAR^{miRcan1230m}) también se elaboraron para servir como controles.

Se usó el siguiente esquema para inyección conjunta.

1. Control de vector solamente
2. 35S::LUC-TAR^{miRcan1230} solamente
3. 35S::LUC solamente
4. 35S::LUC-TAR^{miRcan1230} solamente
5. 35S::LUC-TAR^{miRcan1230m} solamente
6. 35S::LUC-TAR^{miRcan1230} + vector de control
7. 35S::LUC-TAR^{miRcan1230} + 35S::miRcan1230
8. 35S::LUC-TAR^{miRcan1230m} + vector de control
9. 35S::LUC-TAR^{miRcan1230m} + 35S::miRcan1230

A los tres días posteriores a la inyección (3 dpi), las actividades de luciferasa fueron fácilmente detectables a partir de las hojas infiltradas con 35S::LUC, pero no a partir de aquellas infiltradas con el control del vector (Figura 6A, carriles 3 y 1). En las hojas infiltradas con una versión objetivo miRcan1230 del constructo de LUC solamente (carril 4) (35S::LUC-TAR^{miRcan1230}), se detectaron actividades de luciferasa comparables con las 35S::LUC (Figura 6A, carril 3), como parece que no hay represión que puede ser causada por miRcan1230 endógeno en las hojas de *N. Benthamiana*, como el algodón miRcan1230 no se conserva en otras especies. Los ensayos de transferencia Northern de RNA pequeño indicaron que se detectó acumulación de miRcan1230 solamente a partir de las hojas infiltradas con el constructo 35S:: miRcan1230 solamente (Figuras 6B, carriles 2, 7 y 9).

Para examinar el efecto de miRcan1230 expresado exógenamente en la expresión del informador de LUC, se incluyó en el experimento los tratamientos de inyección de *Agrobacterium* "de dos componentes" en los que el informador de LUC se expresa conjuntamente con miRcan1203 transgénico. Como se muestra en la Figura 6, se observaron niveles sustancialmente elevados de acumulación de miRcan1230 cuando se incluyó el constructo 35S::MIRcan1230 en la infiltración conjunta y solo entonces (Figura 6B). Cuando la versión objetivo miRcan1230 del constructo de LUC (35S::LUC-TAR^{miRcan1230}) se inyectó conjuntamente con 35S::MIRcan1230, se observó una reducción significativa en la actividad de la luciferasa cuando se comparó con el control de la inyección conjunta con el vector (Figura 6A), una indicación de que miRcan1230 expresado de forma transgénica ejerció el efecto silenciador de miRcan1230 sobre sus objetivos. Como era de esperar, independientemente de la inyección conjunta ya sea con 35S::MIRcan1230 o el control del vector, el informador de LUC que alberga un sitio de interacción de miRcan1230 mutado (35S::LUC-TAR^{miRcan1230m}) exhibió una actividad elevada de luciferasa cuando se compara con su contraparte objetivo miRcan1203 (Figura 6A).

Estos datos fueron consistentes con, y además avalados por, los niveles de ARNm de LUC detectados mediante los ensayos basados en RT-PCR (Figura 6E y F). Los ensayos basados en RT-PCR distinguieron entre la detección de la parte 5' del ARNm de LUC (región A) secuencia arriba del sitio objetivo miRcan1230 o la parte 3' del ARNm de LUC (región B), secuencia abajo del sitio objetivo miRcan1230. La Región A no se puede detectar cuando no se ha inyectado el vector 35S::LUC (con o sin el sitio objetivo) (carriles 1 y 2), pero también se reduce significativamente cuando el 35S::LUC-TAR^{miRcan1230} se expresa conjuntamente con 35S::MIRcan1230. La región B siempre se puede detectar, excepto cuando no se ha inyectado el vector 35S::LUC (con o sin el sitio objetivo).

En resumen, se obtuvieron resultados consistentes que muestran que la expresión de 35S::LUC-TAR^{miRcan1230} puede ser reprimida efectivamente por *N. Benthamiana* solamente cuando se expresa conjuntamente con 35S::MIRcan1230 que proporciona miRcan1230 maduro.

Ejemplo 5: Represión mediada por miR403 o mediada por miR408 de quitina sintasa y/o glutamina:fructosa-6-fosfato amidotransferasa en fibras de algodón

Usando técnicas de ADN recombinante, se construyeron los siguientes genes recombinantes enlazando operativamente los siguientes elementos de ADN:

Construcción de quitina sintasa recombinante + sitio de unión de miR408

- El promotor Pscw-prpr
- Una región de ADN que codifica para la señal de direccionamiento a golgi de XylT35 fusionada con la secuencia de codificación de quitina sintasa de *Neurospora crassa*
- Una secuencia que incluye el sitio de unión de microARN408
- El fragmento 3'UTR del gen 35S de CaMV.

Más detalles se incluyen en la Tabla 2 con referencia a la SEQ ID NO. 15.

Glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa recombinante + sitio de unión de miR408

- El promotor Pscw-prpr
- Una región de ADN que codifica para la glutamina:fructosa-6-fosfato amidotransferasa de *Escherichia coli*.
- Una secuencia que incluye el sitio de unión de microRNA408
- Región 3' no traducida del gen H4 de histona de *Arabidopsis thaliana*.

Más detalles se incluyen en la Tabla 3 con referencia a la SEQ ID NO. 14.

Constructo recombinante de quitina sintasa + sitio de unión de miR403

- El promotor Pscw-prpr
- Una región de ADN que codifica la señal de orientación de golgi de XylT35 fusionada a la secuencia de codificación de quitina sintasa de *Neurospora crassa*
- Una secuencia que incluye el sitio de unión de microRNA403
- El fragmento 3'UTR del gen 35S de CaMV.

Más detalles se incluyen en la Tabla 4 con referencia a la SEQ ID NO. 13.

Glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa recombinante + sitio de unión de miR403

- El promotor Pscw-prpr
 - Una región de ADN que codifica para la glutamina:fructosa-6-fosfato amidotransferasa de *Escherichia coli*.
 - Una secuencia que incluye el sitio de unión de microRNA403
- 5 • región 3' no traducida del gen H4 de histona de *Arabidopsis thaliana*.

Más detalles se incluyen en la Tabla 4 con referencia a la SEQ ID NO. 13.

10 Los constructos recombinantes se insertaron en diversas combinaciones en vectores de T-ADN junto con un marcador seleccionable, tal como un gen de tolerancia al glifosato expresable en plantas. Los ejemplos de tales vectores de T-ADN incluyen pTEA1 (que comprende glutamina:fructosa-6-fosfato amidotransferasa recombinante seguida por el sitio de unión de miARN408; SEQ ID No. 14) y pTDBI312 (que comprende glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa recombinante seguida por el sitio de unión de miARN403y quitina sintetasa recombinante seguida por el sitio de unión de miARN403; SEQ ID No. 13) pTEA6 (que contiene glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa con un sitio objetivo de miR403 en su 3'UTR y quitina sintasa con un sitio objetivo miR408 en su 3'UTR; Tabla 6 y SEQ ID NO. 17) o pTEA3 (que contiene glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa y quitina sintasa, ambas con un sitio objetivo miR408 en su 3'UTR; Tabla 5 y SEQ ID NO. 16).

Estos vectores de T-ADN se introdujeron en cepas de *Agrobacterium* que contenían un plásmido de Ti auxiliar y se usaron en la transformación de algodón esencialmente como se describe en el documento WO00/71733.

20 Se regeneraron plantas de algodón transgénicas y se determinó la expresión de glutamina:fructosa-6-fosfato amidotransferasa y quitina sintetasa en fibras de algodón. Las plantas de algodón transgénicas que comprenden constructos recombinantes con sitios objetivo de miARN en su 3'UTR muestran fenotipos menos desventajosos (plantas pequeñas, etc.) que las plantas de algodón transgénicas que comprenden constructos recombinantes sin sitios objetivo de miARN en su 3'UTR.

Ejemplo 6: represión mediada por miRcan1230 o mediada por miR398 de quitina sintasa y/o glutamina:fructosa-6-fosfato amidotransferasa en fibras de algodón

25 Utilizando técnicas de ADN recombinante, se construyeron los siguientes genes recombinantes enlazando operativamente los siguientes elementos de ADN:

Constructo recombinante de quitina sintasa + sitio de unión de miR398

- El promotor Pscw-prp
- Una región de ADN que codifica para la señal de direccionamiento a golgi de XylT35 fusionada con la secuencia de codificación de quitina sintasa de *Neurospora crassa*
- Una secuencia que incluye el sitio de unión de microRNA398
- El fragmento de 3'UTR del gen 35S de CaMV.

Más detalles se incluyen en la Tabla 7 con referencia a la SEQ ID NO. 24.

Glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa recombinante + sitio de unión de miRcan1230

- 35 • El promotor Pscw-prp
- Una región de ADN que codifica para la glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa de *Escherichia coli*.
- Una secuencia que incluye el sitio de unión de microARN398
- 3 'región no traducida del gen H4 de histona de *Arabidopsis thaliana*.

Más detalles se incluyen en la Tabla 7 con referencia a la SEQ ID NO. 24.

40 Constructo de quitina sintasa recombinante + sitio de unión de miRcan1230

- El promotor Pscw-prp
- Una región de ADN que codifica la señal de direccionamiento a golgi de XylT35 fusionada a la secuencia de codificación de quitina sintasa de *Neurospora crassa*
- Una secuencia que incluye el sitio de unión de microRNacan1230

- El fragmento 3'UTR del gen 35S CaMV.

Más detalles se incluyen en la Tabla 8 con referencia a la SEQ ID NO. 25.

Glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa recombinante + sitio de unión de miRcan1230

- El promotor Pscw-prp
- 5
- Una región de ADN que codifica para la glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa de *Escherichia coli*.
 - Una secuencia que incluye el sitio de unión de microRNACan1230
 - región 3' no traducida del gen H4 de histona de *Arabidopsis thaliana*.

Más detalles se incluyen en la Tabla 8 con referencia a la SEQ ID NO. 25.

10 Los constructos recombinantes se insertaron en diversas combinaciones en vectores de T-ADN junto con un marcador seleccionable, tal como un gen de tolerancia al glifosato expresable en plantas. Los ejemplos de dichos vectores de T-ADN incluyen pTEA9 (que comprende glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa recombinante seguido de un sitio de unión de miARN398 y quitina sintetasa recombinante seguido de un sitio de unión de miARN398, SEQ ID NO. 24) y pTEA10 (que contiene glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa con un sitio objetivo miRcan1230 en su 3'UTR y quitina sintasa con un sitio objetivo miRcan1230 en su 3' UTR; SEQ ID No. 25).

15 Estos vectores de T-ADN se introdujeron en cepas de *Agrobacterium* que contenían un plásmido Ti auxiliar y se usaron en la transformación de algodón esencialmente como se describe en el documento WO00/71733.

20 Se regeneraron plantas de algodón transgénicas y se determinó la expresión de glutamina:fructosa-6-fosfato amidotransferasa y quitina sintetasa en fibras de algodón. Las plantas de algodón transgénicas que comprenden constructos recombinantes con sitios objetivo de miARN en su 3'UTR muestran fenotipos menos desventajosos (plantas pequeñas, etc.) que las plantas de algodón transgénicas que comprenden constructos recombinantes sin sitios objetivo de miARN en su 3'UTR.

Tabla 2: elementos genéticos del constructo de ADN recombinante pEA2 que comprende quitina sintasa y + el sitio objetivo de miR408. La referencia de secuencia de nucleótidos en la SEQ ID NO. 15

Nombre	Inicio	Final	Descripción
Pscw-prp	431	1869	promotor de proteína de la pared celular rica en prolina de <i>G. hirsutum</i> ;
RPxylTAt	1873	1977	secuencia codificante del péptido de retención de Golgi del gen de beta-1,2-xilosiltransferasa de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Pagny et al., 2003)
chs2Nc-1Pc	1978	4809	secuencia codificante para quitina sintasa de <i>Neurospora crassa</i>
tmiR408At-N1	4822	4848	secuencia que incluye el sitio de unión de microRNA408 de <i>Arabidopsis thaliana</i>
tmiR408At	4825	4845	Secuencia objetivo central de microRNA408 de <i>Arabidopsis thaliana</i>
3'35S	4869	5105	fragmento de 3'UTR del gen 35S de CaMV.

25 Tabla 3: elementos genéticos de T-ADN del vector pTEA1 que comprende el constructo recombinante que contiene glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa y el sitio objetivo de miR408. La referencia es la SEQ ID NO. 14

Nombre	Inicio	Final	Descripción
RB	10979	11003	Repetición del borde derecho del T-ADN de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Zambryski, 1988)
Pscw-prp	11067	12505	secuencia que incluye la región promotora del gen de proteína de pared celular rica en prolina de <i>Gossypium hirsutum</i> (algodón)
gfaEc-1 Pb	12509	14338	región codificante del gen de glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa de <i>Escherichia coli</i> (Frohberg y Essigmann, 2006), adaptada al uso del codón de la planta

ES 2 703 169 T3

tmiR408At-N1	14339	44	secuencia que incluye el sitio de unión del microRNA408 de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Harvey et al., 2011)
tmiR408At	3	41	Secuencia objetivo central de microRNA408 de <i>Arabidopsis thaliana</i>
3'histonAt	60	720	secuencia que incluye la región 3' no traducida del gen H4 de histona de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chabouté et al., 1987)
Ph4a748 ABC	770	1686	Secuencia que incluye la región promotora del gen H4 de histona de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chabouté et al., 1987)
intron1 h3At	1736	2198	Secuencia que incluye el primer intrón del gen II de la variante de histona H3.III de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chaubet et al., 1992)
TPotp C	2205	2576	secuencia codificadora del péptido de tránsito optimizado, que contiene la secuencia de los genes de la subunidad pequeña de RuBisCO de <i>Zea mays</i> (maíz) y <i>Helianthus annuus</i> (girasol) (Lebrun et al., 1996)
2mepsps	2577	3914	Secuencia codificante del gen de 5-enol-piruvilshikimato-3-fosfato sintasa mutante de <i>Zea mays</i> (maíz) (Lebrun et al., 1997)
3'histon At	3938	4598	Secuencia que incluye la región 3' no traducida del gen H4 v de histona de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chabouté et al., 1987)
LB	4711	4735	Repetición del borde izquierdo del T-ADN de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Zambryski, 1988)

Tabla 4: elementos genéticos de T-ADN del vector pTBDI312 que comprende un constructo recombinante que contiene glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa y quitina sintasa, ambas contienen un sitio objetivo de miR403 en su 3'UTR – la referencia es la SEQ ID NO. 13

Nombre	Inicio	Final	Descripción
RB	1	25	Repetición del borde derecho de T-ADN de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Zambryski, 1988)
Pscw-prp	61	1499	secuencia que incluye la región promotora de un gen de proteína de pared celular rico en prolina de <i>Gossypium hirsutum</i> (algodón)
RPxyITAt	1503	1607	secuencia codificante del péptido de retención de Golgi del gen de la beta-1,2-xilosiltransferasa de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Pagny et al., 2003)
chs2Nc-1Pc	1608	4439	secuencia codificadora del gen de quitina sintasa 2 de <i>Neurospora crassa</i> (Din and Yarden, 1994)
tmiR403At-N1	4440	4465	secuencia que incluye el sitio de unión del microARN403 de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Harvey et al., 2011)
tmiR403At	4443	4462	Sitio de unión central de microARN403 de <i>Arabidopsis thaliana</i>
3'35S	4486	4722	Secuencia que incluye la región 3' no traducida del transcripto 35S del Virus del mosaico de la coliflor (Sanfaçon et al., 1991)
Pscw-prp	4760	6198	secuencia que incluye la región promotora de un gen de proteína de pared celular rica en prolina de <i>Gossypium hirsutum</i> (algodón)
gfaEc-1 Pb	6202	8031	secuencia codificante de la glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa del gen de <i>Escherichia coli</i> (Frohberg and Essigmann, 2006)
tmiR403At-N1	8038	8063	secuencia que incluye el sitio de unión de microARN403 de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Harvey et al., 2011)
tmiR403At	8041	8060	Sitio de unión central de microARN403 de <i>Arabidopsis thaliana</i>

ES 2 703 169 T3

3'histonAt	8089	8749	Secuencia que incluye la región 3' no traducida del gen H4 de la histona de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chabouté et al., 1987)
Ph4a748	8799	9715	secuencia que incluye la región promotora del gen H4 de histona de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chabouté et al., 1987)
intron1 h3At	9749	10229	Secuencia que incluye el primer intrón del gen II de la variante histona H3.III de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chaubet et al., 1992)
TPotp C	10234	10605	secuencia de codificación del péptido de tránsito optimizado, que contiene la secuencia de los genes de la subunidad pequeña RuBisCO de <i>Zea mays</i> (maíz) y <i>Helianthus annuus</i> (girasol) (Lebrun et al., 1996)
2mepsps	10606	11943	secuencia codificante del gen de 5-enol-piruvilshikimato-3-fosfato sintasa doble mutante de <i>Zea mays</i> (maíz) (Lebrun et al., 1997)
3'histon At	11967	12627	secuencia que incluye la región 3' no traducida del gen H4 de histona de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chabouté et al., 1987)
LB	12740	12764	Repetición del borde izquierdo del T-ADN de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Zambryski, 1988)

Tabla 5: elementos genéticos del T-ADN del vector pTEA3 que comprende un constructo recombinante que contiene glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa y quitina sintasa, ambos contienen un sitio objetivo de miR408 en su 3' UTR; la referencia es la SEQ ID NO. 16

Nombre	Inicio	Final	Descripción
RB	1	25	Repetición del borde derecho del T-ADN de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Zambryski, 1988)
Pscw-prp	61	1499	secuencia que incluye la región promotora de un gen de proteína de pared celular rico en prolina de <i>Gossypium hirsutum</i> (algodón)
RPxyITAt	1503	1607	secuencia codificante del péptido de retención de Golgi del gen de beta-1,2-xilosiltransferasa de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Pagny et al., 2003)
chs2Nc-1Pc	1608	4439	secuencia codificadora del gen de quitina sintasa 2 de <i>Neurospora crassa</i> (Din and Yarden, 1994)
tmiR408At-N1	4452	4478	secuencia que incluye el sitio de unión de microARN408 de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Harvey et al., 2011)
tmiR408At	4455	4475	Sitio de unión central de microARN408 de <i>Arabidopsis thaliana</i>
3'35S	4499	4735	que incluye la región 3' no traducida del transcrito 35S del Virus del mosaico de la coliflor (Sanfaçon et al., 1991)
Pscw-prp	4773	6211	secuencia que incluye la región promotora de un gen de proteína de pared celular rico en prolina de <i>Gossypium hirsutum</i> (algodón)
gfaEc-1 Pb	6215	8044	secuencia codificadora del gen de glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa de <i>Escherichia coli</i> (Frohberg and Essigmann, 2006)
tmiR408At-N1	8057	8083	secuencia que incluye el sitio de unión del microARN408 de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Harvey et al., 2011)
tmiR408At	8060	8080	Sitio de unión central de microARN408 de <i>Arabidopsis thaliana</i>
3'histonAt	8105	8765	secuencia que incluye la región 3' no traducida del gen H4 de histona de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chabouté et al., 1987)

ES 2 703 169 T3

Ph4a748	8815	9731	secuencia que incluye la región promotora del gen H4 de histona de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chabouté et al., 1987)
intron1 h3At	9765	10245	secuencia que incluye el primer intrón del gen II de la variante H3.III de histona de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chaubet et al., 1992)
TPotp C	10250	10621	secuencia codificante del péptido de tránsito optimizado, que contiene la secuencia de los genes de la subunidad pequeña RuBisCO de <i>Zea mays</i> (maíz) y <i>Helianthus annuus</i> (girasol) (Lebrun et al., 1996)
2mepsps	10622	11959	secuencia codificante del gen de 5-enol-piruvilshikimate-3-fosfato sintasa doble mutante de <i>Zea mays</i> (maíz) (Lebrun et al., 1997)
3'histon At	11983	12643	secuencia que incluye la región 3' no traducida del gen H4 de histona de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chabouté et al., 1987)
LB	12756	12780	Repetición del borde izquierdo del T-ADN de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Zambryski, 1988)

Tabla 6: elementos genéticos de T-ADN del vector pTEA6 que comprende un constructo recombinante que contiene glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa que contiene un sitio objetivo miR403 en su 3'UTR y quitina sintasa que contiene un sitio objetivo miR408 en su 3'UTR - la referencia es la SEQ ID No. 17

Nombre	Inicio	Final	Descripción
RB	1	25	Repetición del borde derecho del T-ADN de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Zambryski, 1988)
Pscw-prp	61	1499	secuencia que incluye la región promotora de un gen de proteína de pared celular rico en prolina de <i>Gossypium hirsutum</i> (algodón)
RPxyITAt	1503	1607	secuencia codificante del péptido de retención de Golgi del gen de beta-1,2-xilosiltransferasa de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Pagny et al., 2003)
chs2Nc-1Pc	1608	4439	secuencia codificadora del gen de quitina sintasa 2 de <i>Neurospora crassa</i> (Din and Yarden, 1994)
tmiR408At-N1	4452	4478	secuencia que incluye el sitio de unión de microRNA408 de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Harvey et al., 2011)
tmiR408At	4455	4475	Sitio de unión central de microRNA408 de <i>Arabidopsis thaliana</i>
3'35S	4499	4735	Secuencia que incluye la región 3' no traducida del transcrito 35S del Virus del mosaico de la coliflor (Sanfaçon et al., 1991)
Pscw-prp	4773	6211	secuencia que incluye la región promotora de un gen de proteína de pared celular rico en prolina de <i>Gossypium hirsutum</i> (algodón)
gfaEc-1 Pb	6215	8044	Secuencia codificadora del gen de glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa de <i>Escherichia coli</i> (Frohberg and Essigmann, 2006)
tmiR403At-N1	8051	8076	secuencia que incluye el sitio de unión de microRNA403 de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Harvey et al., 2011)
tmiR403At	8054	8073	Sitio de unión central de microRNA403 de <i>Arabidopsis thaliana</i>
3'histonAt	8102	8762	Secuencia que incluye la región 3' no traducida del gen H4 de histona de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chabouté et al., 1987)
Ph4a748	8812	9728	Secuencia que incluye la región promotora del gen H4 de histona de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chabouté et al., 1987)
intron1 h3At	9762	10242	Secuencia que incluye el primer intrón del gen II de la variante H3.III de histona de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chaubet et al., 1992)

TPotp C	10247	10618	secuencia de codificación del péptido de tránsito optimizado, que contiene la secuencia de los genes de subunidad pequeña de RuBisCO de <i>Zea mays</i> (maíz) y <i>Helianthus annuus</i> (girasol) (Lebrun et al., 1996)
2mepsps	10619	11956	secuencia codificante del gen de 5 mutaciones 5-enol-piruvilshikimate-3-fosfato sintasa doble mutante de <i>Zea mays</i> (algodón) (Lebrun et al., 1997)
3'histon At	11980	12640	secuencia que incluye la región 3' no traducida del gen H4 de histona de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chabouté et al., 1987)
LB	12753	12777	Repetición del borde izquierdo del T-ADN de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Zambryski, 1988)

Tabla 7: elementos genéticos de T-ADN del vector pTEA9 que comprende un constructo recombinante que contiene glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa que contiene un sitio objetivo miR398 en su 3'UTR y quitina sintasa que contiene un sitio objetivo miR398 en su 3'UTR – la referencia es la SEQ ID No. 24

Nombre	Inicio	Final	Descripción
RB	1	25	Repetición del borde derecho del T-ADN de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Zambryski, 1988)
Pscw-prp	61	1499	secuencia que incluye la región promotora de un gen de proteína de pared celular rico en prolina de <i>Gossypium hirsutum</i> (cotton)
RPxylTAt	1503	1607	secuencia codificante del péptido de retención de Golgi del gen de beta-1,2-xilosiltransferasa de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Pagny et al., 2003)
chs2Nc-1Pc	1608	4439	secuencia codificadora del gen de quitina sintasa 2 de <i>Neurospora crassa</i> (Din and Yarden, 1994)
tmiR398Gh-N1	4446	4472	secuencia que incluye el sitio de unión de microARN398 de <i>Gossypium hirsutum</i>
tmiR398At	4449	4469	Sitio de unión al núcleo de microARN398 de <i>Gossypium hirsutum</i>
3'35S	4484	4708	sequence que incluye la región 3' no traducida de la transcripción 35S del virus del mosaico de la coliflor (Sanfaçon et al., 1991)
Pscw-prp	4759	6197	sequence que incluye la región promotora de un gen de proteína de pared celular rico en prolina de <i>Gossypium hirsutum</i> (algodón)
gfaEc-1 Pb	6201	8030	secuencia codificadora del gen de la glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa de <i>Escherichia coli</i> (Frohberg and Essigmann, 2006)
tmiR398Gh_N1	8043	8069	secuencia que incluye el sitio de unión de microARN398 de <i>Gossypium hirsutum</i>
tmiR398Gh	8046	8066	Sitio de unión al núcleo de microARN398 de <i>Gossypium hirsutum</i>
3'histonAt	8081	8741	sequence que incluye la región 3' no traducida del gen H4 de histona de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chabouté et al., 1987)
Ph4a748	8791	9707	secuencia que incluye la región promotora del gen H4 de histona de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chabouté et al., 1987)
intron1 h3At	9757	10219	Secuencia que incluye el primer intrón del gen II de la variante H3.III de histona de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chaubet et al., 1992)
TPotp C	10226	10597	secuencia de codificación del péptido de tránsito optimizado, que contiene la secuencia de los genes de la subunidad pequeña RuBisCO de <i>Zea mays</i> (maíz) y <i>Helianthus annuus</i> (girasol) (Lebrun et al., 1996)

ES 2 703 169 T3

2mepsps	10598	11935	Secuencia codificante del gen 5-enol-piruvilshikimate-3-fosfato sintasa doble mutante de <i>Zea mays</i> (maíz) (Lebrun et al., 1997)
3'histon At	11959	12619	secuencia que incluye la región 3' no traducida del gen H4 de histona de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chabouté et al., 1987)
LB	12732	12756	Repetición del borde izquierdo del T-ADN de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Zambryski, 1988)

Tabla 8: elementos genéticos de T-ADN del vector pTEA10 que comprende un constructo recombinante que contiene glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa que contiene un sitio objetivo miRcan1230 en su 3'UTR y quitina sintasa que contiene un sitio objetivo miRcan1230 en su 3'UTR. La referencia es la SEQ ID No. 25

Nombre	Inicio	Final	Descripción
RB	1	25	Repetición del borde derecho del T-ADN de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Zambryski, 1988)
Pscw-prp	61	1499	secuencia que incluye la región promotora de un gen de proteína de pared celular rico en prolina de <i>Gossypium hirsutum</i> (cotton)
RPxyITAt	1503	1607	secuencia codificante del péptido de retención de Golgi del gen de beta-1,2-xilosiltransferasa de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Pagny et al., 2003)
chs2Nc-1Pc	1608	4439	secuencia codificadora del gen de quitina sintasa 2 de <i>Neurospora crassa</i> (Din and Yarden, 1994)
tmiRcan1230 Gh-N1	4446	4479	secuencia que incluye el sitio de unión de microARNcan1230 de <i>Gossypium hirsutum</i>
tmiR408At	4449	4476	Sitio de unión al núcleo de microARNcan1230 de <i>Gossypium hirsutum</i>
3'35S	4491	4715	sequence que incluye la región 3' no traducida del transcrito 35S del Virus del mosaico de la coliflor (Sanfaçon et al., 1991)
Pscw-prp	4766	6204	Secuencia que incluye la región promotora de un gen de proteína de pared celular rico en prolina de <i>Gossypium hirsutum</i> (algodón)
gfaEc-1 Pb	6208	8037	secuencia codificadora del gen de la glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa de <i>Escherichia coli</i> (Frohberg and Essigmann 2006)
tmiRcan1230 Gh-N1	8050	8083	secuencia que incluye el sitio de unión de microRNACan1230 de <i>Gossypium hirsutum</i>
tmiRcan1230 Gh	8053	8080	Sitio de unión al núcleo de microARNcan1230 de <i>Gossypium hirsutum</i>
3'histonAt	8095	8755	secuencia que incluye la región 3' no traducida del gen H4 de histona de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chabouté et al., 1987)
Ph4a748	8805	9721	secuencia que incluye la región promotora del gen H4 de histona de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chabouté et al., 1987)
intron1 h3At	9771	10233	secuencia que incluye el primer intrón del gen II de la variante H3.III de histona de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chaubet et al., 1992)
TPotp C	10240	10611	secuencia codificante del péptido de tránsito optimizado, que contiene la secuencia de los genes de la subunidad pequeña RuBisCO de <i>Zea mays</i> (maíz) y <i>Helianthus annuus</i> (girasol) (Lebrun et al., 1996)
2mepsps	10612	11949	secuencia codificante del gen de 5-enol-piruvilshikimate-3-fosfato sintasa doble mutante de <i>Zea mays</i> (maíz) (Lebrun et al., 1997)
3'histon At	11973	12633	secuencia que incluye la región 3' no traducida del gen H4 de histona de <i>Arabidopsis thaliana</i> (Chabouté et al., 1987)

ES 2 703 169 T3

LB	12746	12770	Repetición del borde izquierdo del T-ADN de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Zambryski, 1988)
----	-------	-------	--

Listado de secuencias

- <110> Bayer CropScience NV
Texas Tech University
- 5 Meulewaeter, Frank
Xie, Zhixin
Jia, Gengxiang
Ghosh, Arnab
Sheng Bao, Forrest
- 10 <120> Expresión selectiva mejorada de transgenes en plantas productoras de fibra
<130> BCS 13-2006-WO1
<150> US 61/823297
<151> 2013-05-14
<160> 25
- 15 <170> PatentIn versión 3.3
<210> 1
<211> 23
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial
- 20 <220>
<223> Secuencia de nucleótidos de microARN Ghi_miR403
<400> 1
ttagattcac gcgcaaac tcg 23
<210> 2
- 25 <211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Secuencia de nucleótidos de microARN Ghi_miR408
- 30 <400> 2
atgcactgcc tcttccctgg c 21
<210> 3
<211> 21
<212> ADN
- 35 <213> Secuencia Artificial

- <220>
 <223> Secuencia de nucleótidos de microARN Ghi_miRcan1230
 <400> 3
 ttgcatgaca ctactttaa t 21
- 5 <210> 4
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
- 10 <223> Secuencia de nucleótidos de microARN Ghi_miR398
 <400> 4
 tgtgttctca ggtcgcccct g 21
 <210> 5
 <211> 27
- 15 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Secuencia de nucleótidos de la secuencia objetivo modificada reconocida por microARN Ghi_miR403
 <220>
- 20 <221> características diversas
 <222> (4)..(24)
 <223> secuencia objetivo central para miR403
 <400> 5
 aaggagttt gtgcgtgaat ctaattg 27
- 25 <210> 6
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
- 30 <223> Secuencia de nucleótidos de la secuencia objetivo modificada reconocida por microARN Ghi_miR408
 <220>
 <221> características diversas
 <222> (4)..(24)
 <223> secuencia objetivo central para miR408
- 35 <400> 6
 gacgccggtg aagaggcagt gcaagac 27
 <210> 7

- <211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial
<220>
- 5 <223> secuencia de nucleotidos de la secuencia objetivo reconocida por microARN Ghi_miR1230
<220>
<221> características diversas
<222> (4)..(24)
<223> secuencia objetivo central para miRcan1230
- 10 <400> 7
agttttaaag tagtgccatg catttt 27
<210> 8
<211> 27
<212> ADN
- 15 <213> Secuencia Artificial
<220>
<223> secuencia de nucleotidos de la secuencia objetivo reconocida por microARN Ghi_miR398
<220>
<221> características diversas
- 20 <222> (4)..(24)
<223> secuencia objetivo central para miR398
<400> 8
gccattgggc gacctgggaa cactaga 27
<210> 9
- 25 <211> 164
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> secuencia de nucleótidos de pre-microARN Ghi_miR403
- 30 <220>
<221> características diversas
<222> (41)..(62)
<223> región de microARN*
<220>
- 35 <221> características diversas
<222> (104)..(124)
<223> región de microARN

ES 2 703 169 T3

<400> 9
 acaattttaa aaaaattgaa aaaagaagag ccatatttcg agttttgtgc gtgaatctaa 60
 taaaactgta atccacacac aaaaaatgtg gatttgtttc atgtagatt cacgcacaaa 120
 ctcgtaatct gtctttccat taatttcccc gtcgtttctt catg 164

<210> 10
 <211> 160
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> secuencia de nucleótidos de pre-microARN Ghi_miR408
 <220>

10 <221> características diversas
 <222> (41)..(58)
 <223> región de microARN*
 <220>
 <221> características diversas

15 <222> (99)..(120)
 <223> región de microARN
 <400> 10
 tattgagaga gaggagaaa gatgggagag acagacaaag acaggaaca ggctgagcat 60
 ggatggatct accaactgat tctgttgttt ctccgccat gcactgcctc ttccctggct 120
 ctgcctcctc catttttttc ctccctcttt ttttatttaa 160

<210> 11
 20 <211> 146
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> secuencia de nucleótidos de pre-microARN Ghi_miR1230

25 <220>
 <221> características diversas
 <222> (41)..(61)
 <223> región de microARN
 <220>

30 <221> características diversas
 <222> (87)..(106)
 <223> región de microARN*
 <400> 11

ES 2 703 169 T3

	ttacttctaa acaagcgaac aaaattattht ggcattgtggc ttgcatgac actactttaa	60
	attaacatta ttaaaaaaaa tgacaattaa agtagtgtcc tgcaaaactca caaaccaaat	120
	aaaactctct ccaataactc ttata	146
	<210> 12	
	<211> 152	
	<212> ADN	
5	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> secuencia de nucleótidos de pre-microARN Ghi_miR398	
	<220>	
	<221> características diversas	
10	<222> (41)..(61)	
	<223> región de microARN*	
	<220>	
	<221> características diversas	
	<222> (94)..(114)	
15	<223> región de microARN	
	<400> 12	
	ccaatgatt tgaggaacc agaggtggag gaatccgacc gggtcgacct tagaatacat	60
	gtgattgtht tcgatttcaa tatggttcgt tcatgtgttc tcaggtcgcc cctgtcggat	120
	tttcattcat cttttatcg tatagttatt aa	152
	<210> 13	
	<211> 19007	
20	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> secuencia de nucleótidos de pTBI312	
	<400> 13	

ES 2 703 169 T3

aattacaacg gtatatatcc tgccagtact gggccccctc gagggcgatc gcgcggccgc 60
ttcacggaaa gttgttatat ataagttcag taaataataa tgaaatataa attttaatta 120
tatctagtag tcaataagaa gatggagaaa gttatgtaa ttatagttat aaattattta 180
taaatttaat atatatatat aaagaaaata gttgtataac taataattat ttttacaata 240
ctttatatag ttatatttaa aaaaatttta aaattaaaat actattattt tgttcaatat 300
attaatattt atattattta atttattatt gaatatgaat aaattttttt tgaaaattat 360
atttttaatt tttagaaatt ttatataact ttccatatat atatttctga tttgtcaatt 420
tcttttgaga tttatctaaa ttgatttgaa ttttttttat ttttaaaaaa taaaataatt 480
ttaaattttc ttggaatttt atataaattt ttggattttt caaaaaaat tgagattttt 540
ttcttttttt tcgatttttt aaatttattt caggaaaata taaactaact tttctttgct 600
ttgggtataa ttaatattag ataaccaca aattagatca ataggagctt catgtcctaa 660
tcccatttaa ttacttttgt tgtatcatta atttagtcga ccttaccatag tagctctatg 720
gggcaaatag ttataaatgt taaattagta tttaaatctt gaagttttta atttaaagtt 780
cagactatta gtattatatac aaatatttaa gggtaaatat atattctaata atctaagctt 840
gggtcaaggt ttaaattaag tacttaaact tggttttata gttcaaattg atttaaataa 900
ctaagtatta atttgaatta agaagcaaag ttcaagtacc taattagact ataaaaaaa 960
cttttgctag taaattgaac cttaaagtcg agtttagtta tctaattgga caaaaaaatc 1020
ttaaatacca atttaaacc taaagtcaag tttaggtagc aaagtgtata tttatctaata 1080
atttaaattt gatccaccta atttaaattt ttttggtcca atgcaataag agaattaatt 1140
aataacttaca cacatgatag agatataccc acaacagata cacactacaa aaaacattaa 1200
aaaatagaaa gatatatattc ctacaaaatt taaaagcatt taatttttta actaacatta 1260
gacaaatgga aatggaaaga cttattttta agtttatgga tgaatctaata ttatctaaac 1320
attgggtttt ttttttttgt gacgaaatat ggggtgagaga aggtagtaag ctaagtaggg 1380
gagtaatatc tcaaacaaat aattaaaaaa ctcttttaa tgggctata aatacctgaa 1440
accaatcctt ctttcctcaa ctcaaatctt caatctttag atcatctctc caaaaaata 1500
ccatgagtaa acggaatccg aagattctga agatttttct gtatatgtta cttctcaact 1560

ES 2 703 169 T3

ctctcttttct catcatctac ttcgtttttc actcatcgtc gttttcagag tccagaatca 1620
gcaaccgggtt atcgagttcc gccacaagga cggtagcagc cttcagaaat cgatgtcatg 1680
ccaggccagg gacaccggga tcgagttacg gaaatgcgag gcgaccgctt ccctcggcac 1740
cagcgccttt aactacaat agcccaagtc gcgcagcgag tcattatcca cggtagcatg 1800
gaggttatgc ggacgacgtg acagttagca tgggaccgga cgacgatcgt acagatatct 1860
ttggccccga aaccgatctc agcgaaacgc gccacctcaa cgacgcatac gggtttcggt 1920
catcccagat caccctcagc gaagatcccc acggcaccca cgcgcgttcc cggtagcagc 1980
acgaagacga tgtgagcacc acttattcct ccaacacggg caccagcgtt tcaggtgtcg 2040
acaagttcga gcattacggt ccatttcggt aggaaggcaa gcacgagcgg cgcggcgtgc 2100
gaccaccaca gatgtcgagg aaggaagtcc agctcatcaa cggcgaactc gttctcgagt 2160
gcaagattcc gactatattg tattcgtttt tgcccaggag agacgaagtg gagtttacgc 2220
acatgcggta cacagccgtc acttgtgacc ctgatgactt tgttgccagg ggttacaagt 2280
tgcgccagaa tatcgtcgt accgccaggg agacggagct gttcatctgc gtgaccatgt 2340
acaacgagga cgagttcggg ttcacacgga ctatgcacgc agtgatgaag aacatttcgc 2400
atTTTTgttc ccgaaacaag agtaggacgt ggggagcggg tgggtggcag aagattgtgg 2460
tctgtgtggt ttcggatgga cgagagatca ttcacccccg gaccttgac gccctcgag 2520
ccatgggctt ttaccagcac ggtatcgcca agaactttgt caaccagaag gcggtgcagg 2580
cccacgttta cgagtacacg acacaagtgt ctctggacag cgacctcaag ttcaagggcg 2640
ccgagaaggg catcgtgcc tgccagatga ttttttgctt gaaggagaag aaccaaaga 2700
aactcaactc gcatagatgg ttcttcaacg cctttggcaa agccttgaac ccgaatgtgt 2760
gtatcctcct agacgtcggc acccgccccg gcggcacaag tctctaccat ctctggaaag 2820
ccttcgacac ggattccaac gtggcggggg cctgcgggga aatcaaagcg atgaaggggc 2880
ggtttgccgg gaatttgctc aaccctctgg tggctagtca gaactttgag tacaagatga 2940
gcaatattct ggacaaaacc ttggagtcgg tgtttgggta catcacggtg ttgccgggcg 3000
ccttgtcggc gtatcgttac catgcgctgc agaacgatga gacgggcat gggccgttga 3060
gtcagtatTT caagggcgag acgctccatg ggcagcacgc ggatgtgTTT acggcgaaca 3120
tgtacttggc cgaggaccga attctgtgtt gggagttggt ggccaagagg ggtgagaggt 3180
gggtgttgaa gtatgtgaag ggggtgtacg gtgagacgga tgtgcctgac accgtcccgg 3240
aattcgtctc gcaacgtcgt cgttggtca acggtgcctt cttcgcgcc gtctactccc 3300
tcgtccactt tcgacaaatc tggaaaaccg accacacctt tatgcgcaa gcccttctcc 3360
acgtogaatt cctctaccac ctctgcaac tcctcttcc ctacttctcc ctggccaact 3420
tctacctgc cttctacttt atcgccggcg gactcgccga tccccacgc gacccttTTA 3480

ES 2 703 169 T3

actcggacgg ccacgtcgcg cgcacatcct tcaacatcct ccgctacgtc tgcgtcctgc 3540
 tgatctgcac acaattcatc ttgtccctcg gcaaccgtcc gcaggggtgcc aaaagaatgt 3600
 atctcgcac catgatcatc tacgccgtca tcatgggtgta caccaccttc gccaccatct 3660
 tcatcgtcgt gcgacaaaac caaccctctc aaaaatccga cgacaagccc gacctcgaac 3720
 tcggcaacaa cgtcttcacc aacctgatcg tctccgtggc tagtaccctc gggctctact 3780
 tcgtcatgtc ctttctctat ctcgaccctt ggcacatggt cacctcggcc atccagtact 3840
 ttgtcctgct gccttcctac atctgcacgc tccagatcta cgccttttgc aacaccacg 3900
 acgtcacatg gggcaccaaa ggcgacaacg tgatgcgcac cgatctcggg ggcgccattg 3960
 gcaaggggaag caccgtcga ctggaaatgc cttcggacca actcgacatc gactcgggat 4020
 acgacgaatg tctacgaaat ctccgggatc gcgtcatggt ccctgccgtt cccgtgtccg 4080
 aggaccagct gcagcaggat tactacaagt cgggtcgcac gtacatggtg gtgtcgtgga 4140
 tgggtggcaa cgcgacgctg gccatggcgg tgtcggaaag gtatggcgat tcggaaattg 4200
 gggataattt ttacttgccg tttatcctgt gggcgggtggc ggcctggcg ctgtttagag 4260
 cgttgggggtc gacgacgttt gcggcgatta atctggtgag tgctctcgtg gagggcaggg 4320
 tcaggctgag gttgaatatg aaagggttta ggtggattaa ggagaagtgg ggggatgcgg 4380
 atgtgaaggg caagtttgag gggttggggg atcgggagag ggggttggcg aggcggtgaa 4440
 aggagtttgt gcgtgaatct aattggttta aacgctagca agcttggaca cgctgaaatc 4500
 accagtctct ctctacaaat ctatctctct ctatctctc cataataatg tgtgagtagt 4560
 tcccagataa ggaattaggt gttcctatag ggtttcgtc atgtggtgag catataagaa 4620
 acccttagta tgtatttgta tttgtaaaat acttctatca ataaaatttc taattcctaa 4680
 aacaaaaatc cagtactaaa atccagatca tgcattggtac agcacgcgtc ctgcaggccc 4740
 gggttaatta agcggccgct tcacggaaag ttgttatata taagttcagt aaataataat 4800
 gaaatataaa ttttaattat atctagtact caataagaag atggagaaag ttatgttaat 4860
 tatagttata aattatttat aaatttaata tatatatata aagaaaatag ttgtataact 4920
 aataattatt tttacaatac tttatatagt tatatttaaa aaaattttaa aattaaata 4980
 ctattatttt gttcaatata ttaatattta tattatttaa tttattattg aatatgaata 5040
 aatttttttt gaaaattata tttttaattt ttagaaattt tatataactt tccatatata 5100
 tatttctgat ttgtcaattt cttttgagat ttatctaaat tgatttgaat ttttttatt 5160
 tttaaaaaat aaaataattt taaaatttct tggaatttta tataaatttt tggatttttc 5220
 aaaaaaatt gagatttttt tctttttttt cgatttttta aatttatttc aggaaaatat 5280
 aaactaactt ttctttgctt tgggtataat taatattaga taaccacaa attagatcaa 5340

ES 2 703 169 T3

taggagcttc atgtccta at cccattta at tacttttggt gtatcattaa ttagtgcgac 5400
cttacatagt agctctatgg ggcaaatagt tataaatggt aaattagtat ttaaatcttg 5460
aagtttttaa tttaaagttc agactattag tattatatca aatatttaag ggtaaata 5520
tattctaata tctaagcttg ggtcaaggtt taaattaagt acttaaactt ggttttatag 5580
ttcaaattga tttaaataac taagtattaa tttgaattaa gaagcaaagt tcaagtacct 5640
aattagacta taaaaaaaaac ttttgctagt aaattgaacc ttaaagtcga gtttagttat 5700
ctaattggac aaaaaaatct taaataccaa tttaaaccct aaagtcaagt ttaggtacca 5760
aagtgtatat ttatctaata tttaaatttg atccacctaa tttaaatttt tttggtccaa 5820
tgcaataaga gaattaatta atacttacac acatgataga gatataccca caacagatac 5880
aactacaaa aacattaaa aatagaaag atatatttcc taaaaattt aaaagcattt 5940
aattttttta ctaacattag acaaatggaa atggaaagac ttatttttaa gtttatggat 6000
gaatctaatt tatctaaaca ttgggttttt tttttttgtg acgaaatatg ggtgagagaa 6060
ggtagtaagc taagtagggg agtaatatct caaacaata attaaaaaac tcctttaaat 6120
gtggctataa atacctgaaa ccaatccttc tttcctcaac tcaaactctc aatctttaga 6180
tcatctctcc aaaaaaatac catgtgcgga attggtgggt ctatcgcca aagagcgtt 6240
gctgagattt tgtagaggg tctgcgaagg ctagagtata gaggatatga ctccgctggt 6300
ctggctgtcg ttgatgctga gggcatatg acaaggctaa gaaggtagg aaaggttcag 6360
atgcttgctc aggcagctga ggaacatcca ttgcatggag gtactggtat tgcacatacc 6420
aggtgggcta ctcatgggga gccatcagaa gttaatgctc atccacatgt gagtgagcat 6480
atcgtttagt ttcacaatgg gataattgaa aaccacgaac cattgagggg agagttaaag 6540
gcaagaggat atacttttgt gagtgagact gacactgagg ttattgcaca ttagtgaac 6600
tggaactca aacagggggg cacattgctg gaggtgtgt taagagctat tcctcaactt 6660
agaggtgcat acggtactgt tattatggat tcaagacacc cagatactct ccttgagct 6720
agatcaggta gtcccttggg cataggactt ggaatgggtg aaaattttat cgctagcgac 6780
caattggcct tattgccagt tacaagacga tttattttcc ttgaagaggg cgatattgct 6840
gagattacta gaaggtctgt gaacatctt gataagactg gcgctgagg taaacgtcag 6900
gatatcgagt ctaaccttca atacgatgct ggtgataaag gaatttacag gcattatatg 6960
caaaaggaaa tttatgaaca accaaatgct atcaaaaaca cacttactgg ccgtatttct 7020
catggacagg tcgatttaag cgagcttggg cctaatgcag acgaactgct atcaaaagtt 7080
gagcacatac agatactggc atgcggaact agttataatt caggaatggt gtctagatac 7140
tggttcgaaa gcttggcagg tataccttgt gatgtagaga tcgcttctga gtttaggtat 7200
agaaagtctg ctgtgcgtag aaattcatta atgattacat tatctcaatc cggagaaca 7260

ES 2 703 169 T3

gcagatacac tggctggatt gaggctttct aaggaactcg gatatctggg ttcacttgct 7320
 atttgtaatg taccaggttc ctcatgggtt cgtgaatcag atctagcact tatgacaaat 7380
 gcaggaactg aataggtgt ggcaagtacc aaggctttca caacccaact gaccgtactt 7440
 ttaatgttgg tagcaaaact cagtcgatta aaggggctag atgcatctat cgaacatgat 7500
 attgttcacg ggcttcaagc tctcccttca agaattgaac aatgctttc acaagataag 7560
 agaatagagg cattggctga agatttttcc gacaaacatc acgcattggt tcttggacgt 7620
 ggcgatcaat atccaattgc attggaagga gctttgaagt tgaaagaaat aagttacatt 7680
 cacgcagaag catatgcagc tggagaactc aagcatggtc ctttggcact catcgacgct 7740
 gacatgcccg tgatcgtagt ggctcctaataacgaactgc tcgaaaagct taaatcaaat 7800
 atcgaagagg ttcgagctag aggaggtcag ctttacgttt tcgctgaaca agatgctgga 7860
 ttcgtgtcaa gcgataatat gcatataatt gaaatgcctc acgttgaaga agtgattgca 7920
 cctatatttt atacagtccc attgcaactt ctagcttacc atgttgactt tattaagga 7980
 actgatgttg atcagcctag aaacctagca aatctgtaa cagtcgaata aacgcgtaag 8040
 gagtttgtgc gtgaatctaa ttgagcctg tttaaacggc gcgccccga tccgcgtttg 8100
 tgttttctgg gtttctcact taagcgtctg cgttttactt ttgtattggg tttggcgttt 8160
 agtagtttgc ggtagcgttc ttgttatgtg taattacgct ttttcttctt gcttcagcag 8220
 tttcggttga aatataaatc gaatcaagtt tcactttatc agcgttggtt taaattttgg 8280
 cattaattg gtgaaaattg cttcaatttt gtatctaaat agaagagaca acatgaaatt 8340
 cgacttttga cctcaaatct tcgaacattt atttctgat ttcacgatgg atgaggataa 8400
 cgaaagggcg gttcctatgt ccgggaaagt tcccgtagaa gacaatgagc aaagctactg 8460
 aaacgcggac acgacgtcgc attggtacgg atatgagtta aaccgactca attcctttat 8520
 taagacataa accgattttg gttaaagtgt aacagtgagc tgatataaaa ccgaaacaaa 8580
 ccggtacaag tttgattgag caacttgatg acaaacttca gaattttggt tattgaaatga 8640
 aatcatagt ctaatcgtaa aaaatgtaca gaagaaaagc tagagcagaa caaagattct 8700
 atattctggt tccaatttat catcgcttta acgtccctca gatttgatcg gggaattcga 8760
 tatcattacc ctgttatccc taaagcttat taatgtttgt cgaggagaaa tatgagtcga 8820
 ggcatggata cactaagtcc ccctgaagtg agcatgatct ttgatgctga gatgattccc 8880
 agagcaagat agtttgtgct gcaagtgaca caattgtaat gaaaccacca ctcaacgaat 8940
 ttacttgtgg ctttgacatg tcgtgtgctc tgtttgtatt tgtgagtgcc ggttggtaat 9000
 tatttttgtt aatgtgattt taaaacctct tatgtaaata gttactttat ctattgaagt 9060
 gtgttcttgt ggtctatagt ttctcaaagg gaaattaaaa tgttgacatc ccatttacia 9120

ES 2 703 169 T3

ttgataactt ggtatacaca aactttgtaa atttggtgat atttatggtc gaaagaaggc 9180
 aataccatt gtatgttcca atatcaatat caatacgata acttgataat actaacatat 9240
 gattgtcatt gttttccag tatcaatata cattaagcta ctacaaaatt agtataaatc 9300
 actatattat aaatcttttt cggttgtaac ttgtaattcg tgggttttta aaataaaagc 9360
 atgtgaaaat tttcaaataa tgtgatggcg caattttatt ttccgagttc caaaatattg 9420
 ccgcttcatt accctaattt gtggcgccac atgtaaaaca aaagacgatt cttagtggct 9480
 atcactgccca tcacgaggat cactaatatg aaccgtcgat taaaacagat cgacggttta 9540
 tacatcattt tattgtacac acggatcgat atctcagccg ttagatttaa tatgcatct 9600
 gattgctcaa aaaatagact ctccgtcttt gcctataaaa acaatttcac atctttctca 9660
 cccaaatcta ctcttaaccg ttcttcttct tctacagaca tcaatttctc tcgactctag 9720
 aggatccaag cttatcgatt tcgaaccct caggcgaaga acaggtatga tttgtttgta 9780
 attagatcag gggtttaggt cttccatta ctttttaatg tttttctgt tactgtctcc 9840
 gcatctgat tttacgacaa tagagtttcg ggtttgtcc cattccagtt tgaaaataaa 9900
 ggtccgtctt ttaagttgc tggatcgata aacctgtgaa gattgagtct agtcgattta 9960
 ttgatgatc cattcttcat cgttttttc ttgcttcgaa gttctgtata accagatttg 10020
 tctgtgtgcy attgtcatta cctagccgtg tatcgagaac tagggtttc gagtcaattt 10080
 tgcccctttt gggtatatct gggtcgataa cgattcatct ggattaggt ttaagtgg 10140
 gacgttagt attccaattt cttcaaaatt tagttatgga taatgaaaat cccaattga 10200
 ctgttcaatt tcttgtaaa tgcgcagatc acaatggctt cgatctctc ctcaagtcgcg 10260
 accgttagcc ggaccgccc tgctcaggcc aacatgggtg ctccgttcac cggccttaag 10320
 tccaacgccg ccttccccac caccaagaag gctaacgact tctccaccct tcccagcaac 10380
 ggtggaagag ttcaatgtat gcaggtgtgg ccggcctacg gcaacaagaa gttcgagacg 10440
 ctgtcgtacc tgccgcccgt gtctatggcg cccaccgtga tgatggcctc gtcggccacc 10500
 gccgtcgtc cgttccaggg gctcaagtcc accgccagcc tccccgtcgc ccgcccgtcc 10560
 tccagaagcc tcggcaacgt cagcaacggc ggaaggatcc ggtgcatggc cggcgccgag 10620
 gagatcgtgc tgcagcccat caaggagatc tccggcaccg tcaagctgcc ggggtccaag 10680
 tcgctttcca accggatcct cctactgcc gccctgtccg aggggacaac agtggttgat 10740
 aacctgctga acagtgagga tgtccactac atgctcgggg ccttgaggac tcttggctc 10800
 tctgtcgaag cggacaaagc tgccaaaaga gctgtagttg ttggctgtgg tggaaagttc 10860
 ccagttgagg atgctaaaga ggaagtgcag ctcttcttg ggaatgctgg aatcgcaatg 10920
 cggtccttga cagcagctgt tactgctgct ggtggaaatg caacttacgt gcttgatgga 10980
 gtaccaagaa tgagggagag acccattggc gacttggttg tcggattgaa gcagcttgg 11040

ES 2 703 169 T3

gcagatgttg attgtttctt tggcactgac tgcccacctg ttcgtgtcaa tggaatcgga 11100
 gggctacctg gtggcaaggt caagctgtct ggctccatca gcagtcagta cttgagtgcc 11160
 ttgctgatgg ctgctccttt ggctcttggg gatgtggaga ttgaaatcat tgataaatta 11220
 atctccattc cgtacgtcga aatgacattg agattgatgg agcgttttgg tgtgaaagca 11280
 gagcattctg atagctggga cagattctac attaagggag gtcaaaaata caagtcccct 11340
 aaaaatgcct atgttgaagg tgatgcctca agcgcaagct atttcttggc tgggtctgca 11400
 attactggag ggactgtgac tgtggaaggt tgtggcacca ccagtttgca gggatgatgtg 11460
 aagtttgctg aggtactgga gatgatggga gcgaaggtta catggaccga gactagcgtg 11520
 actgttactg gccaccgcg ggagccattt gggaggaaac acctcaaggc gattgatgtc 11580
 aacatgaaca agatgcctga tgtcgccatg actcttgctg tggttgccct ctttgccgat 11640
 ggcccgacag ccatcagaga cgtggcttcc tggagagtaa aggagaccga gaggatggtt 11700
 gcgatccgga cggagctaac caagctggga gcatctgttg aggaagggcc ggactactgc 11760
 atcatcacgc cgccggagaa gctgaacgtg acggcgatcg acacgtacga cgaccacag 11820
 atggcgatgg ctttctccct tgccgcctgt gccgaggtcc ccgtcaccat ccgggaccct 11880
 ggggtgcacc ggaagacctt ccccgactac ttcgatgtgc tgagcacttt cgtcaagaat 11940
 taagctctag aactagtgga tccccgatc cgcgtttgtg ttttctgggt ttctcactta 12000
 agcgtctgcg ttttactttt gtattgggtt tggcgtttag tagtttgcg tagcgttctt 12060
 gttatgtgta attacgcttt ttcttcttgc ttcagcagtt tcggttgaaa tataaatcga 12120
 atcaagtttc actttatcag cgttgtttta aatthtggca ttaaattggt gaaaattgct 12180
 tcaatthtgt atctaaatag aagagacaac atgaaattcg actthtgacc tcaaatcttc 12240
 gaacattht atctctgatt cacgatggat gaggataacg aaagggcggt tcctatgtcc 12300
 gggaaaagtt ccgtagaaga caatgagcaa agctactgaa acgcgacac gacgtcgcat 12360
 tggtagcgat atgagttaaa ccgactcaat tcctthtatta agacataaac cgatthtgg 12420
 taaagtgtaa cagtgagctg atataaaacc gaaacaaacc ggtacaagtt tgattgagca 12480
 acttgatgac aaacttcaga atthtggta ttgaatgaaa atcatagtct aatcgtaaaa 12540
 aatgtacaga agaaaagcta gagcagaaca aagattctat attctggttc caatthtca 12600
 tcgctthaac gtcctcaga tttgatcggg aaaccaaacc gtcgtgagac agthtggta 12660
 actataacgg tcctaaggta gcgatcgagg cattacggca ttacggcact cgcgaggtc 12720
 cgaattcgag catggagcca tttacaattg aatatatcct gccgccgctg ccgctthgca 12780
 cccggtagag cttgcatggt gthtctacg cagaactgag ccggttaggc agataatthc 12840
 cattgagaac tgagccatgt gcaccttccc cccaacacgg tgagcgacgg ggcaacggag 12900

ES 2 703 169 T3

tgatccacat gggactttta aacatcatcc gtcggatggc gttgcgagag aagcagtcga 12960
 tccgtgagat cagccgacgc accgggcagg cgcgcaacac gatcgcaaag tatttgaacg 13020
 caggtacaat cgagccgacg ttcacggtac cggaacgacc aagcaagcta gcttagtaaa 13080
 gccctcgcta gattttaatg cggatgttgc gattacttcg ccaactattg cgataacaag 13140
 aaaaagccag cctttcatga tatactccc aatttgtgta gggcttatta tgcacgctta 13200
 aaaataataa aagcagactt gacctgatag tttggctgtg agcaattatg tgcttagtgc 13260
 atctaacgct tgagttaagc cgcgccgca agcggcgtcg gcttgaacga attgtagac 13320
 attatttgc gactaccttg gtgatctcgc ctttcacgta gtggacaaat tcttccaact 13380
 gatctgcgcg cgaggccaag cgatcttctt cttgtccaag ataagcctgt ctagcttcaa 13440
 gtatgacggg ctgatactgg gccggcaggc gctccattgc ccagtcggca gcgacatcct 13500
 tcggcgcgat tttgccggtt actgcgctgt accaaatgcg ggacaacgta agcactacat 13560
 ttcgctcatc gccagcccag tcgggcggcg agttccatag cgtaaagggtt tcatttagcg 13620
 cctcaaatag atcctgttca ggaaccggat caaagagttc ctccgccgct ggacctacca 13680
 aggcaacgct atgttctctt gcttttgcga gcaagatagc cagatcaatg tcgatcgtgg 13740
 ctggctcgaa gatacctgca agaatgtcat tgcgctgcca ttctccaaat tgcagttcgc 13800
 gcttagctgg ataacgccac ggaatgatgt cgtcgtgcac aacaatggtg acttctacag 13860
 cgcgggagaat ctcgctctct ccaggggaag ccgaagttc caaaaggctg ttgatcaaag 13920
 ctccgccgct tgtttcatca agccttacgg tcaccgtaac cagcaaatca atatcactgt 13980
 gtggcttcag gccgccatcc actgcggagc cgtacaaatg tacggccagc aacgtcgggtt 14040
 cgagatggcg ctcgatgacg ccaactacct ctgatagttg agtcgatact tcggcgatca 14100
 ccgcttccct catgatgttt aactttgttt tagggcgact gccctgctgc gtaacatcgt 14160
 tgctgctcca taacatcaaa catcgacca cggcgtaacg cgcttgctgc ttggatgccc 14220
 gaggcataga ctgtacocca aaaaaacagt cataacaagc catgaaaacc gccactgcgc 14280
 cgttaccacc gctgcgctcg gtcaagggtc tggaccagtt gcgtgagcgc atacgctact 14340
 tgcattacag cttacgaacc gaacaggctt atgtccactg ggttcgtgcc ttcacccgtt 14400
 tccacgggtg gcgtcaccgc gcaaccttgg gcagcagcga agtcgaggca tttctgtcct 14460
 ggctggcgaa cgagcgcaag gtttcggtct ccacgcatcg tcaggcattg gcggccttgc 14520
 tgttcttcta cggcaagtgc tgtgcacgga tctgccctgg cttcaggaga tcggaagacc 14580
 tcggccgtcc gggcgcttgc cgggtgtgct gaccccggtg gaagtctcta gagctctaga 14640
 gggttcgcac cctcggtttt ctggaaggcg agcatcggtt gttcgcccag cttctgtatg 14700
 gaacgggcat gcggatcagt gagggtttgc aactgcccgt caaggatctg gatttcgatc 14760
 acggcacgat catcgtgcgg gagggcaagg gctccaagga tcgggccttg atgttaccgc 14820

ES 2 703 169 T3

agagcttggc acccagcctg cgcgagcagg gatcgatacc gtgcggtgc atgaaatcct 14880
 ggccggtttg tctgatgcca agctggcggc ctggccggcc agcttggccg ctgaagaaac 14940
 cgagcggccg cgtctaaaaa ggtgatgtgt atttgagtaa aacagcttgc gtcagcggt 15000
 cgctgcgtat atgatgcgat gagtaaataa acaaatacgc aaggggaacg catgaagggt 15060
 atcgctgtac ttaaccagaa aggcgggtca ggcaagacga ccatcgcaac ccatctagcc 15120
 cgcgccctgc aactcgccgg ggccgatggt ctgttagtgc attccgatcc ccagggcagt 15180
 gcccgcgatt gggcgggcgt gcgggaagat caaccgctaa ccgttgtcgg catcgaccgc 15240
 ccgacgattg acccgacgt gaaggccatc ggccggcggc acttcgtagt gatcgacgga 15300
 gcgccccagg cggcggactt ggctgtgtcc gcgatcaagg cagccgactt cgtgctgatt 15360
 ccggtgcagc caagccctta cgacatatgg gccaccgccg acctggtgga gctggttaag 15420
 cagcgcattg aggtcacgga tggaaaggcta caagcggcct ttgtcgtgtc gcgggcgatc 15480
 aaaggcacgc gcatcgccgg tgaggttgcc gaggcgctgg ccgggtacga gctgccatt 15540
 cttgagtccc gtatcacgca gcgcgtgagc taccaggca ctgccggccg cggcacaacc 15600
 gttcttgaat cagaaccgga gggcgacgt gcccgcgagg tccaggcgtt ggccgctgaa 15660
 attaaatcaa aactcatttg agttaatgag gtaaagagaa aatgagcaaa agcacaaca 15720
 cgctaagtgc cggccgtccg agcgcacgca gcagcaaggc tgcaacgttg gccagcctgg 15780
 cagacacgcc agccatgaag cgggtcaact ttcagttgcc ggcggaggat cacaccaagc 15840
 tgaagatgta cgcggtacgc caaggcaaga ccattaccga gctgctatct gaatacatcg 15900
 cgcagctacc agagtaaag agcaaatgaa taaatgagta gatgaatctt agcggctaaa 15960
 ggaggcggca tggaaaatca agaacaacca ggcaccgacg ccgtggaatg ccccatgtgt 16020
 ggaggaacgg gcggttgccc aggcgtaagc ggctgggttg tctgccggcc ctgcaatggc 16080
 actggaacc ccaagcccga ggaatcggcg tgacggtcgc aaaccatccg gcccggtaca 16140
 aatcggcggc gcgctgggtg atgacctggt ggagaagttg aaggccgcgc aggcggccca 16200
 gcggcaacgc atcgaggcag aagcacgcc ccggtgaatcg tggcaagcgg ccgctgatcg 16260
 aatccgcaaa gaatcccggc aaccgccggc agccggtcgc ccgtcgatta ggaagccgcc 16320
 caaggcgac gagcaaccag atttttctgt tccgatgctc tatgacgtgg gcacccgca 16380
 tagtcgcagc atcatggagc tggccgtttt ccgtctgtcg aagcgtgacc gacgagctgg 16440
 cgaggtgatc cgctacgagc ttccagacgg gcacgtagag gtttccgag ggccggccgg 16500
 catggccagt gtgtgggatt acgacctggt actgatggcg gtttccatc taaccgaatc 16560
 catgaaccga taccgggaag ggaagggaga caagcccggc cgcgtgttcc gtccacacgt 16620
 tgccggacgta ctcaagttct gccggcgagc cgatggcggg aagcagaaag acgacctggt 16680

ES 2 703 169 T3

agaaacctgc attcggttaa acaccacgca cgttgccatg cagcgtacga agaaggccaa 16740
 gaacggccgc ctggtgacgg tatccgaggg tgaagccttg attagccgct acaagatcgt 16800
 aaagagcga accgggccc cggagtacat cgagatcgag cttagctgatt ggatgtaccg 16860
 cgagatcaca gaaggcaaga acccggacgt gctgacggtt caccgatt actttttgat 16920
 cgatcccggc atcggccgtt ttctctaccg cctggcacgc cgcgccgag gcaaggcaga 16980
 agccagatgg ttgttcaaga cgatctacga acgcagtggc agcgccggag agttcaagaa 17040
 gttctgtttc accgtgcca agctgatcgg gtcaaatac ctgccggagt acgatttgaa 17100
 ggaggaggcg gggcaggctg gccgatcct agtcatgccc taccgcaacc tgatcgaggg 17160
 cgaagcatcc gccggttctt aatgtacgga gcagatgcta gggcaaattg ccctagcagg 17220
 ggaaaaaggt cgaaaaggtc tctttcctgt ggatagcacg tacattggga acccaaagcc 17280
 gtacattggg aaccggaacc cgtacattgg gaacccaaag ccgtacattg ggaaccggtc 17340
 acacatgtaa gtgactgata taaaagagaa aaaaggcgat ttttccgctt aaaactcttt 17400
 aaaacttatt aaaactctta aaaccgacct ggctgtgca taactgtctg gccagcgcac 17460
 agccgaagag ctgcaaaaag cgcctaccct tcggtcgctg cgctccctac gccccgcc 17520
 ttcgctcgg cctatcggg ccgctggccg ctcaaaaatg gctggcctac ggccaggcaa 17580
 tctaccaggg cgcggacaag ccgcccgtc gccactcgac cgcggcgcc cacatcaagg 17640
 caccctgcct cgcgctttc ggtgatgacg gtgaaaacct ctgacacatg cagctcccgg 17700
 agacggtcac agcttgtctg taagcggatg ccgggagcag acaagcccgt cagggcgcgt 17760
 cagcgggtgt tggcgggtgt cggggcgcag ccatgacca gtcacgtagc gatagcggag 17820
 tgtatactgg cttaactatg cggcatcaga gcagattgta ctgagagtgc accatagcgc 17880
 gtgtgaaata ccgcacagat gcgtaaggag aaaataccgc atcaggcgct cttccgcttc 17940
 ctgctcact gactcgctgc gctcggctgt tcggctcggc cgagcggat cagctcactc 18000
 aaaggcggta atacggttat ccacagaatc aggggataac gcaggaaaga acatgtgagc 18060
 aaaaggccag caaaaggcca ggaaccgtaa aaaggccgcg ttgctggcgt ttttccatag 18120
 gctccgcccc cctgacgagc atcacaaaaa tcgacgctca agtcagaggt ggcgaaacc 18180
 gacaggacta taaagatacc aggcgtttcc ccctggaagc tccctcgtgc gctctcctgt 18240
 tccgaccctg ccgcttaccg gatacctgtc cgcctttctc ccttcgggaa gcgtggcgct 18300
 ttctcatagc tcacgctgta ggtatctcag ttcgggtgtag gtcgctcgtc ccaagctggg 18360
 ctgtgtgcac gaacccccg ttcagcccga ccgctgcgcc ttatccggtta actatcgtct 18420
 tgagtccaac ccggttaagac acgacttatc gccactggca gcagccactg gtaacaggat 18480
 tagcagagcg aggtatgtag gcggtgctac agagttcttg aagtgggtggc ctaactacgg 18540
 ctacactaga aggacagtat ttggtatctg cgctctgctg aagccagtta ccttcgaaa 18600

ES 2 703 169 T3

aagagttggt agctcttgat cgggcaaaca aaccaccgct ggtagcgggtg gtttttttgt 18660
 ttgcaagcag cagattacgc gcagaaaaaa aggatctcaa gaagatccgg aaaacgcaag 18720
 cgcaaagaga aagcaggtag cttgcagtgg gcttacatgg cgatagctag actgggcgggt 18780
 tttatggaca gcaagcgaac cggaattgcc agattcgaag ctccggccccg tgggtgttct 18840
 gtcgtctcgt tgtacaacga aatccattcc cattccgcgc tcaagatggc ttcccctcgg 18900
 cagttcatca gggctaaatc aatctagccg acttgtccgg tgaaatgggc tgcaactcaa 18960
 cagaacaat caaacaaca tacacagcga cttattcaca cgcgaca 19007

<210> 14

<211> 14339

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> secuencia de nucleótidos de pTEA1_v2

<400> 14

cgcgtaggcc tgacgccggt gaagaggcag tgcaagacca cgtgaaacgg cgcgcccccg 60
 atccgcggtt gtgttttctg ggtttctcac ttaagcgtct gcgttttact tttgtattgg 120
 gtttgccggt tagtagtttg cggtagcgtt cttgttatgt gtaattacgc tttttcttct 180
 tgcttcagca gtttcggttg aaatataaat cgaatcaagt ttcactttat cagcgttggt 240
 ttaaattttg gcattaaatt ggtgaaaatt gcttcaattt tgtatctaaa tagaagagac 300
 aacatgaaat tcgacttttg acctcaaatc ttcgaacatt tatttcctga tttcacgatg 360
 gatgaggata acgaaagggc ggttcctatg tccgggaaag ttcccgtaga agacaatgag 420
 caaagctact gaaacgcgga cacgacgtcg cattggtaag gatatgagtt aaaccgactc 480
 aattccttta ttaagacata aaccgatttt ggtaaagtg taacagtgag ctgatataaa 540
 accgaaaca accggtacaa gtttgattga gcaacttgat gacaaacttc agaattttgg 600
 ttattgaatg aaaatcatag tctaactgta aaaaatgtac agaagaaaag ctagagcaga 660
 acaaagattc tatattctgg ttccaattta tcatcgcttt aacgtccctc agatttgatc 720
 ggggaattcg atatcattac cctgttatcc ctaaagctta ttaatgtttg tcgaggagaa 780
 atatgagtcg aggcatggat aactaaagt cccctgaagt gagcatgatc tttgatgctg 840
 agatgattcc cagagcaaga tagtttgtgc tgcaagtgac acaattgtaa tgaaccacc 900
 actcaacgaa tttacttgtg gctttgacat gtcgtgtgct ctgtttgtat ttgtgagtgc 960
 cggttggtaa ttatttttgt taatgtgatt ttaaaacctc ttatgtaaat agttacttta 1020
 tctattgaag tgtgttcttg tggctatag tttctcaaag ggaaattaaa atgttgacat 1080
 cccatttaca attgataact tggatatacac aaactttgta aatttggtga tttttatggt 1140

ES 2 703 169 T3

cgaaagaagg caatacccat tgtatgttcc aatatcaata tcaatacgat aacttgataa 1200
 tactaacata tgattgtcat tgtttttcca gtatcaatat acattaagct actacaaaat 1260
 tagtataaat cactatatta taaatctttt tgggttgtaa cttgtaattc gtggggtttt 1320
 aaaataaaag catgtgaaaa ttttcaaata atgtgatggc gcaattttat tttccgagtt 1380
 ccaaaatatt gccgcttcat taccctaatt tgtggcgcca catgtaaaac aaaagacgat 1440
 tcttagtggc tatcactgcc atcacgcgga tcaactaatat gaaccgtcga ttaaaacaga 1500
 tcgacggttt atacatcatt ttattgtaca cacggatcga tatctcagcc gttagattta 1560
 atatgcgatc tgattgctca aaaaatagac tctcogtctt tgcctataaa aacaatttca 1620
 catctttctc acccaaactc actcttaacc gttcttcttc ttctacagac atcaatttct 1680
 ctcgactcta gaggatccaa gcttatcgat ttogaacccc tcaggcgaag aacaggtatg 1740
 atttgtttgt aattagatca ggggttttag tctttccatt actttttaat gtttttctg 1800
 ttactgtctc cgcgatctga ttttacgaca atagagtttc gggttttgtc ccattccagt 1860
 ttgaaaataa aggtccgtct ttaagttag ctggatcgat aaacctgtga agattgagtc 1920
 tagtcgattt attggatgat ccattcttca tcgttttttt cttgcttcga agttctgtat 1980
 aaccagattt gtctgtgtgc gattgtcatt acctagccgt gtatcgagaa ctagggtttt 2040
 cgagtcaatt ttgcccctt tggttatata tggttogata acgattcatc tggattaggg 2100
 ttttaagtgg tgacgttag tattccaatt tcttcaaat ttagttatgg ataataaaaa 2160
 tcccccaattg actgttcaat ttcttgtaa atgocgagat cacaatggct tcgatctcct 2220
 cctcagtcgc gaccgttagc cggaccgccc ctgctcaggc caacatgggtg gctccgttca 2280
 ccggccttaa gtccaacgcc gccttccccca ccaccaagaa ggctaacgac ttctccacc 2340
 ttcccagcaa cggtggaaga gttcaatgta tgcaggtgtg gccggcctac ggcaacaaga 2400
 agttcgagac gctgtcgtac ctgccgccgc tgtctatggc gccaccgtg atgatggcct 2460
 cgtcggccac cgcctcgtc ccgttccagg ggctcaagtc caccgccagc ctccccgtcg 2520
 cccgccgctc ctccagaagc ctccgcaacg tcagcaacgg cggaggatc cggtgcatgg 2580
 cgggcgccga ggagatcgtg ctgcagccca tcaaggagat ctccggcacc gtcaagctgc 2640
 cgggggtcaa gtcgctttcc aaccggatcc tcctactcgc cgccctgtcc gaggggacaa 2700
 cagtggttga taacctgctg aacagtgagg atgtccacta catgctcggg gccttgagga 2760
 ctcttggctc ctctgtcga gcgacaaaag ctgccaaaag agctgtagtt gttggctgtg 2820
 gtggaaagtt cccagttgag gatgctaaag aggaagtgca gctcttcttg gggaatgctg 2880
 gaatcgcaat gcggtccttg acagcagctg ttactgctgc tggtggaat gcaacttacg 2940
 tgcttgatgg agtaccaaga atgagggaga gaccattgg cgacttgggt gtcggattga 3000
 agcagcttgg tgcagatggt gattgtttcc ttggcaactga ctgccacct gttcgtgtca 3060

ES 2 703 169 T3

atggaatcgg agggctacct ggtggcaagg tcaagctgtc tggctccatc agcagtcagt 3120
acttgagtgc cttgctgatg gctgctcctt tggctcttgg ggatgtggag attgaaatca 3180
ttgataaatt aatctccatt ccgtacgtcg aaatgacatt gagattgatg gagcgttttg 3240
gtgtgaaagc agagcattct gatagctggg acagattcta cattaagggga ggtcaaaaat 3300
acaagtcccc taaaaatgcc tatgttgaag gtgatgcctc aagcgcaagc tatttcttgg 3360
ctggtgctgc aattactgga gggactgtga ctgtggaagg ttgtggcacc accagtttgc 3420
agggtgatgt gaagtttgct gaggtactgg agatgatggg agcgaaggtt acatggaccg 3480
agactagcgt aactgttact ggcccaccgc gggagccatt tgggaggaaa cacctcaagg 3540
cgattgatgt caacatgaac aagatgcctg atgtcgccat gactcttgcg gtggttgccc 3600
tctttgccga tggcccgaca gccatcagag acgtggcttc ctggagagta aaggagaccg 3660
agaggatggt tgcgatccgg acggagctaa ccaagctggg agcatctggt gaggaagggc 3720
cggactactg catcatcacg ccgccggaga agctgaacgt gacggcgatc gacacgtacg 3780
acgaccacag gatggcggatg gctttctccc ttgccgcctg tgccgaggtc cccgtcacca 3840
tccgggaccc tgggtgcacc cggaagacct tccccgacta cttcgatgtg ctgagcactt 3900
tcgtcaagaa ttaagctcta gaactagtgg atccccgat ccgcgtttgt gttttctggg 3960
tttctcactt aagcgtctgc gttttacttt tgtattgggt ttggcgttta gtagtttgcg 4020
gtagcgttct tgttatgtgt aattacgctt tttcttcttg cttcagcagt ttcggttgaa 4080
atataaatcg aatcaagttt cactttatca gcgttgtttt aaatthtggc attaaattgg 4140
tgaaaattgc ttcaatthtgg tatctaaata gaagagacaa catgaaatc gactthtgac 4200
ctcaaatctt cgaacattta tttcctgatt tcacgatgga tgaggataac gaaagggcgg 4260
ttcctatgtc cgggaaagtt cccgtagaag acaatgagca aagctactga aacgcggaca 4320
cgacgtcgca ttggtacgga tatgagttaa accgactcaa ttcctthtatt aagacataaa 4380
ccgattthtgg ttaaagtgta acagtgagct gatataaaac cgaaacaaac cgggtacaagt 4440
ttgattgagc aacttgatga caaacttcag aatthtgggt attgaaatgaa aatcatagtc 4500
taatcgtaaa aatgtacag aagaaaagct agagcagaac aaagattcta tattctgggt 4560
ccaatthtatc atcgctthtaa cgtccctcag atthtgatcgg gaaacccaaa cgtcgtgaga 4620
cagthtgggt aactataacg gtcctaaggt agcgatcgag gcattacggc attacggcac 4680
tcgcgaggggt ccgaattcga gcatggagcc atthacaatt gaatatatcc tgccgcgct 4740
gccgctthtgc acccggtgga gcttgcatgt tggthtctac gcagaactga gccggttagg 4800
cagataatth ccattgagaa ctgagccatg tgcaccttc cccaacacg gtgagcgacg 4860
gggcaacgga gtgatccaca tgggacttht aaacatcatc cgtcggatgg cgttgcgaga 4920

ES 2 703 169 T3

gaagcagtcg atccgtgaga tcagccgacg caccgggcag gcgcgcaaca cgatcgcaaa 4980
 gtatttgaac gcaggtacaa tcgagccgac gttcacggta ccggaacgac caagcaagct 5040
 agcttagtaa agccctcgct agattttaat gcggatggtg cgattacttc gccaaactatt 5100
 gcgataacaa gaaaaagcca gcctttcatg atatatctcc caatttgtgt agggcttatt 5160
 atgcacgctt aaaaataata aaagcagact tgacctgata gtttggtgtg gagcaattat 5220
 gtgcttagtg catctaacgc ttgagttaag ccgcgccgcg aagcggcgtc ggcttgaacg 5280
 aattgttaga cattatttgc cgactacctt ggtgatctcg cttttcacgt agtggacaaa 5340
 ttcttccaac tgatctgcgc gcgaggccaa gcgatcttct tcttgtccaa gataagcctg 5400
 tctagcttca agtatgacgg gctgatactg ggccggcagg cgctccattg cccagtcggc 5460
 agcgacatcc ttcggcgcgga ttttgccggt tactgcgctg taccaaatgc gggacaacgt 5520
 aagcactaca tttcgctcat cgccagccca gtcggggcggc gagttccata gcgttaaggt 5580
 ttcatttagc gcctcaaata gatcctgttc aggaaccgga tcaaagagtt cctccgccgc 5640
 tggacctacc aaggcaacgc tatgttctct tgcttttgtc agcaagatag ccagatcaat 5700
 gtcgatcgtg gctggctcga agatacctgc aagaatgtca ttgcgctgcc attctccaaa 5760
 ttgcagttcg cgcttagctg gataacgcca cggaatgatg tcgtcgtgca caacaatggt 5820
 gacttctaca gcgcgagaa tctcgctctc tccaggggaa gccgaagttt caaaaggtc 5880
 gttgatcaaa gctcgccgcg ttgtttcatc aagccttacg gtcaccgtaa ccagcaaadc 5940
 aatatcactg tgtggcttca ggccgccatc cactgcgag ccgtacaaat gtacggccag 6000
 caacgtcggg tcgagatggc gctcgatgac gccaaactacc tctgatagtt gagtcgatac 6060
 ttcggcgatc accgcttccc tcatgatgtt taactttggt ttagggcgac tgccctgctg 6120
 cgtaacatcg ttgctgctcc ataacatcaa acatcgacc acggcgtaac gcgcttgctg 6180
 cttggatgcc cgaggcatag actgtacccc aaaaaaacag tcataacaag ccatgaaaac 6240
 cgccactgcg ccgttaccac cgctgcgttc ggtcaagggt ctggaccagt tgcgtgagcg 6300
 catacgctac ttgcattaca gcttacgaac cgaacaggct tatgtccact gggttcgtgc 6360
 cttcatccgt ttccacgggtg tgcgtcacc ccgcaacctg ggacgagcg aagtcgaggc 6420
 atttctgtcc tggctggcga acgagcgcaa ggtttcggtc tccacgcatc gtcaggcatt 6480
 ggcggccttg ctgttcttct acggcaagtg ctgtgcacgg atctgccctg gcttcaggag 6540
 atcggaagac ctcgcccgtc cggcgcttg ccggtggtgc tgaccccgga tgaagtctct 6600
 agagctctag agggttcgca tcctcggtt tctggaaggc gagcatcgtt tgttcgccc 6660
 gcttctgtat ggaacgggca tgcggatcag tgagggtttg caactgcggg tcaaggatct 6720
 ggatttcgat cacggcacga tcatcgtgcg ggagggcaag ggctccaagg atcgggcctt 6780
 gatgttacc gagagcttgg caccagcct gcgcgagcag ggatcgatac cgtgcggtg 6840

ES 2 703 169 T3

catgaaatcc tggccggttt gtctgatgcc aagctggcgg cctggccggc cagcttggcc 6900
 gctgaagaaa ccgagcgccg ccgtctaaaa aggtgatgtg tatttgagta aaacagcttg 6960
 cgtcatgcgg tcgctgcgta tatgatgcga tgagtaaata aacaaatacg caaggggaac 7020
 gcatgaaggt tatcgctgta cttaccaga aaggcgggtc aggcaagacg accatcgcaa 7080
 cccatctagc ccgcccctg caactcgccg gggccgatgt tctgtagtc gattccgatc 7140
 cccagggcag tgcccgcgat tgggcccggc tgcgggaaga tcaaccgcta accgttgctg 7200
 gcatcgaccg cccgacgatt gaccgcgacg tgaaggccat cggccggcgc gacttcgtag 7260
 tgatcgacgg agcgcaccag gcggcggact tggctgtgtc cgcgatcaag gcagccgact 7320
 tcgtgctgat tccggtgcag ccaagccctt acgacatat ggccaccgcc gacctggtgg 7380
 agctggttaa gcagcgatt gaggtcacgg atggaaggct acaagcggcc tttgtcgtgt 7440
 cgcgggcat caaagcacg cgcacggcg gtgaggttc cgagggcgtg gccgggtacg 7500
 agctgcccac tcttgagtcc cgtatcacgc agcgcgtgag ctaccaggc actgccgcg 7560
 ccggcacaac cgttcttgaa tcagaaccgg agggcgacgc tgcccgcgag gtccaggcgc 7620
 tggccgctga aattaaatca aaactcattt gagttaatga ggtaaagaga aatgagcaa 7680
 aagcacaac acgctaagt cggccgtcc gagcgcacgc agcagcaagg ctgcaacgtt 7740
 gcccagcctg gcagacacgc cagccatgaa gcgggtcaac tttcagttgc cggcggagga 7800
 tcacaccaag ctgaagatgt acgcggtacg ccaaggcaag accattaccg agctgctatc 7860
 tgaatacatc gcgagctac cagagtaaat gagcaaatga ataatgagt agatgaattt 7920
 tagcggctaa aggagggcgc atggaaaatc aagaacaacc aggcaccgac gccgtggaat 7980
 gccccatgtg tggaggaacg ggcggttggc caggcgtaa cggctgggtt gtctgccggc 8040
 cctgcaatgg cactggaacc cccaagcccg aggaatcggc gtgacggtcg caaacatcc 8100
 ggcccggtag aaatcggcgc ggcgctgggt gatgacctg tggagaagtt gaaggccgcg 8160
 caggccgccc agcggcaacg catcgaggca gaagcacgcc ccggtgaatc gtggcaagcg 8220
 gccgctgatc gaatccgcaa agaatcccgg caaccgcccg cagccggtgc gccgtcgatt 8280
 aggaagccgc ccaagggcga cgagcaacca gattttttcg ttccgatgct ctatgacgtg 8340
 ggcaccgcg atagtcgcag catcatggac gtggccgttt tccgtctgtc gaagcgtgac 8400
 cgacgagctg gcgaggtgat ccgctacgag cttccagacg ggcacgtaga ggtttccgca 8460
 gggccggccg gcatggccag tgtgtgggat tacgacctg tactgatggc ggtttcccat 8520
 ctaaccgaat ccatgaaccg ataccgggaa gggaagggag acaagcccgg ccgctgttc 8580
 cgtccacacg ttgcggacgt actcaagttc tgccggcgag ccgatggcgg aaagcagaaa 8640
 g" gacgacctg tagaaacctg cattcggtta aacaccacgc acgttgccat gcagcgtacg 8700

ES 2 703 169 T3

aagaaggcca agaacggccg cctggtgacg gtatccgagg gtgaagcctt gattagccgc 8760
tacaagatcg taaagagcga aaccgggcg cggagtaga tcgagatcga gctagctgat 8820
tggatgtacc gcgagatcac agaaggcaag aaccgggacg tgctgacggt tcaccccgat 8880
tactttttga tcgatcccgg catcggccgt tttctctacc gcctggcacg ccgcccga 8940
ggcaaggcag aagccagatg gttgttcaag acgatctacg aacgcagtgg cagcgcgga 9000
gagttcaaga agttctgttt caccgtgccc aagctgatcg ggtcaaatga cctgccggag 9060
tacgatttga aggaggaggc ggggcaggct ggcccgatcc tagtcatgcg ctaccgcaac 9120
ctgatcgagg gcgaagcatc cgccggttcc taatgtacgg agcagatgct agggcaaatt 9180
gccctagcag gggaaaaagg tcgaaaagggt ctctttcctg tggatagcac gtacattggg 9240
aacccaaagc cgtacattgg gaaccggaac ccgtacattg ggaacccaaa gccgtacatt 9300
gggaaccggt cacacatgta agtgactgat ataaaagaga aaaaaggcga tttttccgcc 9360
taaaactctt taaaacttat taaaactctt aaaaccgccg tggcctgtgc ataactgtct 9420
ggccagcgca cagccgaaga gctgcaaaaa gcgcctacc ttcggtcgct gcgctcccta 9480
cgccccgccc cttcgcgctc gcctatcgcg gccgctggcc gctcaaaaat ggctggccta 9540
cggccaggca atctaccagg gcgcggacaa gccgcgccgt cgccactcga ccgccggcgc 9600
ccacatcaag gcaccctgcc tcgcgcgttt cggatgatgac ggtgaaaacc tctgacacat 9660
gcagctcccg gagacggtca cagcttgtct gtaagcggat gccgggagca gacaagcccg 9720
tcagggcgcg tcagcgggtg ttggcgggtg tcggggcgca gccatgacct agtcacgtag 9780
cgatagcgga gtgtatactg gcttaactat gcggcatcag agcagattgt actgagagtg 9840
caccatatgc ggtgtgaaat accgcacaga tcgctaagga gaaaataccg catcaggcgc 9900
tcttccgctt cctcgcctcac tgactcgctg cgctcggctc ttcggctgcg gcgagcggta 9960
tcagctcact caaaggcggg aatacggtta tccacagaat caggggataa cgcaggaaaag 10020
aacatgtgag caaaaggcca gcaaaaggcc aggaaccgta aaaaggccgc gttgctggcg 10080
tttttccata ggctccgccc ccctgacgag catcacaaaa atcgacgctc aagtcagagg 10140
tggcgaaacc cgacaggact ataaagatac caggcgtttc cccctggaag ctccctcgtg 10200
cgctctcctg ttccgacct gccgcttacc ggatacctgt ccgcctttct cccttcggga 10260
agcgtggcgc tttctcatag ctcacgctgt aggtatctca gttcgggtgta ggtcgttcgc 10320
tccaagctgg gctgtgtgca cgaaccccc gttcagccc accgctgcgc cttatccggt 10380
aactatcgtc ttgagtcaa cccgtaaga cacgacttat cgccactggc agcagccact 10440
ggtaacagga ttagcagagc gaggtatgta ggccggtgta cagagttctt gaagtgtgg 10500
cctaactacg gctacactag aaggacagta tttggtatct gcgctctgct gaagccagtt 10560
accttcggaa aaagagttgg tagctcttga tccggcaaac aaaccaccgc tggtagcgg 10620

ES 2 703 169 T3

ggtttttttg tttgcaagca gcagattacg cgcagaaaaa aaggatctca agaagatccg 10680
 gaaaacgcaa gcgcaaagag aaagcaggta gcttgcagtg ggcttacatg gcgatagcta 10740
 gactgggagg ttttatggac agcaagcgaa ccggaattgc cagattcgaa gctcgggtccc 10800
 gtgggtgttc tgtcgtctcg ttgtacaacg aaatccattc ccattccgag ctcaagatgg 10860
 cttcccctcg gcagttcatc agggctaaat caatctagcc gacttgtccg gtgaaatggg 10920
 ctgcactcca acagaaacaa tcaaacaaac atacacagcg acttattcac acgcgacaaa 10980
 ttacaacggt atatatcctg ccagtactgg gccccctcga gggcgatcgc tacgtacctg 11040
 caggcccggg ttaattaagc ggccgcttca cggaaagttg ttatatataa gttcagtaaa 11100
 taataatgaa atataaattt taattatctc tagtactcaa taagaagatg gagaaagtta 11160
 tgtaattat agttataaat tatttataaa ttaatatat atataaaag aaaatagttg 11220
 tataactaat aattatTTTT acaatacttt atatagttat atttaaaaaa attttaaaat 11280
 taaaactacta ttattttggt caatatatta atatttatat tatttaattt attattgaat 11340
 atgaataaat tttttttgaa aattatattt ttaattttta gaaattttat ataactttcc 11400
 atatatatat ttctgatttg tcaatttctt ttgagattta tctaaattga tttgaatttt 11460
 ttttattttt aaaaaataaa ataattttaa aatttcttgg aattttatat aaatttttgg 11520
 atttttcaaa aaaaattgag atttttttct tttttttcga ttttttaaat ttatttcagg 11580
 aaaaataaaa ctaacttttc tttgctttgg gtataattaa tattagataa cccacaaatt 11640
 agatcaatag gagcttcatg tcctaataccc atttaattac ttttgttgta tcattaattt 11700
 agtcgacctt acatagtagc tctatggggc aaatagttat aaatgttaaa ttagtattta 11760
 aatcttgaag tttttaattt aaagttcaga ctattagtat tatatcaaat atttaaggtt 11820
 aaatatatat tctaataatc aagcttgggt caaggtttaa attaagtact taaacttggg 11880
 tttatagttc aaattgattt aaataactaa gtattaattt gaattaagaa gcaaagttca 11940
 agtacctaag tagactataa aaaaaacttt tgctagtaaa ttgaacctta aagtcgagtt 12000
 tagttatcta attggacaaa aaaatcttaa ataccaattt aaaccctaaa gtcaagttta 12060
 ggtaccaaag tgtatattta tctaataattt aaatttgatc cacctaattt aaattttttt 12120
 ggtccaatgc aataagagaa ttaattaata cttacacaca tgatagagat ataccacaaa 12180
 cagatacaca ctacaaaaaa cattaaaaaa tagaaagata tatttcctac aaaatttaaa 12240
 agcatttaat tttttaacta acattagaca aatggaaatg gaaagactta tttttaagtt 12300
 tatggatgaa tctaatttat ctaaacattg ggtttttttt ttttgtgacg aaatatgggt 12360
 gagagaaggt agtaagctaa gtagggggagt aatatctcaa acaaataatt aaaaaactcc 12420
 tttaaatgtg gctataaata cctgaaacca atccttcttt cctcaactca aatcttcaat 12480

ES 2 703 169 T3

ctttagatca tctctccaaa aaaataccat gtgcggaatt gttggtgcta tcgccc aaag 12540
 agacgttgct gagat tttgt tagagggtct gcgaaggcta gagtatagag gatatgactc 12600
 cgctggctctg gctgtcgttg atgctgaggg tcatatgaca aggctaagaa ggtaggaaa 12660
 ggttcagatg cttgctcagg cagctgagga acatccattg catggaggta ctggatttgc 12720
 acataccagg tgggctactc atggggagcc atcagaagtt aatgctcatc cacatgtgag 12780
 tgagcatatc gttgtagttc acaatgggat aattgaaaac cacgaacat tgagggaaga 12840
 gttaaaggca agaggatata cttttgtgag tgagactgac actgaggta ttgcacattt 12900
 agtgaactgg gaactcaaac aggggggcac attgcgtgag gctgtgttaa gagctattcc 12960
 tcaacttaga ggtgcatacg gtactgttat tatggattca agacaccag atactctcct 13020
 tgcagctaga tcaggtagtc ccttggtcat aggacttga atgggtgaaa attttatcgc 13080
 tagcgaccaa ttggccttat tgccagttac aagacgattt attttccttg aagagggcga 13140
 tattgctgag attactagaa ggtctgtgaa catctttgat aagactggcg ctgaggtaa 13200
 acgtcaggat atcgagtcta accttcaata cgatgctggt gataaaggaa ttacaggca 13260
 ttatatgcaa aaggaaattt atgaacaacc aatgctatc aaaaacacac ttactggccg 13320
 tatttctcat ggacaggtcg atttaagcga gcttggtcct aatgcagacg aactgctatc 13380
 aaaagttgag cacatacaga tactggcatg cggactagt tataattcag gaatggtgtc 13440
 tagatactgg ttcgaaagct tggcaggtat accttgtgat gtagagatcg cttctgagtt 13500
 taggtataga aagtctgctg tgcgtagaaa ttcattaatg attacattat ctcaatccgg 13560
 agaaacagca gatacactgg ctggattgag gctttctaag gaactcggat atctgggttc 13620
 acttgctatt tgtaatgtac caggttcctc attggttcgt gaatcagatc tagcacttat 13680
 gacaaatgca ggaactgaaa taggtgtggc aagtaccaag gctttcaca cccaactgac 13740
 cgtactttta atgttgtag caaaactcag tcgattaaag gggctagatg catctatcga 13800
 acatgatatt gttcacgggc ttcaagctct cccttcaaga attgaacaaa tgctttcaca 13860
 agataagaga atagaggcat tggctgaaga tttttcogac aaacatcacg cattgtttct 13920
 tggacgtggc gatcaatatc caattgcatt ggaaggagct ttgaagttga aagaaataag 13980
 ttacattcac gcagaagcat atgcagctgg agaactcaag catggtcctt tggcactcat 14040
 cgacgctgac atgcccgtga tcgtagtggc tcctaataac gaactgctcg aaaagcttaa 14100
 atcaaatatc gaagaggttc gagctagagg aggtcagctt tacgttttcg ctgaacaaga 14160
 tgctggattc gtgtcaagcg ataatatgca tataattgaa atgcctcacg ttgagaagt 14220
 gattgcacct atattttata cagtcccatt gcaacttcta gcttaccatg ttgcacttat 14280
 taaaggaact gatgttgatc agcctagaaa cctagcaaaa tctgtaacag tcgaataaa 14339

ES 2 703 169 T3

<211> 7389

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

5 <223> secuencia de nucleótidos de pEA2

<400> 15

```

tgcgcgcttt  cggatgatgac  ggtgaaaacc  tctgacacat  gcagctcccg  gagacggtca      60
cagcttgtct  gtaagcggat  gccgggagca  gacaagcccg  tcagggcgcg  tcagcgggtg     120
ttggcgggtg  tcggggctgg  cttaaactatg  cggcatcaga  gcagattgta  ctgagagtgc     180
accatatgcg  gtgtgaaata  ccgcacagat  gcgtaaggag  aaaataccgc  atcaggcgcc     240
attcgccatt  caggctgcgc  aactgttggg  aagggcgatc  ggtgcgggcc  tcttcgctat     300
tacgccagct  ggcgaaaggg  ggatgtgctg  caaggcgatt  aagttgggta  acgccaggggt    360
tttcccagtc  acgacgttgt  aaaacgacgg  ccagtgaatt  gggcccggcc  ggccgcgatc     420
gcgcggccgc  ttcacggaaa  gttgttatat  ataagttcag  taaataataa  tgaaatataa     480
atTTtaatta  tatctagtac  tcaataagaa  gatggagaaa  gttatgttaa  ttatagttat     540
aaattattta  taaatttaat  atatatatat  aaagaaaata  gttgtataac  taataattat     600
ttttacaata  ctttatatag  ttatatttaa  aaaaatttta  aaattaaaat  actattatTT    660
tgttcaatat  attaataTTT  atattattta  atttattatt  gaatatgaat  aaattTTTTT    720
tgaaaattat  atTTTTaatt  tttagaaatt  ttatataact  ttccatatat  atatttctga     780
tttgtcaatt  tcttttgaga  tttatctaaa  ttgatttgaa  ttttttttat  ttttaaaaaa     840
taaaataaatt  ttaaaatttc  ttggaatttt  atataaattt  ttggattttt  caaaaaaaat     900
tgagattttt  ttcttttttt  tcgatttttt  aaatttattt  caggaaaata  taaactaact     960
tttctttgct  ttgggtataa  ttaatattag  ataaccaca  aattagatca  ataggagctt    1020
catgtcctaa  tcccatttaa  ttacttttgt  tgtatcatta  atttagtcca  ccttacatag    1080
tagctctatg  gggcaaatag  ttataaatgt  taaattagta  tttaaatctt  gaagtTTTTa    1140
atTTaaagtt  cagactatta  gtattatatac  aaatatttaa  gggtaaatat  atatttctaatt  1200
atctaagctt  gggTcaaggt  ttaaattaag  tacttaaact  tggTTTTata  gttcaaattg    1260
atTTaaataa  ctaagtatta  atttgaatta  agaagcaaag  ttcaagtacc  taattagact    1320
ataaaaaaaa  cttttgctag  taaattgaac  cttaaagtcg  agtttagtta  tctaattgga    1380
caaaaaaatc  ttaaatacca  atttaaacc  taaagtcaag  tttaggtacc  aaagtgtata    1440
tttatctaatt  atttaaattt  gatccaccta  atttaaattt  ttttggTcca  atgcaataag    1500
agaattaatt  aataacttaca  cacatgatag  agatataccc  acaacagata  cactactaaa    1560
aaaacattaa  aaaatagaaa  gatataTTTc  ctacaaaatt  taaaagcatt  taattTTTTa    1620

```

ES 2 703 169 T3

actaacatta gacaaatgga aatggaaaga cttatthttta agtttatgga tgaatctaata 1680
 ttatctaatac attgggtttt ttttttttgt gacgaaatat gggtagagaga aggtagtaag 1740
 ctaagtaggg gagtaataatc tcaaacaaat aattaataaaa ctcctttaa tgtggctata 1800
 aatacctgaa accaatcctt ctttcctcaa ctcaaatcct caatctttag atcatctctc 1860
 caaaaaata ccatgagtaa acggaatccg aagattctga agatthttct gtatatgtta 1920
 cttctcaact ctctctttct catcatctac ttogthtttc actcatcgtc gthttcagag 1980
 tccagaatca gcaaccggtt atcgagtcc gccacaagga cggtagcagc cttcagaaat 2040
 cgatgtcatg ccaggccagg gacaccgga tcgagttacg gaaatgcgag gcgaccgctt 2100
 ccctcggcac cagcgccttt aactacaat agcccaagtc gcgagcagcgc tcaatcca 2160
 cggtagcatg gaggttatgc ggacgacgtg acagttagca tgggaccgga cgacgatcgt 2220
 acagatatct ttggccccga aaccgatctc agcgaacgc gccacctcaa cgacgcatac 2280
 gggthtcggt catccagat caccctcagc gaagatcccc acggcaccca cgcgcgttcc 2340
 cggtagcagc acgaagacga tgtgagcacc acttattcct ccaacacggg caccagcgt 2400
 tcaggtgtcg acaagttcga gcattacggt cccattccgg aggaaggcaa gcacgagcgg 2460
 cgcggcgtgc gaccaccaca gatgtcagag aaggaagtcc agctcatcaa cggcgaactc 2520
 gttctcagat gcaagattcc gactatattg tattcgtttt tgcccaggag agacgaagtg 2580
 gagthtacgc acatgcggta cacagccgtc acttgtgacc ctgatgactt tgttgccagg 2640
 ggttacaagt tgcgccagaa tatcgtcgt accgccaggg agacggagct gttcatctgc 2700
 gtgaccatgt acaacgagga cgagttcggg ttcaacagga ctatgcacgc agtgatgaag 2760
 aacattcgc atthttgttc ccgaaacaag agtaggacgt ggggagcggg tgggtggcag 2820
 aagattgtgg tctgtgtggg ttcggatgga cgagagatca ttcacccccg gaccttgac 2880
 gccctcgcag ccatgggcgt ttaccagcac ggtatcgcca agaacttgt caaccagaag 2940
 gcgggtgcag cccacgttta cgagtacacg acacaagtgt ctctggacag cgacctcaag 3000
 ttcaagggcg ccgagaaggg catcgtgccc tgccagatga tthtttgctt gaaggagaag 3060
 aacaaaaga aactcaactc gcatagatgg ttcttcaacg cthttggcaa agccttgaac 3120
 ccgaatgtgt gtatcctcct agacgtcggc acccgccccg gcggcacaag tctctaccat 3180
 ctctgaaag ccttcgacac ggattccaac gtggcggggg cctgcgggga aatcaaagcg 3240
 atgaaggggc ggttgggcgg gaatttgcct aaccctctgg tggctagtca gaacttgag 3300
 tacaagatga gcaatattct ggacaaaccg ttggagtcgg tgttgggta catcacggtg 3360
 ttgccgggcg ccttgcggc gtatcggtag catgcgctgc agaacgatga gacgggcat 3420
 gggccgttga gtcagtattt caagggcagc acgctccatg ggcagcacgc ggatgtgtht 3480
 acggcgaaca tgtacttggc cgaggaccga attctgtgtt gggagttggt ggccaagagg 3540

ES 2 703 169 T3

ggtgagaggt ggggtgtttaa gtatgtgaag ggggtgtacgg gtgagacgga tgtgcctgac 3600
 accgtcccgg aattcgtctc gcaacgtcgt cgttggtctca acgggtgcctt cttcgccgcc 3660
 gtctactccc tcgtccactt tcgacaaaatc tggaaaaccg accacacctt tatgcgcaaa 3720
 gcccttctcc acgtcgaatt cctctaccac ctctctgcaac tcctcttcac ctacttctcc 3780
 ctggccaact tctacctcgc cttctacttt atcgccggcg gactcgccga tccccacgtc 3840
 gaccctttta actcggacgg ccacgtcgcg cgcacatctc tcaacatcct ccgctacgtc 3900
 tgcgtcctgc tgatctgcac acaattcatc ttgtccctcg gcaaccgtcc gcagggtgcc 3960
 aaaagaatgt atctcgcac catgatcatc tacgccgtca tcatggtgta caccaccttc 4020
 gccaccatct tcatcgtcgt gcgacaaaatc caaccctctc aaaaatccga cgacaagccc 4080
 gacctcgaac tcggcaacaa cgtcttcacc aacctgatcg tctccgtggc tagtaccctc 4140
 gggctctact tcgtcatgtc ctttctctat ctcgaccctt ggcacatggt cacctcggcc 4200
 atccagtact ttgtcctgct gccttcctac atctgcacgc tccagatcta cgccttttgc 4260
 aacacccacg acgtcacatg gggcaccaaa ggcgacaacg tgatgcgcac cgatctcggc 4320
 ggcgccattg gcaagggaa gacccgtcgaa ctggaaatgc cttcggacca actcgcacatc 4380
 gactcgggat acgacgaatg tctacgaaat ctccgggatc gcgtcatggt ccctgccgtt 4440
 cccgtgtccg aggaccagct gcagcaggat tactacaagt cgggtcgcac gtacatggtg 4500
 gtgtcgtgga tgggtggcaa cgcgacgctg gccatggcgg tgtcgggaagc gtatggcgat 4560
 tcggaaattg gggataattt ttacttgccg tttatcctgt gggcgggtggc ggccctggcg 4620
 ctgttttagag cgttggggtc gacgacgttt gcggcgatta atctggtgag tgctctcgtg 4680
 gagggcaggg tcaggctgag gttgaatatg aaagggttta ggtggattaa ggagaagtgg 4740
 ggggatgagg atgtgaagg caagtttgag ggggtggggg atcgggagag ggggttggcg 4800
 aggcggtgag agctccctag ggacgccggt gaagaggcag tgcaagacgt ttaaagccta 4860
 gcaagcttgg acacgctgaa atcaccagtc tctctctaca aatctatctc tctctatttt 4920
 ctccataata atgtgtgagt agttcccaga taagggaatt agggttccta tagggtttctg 4980
 ctcatgtggt gagcatataa gaaaccctta gtatgtattt gtatttgtaa aatacttcta 5040
 tcaataaaat ttctaattcc taaaaccaa atccagtact aaaatccaga tcatgcatgg 5100
 tacagcacgc gtctgcagg cccgggttaa ttaaatttaa atggcgcgcc agcttggcgt 5160
 aatcatggtc atagctgttt cctgtgtgaa attgttatcc gctcacaatt ccacacaaca 5220
 tacgagccgg aagcataaag tgtaaagcct ggggtgccta atgagtgagc taactcacat 5280
 taattgcgtt gcgctcactg cccgctttcc agtcgggaaa cctgtcgtgc cagctgcatt 5340
 aatgaatcgg ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgat tgggcgctct tccgcttctt 5400

ES 2 703 169 T3

cgctcactga ctcgctgogc tcggtcgttc ggctgogggc agcggatatca gctcactcaa 5460
 aggcggtaat acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaagaac atgtgagcaa 5520
 aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggcogcggtt gctggcggtt ttccataggc 5580
 tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg cgaaaccgga 5640
 caggactata aagataaccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgogc tctcctgttc 5700
 cgaccctgcc gttaccogga tacctgtccg cttttctccc ttcggaagc gtggcgcttt 5760
 ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt cgggtgtaggt cgttcgtcc aagctgggct 5820
 gtgtgcacga acccccgtt cagcccgacc gctgogcctt atccggtaac tatcgtcttg 5880
 agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt aacaggatta 5940
 gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct aactacggct 6000
 aactagaag gacagtattt ggtatctgog ctctgctgaa gccagttacc ttcggaaaaa 6060
 gagttggtag ctcttgatcc ggcaaaaaa ccaccgctgg tagcgggtgt tttttgttt 6120
 gcaagcagca gattacgogc agaaaaaaag gatctcaaga agatccttg atcttttcta 6180
 cggggtctga cgctcagtg aacgaaaact cacgttaagg gatthtggc atgagattat 6240
 caaaaaggat cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaa tcaatctaaa 6300
 gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag gcacctatct 6360
 cagcgatctg tctatthtgt tcatccatag ttgctgact ccccgctogt tagataacta 6420
 cgatacggga gggcttacca tctggcccc a gtgctgcaat gataccgogc gaccacgct 6480
 caccggctcc agatthtca gcaataaac agccagccgg aaggccgag cgcagaagtg 6540
 gtctgcaac thtatccgoc tccatccagt ctattaattg ttgcccggaa gctagagtaa 6600
 gtagttcggc agttaatagt ttgogcaacg ttgthtccat tgctacagc atcgtggtgt 6660
 cagctcgtc gthtggtag gthtcatca gctcoggtt ccaacgatca aggcgagtha 6720
 catgatcccc catgthtgc aaaaaagcgg thagctcctt cggctcctcc atcgtthtca 6780
 gaagthaagt gccgcagtg thtatcactca tggthtggc agcactgcat aattctctta 6840
 ctgtcatgcc atccgthaaga thctthtctg thagctggtg thactcaacc aagthtctt 6900
 gagaatagt thtgogcga ccgagthtct cthgcccggc thcaatacgg gataatacgg 6960
 cgccacatag cagaacttht aaagtgtca thattggaaa acgthtctc gggcgaaaac 7020
 thtcaaggat thtaccgctg thgagatcca thtogatgta acccactcgt gcaccaact 7080
 gatcttcagc atctthtact thcaccagc thtctgggtg agcaaaaaa ggaaggcaaa 7140
 atgccgcaaa aaagggaata agggcgacac ggaatgtht aatactcata ctcttccttt 7200
 thcaatatta thgaagcatt thtccaggtt thtgtctcat gagcggatac atatthtgaat 7260
 gtatthtagaa aaataaaaa ataggggtt cgcgcacatt tccccgaaa gtgccacctg 7320

ES 2 703 169 T3

acgtctaaga aaccattatt atcatgacat taacctataa aaatagcgt atcacgaggc 7380
 cctttcgtc 7389

<210> 16

<211> 19023

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> secuencia de nucleótidos de pTEA3

<400> 16

aattacaacg gtatatatcc tgccagtact gggccccctc gagggcgatc gcgcggccgc 60
 ttcacggaaa gttgttatat ataagttcag taaataataa tgaaatataa attttaatta 120
 tatctagtac tcaataagaa gatggagaaa gttatgtaa ttatagttat aaattattta 180
 taaatttaat atatatatat aaagaaaata gttgtataac taataattat ttttacaata 240
 ctttatatag ttatatttaa aaaaatttta aaattaaat actattattt tgttcaatat 300
 attaataatt atattattta atttattatt gaatatgaat aaattttttt tgaaaattat 360
 atttttaatt tttagaaatt ttatataact ttccatatat atatttctga tttgtcaatt 420
 tcttttgaga tttatctaaa ttgatttgaa ttttttttat ttttaaaaaa taaaataatt 480
 ttaaaatttc ttggaatttt atataaattt ttggattttt caaaaaaat tgagattttt 540
 ttcttttttt tcgatttttt aaatttattt caggaaaata taaactaact tttctttgct 600
 ttgggtataa ttaatattag ataaccaca aattagatca ataggagctt catgtcctaa 660
 tcccatttaa ttacttttgt tgtatcatta atttagtcga cttacatag tagctctatg 720
 gggcaaatag ttataaatgt taaattagta tttaaatcct gaagttttta atttaaagtt 780
 cagactatta gtattatata aatatattta gggtaaatat atattcta atctaagctt 840
 gggcaaggt ttaaattaag tacttaaact tggttttata gttcaaattg atttaaataa 900
 ctaagtatta atttgaatta agaagcaaag ttcaagtacc taattagact ataaaaaaaa 960
 cttttgctag taaattgaac cttaaagtgc agtttagtta tctaattgga caaaaaaatc 1020
 ttaaatacca atttaaacc taaagtcaag tttaggtacc aaagtgtata tttatcta 1080
 atttaaattt gatccacctt atttaaattt ttttggcca atgcaataag agaattaatt 1140
 aatacttaca cacatgatag agatataccc acaacagata cacactaca aaaacattaa 1200
 aaaatagaaa gatatatatt ctacaaaatt taaaagcatt taatttttta actaacatta 1260
 gacaaatgga aatggaaaga cttattttta agtttatgga tgaatcta ttatctaac 1320
 attgggtttt ttttttttgc gacgaaatat gggtagagaga aggtagtaag ctaagtaggg 1380
 gagtaatatc tcaaacaat aattaaataa ctcttttaa tgtggctata aatacctgaa 1440

ES 2 703 169 T3

accaatcctt ctttcctcaa ctcaaatctt caatcttttag atcatctctc caaaaaata 1500
 ccatgagtaa acggaatccg aagattctga agatttttct gtatatgtta cttctcaact 1560
 ctctctttct catcatctac ttcgtttttc actcatcgtc gttttcagag tccagaatca 1620
 gcaaccgggt atcgagttcc gccacaagga cggtagcagc cttcagaaat cgatgtcatg 1680
 ccaggccagg gacaccggga tcgagttacg gaaatgcgag gcgaccgctt ccctcggcac 1740
 cagcgccttt aactacaat agcccaagtc gcgcagcgag tcattatcca cggtagcatg 1800
 gaggttatgc ggacgacgtg acagttagca tgggaccgga cgacgatcgt acagatatct 1860
 ttggccccga aaccgatctc agcgaaacgc gccacctcaa cgacgcatac gggtttcggt 1920
 catcccagat caccctcagc gaagatcccc acggcaccca cgcgcgttcc cggtagcagc 1980
 acgaagacga tgtgagcacc acttattcct ccaacaacggg caccagcgtc tcaggtgtcg 2040
 acaagttcga gcattacggt cccattccgg aggaaggcaa gcacgagcgg cgcgcgctgc 2100
 gaccaccaca gatgtcgagg aaggaagtcc agctcatcaa cggcgaactc gttctcgagt 2160
 gcaagattcc gactatattg tattcgtttt tgcccaggag agacgaagtg gagtttacgc 2220
 acatgcggtg cacagccgtc acttgtgacc ctgatgactt tgttgccagg ggttacaagt 2280
 tgccgcagaa tatcggtcgt accgccaggg agacggagct gttcatctgc gtgacctgt 2340
 acaacgagga cgagttcggg ttcacacgga ctatgcacgc agtgatgaag aacatttcgc 2400
 atttttgttc ccgaaacaag agtaggacgt ggggagcggg tgggtggcag aagattgtgg 2460
 tctgtgtggt ttcggatgga cgagagatca ttcacccccg gaccttgac gccctcgag 2520
 ccatgggctt ttaccagcac ggtatcgcca agaactttgt caaccagaag gcggtgcagg 2580
 cccacgttta cgagtacacg acacaagtgt ctctggacag cgacctcaag ttcaagggcg 2640
 ccgagaaggg catcgtgcc tgccagatga ttttttgctt gaaggagaag aaccaaaga 2700
 aactcaactc gcatagatgg ttcttcaacg cctttggcaa agccttgaac ccgaatgtgt 2760
 gtatcctcct agacgtcggc acccgccccg gcggcacaag tctctacat ctctgaaag 2820
 ccttcgacac ggattccaac gtggcggggg cctgcgggga aatcaaagcg atgaagggc 2880
 ggtttggcgg gaatttgctc aaccctctgg tggctagtca gaactttgag tacaagatga 2940
 gcaatattct ggacaaaccg ttggagtcgg tgtttgggta catcacggtg ttgccgggcg 3000
 ccttgtcggc gtatcggtag catgcgctgc agaacgatga gacgggcat gggccgttga 3060
 gtcagtattt caagggcgag acgctccatg ggcagcacgc ggatgtgttt acggcgaaca 3120
 tgtacttggc cgaggaccga attctgtgtt gggagttggt ggccaagagg ggtgagaggt 3180
 ggggtgtgaa gtatgtgaag ggggttacgg gtgagacgga tgtgcctgac accgtcccgg 3240
 aattcgtctc gcaacgtcgt cgttggtca acggtgcctt cttcgccgc gtctactccc 3300
 tcgtccactt tcgacaaatc tggaaaaccg accacacctt tatgcgcaa gcccttctcc 3360

ES 2 703 169 T3

acgtogaatt cctctaccac ctctgcaac tcctcttcac ctacttctcc ctggccaact 3420
 tctacctcgc cttctacttt atcgccggcg gactcgccga tccccacgtc gaccctttta 3480
 actcggacgg ccacgtcgcg cgcacatct tcaacatcct ccgctacgtc tgcgtcctgc 3540
 tgatctgcac acaattcatc ttgtccctcg gcaaccgtcc gcagggtgcc aaaagaatgt 3600
 atctcgcac catgatcatc tacgcccgtca tcatgggtga caccaccttc gccaccatct 3660
 tcatcgtcgt gcgacaaaac caaccctctc aaaaatccga cgacaagccc gacctcgaac 3720
 tcggcaacaa cgtcttcacc aacctgatcg tctccgtggc tagtaccctc gggctctact 3780
 tcgtcatgtc ctttctctat ctcgaccctt ggcacatggt cacctcggcc atccagtact 3840
 ttgtcctgct gccttcctac atctgcacgc tccagatcta cgccttttgc aacacccacg 3900
 acgtcacatg gggcaccaaa ggcgacaacg tgatgocgac cgatctcggg ggcgccattg 3960
 gcaaggggaag caccgtcga a ctggaaatgc cttcggacca actcgcacatc gactcgggat 4020
 acgacgaatg tctacgaaat ctccgggatc gcgtcatggt ccctgccgtt cccgtgtccg 4080
 aggaccagct gcagcaggat tactacaagt cgggtgcgac gtacatgggtg gtgtcgtgga 4140
 tgggtggcaa cgcgacgctg gccatggcgg tgtcgggaagc gtatggcgat tcggaaattg 4200
 gggataatth ttacttgccg tttatcctgt gggcgggtggc ggccctggcg ctgtttagag 4260
 cgttggggtc gacgacgtht gcggcgatta atctgggtgag tgctctcgtg gagggcaggg 4320
 tcaggctgag gttgaatatg aaagggttta ggtggattaa ggagaagtgg ggggatgcgg 4380
 atgtgaaggg caagthtgag gggthggggg atcggggcag ggggttgccg aggcgggtgag 4440
 agctccctag ggacgccggt gaagaggcag tgcaagacgt ttaaaccgta gcaagcttg 4500
 acacgctgaa atcaccagtc tctctctaca aatctatctc tctctattht ctccataata 4560
 atgtgtgagt agthccaga taagggaatt agggthccta tagggthtcg ctcatgtgth 4620
 gagcatataa gaaaccctta gtatgtatth gtatthgtaa aatactthta tcaataaaat 4680
 thctaathcc taaaaccaa atccagtact aaaatccaga tcatgcatgg tacagcacgc 4740
 gtctcgcagg cccgggttaa ttaagcggcc gcttcacgga aagthgtht atataagthc 4800
 agtaataat aatgaaatat aaatthtaat tatacttagt actcaataag aagatggaga 4860
 aagthtatgth aatthtagth ataaattht tataaathta atataatata ataaagaaa 4920
 tagthgtata actaataath atthttacaa tactthtatat agthtatath aaaaaathh 4980
 taaaathaaa atactathat thtgthcaat atathaatat thtatathat taaththata 5040
 thgaatatga ataaaththt thtgaaaath ataththtaa ththtagaaa ththtatata 5100
 cththccatat atathththc gaththgtcaa ththctththga gaththtatcta aaththgathg 5160
 aaththththt atthththaaa aataaaataa thththaaath thctthggaath thtatataat 5220

ES 2 703 169 T3

ttttgattt ttcaaaaaa attgagattt ttttctttt tttcgattt ttaaatttat 5280
 ttcaggaaaa tataaactaa cttttctttg ctttggtat aattaatatt agataacca 5340
 caaattagat caataggagc ttcattgctt aatcccattt aattactttt gttgatcat 5400
 taatttagtc gaccttacat agtagctcta tggggcaaat agttataaat gttaaattag 5460
 tatttaaatc ttgaagtttt taatttaaag ttcagactat tagtattata tcaaattttt 5520
 aagggtaaat atatattcta atatctaagc ttgggtcaag gtttaaatta agtacttaaa 5580
 cttggtttta tagttcaaat tgatttaaata aactaagtat taatttgaat taagaagcaa 5640
 agttcaagta cctaattaga ctataaaaaa aacttttgct agtaaattga acctaaagt 5700
 cgagtttagt tatctaattg gacaaaaaaa tcttaaatac caatttaaac cctaaagtca 5760
 agtttaggta ccaaagtga tatttatcta atatttaaata ttgatccacc taatttaaata 5820
 ttttttggtc caatgcaata agagaattaa ttaatactta cacacatgat agagatatac 5880
 ccacaacaga tacacactac aaaaaacatt aaaaaataga aagatatatt tcctacaaaa 5940
 tttaaaagca ttttaattttt taactaacat tagacaaatg gaaatggaaa gacttatttt 6000
 taagtttatg gatgaatcta atttatctaa acattgggtt tttttttttt gtgacgaaat 6060
 atgggtgaga gaaggtagta agctaagtag gggagtaata tctcaaacaata ataattaaaa 6120
 aactccttta aatgtggcta taaatacctg aaaccaatcc ttctttcctc aactcaaatac 6180
 ttcaatcttt agatcatctc tccaaaaaaa taccatgtgc ggaattgttg gtgctatcgc 6240
 ccaaagagac gttgctgaga ttttggttaga gggctctgga aggctagagt atagaggata 6300
 tgactccgct ggtctggctg tcgttgatgc tgagggtcat atgacaaggc taagaagggtt 6360
 aggaaagggt cagatgcttg ctccagcagc tgaggaacat ccattgcatg gaggtactgg 6420
 tattgcacat accaggtggg ctactcatgg ggagccatca gaagttaatg ctcatccaca 6480
 tgtgagtgag catatcggtg tagttcaca tgggataaatt gaaaaccacg aaccattgag 6540
 ggaagagtta aaggcaagag gatatacttt tgtgagtgag actgacactg aggttattgc 6600
 acatttagtg aactgggaac tcaaacaggg gggcacattg cgtgaggctg tgtaagagc 6660
 tattcctcaa cttagagggtg catacgttac tgttattatg gattcaagac accagatac 6720
 tctccttgca gctagatcag gtagtccctt ggtcatagga cttggaatgg gtgaaaattt 6780
 tatcgctagc gaccaattgg cttattgcc agttacaaga cgatttattt tccttgaaga 6840
 gggcgatatt gctgagatta ctagaaggtc tgtgaacatc tttgataaga ctggcgtga 6900
 ggttaaactg caggatatcg agtctaacct tcaatacgat gctggtgata aaggaattta 6960
 caggcattat atgcaaaagg aaatttatga acaaccaaata gctatcaaaa acacacttac 7020
 tggccgtatt tctcatggac aggtcgattt aagcgagctt ggtcctaatag cagacgaact 7080
 gctatcaaaa gttgagcaca tacagatact ggcattgogga actagttata attcaggaat 7140

ES 2 703 169 T3

ggtgtctaga tactggttcg aaagcttggc aggtatacct tgtgatgtag agatcgcttc 7200
 tgagtttagg tatagaaagt ctgctgtgcg tagaaattca ttaatgatta cattatctca 7260
 atccggagaa acagcagata cactggctgg attgaggctt tctaaggaac tcggatatct 7320
 gggttcactt gctatattgta atgtaccagg ttcctcattg gttcgtgaat cagatctagc 7380
 acttatgaca aatgcaggaa ctgaaatagg tgtggcaagt accaaggctt tcacaacca 7440
 actgaccgta cttttaatgt tggtagcaaa actcagtcga ttaaaggggc tagatgcatc 7500
 tatcgaacat gatattgttc acgggcttca agctctccct tcaagaattg aacaaatgct 7560
 ttcacaagat aagagaatag aggcattggc tgaagatddd tccgacaaac atcacgcatt 7620
 gtttcttgga cgtggcgatc aatatccaat tgcattggaa ggagctttga agttgaaaga 7680
 aataagttac attcacgcag aagcatatgc agctggagaa ctcaagcatg gtcctttggc 7740
 actcatcgac gctgacatgc ccgtgatcgt agtggctcct aataacgaac tgctcgaaaa 7800
 gcttaaatca aatatcgaag aggttcgagc tagaggaggt cagctttacg ttttcgctga 7860
 acaagatgct ggattcgtgt caagcgataa tatgcatata attgaaatgc ctcacgttga 7920
 agaagtgatt gcacctatat tttatacagt cccattgcaa cttctagctt accatgttgc 7980
 acttattaaa ggaactgatg ttgatcagcc tagaaacctg gcaaaatctg taacagtcga 8040
 ataaacgcgt aggcctgacg ccggtgaaga ggcagtgcaa gaccacgtga aacggcgcgc 8100
 ccccgatccg cgtttgtggt ttctggggtt ctcacttaag cgtctgcggt ttacttttgt 8160
 attggggttg gcgtttagta gtttgcggtg gcggttcttg tatgtgtaat tacgcttttt 8220
 cttcttgctt cagcagtttc ggttgaataa taaatcgaat caagtttcac tttatcagcg 8280
 ttgtttttaa ttttggcatt aaattggtga aaattgcttc aattttgtat ctaaatagaa 8340
 gagacaacat gaaattcgac ttttgacctc aaatcttoga acatttattt cctgatttca 8400
 cgatggatga ggataacgaa agggcgggtc ctatgtccgg gaaagttccc gtagaagaca 8460
 atgagcaaag ctactgaaac gcggacacga cgtcgcattg gtacggatat gagttaaacc 8520
 gactcaattc ctttattaag acataaaccg attttggtta aagtgtaaca gtgagctgat 8580
 ataaaaccga aacaaaccgg tacaagtttg attgagcaac ttgatgacaa acttcagaat 8640
 tttggttatt gaatgaaaat catagtctaa tcgtaaaaaa tgtacagaag aaaagctaga 8700
 gcagaacaaa gattctatat tctggttcca atttatcatc gctttaacgt ccctcagatt 8760
 tgatcgggga attcgatata attaccctgt tatccctaaa gcttattaat gtttgtcgag 8820
 gagaaatatg agtcgaggca tggatacact aagttcccct gaagtgagca tgatctttga 8880
 tgctgagatg attcccagag caagatagtt tgtgctgcaa gtgacacaat tgtaatgaaa 8940
 ccaccactca acgaatttac ttgtggcttt gacatgtcgt gtgctctggt tgtatattgtg 9000

ES 2 703 169 T3

agtgccggtt ggtaattatt tttgttaatg tgatthtaaa acctcttatg taaatagtta 9060
 ctttatctat tgaagtgtgt tcttgtggtc tatagtttct caaagggaaa ttaaaatggt 9120
 gacatcccat ttacaattga taacttggtg tacacaaact ttgtaaattt ggtgatattt 9180
 atggtcgaaa gaaggcaata cccattgtat gttccaatat caatatcaat acgataactt 9240
 gataatacta acatatgatt gtcattgttt ttccagtatc aatatacatt aagctactac 9300
 aaaattagta taaatcacta tattataaat ctttttcggt tgtaacttgt aattcgtggg 9360
 tttttaaaat aaaagcatgt gaaaattttc aaataatgtg atggcgcaat tttattttcc 9420
 gagttccaaa atattgccgc ttcattacc c taatttgtgg cgccacatgt aaaacaaaag 9480
 acgattctta gtggctatca ctgccatcac gcggatcact aatatgaacc gtcgattaaa 9540
 acagatcgac ggtttataca tcattttatt gtacacacgg atcgatatct cagccgtag 9600
 atttaatatg cgatctgatt gctcaaaaaa tagactctcc gtctttgcct ataaaaacaa 9660
 tttcacatct ttctcaccca aatctactct taaccgttct tcttcttcta cagacatcaa 9720
 tttctctcga ctctagagga tccaagctta tcgatttcga acccctcagg cgaagaacag 9780
 gtatgatttg tttgtaatta gatcaggggt ttaggtcttt ccattacttt ttaatgtttt 9840
 ttctgttact gtctccgcga tctgatttta cgacaataga gtttcgggtt ttgtcccatt 9900
 ccagtttgaa aataaagggtc cgtcttttaa gtttgctgga tcgataaacc tgtgaagatt 9960
 gagtctagtc gatttattgg atgatccatt cttcatcggt tttttcttgc ttcgaagttc 10020
 tgtataacca gatttgtctg tgtgcgattg tcattaccta gccgtgtatc gagaactagg 10080
 gttttcgagt caattttgcc ctttttggtt atatctgggt cgataacgat tcatctggat 10140
 tagggtttta agtggtgacg ttttagtattc caatttcttc aaaatttagt tatggataat 10200
 gaaaatcccc aattgactgt tcaatttctt gttaaatgcg cagatcacia tggcttcgat 10260
 ctctcctca gtgcgaccg ttagccggac cgcccctgct caggccaaca tggtggtctc 10320
 gttcaccggc cttaagtcca acgccgcctt ccccaccacc aagaaggcta acgacttctc 10380
 caccctccc agcaacgggtg gaagagttca atgtatgcag gtgtggccgg cctacggcaa 10440
 caagaagttc gagacgctgt cgtacctgcc gccgctgtct atggcgccca ccgtgatgat 10500
 ggctcgtcg gccaccgccg tcgctccgtt ccaggggctc aagtccaccg ccagcctccc 10560
 cgtcgcccgc cgctcctcca gaagcctcgg caacgtcagc aacggcgga ggatccggtg 10620
 catggccggc gccgaggaga tcgtgctgca gcccatcaag gagatctccg gcaccgtcaa 10680
 gctgccgggg tccaagtgc tttccaaccg gatcctccta ctgccgccc tgtccgaggg 10740
 gacaacagtg gttgataacc tgctgaacag tgaggatgtc cactacatgc tcggggcctt 10800
 gaggactctt ggtctctctg tcgaagcgga caaagctgcc aaaagagctg tagttgttgg 10860
 ctgtggtgga aagttcccag ttgaggatgc taaagaggaa gtgcagctct tcttggggaa 10920

ES 2 703 169 T3

tgctggaatc gcaatgcggt ccttgacagc agctgttact gctgctggtg gaaatgcaac 10980
 ttacgtgctt gatggagtac caagaatgag ggagagaccc attggcgact tggttgtcgg 11040
 attgaagcag cttggtgcag atggtgattg tttccttggc actgactgcc cacctgttcg 11100
 tgtcaatgga atcggagggc tacctggtgg caaggtcaag ctgtctggct ccatcagcag 11160
 tcagtacttg agtgccttgc tgatggctgc tcctttggct cttggggatg tggagattga 11220
 aatcattgat aaattaatct ccattccgta cgtcgaaatg acattgagat tgatggagcg 11280
 ttttgggtgtg aaagcagagc attctgatag ctgggacaga ttctacatta agggaggtca 11340
 aaaatacaag tcccctaaaa atgcctatgt tgaaggtgat gcctcaagcg caagctatth 11400
 cttggctggt gctgcaatta ctggagggac tgtgactgtg gaaggttgtg gcaccaccag 11460
 tttgcagggg gatgtgaagt ttgctgaggt actggagatg atgggagcga aggttacatg 11520
 gaccgagact agcgtactg ttactggccc accgcgggag ccatttggga ggaaacacct 11580
 caaggcgatt gatgtcaaca tgaacaagat gcctgatgtc gccatgactc ttgctgtggt 11640
 tgccctcttt gccgatggcc cgacagccat cagagacgtg gcttcctgga gagtaaagga 11700
 gaccgagagg atggttgcca tccggacgga gctaaccaag ctgggagcat ctggtgagga 11760
 agggccggac tactgcatca tcacgccgcc ggagaagctg aacgtgacgg cgatcgacac 11820
 gtacgacgac cacaggatgg cgatggcttt ctcccttgcc gcctgtgccg aggtccccgt 11880
 caccatccgg gaccctgggt gcacccggaa gaccttcccc gactacttcg atgtgctgag 11940
 cactttcgtc aagaattaag ctctagaact agtggatccc ccgatccgcg tttgtgtttt 12000
 ctgggtttct cacttaagcg tctgcgtttt acttttgtat tgggtttggc gtttagtagt 12060
 ttgcggtagc gttcttggtt tgtgtaatta cgctttttct tcttgcttca gcagtttcgg 12120
 ttgaaatata aatcgaatca agtttcactt tatcagcgtt gttttaaatt ttggcattaa 12180
 attggtgaaa attgcttcaa ttttgtatct aaatagaaga gacaacatga aattcgactt 12240
 ttgacctcaa atcttogaac atttatthcc tgatttcacg atggatgagg ataacgaaag 12300
 ggcggttctt atgtccggga aagttcccgt agaagacaat gagcaaagct actgaaacgc 12360
 ggacacgacg tcgcattggt acggatatga gttaaaccga ctcaattcct ttattaagac 12420
 ataaaccgat tttggttaaa gtgtaacagt gagctgatat aaaaccgaaa caaacggta 12480
 caagtttgat tgagcaactt gatgacaaac ttcagaattt tggttattga atgaaaatca 12540
 tagtctaate gtaaaaaatg tacagaagaa aagctagagc agaacaaaga ttctatattc 12600
 tggttccaat ttatcatcgc tttaacgtcc ctcagatttg atcgggaaac caaaacgtcg 12660
 tgagacagtt tggttaacta taacggctct aaggtagcga tcgaggcatt acggcattac 12720
 ggcactcgcg aggggtccgaa ttcgagcatg gagccattta caattgaata tatcctgccg 12780

ES 2 703 169 T3

ccgctgccgc tttgcacccg gtggagcttg catgttggtt tctacgcaga actgagccgg 12840
 ttaggcagat aatttcatt gagaactgag ccatgtgcac cttccccca acacggtgag 12900
 cgacggggca acggagtgat ccacatggga cttttaaaca tcatccgtcg gatggcggtg 12960
 cgagagaagc agtcgatccg tgagatcagc cgacgcaccg ggcaggcgcg caacacgatc 13020
 gcaaagtatt tgaacgcagg tacaatcgag ccgacgttca cggtagcggga acgaccaagc 13080
 aagctagctt agtaaagccc tcgctagatt ttaatgcgga tggtgagatt acttcgcca 13140
 ctattgcgat aacaagaaaa agccagcctt tcatgatata tctccaatt tgtgtagggc 13200
 ttattatgca cgcttaaaaa taataaaagc agacttgacc tgatagtttg gctgtgagca 13260
 attatgtgct tagtgcacat aacgcttgag ttaagccgcg ccgcaagcg gcgtcggctt 13320
 gaacgaattg ttagacatta tttgccgact accttggtga tctcgccttt cacgtagtgg 13380
 acaaattctt ccaactgatc tgcgcgcgag gccaaagcgat cttcttcttg tccaagataa 13440
 gcctgtctag cttcaagtat gacgggctga tactgggccc gcaggcgctc cattgccag 13500
 tcggcagcga catccttcgg cgcgattttg ccggttactg cgctgtacca aatgcgggac 13560
 aacgtaagca ctacatttcg ctcatcgcca gccagtcgg gcggcgagtt ccatagcgtt 13620
 aaggtttcat ttagcgcctc aaatagatcc tgttcaggaa ccggatcaaa gagttcctcc 13680
 gccgctggac ctaccaaggc aacgctatgt tctcttgctt ttgtcagcaa gatagccaga 13740
 tcaatgtcga tcgtggctgg ctggaagata cctgcaagaa tgtcattgcg ctgccattct 13800
 ccaaattgca gttcgcgctt agctggataa cgccacggaa tgatgtcgtc gtgcacaaca 13860
 atggtgactt ctacagcgcg gagaatctcg ctctctccag ggggaagccga agtttccaaa 13920
 aggtcgttga tcaaagctcg ccgcgttggt tcatcaagcc ttacggtcac cgtaaccagc 13980
 aatcaatat cactgtgtgg cttcaggccg ccatccactg cggagccgta caaatgtacg 14040
 gccagcaacg tcggttcgag atggcgctcg atgacgcaa ctacctctga tagttgagtc 14100
 gatacttcgg cgatcaccgc ttccctcatg atgtttaact ttgttttagg gcgactgcc 14160
 tgctgcgtaa catcgttgct gctccataac atcaaacatc gaccacggc gtaacgcgct 14220
 tgctgcttgg atgcccgagg catagactgt accccaaaaa aacagtcata acaagccatg 14280
 aaaaccgcca ctgcgccgtt accaccgctg cgttcgggtca aggttctgga ccagttgcgt 14340
 gagcgcatac gctacttgca ttacagctta cgaaccgaac aggcttatgt cactggggtt 14400
 cgtgccttca tccgtttcca cggtgtgctg caccggcaa ccttgggag cagcgaagtc 14460
 gaggcatttc tgcctggctt ggcgaacgag cgcaaggttt cggctctcac gcatcgtcag 14520
 gcattggcgg ccttgctgtt cttctacggc aagtgtgtg cacggatctg ccctggcttc 14580
 aggagatcgg aagacctcg ccgtccgggc gcttgccggg ggtgctgacc ccggatgaag 14640
 tctctagagc tctagagggt tcgcatcctc ggttttctgg aaggcgagca tcgtttgctc 14700

ES 2 703 169 T3

gccagcttc tgtatggaac gggcatgcgg atcagtgagg gtttgcaact gcgggtcaag 14760
 gatctggatt tcgatcacgg cacgatcadc gtgcgggagg gcaagggctc caaggatcgg 14820
 gccttgatgt taccgagag cttggcacc cgcctgcgcg agcagggatc gataccgtgc 14880
 ggctgcatga aatcctggcc ggtttgtctg atgccaagct ggcggcctgg ccggccagct 14940
 tggccgctga agaaaccgag cgccgccgtc taaaaagggtg atgtgtattt gagtaaaaca 15000
 gcttgcgca tgcggctcgt gcgtatatga tgcgatgagt aaataaaca atacgcaagg 15060
 ggaacgcatg aaggttatcg ctgtacttaa ccagaaaggc gggtcaggca agacgaccat 15120
 cgcaacccat ctagcccgcg ccctgcaact cgccggggcc gatgttctgt tagtcgattc 15180
 cgatccccag ggcagtgcc gcgattgggc ggccgtgcgg gaagatcaac cgctaaccgt 15240
 tgtcggcatc gaccgcccga cgattgaccg cgacgtgaag gccatcggcc ggcgcgactt 15300
 cgtagtgatc gacggagcgc cccaggcggc ggacttggct gtgtccgca tcaaggcagc 15360
 cgacttcgtg ctgattccgg tgcagccaag cccttacgac atatgggcca ccgccgacct 15420
 ggtggagctg gttaagcagc gcattgaggt cacggatgga aggctacaag cggcctttgt 15480
 cgtgtcgcgg gcgatcaaag gcacgcgcat cggcgggtgag gttgccgagg cgctggccgg 15540
 gtacgagctg cccattcttg agtcccgtat cacgcagcgc gtgagctacc caggcactgc 15600
 cgccgccggc acaaccgttc ttgaatcaga acccgagggc gacgctgcc gcgaggtcca 15660
 ggcgctggcc gctgaaatta aatcaaaact ctttgagtt aatgaggtaa agagaaaatg 15720
 agcaaaagca caaacacgct aagtgccggc cgtccgagcg cacgcagcag caaggctgca 15780
 acgttggcca gcctggcaga cacgccagcc atgaagcggg tcaactttca gttgccggcg 15840
 gaggatcaca ccaagctgaa gatgtacgcg gtacgccaag gcaagaccat taccgagctg 15900
 ctatctgaat acatcgcgca gctaccagag taaatgagca aatgaataaa tgagtagatg 15960
 aatcttagcg gctaaaggag gcggcatgga aatcaagaa caaccaggca ccgacgccgt 16020
 ggaatgcccc atgtgtggag gaacgggagg ttggccaggc gtaagcggct gggttgtctg 16080
 ccggccctgc aatggcactg gaacccccaa gcccagaggaa tcggcgtgac ggtcgcaaac 16140
 catccggccc ggtacaaatc ggcgcggcgc tgggtgatga cctggtggag aagttgaagg 16200
 ccgcgcaggc cgcccagcgg caacgcatcg aggcagaagc acgccccggt gaatcgtggc 16260
 aagcggccgc tgatcgaatc cgcaaagaat cccggcaacc gccggcagcc ggtgcgccgt 16320
 cgattaggaa gccgcccag ggcgacgagc aaccagattt tttcgttccg atgctctatg 16380
 acgtgggcac ccgcgatagt cgcagcatca tggacgtggc cgttttccgt ctgtcgaagc 16440
 gtgaccgacg agctggcgag gtgatccgct acgagcttcc agacgggcac gtagaggttt 16500
 ccgcagggcc ggccggcatg gccagtggtg gggattacga cctggtactg atggcggttt 16560

ES 2 703 169 T3

cccatctaac cgaatccatg aaccgatacc gggaagggaa gggagacaag cccggccgcg 16620
 tgttccgtcc acacgttgcg gacgtactca agttctgccc gcgagccgat ggcggaaagc 16680
 agaaagacga cctggtagaa acctgcattc ggtaaacaac cacgcacggt gccatgcagc 16740
 gtacgaagaa ggccaagaac ggccgcctgg tgacggatc cgagggtgaa gccttgatta 16800
 gccgctacaa gatcgtaaag agcgaaccg ggcggccgga gtacatcgag atcgagctag 16860
 ctgattggat gtaccgag atcacagaag gcaagaacc ggacgtgctg acggttcacc 16920
 ccgattactt tttgatcgat cccggcatcg gccgttttct ctaccgcctg gcacgccgcg 16980
 ccgcaggcaa ggcagaagcc agatggttgt tcaagacgat ctacgaacgc agtggcagcg 17040
 ccggagagtt caagaagttc tgtttcaccg tgcgcaagct gatcgggtca aatgacctgc 17100
 cggagtacga tttgaaggag gaggcggggc aggtggccc gatcctagtc atgctgctacc 17160
 gcaacctgat cgagggcgaa gcatccgccc gttcctaatag tacggagcag atgctagggc 17220
 aaattgccct agcaggggaa aaaggtcgaa aaggtctctt tcctgtggat agcacgtaca 17280
 ttgggaacct aaagccgtac attgggaacc ggaaccgta cattgggaac ccaaagccgt 17340
 acattgggaa ccggtcacac atgtaagtga ctgatataaa agagaaaaa ggcgattttt 17400
 ccgcctaaaa ctctttaaaa cttattaataa ctcttaaaac ccgcctggcc tgtgcataac 17460
 tgtctggcca gcgcacagcc gaagagctgc aaaaagcggc tacccttcgg tcgctgctct 17520
 ccctacgccc cgccgcttcg cgtcggccta tcgcccgcgc tggccgctca aaaatggctg 17580
 gcctacggcc aggcaatcta ccagggcgcg gacaagccgc gccgtcgcca ctcgaccgcc 17640
 ggcgcccaca tcaaggcacc ctgcctcgcg cgtttcggtg atgacggtga aaacctctga 17700
 cacatgcagc tcccggagac ggtcacagct tgtctgtaag cggatgccgg gagcagacaa 17760
 gcccgtcagg gcgcgctcagc ggggtgttggc ggggtgctggg gcgcagccat gaccagtc 17820
 cgtagcgata gcggagtgt tactggctta actatgcggc atcagagcag attgtactga 17880
 gagtgcacca tatgcggtgt gaaataccgc acagatgctg aaggagaaa taccgcatca 17940
 ggcgctcttc cgcttcctcg ctactgact cgctgctctc ggtcgttcgg ctgcccggag 18000
 cggtatcagc tactcaaaag gcggtaatac ggatatccac agaatacagg gataacgcag 18060
 gaaagaacat gtgagcaaaa ggccagcaaa aggccaggaa ccgtaaaaag gccgcggttc 18120
 tggcgttttt ccataggctc cgccccctg acgagcatca caaaaatcga cgctcaagtc 18180
 agaggtggcg aaaccgcaca ggactataaa gataccaggc gttccccct ggaagctccc 18240
 tcgtgcgctc tcctgttccg accctgccgc ttaccggata cctgtccgcc tttctccctt 18300
 cgggaagcgt ggcgctttct catagctcac gctgtaggta tctcagttcg gtgtaggtcg 18360
 ttcgctcaa gctgggctgt gtgcacgaac cccccgttca gcccgaccgc tgcgccttat 18420
 ccgtaacta tcgtcttgag tccaaccg taagacacga cttatcgcca ctggcagcag 18480

ES 2 703 169 T3

ccactggtaa caggattagc agagcgaggt atgtaggcgg tgctacagag ttcttgaagt 18540
 ggtggcctaa ctacggctac actagaagga cagtatttgg tatctgcgct ctgctgaagc 18600
 cagttacctt cggaaaaaga gttggtagct cttgatccgg caaacaacc accgctggta 18660
 gcggtggttt ttttgtttgc aagcagcaga ttacgcgcag aaaaaagga tctcaagaag 18720
 atccggaaaa cgcaagcgca aagagaaagc aggtagcttg cagtgggctt acatggcgat 18780
 agctagactg ggcggtttta tggacagcaa gcgaaccgga attgccagat tcgaagctcg 18840
 gtcccgtggg tgttctgtcg tctcgttga caacgaaatc cattcccatt ccgcgctcaa 18900
 gatggcttcc cctcggcagt tcatcagggc taaatcaatc tagccgactt gtccggtgaa 18960
 atgggctgca ctccaacaga aacaatcaaa caaacatata cagcgactta ttcacacgcg 19020
 aca 19023

<210> 17

<211> 19020

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> secuencia de nucleótidos de pTEA6

<400> 17

aattacaacg gtatatatcc tgccagtact gggccccctc gagggcgatc gcgcgggccgc 60
 ttcacggaaa gttgttatat ataagttcag taaataataa tgaaatataa attttaatta 120
 tatctagtac tcaataagaa gatggagaaa gttatgttaa ttatagttat aaattattta 180
 taaatttaat atatatatat aaagaaaata gttgtataac taataattat ttttacaata 240
 ctttatatag ttatatttaa aaaaatttta aaattaaaat actattattt tgttcaatat 300
 attaataatt atattattta atttattatt gaatatgaat aaattttttt tgaaaattat 360
 attttaatt tttagaatt ttatataact ttccatatat atatttctga tttgtcaatt 420
 tcttttgaga tttatctaaa ttgatttgaa ttttttttat ttttaaaaaa taaaataatt 480
 ttaaaatttc ttggaatttt atataaattt ttggattttt caaaaaaat tgagattttt 540
 ttcttttttt tcgatttttt aaatttattt caggaaaata taaactaact tttctttgct 600
 ttgggtataa ttaatattag ataaccaca aattagatca ataggagctt catgtcctaa 660
 tcccatttaa ttacttttgt tgtatcatta atttagtcga ccttacatag tagctctatg 720
 gggcaaatag ttataaatgt taaattagta tttaaatcct gaagttttta atttaaagtt 780
 cagactatta gtattatata aatatattaa gggtaaata atattcta atctaagctt 840
 gggcaaggt ttaaattaag tacttaaact tggttttata gttcaaattg atttaaataa 900
 ctaagtatta atttgaatta agaagcaag ttcaagtacc taattagact ataaaaaaaa 960

ES 2 703 169 T3

cttttgctag taaattgaac cttaaagtcg agtttagtta tctaattgga caaaaaaatc 1020
 ttaaatacca atttaaacc ctaaagtcaag ttttaggtacc aaagtgtata tttatctaata 1080
 atttaaattt gatccaccta atttaaattt ttttgggtcca atgcaataag agaattaatt 1140
 aataacttaca cacatgatag agatataccc acaacagata cactactaca aaaacattaa 1200
 aaaatagaaa gatataattt ctacaaaatt taaaagcatt taatttttta actaacatta 1260
 gacaaatgga aatggaaaga cttattttta agtttatgga tgaatctaata ttatctaaac 1320
 attgggtttt ttttttttgt gacgaaatat ggggtgagaga aggtagtaag ctaagtaggg 1380
 gagtaatatc tcaaacaaat aattaaaaaa ctcttttaa tgtggctata aatacctgaa 1440
 accaatcctt ctttctcaa ctcaaatctt caatctttag atcatctctc caaaaaata 1500
 ccatgagtaa acggaatccg aagattctga agatttttct gtatatgta cttctcaact 1560
 ctctctttct catcatctac ttcgtttttc actcatctc gttttcagag tccagaatca 1620
 gcaaccggtt atcgagttcc gccacaagga cggtagcagc cttcagaaat cgatgtcatg 1680
 ccaggccagg gacaccggga tccagttacg gaaatgcgag gcgaccgctt ccctcggcac 1740
 cagcgccttt aactacaat agcccaagtc gcgcagcagc tcattatcca cggtagcatg 1800
 gaggttatgc ggacgacgtg acagttagca tgggaccgga cgacgatcgt acagatatct 1860
 ttggccccga aaccgatctc agcgaacgc gccacctcaa cgacgcatac gggtttcggt 1920
 catcccagat caccctcagc gaagatcccc acggcaccca cgcgcgttcc cggtagcagc 1980
 acgaagacga tgtgagcacc acttattcct ccaacacggg caccagcgtc tcaggtgtcg 2040
 acaagttcga gcattacggt cccattccgg aggaaggcaa gcacgagcgg cgcggcgtgc 2100
 gaccaccaca gatgtcagag aaggaagtcc agctcatcaa cggcgaactc gttctcgagt 2160
 gcaagattcc gactatattg tattcgtttt tgcccaggag agacgaagtg gagtttacgc 2220
 acatgcggta cacagccgtc acttgtgacc ctgatgactt tgttgccagg ggttacaagt 2280
 tgcgccagaa tatcggtcgt accgccaggg agacggagct gttcatctgc gtgaccatgt 2340
 acaacgagga cgagttcgga ttcacacgga ctatgcacgc agtgatgaag aacatttcgc 2400
 atttttgttc ccgaaacaag agtaggacgt ggggagcggg tgggtggcag aagattgtgg 2460
 tctgtgtggt ttcggatgga cgagagatca ttcacccccg gaccttgac gccctcgcag 2520
 ccatgggctt ttaccagcac ggtatcgcca agaactttgt caaccagaag gcggtgcagg 2580
 cccacgttta cgagtacacg acacaagtgt ctctggacag cgacctcaag ttcaagggcg 2640
 ccgagaaggg catcgtgccc tgccagatga ttttttgctt gaaggagaag aacaaaaaga 2700
 aactcaactc gcatagatgg ttcttcaacg cctttggcaa agccttgaac ccgaatgtgt 2760
 gtatcctcct agacgtcggc accgccccg gcggcacaag tctctaccat ctctggaag 2820
 ccttcgacac ggattccaac gtggcggggg cctgcgggga aatcaaagcg atgaaggggc 2880

ES 2 703 169 T3

ggtttggcgg gaatttgctc aaccctctgg tggctagtca gaactttgag tacaagatga 2940
 gcaatattct ggacaaaccg ttggagtcgg tgtttgggta catcacgggtg ttgccgggcg 3000
 ctttgtcggc gtatcggtac catgcgctgc agaacgatga gacgggcat gggccgttga 3060
 gtcagtattt caagggcgag acgctccatg ggcagcacgc ggatgtgttt acggcgaaca 3120
 tgtacttggc cgaggaccga attctgtgtt gggagttggg ggccaagagg ggtgagaggt 3180
 ggggtgtgaa gtatgtgaag ggggtgtacgg gtgagacgga tgtgcctgac accgtcccgg 3240
 aattcgtctc gcaacgtcgt cgttggctca acggtgcctt cttcgccgcc gtctactccc 3300
 tcgtccactt tcgacaaatc tggaaaaccg accacacctt tatgcgcaa gcccttctcc 3360
 acgtogaatt cctctaccac ctctgcaac tcctcttcac ctacttctcc ctggccaact 3420
 tctacctcgc cttctacttt atcgccggcg gactcgccga tccccacgtc gaccctttta 3480
 actcggacgg ccacgtcgcg cgcacatct tcaacatcct ccgctacgtc tgcgtcctgc 3540
 tgatctgcac acaattcatc ttgtccctcg gcaaccgtcc gcaggggtgcc aaaagaatgt 3600
 atctcgcac catgatcatc tacgccgtca tcatggtgta caccaccttc gccaccatct 3660
 tcatcgtcgt gcgacaaatc caaccctctc aaaaatccga cgacaagccc gacctcgaac 3720
 tcggcaacaa cgtcttcacc aacctgatcg tctccgtggc tagtaccctc gggctctact 3780
 tcgtcatgtc ctttctctat ctcgaccctt ggcacatggt cacctcggcc atccagtact 3840
 ttgtcctgct gccttctac atctgcacgc tccagatcta cgccttttgc aacaccacg 3900
 acgtcacatg gggcaccaa ggcgacaacg tgatgcgcac cgatctcggg ggcgccattg 3960
 gcaaggggaag caccgtcga ctggaaatgc cttcggacca actcgacatc gactcgggat 4020
 acgacgaatg tctacgaaat ctccgggatc gcgtcatggt ccctgccgtt cccgtgtccg 4080
 aggaccagct gcagcaggat tactacaagt cgggtgcgcac gtacatggtg gtgtcgtgga 4140
 tgggtggcaa cgcgacgctg gccatggcgg tgtcgggaagc gtatggcgat tcggaaattg 4200
 gggataattt ttacttgccg tttatcctgt gggcgggtggc ggccctggcg ctgttagag 4260
 cgttggggtc gacgacgttt gcggcgatta atctgggtgag tgctctcgtg gagggcaggg 4320
 tcaggctgag gttgaatatg aaagggttta ggtggattaa ggagaagtgg ggggatgcgg 4380
 atgtgaaggg caagtttgag gggttggggg atcggggcgag ggggttggcg aggcggtgag 4440
 agctccctag ggacgccggt gaagaggcag tgcaagacgt ttaaaccgcta gcaagcttgg 4500
 acacgctgaa atcaccagtc tctctctaca aatctatctc tctctathtt ctccataata 4560
 atgtgtgagt agttcccaga taagggaatt agggttccta tagggtttcg ctcatgtgtt 4620
 gagcatataa gaaaccctta gtatgtattt gtatttgtaa aatacttcta tcaataaaat 4680
 ttctaattcc taaaaccaa atccagtact aaaatccaga tcatgcatgg tacagcacgc 4740

ES 2 703 169 T3

gtcctgcagg cccggggttaa ttaagcggcc gcttcacgga aagttgttat atataagttc 4800
 agtaaataat aatgaaatat aaattttaat tataatctagt actcaataag aagatggaga 4860
 aagttatggt aattatagtt ataaattatt tataaattta atatataat ataaagaaaa 4920
 tagttgtata actaataatt atttttacaa tactttatat agttatattt aaaaaattt 4980
 taaaattaaa atactattat tttgttcaat atattaatat ttatattatt taatttatta 5040
 ttgaatatga ataaatTTTT tttgaaaatt atatttttaa ttttagaaa ttttatataa 5100
 cttccatat atatatttct gatttgcct tttcttttga gatttatcta aattgatttg 5160
 aatttttttt atttttaaaa aataaaataa ttttaaaatt tcttgggaatt ttatataaat 5220
 ttttggattt ttcaaaaaaa attgagattt ttttcttttt tttcgatttt ttaaatttat 5280
 ttcaggaaaa tataaactaa cttttctttg ctttgggtat aattaatatt agataaccca 5340
 caaattagat caataggagc ttcattgtcct aatcccattt aattactttt gttgtatcat 5400
 taatttagtc gaccttacct agtagctcta tggggcaaat agttataaat gttaaattag 5460
 tatttaaadc ttgaagtttt taatttaaag ttcagactat tagtattata tcaaatattt 5520
 aagggtaaat atatattcta atatctaagc ttgggtcaag gtttaaatta agtacttaaa 5580
 cttggtttta tagttcaaat tgatttaaatt aactaagtat taatttgaat taagaagcaa 5640
 agttcaagta cctaattaga ctataaaaa aacttttgct agtaaattga accttaaagt 5700
 cgagtttagt tatctaattg gacaaaaaaa tcttaaatac caatttaaac cctaaagtca 5760
 agtttaggta ccaaagtgta tatttatcta atatttaaatt ttgatccacc taatttaaatt 5820
 ttttttggtc caatgcaata agagaattaa ttaataactta cacacatgat agagatatac 5880
 ccacaacaga tacacactac aaaaaacatt aaaaaataga aagatatatt tcttcaaaaa 5940
 tttaaaagca tttaaatTTTT taactaacat tagacaaatg gaaatggaaa gacttatttt 6000
 taagtttatg gatgaatcta atttatctaa acattgggtt tttttttttt gtgacgaaat 6060
 atgggtgaga gaaggtagta agctaagtag gggagtaata tctcaacaa ataattaaaa 6120
 aactccttta aatgtggcta taaatacctg aaaccaatcc ttctttcctc aactcaaadc 6180
 ttcaatcttt agatcatctc tccaaaaaaa taccatgtgc ggaattgttg gtgctatcgc 6240
 ccaaagagac gttgctgaga ttttgttaga gggctctgca aggctagagt atagaggata 6300
 tgactccgct ggtctggctg tcgttgatgc tgagggcat atgacaaggc taagaaggtt 6360
 aggaaagggt cagatgcttg ctgagcagc tgaggaacat ccattgcatg gaggtactgg 6420
 tattgcacat accaggtggg ctactcatgg ggagccatca gaagttaatg ctcatccaca 6480
 tgtgagtgag catatcgttg tagttcacia tgggataatt gaaaaccacg aaccattgag 6540
 ggaagagtta aaggcaagag gatatacttt tgtgagtgag actgacactg aggttattgc 6600
 acatttagtg aactgggaac tcaaacaggg gggcacattg cgtgaggctg tgттаagagc 6660

ES 2 703 169 T3

tattcctcaa cttagagggtg catacggtag tgttattatg gattcaagac acccagatac 6720
tctccttgca gctagatcag gtagtccctt ggtcatagga cttggaatgg gtgaaaattt 6780
tatcgctagc gaccaattgg ccttattgcc agttacaaga cgatttattt tccttgaaga 6840
gggcgatatt gctgagatta ctagaagggtc tgtgaacatc tttgataaga ctggcgctga 6900
ggttaaacgt caggatatcg agtctaacct tcaatacgat gctggtgata aaggaattta 6960
caggcattat atgcaaaagg aaatttatga acaaccaa at gctatcaaaa acacacttac 7020
tggccgtatt tctcatggac aggtcgattt aagcgagctt ggtccta atg cagacgaact 7080
gctatcaaaa gttgagcaca tacagatact ggc atg cggga actagttata attcaggaat 7140
gggtgtctaga tactggttcg aaagcttggc aggtatacct tgtgatgtag agatcgcttc 7200
tgagtttagg tatagaaagt ctgctgtgcg tagaaattca ttaatgatta cattatctca 7260
atccggagaa acagcagata cactggctgg attgaggctt tctaaggaac tcggatatct 7320
gggttcactt gctatttcta atgtaccagg ttctcattg gttcgtgaat cagatctagc 7380
acttatgaca aatgcaggaa ctgaaatagg tgtggcaagt accaaggctt tcacaacca 7440
actgaccgta cttttaatgt tggtagcaaaa actcagtcga ttaaaggggc tagatgcatc 7500
tatcgaacat gatattgttc acgggcttca agctctcctt tcaagaattg aacaaatgct 7560
ttcacaagat aagagaatag aggcattggc tgaagat ttt tccgacaaac atcacgcatt 7620
gtttcttggga cgtggcgatc aatatccaat tgcattggaa ggagctttga agttgaaaga 7680
aataagttac attcacgcag aagcatatgc agctggagaa ctcaagcatg gtcctttggc 7740
actcatcgac gctgacatgc ccgtgatcgt agtggctcct aataacgaac tgctcgaaaa 7800
gcttaaatca aatatcgaag aggttcgagc tagaggaggt cagctttacg ttttcgctga 7860
acaagatgct ggattcgtgt caagcgataa tatgcatata attgaaatgc ctcacgttga 7920
agaagtgatt gcacctatat tttatacagt cccattgcaa cttctagctt accatgttgc 7980
acttattaaa ggaactgatg ttgatcagcc tagaaacct a gcaaaaatctg taacagtcga 8040
ataaacgcgt aaggagtttg tgcgtgaatc taattgaggc ctgttttaaac ggcgcgcccc 8100
cgatccgcgt ttgtgttttc tgggtttctc acttaagcgt ctgcgtttta cttttgtatt 8160
gggtttggcg tttagtagtt tgcggtagcg ttcttgttat gtgtaattac gctttttctt 8220
cttgcttcag cagtttcggt tgaatatata atcgaatcaa gtttcacttt atcagcgttg 8280
ttttaaattt tggcattaaa ttggtgaaaa ttgcttcaat tttgtatcta aatagaagag 8340
acaacatgaa attcgacttt tgacctcaaa tcttcgaaca tttatttctt gatttcacga 8400
tggatgagga taacgaaagg gcggttccta tgtccgggaa agttcccgtg gaagacaatg 8460
agcaaagcta ctgaaacgcg gacacgacgt cgcattggta cggatatgag ttaaaccgac 8520

ES 2 703 169 T3

tcaattcctt tattaagaca taaaccgatt ttggttaaag tgtaacagtg agctgatata 8580
aaaccgaaac aaaccggtac aagtttgatt gagcaacttg atgacaaact tcagaatfff 8640
ggttattgaa tgaaaatcat agtctaactg taaaaaatgt acagaagaaa agctagagca 8700
gaacaaagat tctatattct ggttccaatt tatcatcgct ttaacgtccc tcagatttga 8760
tcggggaatt cgatatcatt accctgttat ccctaaagct tattaatggt tgcgaggag 8820
aaatatgagt cgaggcatgg atacactaag ttcccctgaa gtgagcatga tctttgatgc 8880
tgagatgatt cccagagcaa gatagtttgt gctgcaagtg acacaattgt aatgaaacca 8940
ccactcaacg aatttacttg tggctttgac atgtcgtgtg ctctgtttgt atttgtgagt 9000
gccggttggt aattatffff gttaatgtga ttttaaaacc tcttatgtaa atagttactt 9060
tatctattga agtgtgttct tgtggtctat agtttctcaa agggaaatta aaatggtgac 9120
atcccattta caattgataa cttggtatac acaaactttg taaatttggg gatatttatg 9180
gtcgaaagaa ggcaataacc attgtatggt ccaatatcaa tatcaatacg ataacttgat 9240
aatactaaca tatgattgtc attgtttttc cagtatcaat atacattaag ctactacaaa 9300
attagtataa atcactatat tataaatctt tttcggttgt aacttgtaat tcgtggggtt 9360
ttaaaataaa agcatgtgaa aattttcaaa taatgtgatg gcgcaatfff attttccgag 9420
ttccaaaata ttgccgcttc attaccctaa tttgtggcgc cacatgtaa acaaaagacg 9480
attcttagtg gctatcactg ccatcacgcg gatcactaat atgaaccgtc gattaaaaca 9540
gatcgacggt ttatacatca ttttattgta cacacggatc gatatctcag ccgtagatt 9600
taatatgcga tctgattgct caaaaaatag actctccgtc tttgcctata aaaacaatff 9660
cacatctttc tcacccaaat ctactcttaa ccgttcttct tcttctacag acatcaatff 9720
ctctcgactc tagaggatcc aagcttatcg atttogaacc cctcaggcga agaacaggta 9780
tgatttgttt gtaattagat caggggttta ggtctttcca ttacttttta atgttttttc 9840
tgttactgtc tccgcgatct gattttacga caatagagtt tcgggttttg tccattcca 9900
gtttgaaaat aaaggtccgt cttttaagtt tgctggatcg ataaacctgt gaagattgag 9960
tctagtcgat ttattggatg atccattctt catcgttttt ttcttgcttc gaagttctgt 10020
ataaccagat ttgtctgtgt gcgattgtca ttacctagcc gtgtatcgag aactagggtt 10080
ttcgagtcaa ttttgcccct tttggttata tctggttcga taacgattca tctggattag 10140
ggttttaagt ggtgacgttt agtattccaa tttcttcaaa atttagttat ggataatgaa 10200
aatccccaat tgactgttca atttcttgtt aaatgcgcag atcacaatgg ctctgatctc 10260
ctcctcagtc gcgaccgtta gccggaccgc ccctgctcag gccaacatgg tggctccggt 10320
caccggcctt aagtccaacg ccgccttccc caccaccaag aaggctaacg acttctccac 10380
ccttcccagc aacggtggaa gagttcaatg tatgcaggtg tggccggcct acggcaacaa 10440

ES 2 703 169 T3

gaagttcgag acgctgtcgt acctgccgcc gctgtctatg gcgcccaccg tgatgatggc 10500
 ctcgtcggcc accgccgtcg ctccgttcca ggggctcaag tccaccgccca gcctccccgt 10560
 cgccccccgc tcctccagaa gcctcggcaa cgtcagcaac ggcggaagga tccggtgcat 10620
 ggccggcgcc gaggagatcg tgctgcagcc catcaaggag atctccggca ccgtcaagct 10680
 gccgggggtcc aagtgcgttt ccaaccggat cctcctactc gccgccctgt ccgaggggac 10740
 aacagtgggt gataacctgc tgaacagtga ggatgtccac tacatgctcg gggccttgag 10800
 gactcttggt ctctctgtcg aagcggacaa agctgccaaa agagctgtag ttgttggtcg 10860
 tgggtgaaag ttcccagttg aggatgctaa agaggaagtg cagctcttct tggggaatgc 10920
 tggaatcgca atgcggtcct tgacagcagc tgttactgct gctggtggaa atgcaactta 10980
 cgtgcttgat ggagtaccaa gaatgagggg gagaccatt ggcgacttgg ttgtcggatt 11040
 gaagcagctt ggtgcagatg ttgattgttt ccttggcact gactgccac ctgttcgtgt 11100
 caatggaatc ggagggctac ctggtggcaa ggtcaagctg tctggctcca tcagcagtca 11160
 gtacttgagt gccttgctga tggctgctcc tttggctctt ggggatgtgg agattgaaat 11220
 cattgataaa ttaatctcca ttccgtacgt cgaaatgaca ttgagattga tggagcgttt 11280
 tgggtgtgaaa gcagagcatt ctgatagctg ggacagattc tacattaagg gaggtcaaaa 11340
 atacaagtcc ctaaaaaatg cctatgttga aggtgatgcc tcaagcgsaa gctatttctt 11400
 ggctggtgct gcaattactg gagggactgt gactgtggaa ggttgtggca ccaccagttt 11460
 gcagggatgat gtgaagtttg ctgaggtact ggagatgatg ggagcgaagg ttacatggac 11520
 cgagactagc gtaactgtta ctggcccacc gcgggagcca tttgggagga aacacctcaa 11580
 ggcgattgat gtcaacatga acaagatgcc tgatgtcgcc atgactcttg ctgtggttgc 11640
 cctctttgcc gatggcccga cagccatcag agacgtggct tcctggagag taaaggagac 11700
 cgagaggatg gttgcgatcc ggacggagct aaccaagctg ggagcatctg ttgaggaagg 11760
 gccggactac tgcatcatca cgccgccgga gaagctgaac gtgacggcga tcgacacgta 11820
 cgacgaccac aggatggcga tggctttctc ccttgccgcc tgtgccgagg tccccgtcac 11880
 catccgggac cctgggtgca cccggaagac cttccccgac tacttcgatg tgctgagcac 11940
 tttcgtcaag aattaagctc tagaactagt ggatcccccg atccgcgttt gtgttttctg 12000
 ggtttctcac ttaagcgtct gcgttttact tttgtattgg gtttggcggt tagtagtttg 12060
 cggtagcgtt cttgttatgt gtaattacgc tttttottct tgcttcagca gtttcggttg 12120
 aaatataaat cgaatcaagt ttcactttat cagcgttggt ttaaattttg gcattaaatt 12180
 ggtgaaaatt gcttcaattt tgtatctaaa tagaagagac aacatgaaat tcgacttttg 12240
 acctcaaatc ttcgaacatt tatttcctga tttcacgatg gatgaggata acgaaagggc 12300

ES 2 703 169 T3

ggttcctatg tccgggaaag ttcccgtaga agacaatgag caaagctact gaaacgcgga 12360
 cacgacgtcg cattggtacg gatatgagtt aaaccgactc aattccttta ttaagacata 12420
 aaccgatttt ggttaaagtg taacagtgag ctgatataaa accgaaacaa accggtacaa 12480
 gtttgattga gcaacttgat gacaaacttc agaattttgg ttattgaatg aaaatcatag 12540
 tctaatacgt aaaaatgtac agaagaaaag ctagagcaga acaaagattc tatattctgg 12600
 ttccaattta tcatcgcttt aacgtccctc agatttgatc gggaaaccaa aacgtcgtga 12660
 gacagtttgg ttaactataa cggtcctaag gtagcgatcg aggcattacg gcattacggc 12720
 actcgcgagg gtccgaattc gagcatggag ccatttacia ttgaatataat cctgccgccg 12780
 ctgccgcttt gaccccggtg gagcttgcac gttggtttct acgcagaact gagccgggta 12840
 ggcagataat ttccattgag aactgagcca tgtgcacctt ccccccaaca cggtgagcga 12900
 cggggcaacg gagtgatcca catgggactt ttaaacaatca tccgtcggat ggcgttgcca 12960
 gagaagcagt cgatccgtga gatcagccga cgcaccgggc aggcgcgcaa cacgatcgca 13020
 aagtatttga acgcaggtac aatcgagccg acgttcacgg taccggaacg accaagcaag 13080
 ctagcttagt aaagccctcg ctagatttta atgaggatgt tgcgattact tcgccaaacta 13140
 ttgcgataac aagaaaaagc cagcctttca tgatataatct cccaatttgt gtagggctta 13200
 ttatgcacgc ttaaaaataa taaaagcaga cttgacctga tagtttggct gtgagcaatt 13260
 atgtgcttag tgcatctaac gcttgagtta agccgcgccc cgaagcggcg tcggcttgaa 13320
 cgaattgtta gacattattt gccgactacc ttggtgatct cgcctttcac gtagtggaca 13380
 aattcttcca actgatctgc gcgcgaggcc aagcgatctt cttcttgtcc aagataagcc 13440
 tgtctagctt caagtatgac gggctgatac tgggcccggca ggcgctccat tgcccagtcg 13500
 gcagcgacat ccttcggcgc gattttgccg gttactgccc tgtaccaaact gcgggacaac 13560
 gtaagcacta catttcgctc atcgccagcc cagtcgggcg gcgagttcca tagcgttaag 13620
 gtttcattta gcgcctcaaa tagatcctgt tcaggaaccg gatcaaagag ttccctccgcc 13680
 gctggaccta ccaaggcaac gctatgttct cttgcttttg tcagcaagat agccagatca 13740
 atgtcgatcg tggtggctc gaagatacct gcaagaatgt cattgcgctg ccattctcca 13800
 aattgcagtt cgcgcttagc tggataacgc cacggaatga tgtcgtcgtg cacaacaatg 13860
 gtgacttcta cagcgcggag aatctcgtc tctccagggg aagccgaagt ttccaaaagg 13920
 tcgttgatca aagctcgccg cgttgtttca tcaagcctta cggtcaccgt aaccagcaaa 13980
 tcaatatcac tgtgtggctt caggccgcca tccactgccc agccgtacaa atgtacggcc 14040
 agcaacgtcg gttcgagatg gcgctcgatg acgccaacta cctctgatag ttgagtcgat 14100
 acttcggcga tcaccgcttc cctcatgatg ttttaactttg ttttagggcg actgccctgc 14160
 tgcgtaacat cgttgctgct ccataacatc aaacatcgac ccacggcgta acgcgcttgc 14220

ES 2 703 169 T3

tgcttggatg cccgaggcat agactgtacc ccaaaaaaac agtcataaca agccatgaaa 14280
 accgccactg cgccgttacc accgctgcgt tcggtcaagg ttctggacca gttgcgtgag 14340
 cgcatacgct acttgcatta cagcttacga accgaacagg cttatgtcca ctgggttcgt 14400
 gccttcatcc gtttccacgg tgtgcgtcac ccggcaacct tgggcagcag cgaagtcgag 14460
 gcatttctgt cctggctggc gaacgagcgc aaggtttcgg tctccacgca tcgctcaggca 14520
 ttggcggcct tgctgttctt ctacggcaag tgctgtgcac ggatctgccc tggcttcagg 14580
 agatcggaag acctcggccg tccgggcgct tgccggtggt gctgaccccg gatgaagtct 14640
 ctagagctct agagggttcg catcctcggc tttctggaag gcgagcatcg tttgttcgcc 14700
 cagcttctgt atggaacggg catgcggatc agtgagggtt tgcaactgcg ggtcaaggat 14760
 ctggatttcg atcacggcac gatcatcgtg cgggagggca agggctcaa ggatcgggcc 14820
 ttgatgttac ccgagagctt ggcacccagc ctgcgcgagc agggatcgat accgtgcggc 14880
 tgcatgaaat cctggccggt ttgtctgatg ccaagctggc ggcctggccg gccagcttgg 14940
 ccgctgaaga aaccgagcgc cgccgtctaa aaaggatgatg tgtatttgag taaaacagct 15000
 tgcgatcatgc ggtcgtcgcg tatatgatgc gatgagtaaa taaacaaata cgcaagggga 15060
 acgcatgaag gttatcgtg tacttaacca gaaaggcggg tcaggcaaga cgaccatcgc 15120
 aaccatcta gcccgcgccc tgcaactcgc cggggccgat gttctgtag tcgattccga 15180
 tccccagggc agtgcccgcg attgggcggc cgtgcgggaa gatcaaccgc taaccgttgt 15240
 cggcatcgac cgcccagcga ttgaccgcga cgtgaaggcc atcggccggc gcgacttcgt 15300
 agtgatcgac ggagcgcgcc aggcggcggc cttggctgtg tccgcgatca aggcagccga 15360
 cttcgtgctg attccggtgc agccaagccc ttacgacata tgggccaccg ccgacctggt 15420
 ggagctgggt aagcagcgca ttgaggtcac ggatggaagg ctacaagcgg cctttgtcgt 15480
 gtcgcgggcg atcaaaggca cgcgcatcgg cggtgagggt gccgaggcgc tggccgggta 15540
 cgagctgccc attcctgagt cccgtatcac gcagcgcgtg agctaccag gcactgccgc 15600
 cgccggcaca accgttcttg aatcagaacc cgagggcgac gctgcccgcg aggtccaggc 15660
 gctggccgct gaaattaaat caaaactcat ttgagttaat gaggtaaaga gaaaatgagc 15720
 aaaagcacia acacgctaag tgccggccgt ccgagcgcac gcagcagcaa ggctgcaacg 15780
 ttggccagcc tggcagacac gccagccatg aagcgggtca actttcagtt gccggcggag 15840
 gatcacacca agctgaagat gtacgcggta cgccaaggca agaccattac cgagctgcta 15900
 tctgaataca tcgcgagct accagagtaa atgagcaaat gaataaatga gtagatgaat 15960
 tttagcggct aaaggaggcg gcatggaaaa tcaagaacaa ccaggcaccg acgccgtgga 16020
 atgccccatg tgtggaggaa cgggcggttg gccaggcgta agcggctggg ttgtctgccg 16080

ES 2 703 169 T3

gccctgcaat ggcaactggaa cccccaagcc cgaggaatcg gcgtgacggt cgcaaaccat 16140
 cgggcccggt acaaatcggc gcggcgctgg gtgatgacct ggtggagaag ttgaaggccg 16200
 cgcaggccgc ccagcggcaa cgcacgagc cagaagcacg ccccggtgaa tcgtggcaag 16260
 cggccgctga tcgaatccgc aaagaatccc ggcaaccgcc ggagccggt gcgccgtcga 16320
 ttaggaagcc gcccaagggc gacgagcaac cagatTTTTT cgttccgatg ctctatgacg 16380
 tgggcacccg cgatagtccg agcatcatgg acgtggccgt tttccgtctg togaagcgtg 16440
 accgacgagc tggcgaggtg atccgctacg agcttccaga cgggcacgta gaggtttccg 16500
 cagggccggc cggcatggcc agtgtgtggg attacgacct ggtactgatg gcggtttccc 16560
 atctaaccga atccatgaac cgataccggg aaggggaagg agacaagccc ggcccgctgt 16620
 tccgtccaca cgttgccggc gtactcaagt tctgccggcg agccgatggc ggaaagcaga 16680
 aagacgacct ggtagaaacc tgcattcgtg taaacaccac gcacgttgcc atgcagcgtg 16740
 cgaagaaggc caagaacggc cgcctgggtg cggtatccga ggggtgaagcc ttgattagcc 16800
 gctacaagat cgtaaagagc gaaaccgggc ggccggagta catcgagatc gagctagctg 16860
 attggatgta ccgcgagatc acagaaggca agaaccggga cgtgctgacg gttcaccgcc 16920
 attactTTTT gatcgatccc ggcatcggcc gttttctcta ccgcctggca cgcccgcccg 16980
 caggcaaggc agaagccaga tggttgttca agacgatcta cgaacgcagt ggcagcgccg 17040
 gagagttcaa gaagttctgt ttcaccgtgc gcaagctgat cgggtcaaat gacctgccgg 17100
 agtacgattt gaaggaggag gcggggcagg ctggcccgat cctagtcatg cgctaccgca 17160
 acctgatcga gggcgaagca tccgccggtt cctaattgtac ggagcagatg ctagggcaaa 17220
 ttgccctagc aggggaaaaa ggtcgaaaag gtctctttcc tgtggatagc acgtacattg 17280
 ggaaccctaaa gccgtacatt ggggaaccgga acccgtacat tgggaaccctaa aagccgtaca 17340
 ttgggaaccg gtcacacatg taagtgactg atataaaaga gaaaaaaggc gatttttccg 17400
 cctaaaactc tttaaaactt attaaaactc ttaaaaccgg cctggcctgt gcataactgt 17460
 ctggccagcg cacagccgaa gagctgcaaa aagcgcctac cttcggctcg ctgcgctccc 17520
 tacgccccgc cgcttcgogt cggcctatcg cggccgctgg ccgctcaaaa atggctggcc 17580
 tacggccagg caatctacca gggcgccggc aagccgccc gtcgccactc gaccgcccggc 17640
 gccacatca aggcaccctg cctcgcgctg ttcgggtgat acggtgaaaa cctctgacac 17700
 atgcagctcc cggagacggt cacagcttgt ctgtaagcgg atgccgggag cagacaagcc 17760
 cgtcagggcg cgtcagcggg tgttggcggg tgtcggggcg cagccatgac ccagtcacgt 17820
 agcgatagcg gagtgatatac tggcttaact atgcccgcac agagcagatt gtactgagag 17880
 tgcacatat gcggtgtgaa ataccgcaca gatgcgtaag gagaaaatac cgcacagcc 17940
 gctcttccgc ttcctcgcct actgactcgc tgcgctcggc cgttcggctg cggcgagcgg 18000

ES 2 703 169 T3

tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggg tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa 18060
 agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg taaaaaggcc gcggttgctgg 18120
 cgtttttcca taggctccgc ccccctgacg agcatcacia aaatcgacgc tcaagtcaga 18180
 ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcggt tccccctgga agctccctcg 18240
 tgcgctctcc tgttccgacc ctgccgctta ccggatacct gtccgccttt ctcccttcgg 18300
 gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct gtaggtatct cagttcgggt taggtcggtc 18360
 gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc ccggttcagcc cgaccgctgc gccttatccg 18420
 gtaactatcg tcttgagtcc aacccggtaa gacacgactt atcgccactg gcagcagcca 18480
 ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcgggtgc tacagagttc ttgaagtggg 18540
 ggctaacta cggctacact agaaggacag tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag 18600
 ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg 18660
 gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa aaaaggatct caagaagatc 18720
 cggaaaacgc aagcgcгааг agaaagcagg tagcttgcaг tgggcttaca tggcgatagc 18780
 tagactgggc ggttttatgg acagcaagcg aaccggaatt gccagattcg aagctcggtc 18840
 ccgtgggtgt tctgtcgtct cgttgtaaa cgaaatccat tccattccg cgctcaagat 18900
 ggcttcccct cggcagttca tcagggctaa atcaatctag ccgacttgtc cgggtgaaatg 18960
 ggctgcactc caacagaaac aatcaaaaca acatacacag cgacttattc acacgcgaca 19020

<210> 18

<211> 30

5 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Secuencia objetivo del sitio de interacción de miR403 en ARNm Arabidopsis AGO2

<400> 18

10 aaggagtttg tgcgtgaatc taattgggtt 30

<210> 19

<211> 22

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

15 <220>

<223> miR403 de A. thaliana

<400> 19

gctcaaacac gcacttagat ta 22
 <210> 20
 <211> 21
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> forma menor de Ghi_miR408
 <400> 20
 tgactgcct cttccctggc t 21
 10 <210> 21
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 15 <223> secuencia alternativa de Ghi_miRcan1230 (2)
 <400> 21
 ttgcatgac actacttaa a 21
 <210> 22
 <211> 21
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> forma alternativa de miRcan1230 (3)
 <400> 22
 25 tgtggcttg catgacacta c 21
 <210> 23
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 30 <220>
 <223> Secuencia de nucleótidos de la secuencia objetivo modificada reconocida por microARN Ghi_miRcan1230 (2)
 y (3)
 <400> 23
 agtttaaag tagtgcacg caaagccagc aatg 34
 35 <210> 24
 <211> 12756

ES 2 703 169 T3

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> T-ADN de pTEA9

5 <400> 24

```
aattacaacg gtatatatcc tgccagtact gggccccctc gagggcgatc gcgcggccgc      60
ttcacggaaa gttgttatat ataagttcag taaataataa tgaaatataa attttaatta    120
tatctagtac tcaataagaa gatggagaaa gttatgtaa ttatagttat aaattattta    180
taaatttaat atatatatat aaagaaaata gttgtataac taataattat ttttacaata    240
```

ES 2 703 169 T3

ctttatatag ttatatttaa aaaaatttta aaattaaat actattatth ttgtcaatat 300
 attaatahth atattattta atthattatt gaatatgaat aaathththh tgaaaattat 360
 atththtaatt thtagaaatt ttatataact thccatatat ataththctga ththgtcaatt 420
 thththtgaga thththctaaa thgaththgaa thththththth thththaaaaa thaaaataatt 480
 thaaaaththc thggaaththh atataaathth thggaaththh caaaaaaaat tgagaththh 540
 thththththh thgathththh aaaththathh caggaaaata thaaactaact ththththgct 600
 thgggtataa thaatattag ataaccaca aattagatca ataggagctt catgtcctaa 660
 thccaththaa thactththgt thgtatcatta atthtagtoga ccttacatag tagctctatg 720
 gggcaaatag thataaatgt thaaattagta ththaaatctt gaagthththh atththaaagth 780
 cagactatta gtattatathc aaataththaa gggthaaatath ataththctaat atctaaagctt 840
 gggthcaaggt thaaaththaa tactthaaact thgthththata gththcaaththg atththaaataa 900
 ctaagthatta atththgaatha agaagcaaaag thcaagthacc thaatthagact athaaaaaaa 960
 cthththgctag thaaaththgaa cththaaagthc agthththgthh thctaatthgga caaaaaaaathc 1020
 ththaaatacca atththaaacc thaaagthcaag ththagthacc aaagthgtata thththctaat 1080
 atththaaathth gatccaccta atththaaathth thththggthcca atgcaataag agaaththaaatt 1140
 aatactthaca cacathgatag agatataacc acaacagata cacactacaa aaaacaththaa 1200
 aaaathagaaa gatathaththc thcaaaaath thaaaagcath thaththththh actaacaththaa 1260
 gacaaathgga aathggaaaaga cththathththh agththththgga thgaaathctaat thththctaaac 1320
 atthgggththh ththththththgt gacgaaathath gggthgagaga aggthagthaaag cthaaagthagg 1380
 gagthaatathc thcaaaathaa aaththaaaaa thcctththaa thgtggctata aathacctgaa 1440
 accaathcctth cththctcaaa thcaaaathctth caathctththg atcathctctc caaaaaaaathaa 1500
 ccatgagthaa acggaathccg aagaththctga agathththctth gtaththgthh cththctcaact 1560
 ctctctthct catcathctac thctgthththc actcathctgc gthththcagag thcagaathca 1620
 gcaaccggtth atcgagththc gccacaagga cggthacgagc cththcagaaath cgaathgthcatg 1680
 ccaggccag gacaccgga thcgagththacg gaaathgagag ggcagccgctth cctcggcac 1740
 cagcgcctthh aactacaaath agcccaagthc ggcagagcag thcaththacca cggthaccathg 1800
 gaggtthathc ggacgacgthg acagththagca thgggaccgga cgaathgathctg acagaththct 1860
 thggccccga aaccgathctc agcgaaacgc gccacctcaa cgaathgathac gggththctggth 1920
 cathccagath caccctcagc gaagathcccc acggcaccca cgcgctthcc cggthacgagc 1980
 acgaagacga thgtgagcacc actthathctc ccaacacggg caccagcgt thcaggtgthc 2040
 acaagththcga gcaththacggt cccaththccg aggaagthcaa gcacgagcgg cgcggcgtgc 2100

ES 2 703 169 T3

gaccaccaca gatgtcgagg aaggaagtcc agctcatcaa cggcgaactc gttctcgagt 2160
gcaagattcc gactatattg tattcgtttt tgcccaggag agacgaagtg gagtttacgc 2220
acatgcbgta cacagccgtc acttgtgacc ctgatgactt tgttgccagg ggttacaagt 2280
tgccagcaga tatcggtcgt accgccaggg agacggagct gttcatctgc gtgacatgt 2340
acaacgagga cgagttcggg ttcacacgga ctatgcacgc agtgatgaag aacatttcgc 2400
atTTTTgttc ccgaaacaag agtaggacgt ggggagcggg tgggtggcag aagattgtgg 2460
tctgtgtggt ttccgatgga cgagagatca ttcacccccg gaccttggac gccctcgcag 2520
ccatgggcbt ttaccagcac ggtatcgcca agaactttgt caaccagaag gcggtgcagg 2580
cccacgttta cgagtacacg acacaagtgt ctctggacag cgacctcaag ttcaaggcgg 2640
ccgagaaggg catcgtgccc tgccagatga ttttttgctt gaaggagaag aaccaaaga 2700
aactcaactc gcatagatgg ttcttcaacg cctttggcaa agccttgaac ccgaatgtgt 2760
gtatcctcct agacgtcggc acccgccccg gcggcacaag tctctacat ctctggaag 2820
ccttcgacac ggattccaac gtggcggggg cctgcgggga aatcaaagcg atgaaggggc 2880
ggtttgcbg gaatttgctc aaccctctgg tggctagtca gaactttgag tacaagatga 2940
gcaatattct ggacaaaccg ttggagtcgg tgtttgggta catcacggtg ttgccgggcb 3000
ccttgtcggc gtatcggtac catgcgctgc agaacgatga gacgggcbat gggccgttga 3060
gtcagtattt caaggcgbg acgctccatg ggcagcacgc ggatgtgttt acggcgaaca 3120
tgtacttggc cgaggaccga attctgtgtt gggagttggt ggccaagagg ggtgagaggt 3180
gggtgttga gtatgtgaag ggggttacgg gtgagacgga tgtgcctgac accgtcccgg 3240
aattcgtctc gcaacgtcgt cgttggctca acggtgcctt ctccgccgc gtctactccc 3300
tcgtccactt tcgacaaatc tggaaaaccg accacacctt tatgcgcaa gcccttctcc 3360
acgtcgaatt cctctaccac ctctgcaac tcctcttcc ctacttctcc ctggccaact 3420
tctacctgc cttctacttt atcgccggcg gactcgccga tccccacgtc gacccttcta 3480
actcggacgg ccacgtcgbg cgcacatct tcaacatcct ccgctacgtc tgcgtcctgc 3540
tgatctgcac acaattcatc ttgtccctcg gcaaccgtcc gcagggtgcc aaaagaatgt 3600
atctcgcac catgatcac tacgcbtca tcatgggtga caccacctc gccaccatct 3660
tcatcgtcgt gcgacaaatc caaccctctc aaaaatccga cgacaagccc gacctcgaac 3720
tcggcaacaa cgtcttcacc aacctgatcg tctccgtggc tagtaccctc gggctctact 3780
tcgtcatgtc ctttctctat ctcgaccctt ggcacatggt cacctcggcc atccagtact 3840
ttgtcctgct gccttctac atctgcacgc tccagatcta cgccttttgc aacaccacg 3900
acgtcacatg gggcaccaaa ggcgacaacg tgatgcgcac cgatctcggg ggcgccattg 3960
gcaagggaag caccgtcga ctggaaatgc cttcggacca actcgacatc gactcgggat 4020

ES 2 703 169 T3

acgacgaatg tctacgaaat ctccgggatc gcgtcatggt ccctgccggt cccgtgtccg 4080
 aggaccagct gcagcaggat tactacaagt cggtgccgac gtacatggtg gtgtcgtgga 4140
 tgggtggccaa cgcgacgctg gccatggcgg tgtcgggaagc gtatggcgat tcggaaattg 4200
 gggataattt ttacttgccg tttatcctgt gggcggtggc gggcctggcg ctgtttagag 4260
 cgttggggtc gacgacgttt gcggcgatta atctggtgag tgctctcgtg gagggcaggg 4320
 tcaggctgag gttgaatatg aaagggttta ggtggattaa ggagaagtgg ggggatgccc 4380
 atgtgaaggg caagtttgag gggttggggg atcgggagag ggggttggcg aggcggtgag 4440
 agctcgccat tgggagacct gggaaacta gagctagcaa gcttggacac gctgaaatca 4500
 ccagtctctc tctacaaatc tatctctctc tattttctcc ataataatgt gtgagtagtt 4560
 cccagataag ggaattaggg ttcctatagg gtttcgctca tgtggtgagc atataagaaa 4620
 cccttagtat gtatttgtat ttgtaaaata cttctatcaa taaaatttct aattcctaaa 4680
 accaaaatcc agtactaaaa tccagatcat gcatggtaca gcacgcgtcc tgcaggcccg 4740
 ggttaattaa gcggccgctt cacggaaaagt tgttatatat aagttcagta aataataatg 4800
 aatataaat ttttaattata tctagtactc aataagaaga tggagaaagt tatgttaatt 4860
 atagttataa attatttata aatttaatat atatatataa agaaaatagt tgtataacta 4920
 ataattattt ttacaatact ttatatagtt atatttaaaa aaattttaaa attaaaatac 4980
 tattattttg ttcaatatat taatatttat attatttaat ttattattga atatgaataa 5040
 attttttttg aaaattatat ttttaatttt tagaaatttt atataacttt ccatatatat 5100
 atttctgatt tgtcaatttc ttttgagatt tatctaaatt gatttgaatt ttttttattt 5160
 ttaaaaaata aaataatttt aaaatttctt ggaattttat ataaattttt ggatttttca 5220
 aaaaaaattg agattttttt cttttttttc gattttttta atttatttca ggaaaatata 5280
 aactaacttt tctttgcttt gggataaatt aatattagat aaccacaaa ttagatcaat 5340
 aggagcttca tgcctaatac ccatttaatt acttttggtg tatcattaat ttagtcgacc 5400
 ttacatagta gctctatggg gcaaatagtt ataaatgta aattagtatt taaatcttga 5460
 agtttttaat ttaaagttca gactattagt attatatcaa atatttaagg gtaaataat 5520
 attctaatat ctaagcttgg gtcaagggtt aaattaagta cttaaacttg gttttatagt 5580
 tcaaattgat taaataaact aagtattaat ttgaattaag aagcaaagtt caagtaccta 5640
 attagactat aaaaaaact tttgctagta aattgaacct taaagtcgag tttagttatc 5700
 taattggaca aaaaaatctt aaataccaat ttaaacccta aagtcaagtt taggtaccaa 5760
 agtgtatatt tatctaatat taaatttga tccacctaata taaattttt ttggtccaat 5820
 gcaataagag aattaattaa tacttacaca catgatagag atataccac aacagataca 5880

ES 2 703 169 T3

cactacaaaa aacattaaaa aatagaaaaga tatatttcct acaaaaattta aaagcattta 5940
 attttttaac taacattaga caaatggaaa tggaaagact tttttttaag tttatggatg 6000
 aatctaattt atctaaacat tgggtttttt ttttttgtga cgaaatatgg gtgagagaag 6060
 gtagtaagct aagtagggga gtaatatctc aaacaaataa ttaaaaaact cctttaaatg 6120
 tggctataaa tacctgaaac caatccttct ttctcaact caaatcttca atctttagat 6180
 catctctcca aaaaaatacc atgtgcggaa ttgttgggtgc tatcgccca agagacgttg 6240
 ctgagatfff gttagagggt ctgcaaggc tagagtatag aggatatgac tccgctggtc 6300
 tggctgtcgt tgatgctgag ggtcatatga caaggctaag aaggtttaga aaggttcaga 6360
 tgcttgctca ggcagctgag gaacatccat tgcatggagg tactggtatt gcacatacca 6420
 ggtgggctac tcatggggag ccatcagaag ttaatgctca tccacatgtg agtgagcata 6480
 tcgttgtagt tcacaatggg ataattgaaa accacgaacc attgagggaa gagttaaagg 6540
 caagaggata tacttttgtg agtgagactg aactgaggt tattgcacat ttagtgaact 6600
 gggaaactcaa acaggggggc acattgctg aggctgtggt aagagctatt cctcaactta 6660
 gaggtgcata cggactgtt attatggatt caagacaccc agatactctc cttgcagcta 6720
 gatcaggtag tcccttggtc ataggacttg gaatgggtga aaatfttatc gctagcgacc 6780
 aattggcctt attgccagtt acaagacgat ttatfttctc tgaagagggc gatattgctg 6840
 agattactag aaggtctgtg aacatctttg ataagactgg cgctgaggtt aaacgtcagg 6900
 atatcgagtc taaccttcaa tacgatgctg gtgataaagg aatttacagg cattatatgc 6960
 aaaaggaaat ttatgaacaa ccaaatgcta tcaaaaacac acttactggc cgtatfttctc 7020
 atggacaggt cgatttaagc gagcttggtc ctaatgcaga cgaactgcta tcaaaagttg 7080
 agcacataca gatactggca tgcggaacta gttataattc aggaatgggtg tctagatact 7140
 ggttcgaaag cttggcaggt ataccttgtg atgtagagat cgcttctgag tttaggtata 7200
 gaaagtctgc tgtgcgtaga aattcattaa tgattacatt atctcaatcc ggagaaacag 7260
 cagatacact ggctggattg aggctfttcta aggaactcgg atatctgggt tcaactgcta 7320
 tttgtaatgt accaggttcc tcattggttc gtgaatcaga tctagcactt atgacaaatg 7380
 caggaactga aataggtgtg gcaagtacca aggctfttcac aacccaactg accgtactftt 7440
 taatgttgggt agcaaaactc agtcgattaa aggggctaga tgcatctatc gaacatgata 7500
 ttgttcacgg gcttcaagct ctcccttcaa gaattgaaca aatgctfttca caagataaga 7560
 gaatagaggc attggctgaa gatftttccg acaaacatca cgcattgftt cttggacgtg 7620
 gcgatcaata tccaattgca ttggaaggag cfttgaagtt gaaagaaata agttacattc 7680
 acgcagaagc atatgcagct ggagaactca agcatgggtcc tttggcactc atcgacgtg 7740
 acatgcccggt gatcgtagtg gctcctaata acgaactgct cgaaaagctt aatcaata 7800

ES 2 703 169 T3

tcgaagaggt tcgagctaga ggaggtcagc tttacgtttt cgctgaacaa gatgctggat 7860
 tcgtgtcaag cgataatatg catataattg aatgcctca cgttgaagaa gtgattgcac 7920
 ctatatttta tacagtccca ttgcaacttc tagcttacca tgttgcactt attaaaggaa 7980
 ctgatgttga tcagcctaga aacctagcaa aatctgtaac agtcgaataa acgcgtaggc 8040
 ctgccattgg gcgacctggg aacactagag gcgcgcccc gatccgcggt tgtgttttct 8100
 gggtttctca cttaaagcgtc tgcgttttac ttttgtattg ggtttggcgt ttagtagttt 8160
 gcggtagcgt tcttgttatg tgtaattacg ctttttcttc ttgcttcagc agtttcggtt 8220
 gaaatataaa tcgaatcaag tttcacttta tcagcgttgt tttaaatttt ggcattaaat 8280
 tggtgaaaat tgcttcaatt ttgtatctaa atagaagaga caacatgaaa ttcgactttt 8340
 gacctcaaat cttcgaacat ttatttcctg atttcacgat ggatgaggat aacgaaaggg 8400
 cggttcctat gtccgggaaa gttcccgtag aagacaatga gcaaagctac tgaaacgcgg 8460
 acacgacgtc gcattggtac ggatatgagt taaaccgact caattccttt attaagacat 8520
 aaaccgattt tggttaaagt gtaacagtga gctgatataa aaccgaaaca aaccggtaca 8580
 agtttgattg agcaacttga tgacaaaactt cagaattttg gttattgaat gaaaatcata 8640
 gtctaatacgt aaaaaatgta cagaagaaaa gctagagcag aacaaagatt ctatattctg 8700
 gttccaattt atcatcgctt taacgtccct cagatttgat cggggaattc gatatcatta 8760
 ccctgttatc cctaaagctt attaatgttt gtcgaggaga aatatgagtc gaggcatgga 8820
 tacactaagt tcccctgaag tgagcatgat ctttgatgct gagatgattc ccagagcaag 8880
 atagtttgatg ctgcaagtga cacaattgta atgaaaccac cactcaacga atttacttgt 8940
 ggctttgaca tgtcgtgtgc tctgtttgta tttgtgagtg ccggttggtta attatttttg 9000
 ttaatgtgat tttaaaacct cttatgtaaa tagttacttt atctattgaa gtgtgttctt 9060
 gtggcttata gtttctcaaa gggaaattaa aatggtgaca tcccatttac aattgataac 9120
 ttggtataca caaactttgt aaatttggtg atatttatgg tcgaaagaag gcaataccca 9180
 ttgtatgttc caatatcaat atcaatacga taacttgata atactaacat atgattgtca 9240
 ttgtttttcc agtatcaata tacattaagc tactacaaaa ttagtataaa tcactatatt 9300
 ataaatcttt ttcggttgta acttgtaatt cgtgggtttt taaaataaaa gcatgtgaaa 9360
 attttcaaat aatgtgatgg cgcaatttta ttttcogagt tccaaaatat tgccgcttca 9420
 ttacccta at ttgtggcgcc acatgtaaaa caaaagacga ttcttagtgg ctatcactgc 9480
 catcacgcgg atcactaata tgaaccgtcg attaaaacag atcgacgggt tatacatcat 9540
 tttattgtac acacggatcg atatctcagc cgttagattt aatatgcat ctgattgctc 9600
 aaaaaataga ctctccgtct ttgcctataa aaacaatttc acatctttct cacccaaatc 9660

ES 2 703 169 T3

tactcttaac cgttcttctt cttctacaga catcaatttc tctcgactct agaggatcca 9720
agcttatcga tttcgaaccc ctcaggcgaa gaacaggtat gatttgtttg taattagatc 9780
aggggttttag gtctttccat tactttttaa tgttttttct gttactgtct ccgcgatctg 9840
attttacgac aatagagttt cgggttttgt cccattccag tttgaaaata aaggtccgtc 9900
ttttaagttt gctggatcga taaacctgtg aagattgagt ctagtcgatt tattggatga 9960
tccattcttc atcgtttttt tcttgcttcg aagttctgta taaccagatt tgtctgtgtg 10020
cgattgtcat tacctagccg tgtatcgaga actagggttt tcgagtcaat tttgcccctt 10080
ttggttatat ctggttcgat aacgattcat ctggattagg gttttaagtg gtgacgttta 10140
gtattccaat ttcttcaaaa tttagttatg gataatgaaa atcccccaatt gactgttcaa 10200
tttcttgтта aatgcgcaga tcacaatggc ttcgatctcc tcctcagtcg cgaccgttag 10260
ccggaccgcc cctgctcagg ccaacatggt ggctccgttc accggcctta agtccaacgc 10320
cgcttcccc accaccaaga aggctaacga cttctccacc cttcccagca acggtggaag 10380
agttcaatgt atgcaggtgt ggccggccta cggcaacaag aagttcgaga cgctgtcgta 10440
cctgcccgg ctgtctatgg cggccaccgt gatgatggcc tcgtcggcca ccgcccgtcg 10500
tccgttccag gggctcaagt ccaccgccag cctccccgtc gcccgccgct cctccagaag 10560
cctcggcaac gtcagcaacg gcggaaggat ccggtgcatg gccggcgccg aggagatcgt 10620
gctgcagccc atcaaggaga tctccggcac cgtcaagctg ccgggggtcca agtcgctttc 10680
caaccggatc ctctactcg ccgccctgtc cgaggggaca acagtggttg ataacctgct 10740
gaacagtgag gatgtccact acatgctcgg ggccttgagg actcttggtc tctctgtcga 10800
agcggacaaa gctgccaaa gagctgtagt tgttggtgt ggtggaaagt tcccagttga 10860
ggatgctaaa gaggaagtgc agctcttctt ggggaatgct ggaatcgcaa tgcggtcctt 10920
gacagcagct gttactgctg ctggtggaaa tgcaacttac gtgcttgatg gactaccaag 10980
aatgagggag agaccattg gcgacttggg tgtcggattg aagcagcttg gtgcagatgt 11040
tgattgtttc cttggcactg actgcccacc tgttcgtgtc aatggaatcg gagggtacc 11100
tggtggcaag gtcaagctgt ctggctccat cagcagtcag tacttgagtg ccttgctgat 11160
ggctgtcct ttggctcttg gggatgtgga gattgaaatc attgataaat taatctccat 11220
tccgtacgtc gaaatgacat tgagattgat ggagcgtttt ggtgtgaaag cagagcattc 11280
tgatagctgg gacagattct acattaaggg aggtcaaaaa tacaagtccc ctaaaaatgc 11340
ctatggtgaa ggtgatgcct caagcgcaag ctatttcttg gctggtgctg caattactgg 11400
agggactgtg actgtggaag gttgtggcac caccagtttg cagggtgatg tgaagtttg 11460
tgaggtactg gagatgatgg gagcgaaggt tacatggacc gagactagcg taactgttac 11520
tggcccaccg cgggagccat ttgggaggaa acacctcaag gcgattgatg tcaacatgaa 11580

ES 2 703 169 T3

caagatgcct gatgtcgcca tgactcttgc tgtggttgcc ctctttgccg atggcccgcac 11640
agccatcaga gacgtggctt cctggagagt aaaggagacc gagaggatgg ttgcatccg 11700
gacggagcta accaagctgg gagcatctgt tgaggaaggg ccggactact gcatcatcac 11760
gccgccggag aagctgaacg tgacggcgat cgacacgtac gacgaccaca ggatggcgat 11820
ggctttctcc cttgccgcct gtgccgaggt ccccgtcacc atccgggacc ctgggtgcac 11880
ccggaagacc ttccccgact acttcgatgt gctgagcact ttcgtcaaga attaagctct 11940
agaactagtg gatccccga tccgcgtttg tgttttctgg gtttctcact taagcgtctg 12000
cgttttactt ttgtattggg tttggcgttt agtagtttgc ggtagcgttc ttgttatgtg 12060
taattacgct ttttcttctt gcttcagcag tttcggttga aatataaatc gaatcaagtt 12120
tcactttatc agcgttgttt taaatthttg cattaaattg gtgaaaattg cttcaattht 12180
gtatctaaat agaagagaca acatgaaatt cgactthttga cctcaaatct tcgaacattht 12240
atthcctgat ttcacgatgg atgaggataa cgaaagggcg gttcctatgt ccgggaaagt 12300
tcccgtagaa gacaatgagc aaagctactg aaacgcggac acgacgtcgc attggtacgg 12360
atatgagtta aaccgactca atthccttht taagacataa accgatttht gttaaagtgt 12420
aacagtgagc tgatataaaa ccgaaacaaa ccggtacaag tttgattgag caacttgatg 12480
acaaacttca gaatthttgg tattgaaatga aatcatagt ctaatcgtaa aaaatgtaca 12540
gaagaaaagc tagagcagaa caaagattct atattctggg tccaattht catcgttht 12600
acgtccctca gatttgatcg ggaaaccaa acgtcgtgag acagtttggg taactataac 12660
ggtcctaagg tagcgatcga ggcattacgg cattacggca ctcgcgaggg tccgaattcg 12720
agcatggagc catttacaat tgaatatatc ctgccg 12756

<210> 25

<211> 13770

<212> ADN

5 <213> Artificial

<220>

<223> T-ADN de pTEA10

<400> 25

aattacaacg gtatatatcc tgccagtact gggccccctc gagggcgatc gcgcggccgc 60
ttcacggaaa gttgttatat ataagttcag taaataataa tgaaatataa atthtaatta 120
tatctagtac tcaataagaa gatggagaaa gttatgttaa ttatagttat aaattattht 180
taaatttaat atatatatat aaagaaaata gttgtataac taataattat tthtacaata 240
ctthtatatag ttatathttaa aaaaatthtt aaathaaat actatthttt tgtthcaatat 300
atthaatatth atattattht atthattatt gaatatgaat aaatthtttht tgaaaattat 360

ES 2 703 169 T3

atttttaatt tttagaaatt ttatataact ttccatatat atatttctga tttgtcaatt 420
 tcttttgaga tttatctaaa ttgatttgaa ttttttttat ttttaaaaaa taaaataatt 480
 ttaaaatttc ttggaatttt atataaattt ttggattttt caaaaaaat tgagattttt 540
 ttcttttttt tcgatttttt aaatttattt caggaaaata taaactaact tttctttgct 600
 ttgggtataa ttaatattag ataaccacaca aattagatca ataggagctt catgtcctaa 660
 tccatttaa ttacttttgt tgtatcatta atttagtcga ccttacatag tagctctatg 720
 gggcaaatag ttataaatgt taaattagta tttaaatctt gaagttttta atttaaagtt 780
 cagactatta gtattatattc aaatatttaa gggtaaatat atatttctaat atctaagctt 840
 ggggtcaaggt ttaaattaag tacttaaact tggttttata gttcaaattg atttaaataa 900
 ctaagtatta atttgaatta agaagcaaag ttcaagtacc taattagact ataaaaaaaa 960
 cttttgctag taaattgaac cttaaagtcg agtttagtta tctaattgga caaaaaaatc 1020
 ttaaatacca atttaaacc taaagtcaag tttaggtacc aaagtgtata tttatctaat 1080
 atttaaattt gatccaccta atttaaattt ttttggcca atgcaataag agaattaatt 1140
 aatacttaca cacatgatag agatataccc acaacagata cactactaca aaaacattaa 1200
 aaaatagaaa gatataattc ctacaaaatt taaaagcatt taatttttta actaacatta 1260
 gacaaatgga aatggaaaga cttattttta agtttatgga tgaatctaat ttatctaaac 1320
 attgggtttt ttttttttgt gacgaaatat ggggtgagaga aggtagtaag ctaagtaggg 1380
 gagtaatatc tcaaacaaat aattaaaaaa ctcttttaa tgtggctata aatacctgaa 1440
 accaatcctt ctttctcaa ctcaaatctt caatctttag atcatctctc caaaaaata 1500
 ccatgagtaa acggaatccg aagattctga agatttttct gtatatgtta cttctcaact 1560
 ctctctttct catcatctac ttcgtttttc actcatcgtc gttttcagag tccagaatca 1620
 gcaaccggtt atcgagttcc gccacaagga cggtagcagc cttcagaaat cgatgtcatg 1680
 ccaggccagg gacaccgga tcgagttacg gaaatgcgag gcgaccgctt ccctcgccac 1740
 cagcgccttt aactacaat agcccaagtc gcgagcagag tcattatcca cggtagcatg 1800
 gaggttatgc ggacgacgtg acagttagca tgggaccgga cgacgatcgt acagatatct 1860
 ttggccccga aaccgatctc agcgaacgc gccacctcaa cgacgcatac gggtttcggt 1920
 catcccagat caccctcagc gaagatcccc acggcaccca cgcgcgttcc cggtagcagc 1980
 acgaagacga tgtgagcacc acttattcct ccaacacggg caccagcgtc tcaggtgtcg 2040
 acaagttcga gcattacggt cccattccgg aggaaggcaa gcacgagcgg cgcggcgtgc 2100
 gaccaccaca gatgtcgagg aaggaagtcc agctcatcaa cggcgaactc gttctcgagt 2160
 gcaagattcc gactatattg tattcgtttt tgcccaggag agacgaagtg gagtttacgc 2220
 acatgcggta cacagccgtc acttgtgacc ctgatgactt tgttgccagg ggttacaagt 2280

ES 2 703 169 T3

tgcgccagaa tatcggctcgt accgccaggg agacggagct gttcatctgc gtgaccatgt 2340
 acaacgagga cgagttcggg ttcacacgga ctatgcacgc agtgatgaag aacatttcgc 2400
 atttttgttc ccgaaacaag agtaggacgt ggggagcggg tgggtggcag aagattgtgg 2460
 tctgtgtggt ttcggatgga cgagagatca ttcacccccg gaccttggac gccctcgcag 2520
 ccatgggcgt ttaccagcac ggtatcgcca agaactttgt caaccagaag gcggtgcagg 2580
 cccacgttta cgagtacacg acacaagtgt ctctggacag cgacctcaag ttcaagggcg 2640
 ccgagaaggg catcgtgccc tgccagatga ttttttgctt gaaggagaag aaccaaaga 2700
 aactcaactc gcatagatgg ttcttcaacg cctttggcaa agccttgaac ccgaatgtgt 2760
 gtatcctcct agacgtcggc acccgccccg gcggcacaag tctctacat ctctggaaag 2820
 ccttcgacac ggattccaac gtggcggggg cctgcgggga aatcaaagcg atgaaggggc 2880
 ggtttggcgg gaatttgctc aaccctctgg tggctagtca gaactttgag tacaagatga 2940
 gcaatattct ggacaaaccg ttggagtcgg tgtttgggta catcacggtg ttgccgggcg 3000
 ccttgtcggc gtatcggtag catgcgctgc agaacgatga gacgggcat gggccgttga 3060
 gtcagtattt caagggcgag acgctccatg ggcagcacgc ggatgtgttt acggcgaaca 3120
 tgtacttggc cgaggaccga attctgtgtt gggagttggt ggccaagagg ggtgagaggt 3180
 ggggtgtgaa gtatgtgaag ggggtgacgg gtgagacgga tgtgcctgac accgtcccgg 3240
 aattcgtctc gcaacgtcgt cgttggctca acggtgcctt cttcgccgcc gtctactccc 3300
 tcgtccactt tcgacaaatc tggaaaaccg accacacctt tatgcgcaa gccccttctcc 3360
 acgtcgaatt cctctaccac ctccctgcaac tcctcttcac ctacttctcc ctggccaact 3420
 tctacctcgc cttctacttt atcgccggcg gactcgccga tccccacgtc gaccctttta 3480
 actcggacgg ccacgtcgcg cgcacatct tcaacatcct ccgctacgtc tgcgtcctgc 3540
 tgatctgcac acaattcatc ttgtccctcg gcaaccgtcc gcaggggtgcc aaaagaatgt 3600
 atctcgcac catgatcatc tacgccgtca tcatggtgta caccacctc gccaccatct 3660
 tcatcgtcgt gcgacaaatc caaccctctc aaaaatccga cgacaagccc gacctcgaac 3720
 tcggcaacaa cgtcttcacc aacctgatcg tctccgtggc tagtaccctc gggctctact 3780
 tcgtcatgtc ctttctctat ctcgaccctt ggcacatggt cacctcggcc atccagtact 3840
 ttgtcctgct gccttcctac atctgcacgc tccagatota cgccttttgc aacaccacg 3900
 acgtcacatg gggcaccaaa ggcgacaacg tgatgcgcac cgatctcggg ggcgccattg 3960
 gcaaggggag caccgtcga cttgaaatgc cttcggacca actcgacatc gactcgggat 4020
 acgacgaatg tctacgaaat ctccgggatc gcgtcatggt ccctgccgtt cccgtgtccg 4080
 aggaccagct gcagcaggat tactacaagt cgggtgcgcac gtacatggtg gtgtcgtgga 4140

ES 2 703 169 T3

tgggtggccaa cgcgacgctg gccatggcgg tgtcgggaagc gtatggcgat tcggaaattg 4200
 gggataatth ttacttgccg tttatcctgt gggcgggtggc ggcctggcg ctgtttagag 4260
 cgttgggggc gacgacgttt gggcgatta atctgggtgag tgctctcgtg gagggcaggg 4320
 tcaggctgag gttgaatatg aaagggttta ggtggattaa ggagaagtgg ggggatgcgg 4380
 atgtgaaggg caagtttgag gggttggggg atcgggagcag ggggttggcg aggcggtgag 4440
 agctcagttt taaagtagtg tcatgcaaag ccagcaatgg ctagcaagct tggacacgct 4500
 gaaatcacca gtctctctct acaaatctat ctctctctat tttctccata ataatgtgtg 4560
 agtagttccc agataagga attagggttc ctatagggtt tcgctcatgt gttgagcata 4620
 taagaaacc ttagtatgta tttgtatthg taaaatactt ctatcaataa aatttctaath 4680
 tcctaaaacc aaaatccagt actaaaatcc agatcatgca tggtagcagca cgcgctctgc 4740
 aggcccggt taattaagcg gccgcttcac ggaaagttgt tatatataag ttcagtaaat 4800
 aataatgaaa tataaathth aattatatct agtactcaat aagaagatgg agaaagttat 4860
 gttaatata gttataaath atttataaath ttaatataa tatataaaga aatagttgt 4920
 ataactaata atthththth caatactthh tatagttata thhahhhhh ththhahhh 4980
 ahaactat thththgthc aataththh ththththth atthththth ththththth 5040
 tgaataaath ththththgaa atthththth thththththg aaaththth ththththth 5100
 ththththth ththththth caaththth ththththth ththththth ththththth 5160
 ththththth ththththth ththththth atthththth ththththth ththththth 5220
 ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth 5280
 ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth 5340
 ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth 5400
 ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth 5460
 ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth 5520
 ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth 5580
 ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth 5640
 ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth 5700
 ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth 5760
 ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth 5820
 ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth 5880
 ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth 5940
 ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth 6000
 ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth ththththth 6060

ES 2 703 169 T3

agagaaggta gtaagctaag taggggagta atatctcaaa caaataatta aaaaactcct 6120
 ttaaagtgg ctataaatac ctgaaaccaa tccttctttc ctcaactcaa atcttcaatc 6180
 tttagatcat ctctccaaaa aaataccatg tgcggaattg ttggtgctat cgcccaaaga 6240
 gacggtgctg agatthttggt agagggctctg cgaaggctag agtatagagg atatgactcc 6300
 gctggtctgg ctgtcgttga tgctgagggc catatgacaa ggctaagaag gttaggaaag 6360
 gttcagatgc ttgctcaggc agctgaggaa catccattgc atggagggtac tggatttgca 6420
 cataccaggt gggctactca tggggagcca tcagaagtta atgctcatcc acatgtgagt 6480
 gagcatatcg ttgtagttca caatgggata attgaaaacc acgaaccatt gaggggaagag 6540
 ttaaaggcaa gaggatatac ttttgtgagt gagactgaca ctgaggttat tgcacattta 6600
 gtgaactggg aactcaaaca ggggggcaca ttgctgagg ctgtgttaag agctattcct 6660
 caacttagag gtgcatacgg tactgttatt atggattcaa gacaccaga tactctcctt 6720
 gcagctagat caggtagtcc cttggtcata ggacttgga tgggtgaaaa ttttatcgct 6780
 agcgaccaat tggccttatt gccagttaca agacgattta ttttccttga agagggcgat 6840
 attgctgaga ttactagaag gtctgtgaac atctttgata agactggcgc tgaggttaaa 6900
 cgtcaggata tcgagtctaa ccttcaatac gatgctggtg ataaaggaat ttacaggcat 6960
 tatatgcaaa aggaaattta tgaacaacca aatgctatca aaaacacact tactggccgt 7020
 atttctcatg gacaggtoga ttttaagcag cttggtccta atgcagacga actgctatca 7080
 aaagttgagc acatacagat actggcatgc ggaactagtt ataattcagg aatggtgtct 7140
 agatactggt tcgaaagctt ggcaggtata ccttgtgatg tagagatcgc ttctgagttt 7200
 aggtatagaa agtctgctgt gcgtagaaat tcattaatga ttacattatc tcaatccgga 7260
 gaaacagcag atacactggc tggattgagg ctttctaagg aactcggata tctgggttca 7320
 cttgctatth gtaatgtacc aggttcctca ttggttcgtg aatcagatct agcacttatg 7380
 acaaatgcag gaactgaaat aggtgtggca agtaccaagg ctttcacaac ccaactgacc 7440
 gtactthtaa tgttggtagc aaaactcagt cgattaaagg ggctagatgc atctatcgaa 7500
 catgatattg ttcacgggct tcaagctctc ccttcaagaa ttgaacaaat gctthcaca 7560
 gataagagaa tagaggcatt ggctgaagat ttttccgaca aacatcacgc attgthtctt 7620
 ggacgtggcg atcaatatcc aattgcattg gaaggagctt tgaagttgaa agaaataagt 7680
 tacattcacg cagaagcata tgcagctgga gaactcaagc atggctcctt ggcactcatc 7740
 gacgctgaca tgcccgtgat cgtagtggct cctaataacg aactgctcga aaagctthaa 7800
 tcaaatatcg aagaggttcg agctagagga ggtcagctth acgthttcgc tgaacaagat 7860
 gctggattcg tgtcaagcga taatatgcat ataattgaaa tgcctcacgt tgaagaagtg 7920

ES 2 703 169 T3

attgcaccta tattttatac agtcccattg caacttctag cttaccatgt tgcacttatt 7980
 aaaggaactg atgttgatca gcctagaaac ctagcaaaat ctgtaacagt cgaataaacg 8040
 cgtaggccta gttttaaagt agtgtcatgc aaagccagca atgggcgcgc ccccgatccg 8100
 cgtttgtggt ttctggggtt ctcaacttaag cgtctgcggt ttacttttgt attgggtttg 8160
 gcgtttagta gtttgcggtg gcgttcttgt tatgtgtaat tacgcttttt cttcttgctt 8220
 cagcagtttc ggttgaaata taaatcgaat caagtttcac tttatcagcg ttgtttttaa 8280
 ttttggcatt aaattggtga aaattgcttc aattttgtat ctaaatagaa gagacaacat 8340
 gaaattcgac ttttgacctc aaatcttcga acatttattt cctgatttca cgatggatga 8400
 ggataacgaa agggcggttc ctatgtccgg gaaagttccc gtagaagaca atgagcaaag 8460
 ctactgaaac gcggacacga cgtcgcattg gtacggatat gagttaaacc gactcaattc 8520
 ctttattaag acataaacgg attttggtta aagtgtaaca gtgagctgat ataaaaccga 8580
 aacaaaccgg tacaagtttg attgagcaac ttgatgacaa acttcagaat tttggttatt 8640
 gaatgaaaat catagtctaa tcgtaaaaaa tgtacagaag aaaagctaga gcagaacaaa 8700
 gattctatat tctggttcca atttatcatc gctttaacgt ccctcagatt tgatcgggga 8760
 attcgatatac attaccctgt tatccctaaa gcttattaat gtttgtcgag gagaaatatg 8820
 agtcgaggca tggatacact aagttcccct gaagtgagca tgatctttga tgctgagatg 8880
 attcccagag caagatagtt tgtgctgcaa gtgacacaat tgtaatgaaa ccaccactca 8940
 acgaatttac ttgtggcttt gacatgtcgt gtgctctggt tgtatttgtg agtgccggtt 9000
 ggtaattatt tttgtaatg tgatttttaa acctcttatg taaatagtta ctttatctat 9060
 tgaagtgtgt tcttgtggtc tatagtttct caaagggaaa ttaaaatggt gacatcccat 9120
 ttacaattga taacttggtg tacacaaact ttgtaaattt ggtgatattt atggtcgaaa 9180
 gaaggcaata ccattgtat gttccaatat caatatcaat acgataactt gataatacta 9240
 acatatgatt gtcattgttt ttccagtatc aatatacatt aagctactac aaaattagta 9300
 taaatcacta tattataaat ctttttcggt tgtaacttgt aattcgtggg tttttaaaat 9360
 aaaagcatgt gaaaattttc aaataatgtg atggcgcaat tttattttcc gagttccaaa 9420
 atattgccgc ttcattaccc taatttgtgg cgccacatgt aaaacaaaag acgattctta 9480
 gtggctatca ctgccatcac gcggatcact aatatgaacc gtcgattaaa acagatcgac 9540
 ggtttataca tcattttatt gtacacacgg atcgatatct cagccgtagg atttaatatg 9600
 cgatctgatt gctcaaaaaa tagactctcc gtctttgcct ataaaaaaa tttcacatct 9660
 ttctcacca aatctactct taaccgttct tcttcttcta cagacatcaa tttctctcga 9720
 ctctagagga tccaagctta tcgatttcga acccctcagg cgaagaacag gtatgatttg 9780
 tttgtaatta gatcaggggt ttaggtcttt ccattacttt ttaatgtttt ttctgttact 9840

ES 2 703 169 T3

gtctccgcga tctgatttta cgacaataga gtttcggggtt ttgtcccatt ccagtttgaa 9900
 aataaaggtc cgtcttttaa gtttgctgga tcgataaacc tgtgaagatt gagtctagtc 9960
 gatttattgg atgatccatt cttcatcggt tttttcttgc ttcgaagttc tgtataacca 10020
 gatttgtctg tgtgcgattg tcattaccta gccgtgtatc gagaactagg gttttcgagt 10080
 caatthttgcc cctthttggtt atatctgggt cgataacgat tcatctggat tagggthttta 10140
 agtgggtgacg tttagttattc caatthttctc aaaatthtagt tatggataat gaaaatcccc 10200
 aattgactgt tcaatthtctt gttaaatgcy cagatcacia tggcttcgat ctcctcctca 10260
 gtcgcygaccg ttagccggac cgcctctgct caggccaaca tgggtggctcc gttcaccggc 10320
 cttaatgcca acgcccctt cccaccacc aagaaggcta acgacttctc cacccttccc 10380
 agcaacggtg gaagagttca atgtatgcag gtgtggccgg cctacggcaa caagaagttc 10440
 gagacgctgt cgtacctgcc gccgctgtct atggcgccca ccgtgatgat ggcctcgtcg 10500
 gccaccgccc tcgctccgtt ccaggggctc aagtccaccg ccagcctccc cgtcgcctcg 10560
 cgctcctcca gaagcctcgg caacgtcagc aacggcggaa ggatccggtg catggccggc 10620
 gccgaggaga tcgtgctgca gcccatcaag gagatctccg gcaccgtcaa gctgccgggg 10680
 tccaagtgcg tttccaaccg gatcctccta ctgcgcgcc tgtccgaggg gacaacagtg 10740
 gttgataacc tgctgaacag tgaggatgtc cactacatgc tcggggcctt gaggactctt 10800
 ggtctctctg tcgaagcggc caaagctgcc aaaagagctg tagttgthgg ctgtggtgga 10860
 aagthcccag ttgaggatgc taaagaggaa gtgcagctct tcttggggaa tgctggaatc 10920
 gcaatgcggg ccttgacagc agctgttact gctgctgggt gaaatgcaac ttacgtgctt 10980
 gatggagtac caagaatgag ggagagacc attggcgact tggthgtcgg attgaagcag 11040
 cthgggtcag atgttgattg thtccttggc actgactgcc cacctgthcg tgtcaatgga 11100
 atcggagggc tacctggtgg caaggtcaag ctgtctggct ccatcagcag tcagtacttg 11160
 agtgccttgc tgatggctgc tcctthggct cthggggatg tggagattga aatcattgat 11220
 aaatthattc ccatthcgta cgtcgaatg acatthgat tgatggagcg thttggtgtg 11280
 aaagcagagc atthctgatag ctgggacaga thctacatta agggaggtca aaaatacaag 11340
 thcccataaaa atgcctatgt tgaaggtgat gcctcaagcg caagctatth cthggctggt 11400
 gctgcaatta ctggagggac tgtgactgtg gaaggtthgt gcaccaccag thtgcygggt 11460
 gatgtgaagt thgctgaggt actggagatg atgggagcga aggtthacatg gaccgagact 11520
 agcgtaaactg thactggccc accgcgggag ccatthggga ggaaacacct caaggcgatt 11580
 gatgtcaaca tgaacaagat gcctgatgtc gccatgactc thgctgtgggt tgccctctth 11640
 gccgatggcc cgcagccat cagagacgtg gcttctgga gagthaaagga gaccgagag 11700

ES 2 703 169 T3

atggttgcca tccggacgga gctaaccaag ctgggagcat ctggtgagga agggccggac 11760
tactgcatca tcacgccgcc ggagaagctg aacgtgacgg cgatcgacac gtacgacgac 11820
cacaggatgg cgatggcttt ctcccttgcc gcctgtgccg aggtccccgt caccatccgg 11880
gaccctgggt gcacccggaa gaccttcccc gactacttcg atgtgctgag cactttcgtc 11940
aagaattaag ctctagaact agtggatccc ccgatccggc tttgtgtttt ctgggtttct 12000
cacttaagcg tctgcgtttt acttttgtat tgggtttggc gtttagtagt ttgcggtagc 12060
gttcttgta tgtgtaatta cgctttttct tcttgcttca gcagtttcgg ttgaaatata 12120
aatcgaatca agtttcactt tatcagcgtt gttttaaatt ttggcattaa attggtgaaa 12180
attgcttcaa ttttgtatct aaatagaaga gacaacatga aattcgactt ttgacctcaa 12240
atcttcgaac atttatctc tgatttcacg atggatgagg ataacgaaag ggcggttcct 12300
atgtccggga aagttcccgt agaagacaat gagcaaagct actgaaacgc ggacacgacg 12360
tcgcattggt acggatatga gttaaaccga ctcaattcct ttattaagac ataaaccgat 12420
tttggttaaa gtgtaacagt gagctgatat aaaaccgaaa caaacggta caagtttgat 12480
tgagcaactt gatgacaaac ttcagaattt tggttattga atgaaaatca tagtctaate 12540
gtaaaaaatg tacagaagaa aagctagagc agaacaaaga ttctatattc tggttccaat 12600
ttatcatcgc ttaaacgtcc ctgagatttg atcgggaaac caaacgtcg tgagacagtt 12660
tggtaacta taacggctct aaggtagcga tcgaggcatt acggcattac ggcactcgcg 12720
agggccgaa ttcgagcatg gagccattta caattgaata taccctgccg ccgctgccgc 12780
tttgaccccg gtggagcttg catgttggtt tctacgcaga actgagccgg ttaggcagat 12840
aatttcatt gagaactgag ccattgtcac cttccccca acacggtagc cgacggggca 12900
acggagtgat ccacatggga cttttaaaca tcatccgtcg gatggcgttg cgagagaagc 12960
agtcgatccg tgagatcagc cgacgcaccg ggcaggcgcg caacacgatc gcaaagtatt 13020
tgaacgcagc tacaatcgag ccgacgttca cggtagccga acgaccaagc aagctagctt 13080
agtaaagccc tcgctagatt ttaatgcgga tgttgogatt acttcgcaa ctattgogat 13140
aacaagaaaa agccagcctt tcatgatata tctcccaatt tgtgtagggc ttattatgca 13200
cgcttaaaaa taataaaagc agacttgacc tgatagtttg gctgtgagca attatgtgct 13260
tagtgcattc aacgcttgag ttaagccgcg ccgcgaagcg gcgtcggctt gaacgaattg 13320
ttagacatta tttgccgact accttggtga tctcgccttt cacgtagtgg acaaattctt 13380
ccaactgatc tgccgcgcgag gccaaagcgt cttcttcttg tccaagataa gcctgtctag 13440
cttcaagtat gacgggctga tactgggccg gcaggcgtc cattgccag tcggcagcga 13500
catccttcg cgcgatcttg ccggttactg cgctgtacca aatgcgggac aacgtaagca 13560
ctacatttcg ctcatcgcca gccagtcgg gcggcgagtt ccatagcgtt aaggtttcat 13620

ES 2 703 169 T3

ttagcgctc aaatagatcc tgttcaggaa ccggatcaaa gagttcctcc gccgctggac 13680
ctaccaaggc aacgctatgt tctcttgctt ttgtcagcaa gatagccaga tcaatgtcga 13740
tcgtggctgg ctcgaagata cctgcaagaa 13770

REIVINDICACIONES

1. Un gen recombinante para la expresión espacialmente selectiva en una planta de algodón que comprende los siguientes elementos enlazados operativamente:
- (a) un promotor expresable en plantas;
- 5 (b) una región que codifica una molécula de ARN que puede traducirse en un polipéptido o proteína;
- (c) opcionalmente una región de terminación de la transcripción 3' y de poliadenilación
- caracterizada porque dicho gen recombinante comprende además una secuencia objetivo heteróloga reconocida por un miARN endógeno, expresándose dicho miARN de manera menos abundante en las células que conducen a fibras en dicha planta de algodón en comparación con las células de dicha planta de algodón diferente de dichas células que conducen a dichas fibras y en donde dicho miARN tiene una secuencia de nucleótidos seleccionada de la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 20, SEQ ID NO. 21 o SEQ ID NO. 22.
- 10
2. El gen recombinante de la reivindicación 1, en el que dicho gen recombinante comprende una región 3' no traducida que comprende dicha secuencia objetivo.
- 15
3. El gen recombinante de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que dicho promotor expresable de la planta se selecciona de un promotor constitutivo, un promotor inducible, un promotor específico de tejido, un promotor regulado por el desarrollo.
4. El gen recombinante de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho promotor expresable en plantas es un promotor preferente de fibra o selectivo de fibra.
- 20
5. El gen recombinante de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicha secuencia objetivo tiene la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 5, la SEQ ID NO. 5 desde la posición del nucleótido 4 hasta la posición del nucleótido 24, la SEQ ID NO. 6, la SEQ ID NO. 6 desde la posición del nucleótido 4 hasta la posición del nucleótido 24, la SEQ ID NO. 7, la SEQ ID NO. 8, la SEQ ID NO. 23, la SEQ ID NO. 23 desde la posición del nucleótido 4 hasta 24, la SEQ ID NO. 23 desde la posición del nucleótido 11 hasta 32, o la SEQ ID NO. 23 desde las posiciones de nucleótidos 4 hasta 32 o donde dicha secuencia objetivo tiene una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO.1, la SEQ ID NO. 2, la SEQ ID NO. 3, o la SEQ ID NO. 4, la SEQ ID NO. 20, la SEQ ID NO. 21 o la SEQ ID NO. 22, por lo que pueden ocurrir uno o más de las siguientes faltas de coincidencia:
- 25
- (a) una falta de coincidencia entre el nucleótido en el extremo 5' del miARN y la correspondiente secuencia de nucleótidos en la secuencia de ARN objetivo;
- 30
- (b) una falta de coincidencia entre cualquiera de los nucleótidos en la posición 1 hasta la posición 9 del miARN y la correspondiente secuencia de nucleótidos en la secuencia de ARN objetivo;
- (c) tres faltas de coincidencia entre cualquiera de los nucleótidos en la posición 12 hasta la posición 21 del miARN y la correspondiente secuencia de nucleótidos en la secuencia de ARN objetivo siempre que no haya más de dos faltas de coincidencia consecutivas; y
- 35
- (d) no se permite una falta de coincidencia en las posiciones 10 y 11 del miARN.
6. El gen recombinante de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicho ARN codifica (a) un polipéptido con actividad de N-acetilglucosamina transferasa, preferiblemente una N-acetilglucosamina transferasa de tipo NODC, tal como una N-acetilglucosamina transferasa de tipo NODC obtenible de una especie de *Rhizobium*, una especie de *Azorhizobium*, una especie de *Bradyrhizobium*, una especies de *Mesorhizobium*, una especies de *Ralstonia*, una especie de *Streptomyces*, una especies de *Burkholderia*, una especie de *Cupriavidus* o una especie de *Sinorhizobium* o N-acetilglucosamina transferasa que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 13 desde la posición del nucleótido 1503 a la posición del nucleótido 4439 o (b) una quitina sintasa, preferiblemente quitina sintasa 2 de *Saprolegnia monoica* o (c) una glutamina:fructosa-6-fosfato amidotransferasa, que comprende preferiblemente una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 13 desde la posición del nucleótido 6202 a la posición del nucleótido 8031.
- 40
- 45
7. Una célula vegetal de algodón que comprende un gen recombinante de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.
8. Una planta, parte, tejido o semilla de algodón de una planta de algodón que comprende una célula de acuerdo con la reivindicación 7, o que consiste esencialmente en células de acuerdo con la reivindicación 7.
- 50
9. Un procedimiento para producir una planta de algodón con expresión espacialmente selectiva de un gen recombinante, que comprende la etapa de

(a) Introducción de un gen recombinante de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en al menos una célula de dicha planta de algodón;

(b) Opcionalmente, regenerar una planta de algodón a partir de dicha al menos una célula de algodón que comprende dicho gen recombinante.

5 10. Uso de un microARN que comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada de la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 1, la SEQ ID NO. 2, la SEQ ID NO. 3 o la SEQ ID NO. 4 y/o un sitio objetivo que comprende una
10 secuencia de nucleótidos seleccionada de la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID No. 5, la SEQ ID No. 5 desde la posición del nucleótido 4 a la posición del nucleótido 24, la SEQ ID No. 6, la SEQ ID No. 6 desde la posición del
15 nucleótido 4 a la posición del nucleótido 24, la SEQ ID No. 7, la SEQ ID No. 8, la SEQ ID No. 8 desde la posición del nucleótido 4 a la 24, la SEQ ID No. 23, la SEQ ID No. 23 desde la posición del nucleótido 4 a la 24, la SEQ ID No. 23 desde la posición del nucleótido 11 a la 32, o la SEQ ID No. 23 desde la posición del nucleótido 4 a la 32 o una
secuencia objetivo que comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a una secuencia de nucleótidos de miARN seleccionada de la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID No. 1, la SEQ ID No. 2, la SEQ ID
No. 3, las SEQ ID No. 4, la SEQ ID No. 20, la SEQ ID No. 21 o la SEQ ID No. 22, por lo que pueden ocurrir uno o más de las siguientes faltas de coincidencia

(a) una falta de coincidencia entre el nucleótido en el extremo 5' de dicho miARN y la correspondiente secuencia de nucleótidos en la secuencia de ARN objetivo;

(b) una falta de coincidencia entre cualquiera de los nucleótidos en la posición 1 hasta la posición 9 de dicho miARN y la correspondiente secuencia de nucleótidos en la secuencia de ARN objetivo;

20 (c) tres faltas de coincidencia entre cualquiera de los nucleótidos en la posición 12 hasta la posición 21 de dicho miARN y la correspondiente secuencia de nucleótidos en la secuencia de ARN objetivo siempre que no haya más de dos faltas de coincidencia consecutivas; y

(d) no se permite una falta de coincidencia en las posiciones 10 y 11 del miARN;

25 para aumentar la selectividad de la expresión selectiva de la fibra de un gen recombinante en una célula productora de fibra de una planta de algodón.

11. Un procedimiento para aumentar la expresión selectiva de tejidos en una planta de algodón que comprende la etapa de usar un gen recombinante de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

12. Un procedimiento para producir fibras a partir de una planta de algodón que comprende las etapas de

30 (a) cultivar una planta de algodón de acuerdo con la reivindicación 8 o una planta de algodón obtenida por el proceso de la reivindicación 9;

(b) cosechar fibras de dichas plantas de algodón cultivadas.

13. Fibras de algodón obtenidas por el procedimiento de la reivindicación 12 y que comprenden el gen recombinante de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6.

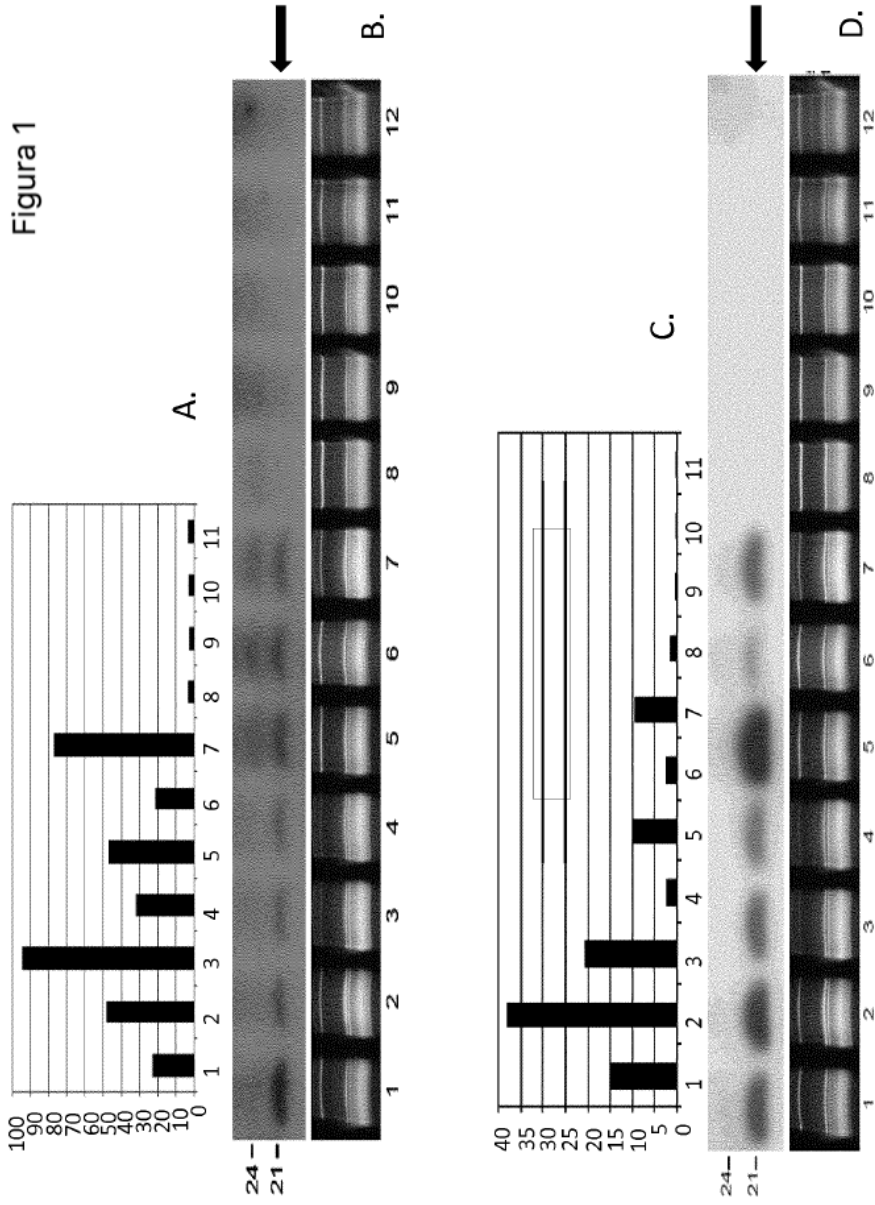
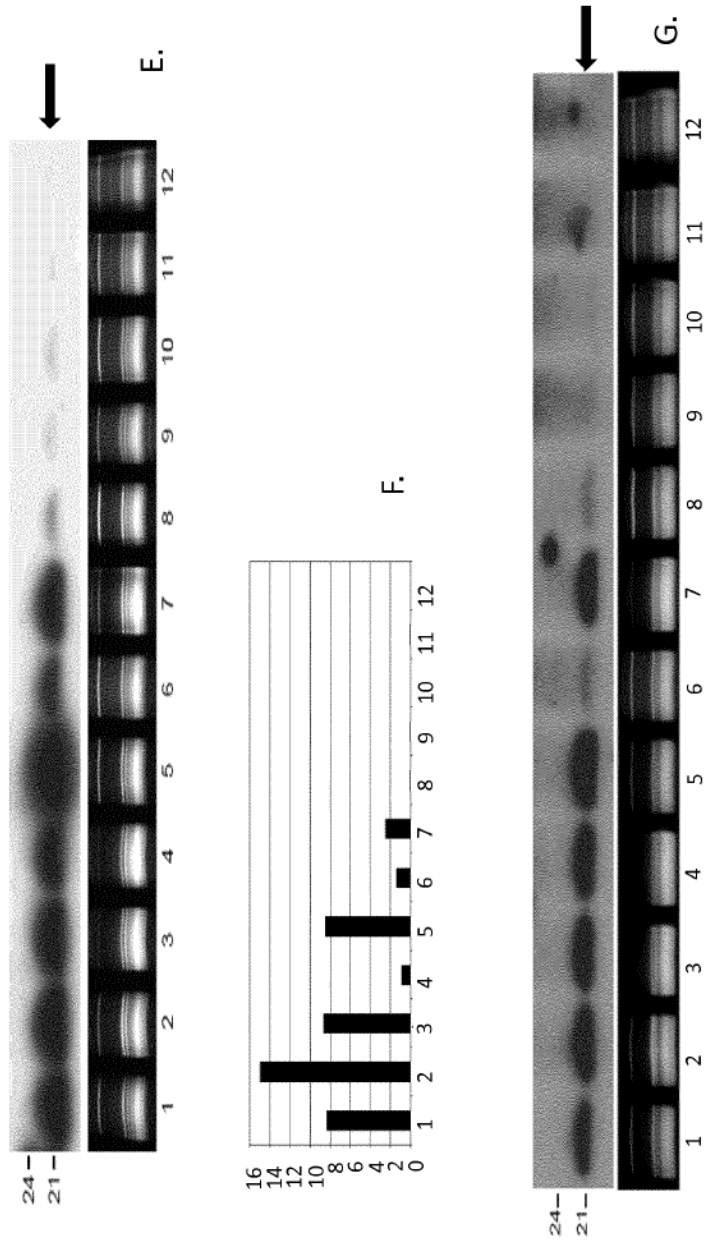


Figura 1 continuación



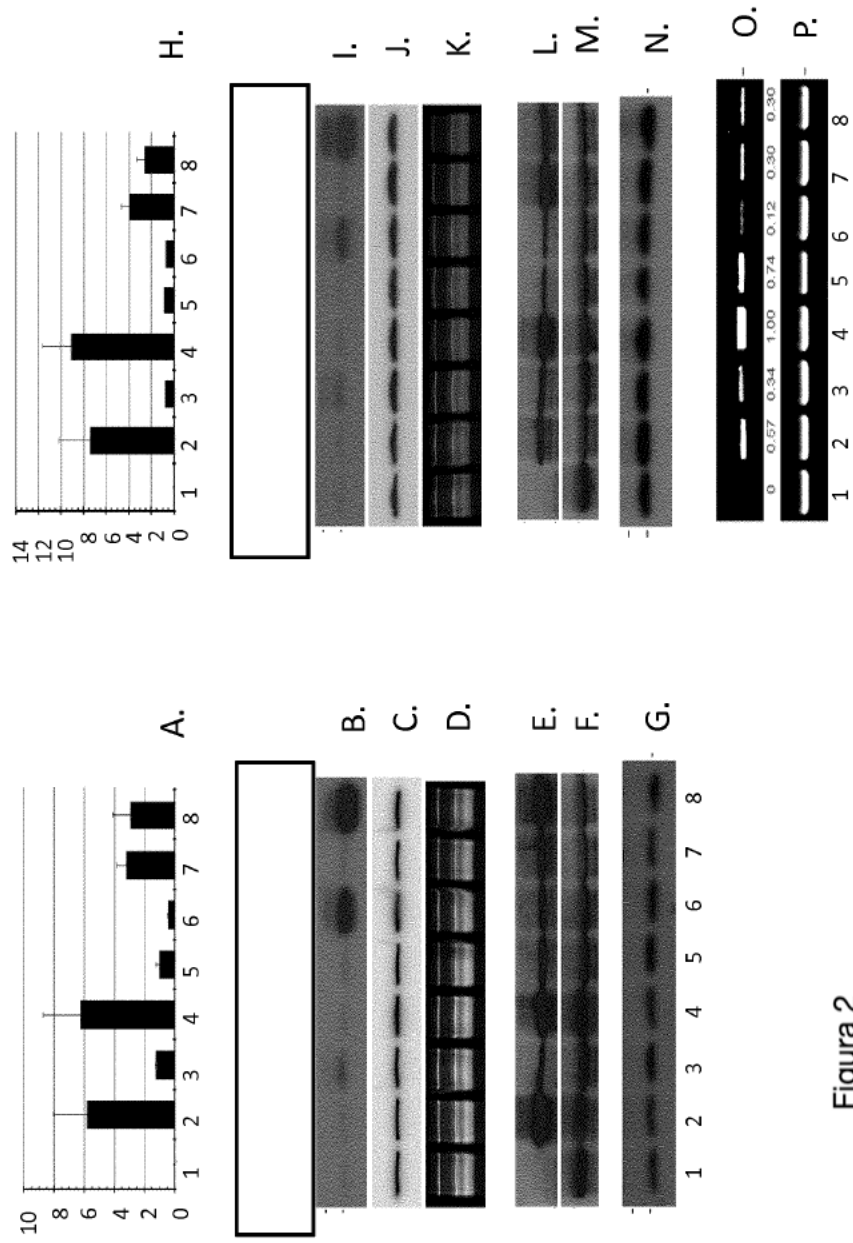


Figure 2

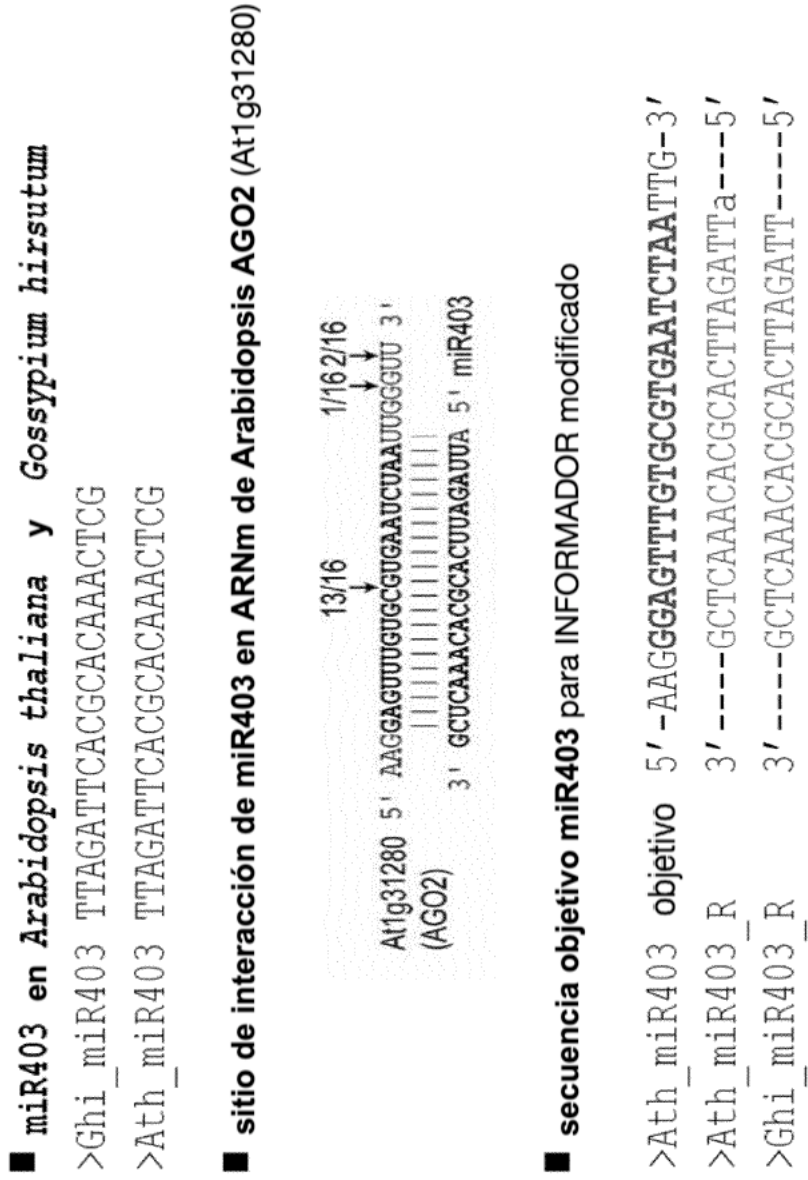


Figura 3


```

1. Ghi_mir408 en FM958 (formas mayor y menor detectadas)
>ghi-mir408.1      5'-AUGCACUGCCUCUUCUCCUGGC_-3'
>ghi-mir408.2      5'_UGCACUGCCUCUUCUCCUGGCU-3'

2. Secuencia objetivo miR408 artificial propuesta
(Para ser modificada en la 3'UTR del transgén de elección)
>miR408_Target    5'-gacGCCGGTGAAGAGGCGAGTGCAAgac-3'
                  ...o.x.....x
>ath_mir408_R      3'-CGGTCCTTCTCCGTCACGTA-5'
    
```

Figura 4

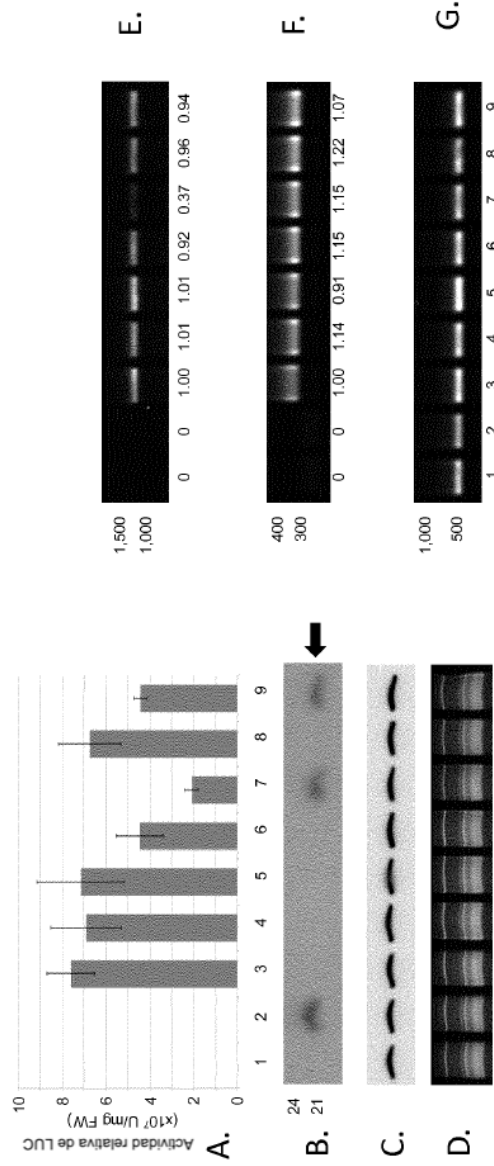


Figura 6