

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 731 954**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

C07K 16/34 (2006.01)

C12N 15/85 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.02.2013 PCT/FR2013/050267**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.08.2013 WO13117871**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.02.2013 E 13709486 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.04.2019 EP 2812435**

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

30 Prioridad:

08.02.2012 FR 1251185

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.11.2019

73 Titular/es:

**LABORATOIRE FRANÇAIS DU
FRACTIONNEMENT ET DES BIOTECHNOLOGIES
(100.0%)
3, Avenue des Tropiques, ZA de Courtaboeuf
91940 Les Ulis, FR**

72 Inventor/es:

**FONTAYNE, ALEXANDRE y
COUTARD, FRANÇOIS**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 731 954 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

Unidades de transcripción y su utilización en vectores de expresión

5 La presente invención se refiere a nuevas unidades de transcripción susceptibles de utilizarse en vectores de expresión.

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

10 Los genes que codifican las proteínas recombinantes se introducen generalmente en un vector de expresión circular.

La solicitud WO2011/062298 A1 divulga una unidad de transcripción que permite la expresión de una proteína recombinante, que comprende un promotor β -actina, un potenciador CMV, y que puede también comprender una región reguladora R (RU5'), especialmente una región reguladora R del 5' de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1, directamente en la posición 5' de la secuencia que codifica la proteína a expresar.

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

Uno de los objetivos de la invención es poner a disposición una unidad de transcripción universal que permite proporcionar una mejor capacidad de transcripción y de expresión de una proteína de interés con respecto a los vectores de expresión tradicionales.

25 Otro objetivo de la invención es proporcionar una unidad de transcripción que permite limitar el tamaño de vector de expresión, a fin de limitar los problemas de clonación o de eficacia de transfección en líneas de expresión

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

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

35 La presente descripción se refiere especialmente a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

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

45 • un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora, o

• la región promotora de la β -actina, teniendo dicha región promotora la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o

50 • un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora.

Se entiende por «elementos reguladores» en el sentido de la presente invención, unos elementos genómicos no codificante que permiten controlar la transcripción o la traducción de un ácido nucleico codificante.

55 Se entiende por «unidad de transcripción» un polinucleótido en el que puede fijarse una ARN polimerasa, que permite sintetizar un ARNm a partir de un gen de interés relacionado con dicha unidad de transcripción.

60 Se entiende por «región promotora», una región de ADN que contiene en general una secuencia de ADN particular que permite inicializar la transcripción de un gen de interés particular.

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

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

5 Un promotor está en general cerca (de una veintena a un centenar de nucleótidos) del gen de interés a controlar y está situado en la posición 5' del sitio de inicio de la transcripción de un gen. La presencia de un promotor es esencial para la transcripción de un gen particular.

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

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

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

20 “Un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora” contenido en una unidad de transcripción según la presente invención es un ácido nucleotídico que posee esencialmente la misma capacidad para inicializar la transcripción de gen que la de la región promotora del gen de la β -actina, representada por la secuencia SEQ ID NO: 3.

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

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

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

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

40 Las propiedades de activación de la transcripción de un gen pueden determinarse según el método descrito por la utilización de los genes indicadores como la luciferasa.

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

45 En consecuencia, una unidad de transcripción según la presente invención puede comprender:

- el potenciador del virus hCMVie, teniendo dicho potenciador la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y
- al menos otro potenciador seleccionado entre un SV40 potenciador y un E μ potenciador.

El porcentaje de identidad entre dos secuencias de ácidos nucleicos se puede calcular según la fórmula siguiente:

$$\frac{\text{número de residuos idénticos} \times 100}{\text{número de residuos de la secuencia más corta}}$$

55 En un modo de realización particular de la invención, el potenciador se sitúa en la posición 5' de la región promotora. Dicho de otra manera, el potenciador está situado en el extremo 5' del ADN de la región promotora.

La presente descripción divulga también una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

ES 2 731 954 T3

- un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y
- 5 (ii) - la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9), teniendo dicha región promotora la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, o
- un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID: NO 2 y que posee esencialmente una actividad promotora.
- 10 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9.
- La presente descripción divulga también una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:
- 15 (i) - el potenciador del virus hCMVie, teniendo dicho potenciador la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o
- un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y
- 20 (ii) - la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9), teniendo dicha región promotora la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, o
- un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID: NO 2 y que posee esencialmente una actividad promotora, situándose dicho potenciador en la posición 5' de la región promotora.
- 25 La presente descripción divulga también en otro modo de realización particular, una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:
- 30 (i) - el potenciador del virus hCMVie, teniendo dicho potenciador la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o
- un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y
- 35 (ii) - la región promotora de la β -actina, teniendo dicha región promotora la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o
- un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora.
- 40 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina.
- La presente descripción divulga también en un modo de realización más particular, una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:
- 45 (i) - el potenciador del virus hCMVie, teniendo dicho potenciador la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o
- un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y
- 50 (ii) - la región promotora de la β -actina, teniendo dicha región promotora la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o
- un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora, situándose dicho potenciador en la posición 5' de la región promotora.
- 55 Una unidad de transcripción según la presente invención puede comprender también un ácido nucleotídico situado en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción, comprendiendo dicho ácido nucleotídico al menos una de las regiones 5' no traducida (5' UTR) seleccionada entre las siguientes:
- 60 (i) - la región reguladora R de Repetición terminal larga (LTR) (RU-5') del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4 (U1), o
- un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4,

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

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

5 (iii) - la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6 (U3), o

- un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6,

10 teniendo dichos ácidos nucleotídicos al menos un 70% de identidad con una de las secuencias representadas por las secuencias SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 o SEQ ID NO: 6 y teniendo esencialmente unas propiedades de estabilización de los ARNm y de facilitador de la traducción.

15 Las propiedades de estabilización de los ARNm y de los facilitadores de la traducción pueden medirse por Fritz *et al.* (Sci. STKE, 5 de diciembre de 2000, Vol. 2000, Issue 61, p.11).

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

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

30 "Los ácidos nucleotídicos que tienen al menos un 70% de identidad con una de las secuencias representadas por las secuencias SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 o SEQ ID NO: 6" contenidos en las unidades de transcripción según la presente invención permiten la fijación de ribosoma y la estabilización de los ARNm.

35 Dicho ácido nucleotídico situado en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción puede comprender una sola región 5'UTR seleccionada entre:

(i) - la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4 (U1), o

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

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

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

40 (iii) - la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6 (U3), o

- un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6.

45 Se entiende por una región 5'UTR "situada en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción" una región 5'UTR situada después del extremo 3' del ADN de la región promotora y antes del extremo 5' del ADN del sitio de iniciación de la traducción.

50 Dicho ácido nucleotídico situado en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción puede comprender dos regiones 5'UTR.

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

55 Un dicho ácido nucleotídico utilizado en una unidad de transcripción según la presente invención puede comprender la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 y la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF), estando dicho ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 7, o siendo un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 7. El ácido nucleotídico obtenido se designa por U1U2.

60 Dicho ácido nucleotídico utilizado en una unidad de transcripción según la presente invención puede también comprender la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 y la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI), estando dicho ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 8, siendo un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 8.
65 El ácido nucleotídico obtenido se designa por U1U3.

5 Dicho ácido nucleotídico utilizado en una unidad de transcripción puede también comprender la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) y la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI), estando dicho ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 9 o siendo un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 9. El ácido nucleotídico obtenido se designa por U2U3.

10 Dicho ácido nucleotídico situado en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción puede también comprender tres regiones 5'UTR, a saber la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1, la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) y la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI), estando dicho ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 10 o siendo un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 10. El ácido nucleotídico obtenido se designa por U1U2U3.

15 La presente descripción se refiere también a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

(iii) la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4,

30 estando dicha región 5' UTR situada en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción.

35 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 14 y constituido de:

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

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

40 (iii) la región 5'UTR del LTR del virus HTLV-1, representada por la secuencia SEQ ID NO: 4,

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

45 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1, también denominada E2-CDK9-U1.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

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

60 estando dicha región 5' UTR situada en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción.

65 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 15 y constituido de:

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

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

5 (iii) la región 5' UTR del gen NRF, representada por la secuencia SEQ ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 15.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U2, también denominada E2-CDK9-U2.

10 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

20 (iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6,

25 estando dicha región 5' UTR situada en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción.

La presente descripción se refiere en particular a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 16 y constituido de:

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

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

35 (iii) la región 5' UTR del gen eIF4GI representada por la secuencia SEQ ID NO: 6,

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

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U3 también denominada E2-CDK9-U3.

40 La presente descripción se refiere también a una unidad de transcripción que comprende dos regiones 5'UTR. Tal unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

55 (iii) la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4, y

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

60 estando las regiones 5' UTR situadas en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 17 y constituido de:

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

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

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

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

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1U2 también denominada E2-CDK9-U1U2.

10 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción que comprende dos regiones 5'UTR. Tal unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

20 (iii) la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4, y

25 (iv) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6,

estando las regiones 5' UTR situadas en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción.

30 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 18 y constituido de:

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

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

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

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

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1U3 también denominada E2-CDK9-U1U3.

45 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción que comprende dos regiones 5'UTR. Tal unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

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

(iv) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6,

60 estando las regiones 5' UTR situadas en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción.

65 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 19 y constituido de:

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

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

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

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

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U2U3 también denominada E2-CDK9-U2U3.

10

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción que comprende tres regiones 5'UTR. Tal unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

(iii) la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4,

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

30 (v) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6,

estando las regiones 5' UTR situadas en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción.

35 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 20 y constituido de:

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

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

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 10,

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

45

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1U2U3, también denominada E2-CDK9-U1U2U3.

La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular, a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

50

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

55 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora, y

60 (iii) la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4,

estando dicha región 5' UTR situada en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción.

La presente descripción divulga también un modo de realización, en el que una unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 21 y constituido de:

- 5 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, y
(iii) la región R del LTR del virus HTLV-1 representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4,
10 o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 21.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U1, también denominada E2-bActina-U1.

15 La presente descripción divulga también otro modo de realización en el que la unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
20 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora, y
25 (iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF- κ B (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 5,
estando dicha región 5' UTR situada en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción.
30

La presente descripción divulga también un modo de realización particular, en el que una unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 22 y constituido de:

- 35 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, y
40 (iii) la región 5' UTR del gen NRF que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 5,
o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 22.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U2, también denominada E2-bActina-U2.

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

- (i) el potenciador del virus hCMVie representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
50 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora, y
55 (iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6,
60 estando dicha región 5' UTR situada en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción.

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

65

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, y

(iii) la región 5' UTR del gen eIF4GI que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6,

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

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U3, también denominada E2-bActina-U3.

La presente descripción divulga también otro modo de realización particular, en el que una unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4, y

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

estando las regiones 5' UTR situadas en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción.

La presente descripción divulga también un modo de realización particular en el que una unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 24 y constituido de:

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, y

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

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

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U1U2, también denominada E2-bActina-U1U2.

La presente invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4, y

(iv) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6,

estando las regiones 5' UTR situadas en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción.

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

- 5 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, y
 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 8,

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

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U1U3, también denominada E2-bActina-U1U3.

15 La presente descripción divulga también otro modo de realización particular, en el que una unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,

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

(iv) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6,

estando las regiones 5' UTR situadas en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción.

35 La presente descripción divulga también un modo de realización particular en el que una unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 26 y constituido de:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, y
 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 9,

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

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U2U3, también denominada E2-bActina-U2U3.

50 La presente descripción divulga también otro modo de realización particular, en el que una unidad de transcripción puede comprender tres regiones 5'UTR. Tal unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4,

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

(v) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6,

5 estando las regiones 5'UTR situadas en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción.

10 La presente descripción divulga también en un modo de realización más particular, una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 27 y constituido de:

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

15 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia SEQ ID NO: 3, y

(iii) la región 5'UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 10,

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

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U1U2U3, también denominada E2-bActina-U1U2U3.

25 Una unidad de transcripción según la presente invención puede comprender también un intrón situado en la posición 3' de dicha región promotora.

Se entiende por "intrón", una parte no codificante de un gen. Un intrón está situado frecuentemente entre dos exones. Después de la transcripción, esta parte se escinde del ARN para dar el ARN mensajero. La presencia de un intrón heterólogo permite optimizar la expresión de los genes exógenos en una construcción de ADN.

30 En la construcción de una unidad de transcripción según la presente invención, un intrón puede estar situado:

(i) en la posición 3' de la región 5' UTR y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción, o

35 (ii) en la posición 3' del promotor y en la posición 5' de la región 5'UTR, o

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

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

Se entiende por "un intrón situado en la posición 3' de dicha región promotora" un intrón situado después de 3' del ADN de la región promotora.

Dicho intrón se puede seleccionar entre los siguientes:

45 • el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11,

50 • el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12,

• el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.

55 Así, la presente descripción divulga también una unidad de transcripción que comprende:

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

60 (ii) una región promotora seleccionada entre:

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

65

o la β -actina, teniendo dicha región promotora la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora, y

5 (iii) un intrón seleccionado entre:
o el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11,

10 o el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12,

15 o el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.

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

20 estando dicho intrón situado:

(i) en la posición 3' de la región 5' UTR y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción, o

25 (ii) en la posición 3' del promotor y en la posición 5' de la región 5'UTR, o

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

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

30 La presente descripción divulga también una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

(iii) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.

45 La presente descripción divulga también un modo de realización más particular en el que una unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 28 y constituido de:

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

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

(iii) el intrón del gen EF1 α representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 28.

55 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-EF1 α , también denominada E2-CDK9-EF1a.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

5 (iii) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 29 y constituido de:

- 10 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- (ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, y
- 15 (iii) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12,
- o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 29.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-mROSA, también denominada E2-CDK9-mROSA.

20 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

(iii) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.

35 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 30 y constituido de:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- 40 (ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, y
- (iii) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 30.

45 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-hROSA, también denominada E2-CDK9-hROSA.

La presente descripción divulga también un modo de realización particular que se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora, y

(iii) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.

60 La presente descripción divulga también un modo de realización más particular en el que una unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 31 y constituido de:

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, y

(iii) el intrón del gen EF1 α representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11,

5 o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 31.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-EF1 α , también denominada E2-bActina-EF.

10 La presente descripción divulga también un modo de realización particular que se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

15 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora, y

20 (iii) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12.

25 La presente descripción divulga también un modo de realización más particular en el que una unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 32 y constituido de:

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

30 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, y

(iii) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 32.

35 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-mROSA, también denominada E2-bActina-mROSA.

40 La presente descripción divulga también un modo de realización particular que se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

45 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora, y

50 (iii) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.

55 La presente descripción divulga también un modo de realización más particular en el que una unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 33 y constituido de:

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, y

60 (iii) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 33.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-hROSA, también denominada E2-bActina-hROSA.

65 La presente descripción divulga también una unidad de transcripción que comprende:

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

5 (ii) una región promotora seleccionada entre:

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

10 o la β -actina, teniendo dicha región promotora la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,

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

o la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4,

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

25 o la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6, y

(iv) un intrón seleccionado entre:

30 o el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11,

o el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12,

35 o el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.

estando dicho potenciador situado en 5' o en 3' de la unidad de transcripción, o en el interior de la secuencia codificante o en un intrón; estando dicha región promotora situada en la posición 5' de la región 5'UTR; estando dicho intrón situado:

40 (i) en la posición 3' de la región 5' UTR y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción, o

45 (ii) en la posición 3' del promotor y en la posición 5' de la región 5'UTR, o

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

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

50 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

60 (iii) la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4, y

65 (iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 34 y constituido de:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
 - (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,
 - (iii) la región R del LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, y
 - (iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11,
- o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 34.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1-EF1 α , también denominada E2-CDK9-U1-EF.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
- (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,
- (iii) la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4, y
- (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 35 y constituido de:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,
- (iii) la región R del LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, y
- (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 35.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1-mROSA, también denominada E2-CDK9-U1-mROSA.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción, y
- (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID: NO 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,
- (iii) la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4, y
- (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.

La presente descripción divulga también una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 36 y constituido de:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,
- (iii) la región R del LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, y
- (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 36.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1-hROSA, también denominada E2-CDK9-U1-hROSA.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
- (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID: NO 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,
- (iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF- κ B (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 5, y
- (iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 37 y constituido de:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,
- (iii) la región 5' UTR del gen NRF que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 5, y
- (iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 37.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U2-EF1 α , también denominada E2-CDK9-U2-EF.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
- (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,
- (iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF- κ B (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 5, y
- (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 38 y constituido de:

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

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

(iii) la región 5' UTR del gen NRF que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 5, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12,

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

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U2-mROSA, también denominada E2-CDK9-U2-mROSA.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

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

(iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 39 y constituido de:

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

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

(iii) la región 5' UTR del gen NRF que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 5, y

(iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 39.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U2-hROSA, también denominada E2-CDK9-U2-hROSA.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6, y

(iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.

5 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 40 y constituido de:

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

10 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen eIF4GI que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, y

15 (iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 40, y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción superiores a las del potenciador CMV asociado a la región promotora de CDK9.

20 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U3-EF1 α , también denominada E2-CDK9-U3-EF.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

35 (iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12,

40 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 41 y constituido de:

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

45 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen eIF4GI que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, y

50 (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 41.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U3-mROSA, también denominada E2-CDK9-U3-mROSA.

55 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6, y

5 (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13,

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 42 y constituido de:

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

15 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen eIF4GI que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, y

20 (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 42.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U3-hROSA, también denominada E2-CDK9-U3-hROSA.

25 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

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

40 (iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 43 y constituido de:

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

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

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

(iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 43.

55 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1U2-EF1 α , también denominada E2-CDK9-U1U2-EF.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

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

5 (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 44 y constituido de:

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

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

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

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12,

20 o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 44.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1U2-mROSA, también denominada E2-CDK9-U1U2-mROSA.

25 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

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

(iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 45 y constituido de:

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

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

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

(iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 45.

55 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1U2-hROSA, también denominada E2-CDK9-U1U2-hROSA.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

5 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 8, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 8, y

(iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.

10 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 46 y constituido de:

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

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

20 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 8, y

(iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 46.

25 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1U3-EF1 α , también denominada E2-CDK9-U1U3-EF.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 8, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 8, y

40 (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12.

45 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 47 y constituido de:

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

50 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,

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

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12,

55 o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 47.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1U3-mROSA, también denominada E2-CDK9-U1U3-mROSA.

60 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

5 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 9, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 9, y

10 (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 48 y constituido de:

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

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

20 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 8, y

(iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 48.

25 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1U3-hROSA, también denominada E2-CDK9-U1U3-hROSA.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

40 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 9, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 9, y

(iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.

45 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 49 y constituido de:

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

50 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,

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

55 (iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 49.

60 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U2U3-EF1 α , también denominada E2-CDK9-U2U3-EF.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
- 5 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,
- 10 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 9, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 9,
- (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12.
- 15 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 50 y constituido de:
- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- 20 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,
- (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 9, y
- 25 (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12,
- o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 50.
- La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U2U3-mROSA, también denominada E2-CDK9-UU2U3-mROSA.
- 30 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:
- 35 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
- 40 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,
- (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 9, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 9, y
- 45 (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.
- La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 51 y constituido de:
- 50 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,
- 55 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 9, y
- (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 51.
- 60 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U2U3-hROSA, también denominada E2-CDK9-U2U3-hROSA.
- 65 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- 5 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
- (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,
- 10 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 10, y
- (iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.
- 15 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 52 y constituido de:
- 20 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,
- (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 10, y
- 25 (iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11,
- o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 52.
- 30 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1U2U3-EF1 α , también denominada E2-CDK9-U1U2U3-EF.
- La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:
- 35 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
- 40 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,
- (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 10, y
- 45 (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12.
- 50 La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 53 y constituido de:
- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- 55 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,
- (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 10, y
- 60 (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12,
- o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 53.
- La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1U2U3-mROSA, también denominada E2-CDK9-U1U2U3-mROSA.
- 65

ES 2 731 954 T3

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- 5 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
- 10 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,
- (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 10, y
- 15 (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.

La presente descripción divulga en particular una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 54 y constituido de:

- 20 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,
- 25 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 10, y
- (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 54.
- 30

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1U2U3-hROSA, también denominada E2-CDK9-U1U2U3-hROSA.

35 La presente descripción se refiere, según un modo de realización particular a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- 40 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
- (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,
- 45 (iii) la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4, y
- (iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.
- 50

En un modo de realización más particular La presente descripción se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 55 y constituido de:

- 55 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3,
- (iii) la región R del LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4,
- 60 (iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11,
- o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 55.
- 65 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U1-EF1 α , también denominada E2-bActina-U1-EF.

La presente descripción se refiere, según un modo de realización particular a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- 5 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
- 10 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,
- 15 (iii) la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4, y
- (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12.

La presente descripción se refiere, según un modo de realización más particular, a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 56 y constituido de:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- 25 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3,
- (iii) la región R del LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, y
- (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12,
- 30 o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 56.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U1-mROSA, también denominada E2-bActina-U1-mROSA.

La presente descripción se refiere, según un modo de realización particular a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- 40 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
- 45 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,
- (iii) la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4, y
- 50 (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.

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

- 55 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3,
- 60 (iii) la región R del LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, y
- (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 57.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U1-hROSA, también denominada E2-bActina-U1-hROSA.

La presente descripción se refiere, según un modo de realización particular a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- 5 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
- 10 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,
- (iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF- κ B (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 5, y
- 15 (iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.

La presente descripción se refiere, según un modo de realización más particular, a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 58 y constituido de:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- 25 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3,
- (iii) la región 5' UTR del gen NRF que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 5, y
- (iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11,
- 30 o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 58.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U2-EF1 α , también denominada E2-bActina-U2-EF.

La presente descripción se refiere, según un modo de realización particular a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- 40 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
- (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,
- 45 (iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF- κ B (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 5, y
- (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12.
- 50

La presente descripción se refiere, según un modo de realización más particular, a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 59 y constituido de:

- 55 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3,
- (iii) la región 5' UTR del gen NRF que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 5, y
- 60 (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12,
- o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 59.

65 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U2-mROSA, también denominada E2-bActina-U2-mROSA.

La presente descripción se refiere, según un modo de realización particular a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- 5 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
- 10 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,
- 15 (iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF- κ B (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 5, y
- (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.

20 La presente descripción se refiere, según un modo de realización más particular, a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 60 y constituido de:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- 25 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3,
- (iii) la región 5' UTR del gen NRF que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 5, y
- 30 (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13,
- o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 60.

35 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U2-hROSA, también denominada E2-bActina-U2-hROSA.

La presente descripción se refiere, según un modo de realización particular a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- 40 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
- 45 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,
- 50 (iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6, y
- (iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.

55 La presente descripción se refiere, según un modo de realización más particular, a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 61 y constituido de:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- 60 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3,
- (iii) la región 5' UTR del gen eIF4GI que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, y
- 65 (iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11,
- o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 61.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U3-EF1 α , también denominada E2-bActina-U3-EF.

5 La presente descripción se refiere, según un modo de realización particular a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

10 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,

15 (iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6, y

20 (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12,

La presente descripción se refiere, según un modo de realización más particular a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 62 y constituido de:

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3,

30 (iii) la región 5' UTR del gen eIF4GI que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12,

35 o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 62.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U3-mROSA, también denominada E2-bActina-U3-mROSA.

40 La presente descripción se refiere, según un modo de realización particular a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

45 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,

50 (iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6, y

55 (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13,

La presente descripción se refiere, según un modo de realización más particular, a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 63 y constituido de:

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3,

65 (iii) la región 5' UTR del gen eIF4GI que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, y

(iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 63.

5 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U3-hROSA, también denominada E2-bActina-U3-hROSA.

La presente descripción se refiere, según un modo de realización particular a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

15 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,

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

(iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11,

o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.

25 La presente descripción se refiere, según un modo de realización más particular a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 64 y constituido de:

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3,

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

(iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11,

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

40 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U1U2-EF1 α , también denominada E2-bActina-U1U2-EF.

La presente descripción se refiere, según un modo de realización particular a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

50 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,

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

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12.

60 La presente descripción se refiere, según un modo de realización más particular, a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 65 y constituido de:

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3,

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

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 65.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U1U2-mROSA, también denominada E2-bActina-U1U2-mROSA.

La presente descripción se refiere, según un modo de realización particular a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,

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

(iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.

La presente descripción se refiere, según un modo de realización más particular, a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 66 y constituido de:

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3,

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

(iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13,

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

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U1U2-hROSA, también denominada E2-bActina-U1U2-hROSA.

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

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 8, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 8, y

(iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.

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

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

- (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3,
- (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 8, y
- 5 (iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 67.
- 10 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-pactina-U1U3-EF1 α , también denominada E2-bActina-U1U3-EF.
- Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:
- 15 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
- 20 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,
- (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 8, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un
- 25 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 8, y
- (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12.
- 30 En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 68 y constituido de:
- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- 35 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3,
- (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 8, y
- 40 (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 68.
- La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U1U3-mROSA, también denominada E2-bActina-U1U3-mROSA.
- 45 Un modo de realización particular de la invención se refiere a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:
- 50 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
- (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido
- 55 nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,
- (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 8, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un
- 60 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 9, y
- (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.
- En un modo de realización más particular de la invención, una unidad de transcripción según la invención está
- 65 constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 69 y constituido de:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3,
(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 8, y
(iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 69.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U1U3-hROSA, también denominada E2-bActina-U1U3-hROSA.

La presente descripción se refiere, según un modo de realización particular a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 9, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 9, y

(iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.

La presente descripción se refiere, según un modo de realización más particular, a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 70 y constituido de:

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3,

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

(iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11,

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

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U2U3-EF1 α , también denominada E2-bActina-U2U3-EF.

La presente descripción se refiere, según un modo de realización particular a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 9, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 9, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12.

La presente descripción se refiere, según un modo de realización más particular, a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 71 y constituido de:

- 5 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3,
 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 9, y
 10 (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 71.

15 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U2U3-mROSA, también denominada E2-bActina-U2U3-mROSA.

La presente descripción se refiere, según un modo de realización particular a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- 20 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
 25 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,
 30 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 9, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 9, y

(iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.

35 La presente descripción se refiere, según un modo de realización más particular, a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 72 y constituido de:

- 40 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3,
 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 9,
 45 (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 72.

50 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U2U3-hROSA, también denominada E2-bActina-U2U3-hROSA.

La presente descripción se refiere, según un modo de realización particular a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- 55 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,
 60 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 10, y
 65

(iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.

5 La presente descripción se refiere, según un modo de realización más particular, a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 73 y constituido de:

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

10 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 10, y

15 (iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 73.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U1U2U3-EF1 α , también denominada E2-bActina-U1U2U3-EF.

20 La presente descripción se refiere, según un modo de realización particular a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

30 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 10, y

35 (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12.

40 La presente descripción se refiere, según un modo de realización más particular, a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 74 y constituido de:

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

45 (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 10, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12,

50 o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 74.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U1U2U3-mROSA, también denominada E2-bActina-U1U2U3-mROSA.

55 La presente descripción se refiere, según un modo de realización particular a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y que posee esencialmente una actividad promotora,

65

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 10, y

(iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13,

o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.

La presente descripción se refiere, según un modo de realización más particular, a una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 75 y constituido de:

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 10, y

(iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 75.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV- β actina-U1U2U3-hROSA, también denominada E2-bActina-U1U2U3-hROSA.

La presente invención se refiere, en un modo de realización ventajoso, a una unidad de transcripción, comprendiendo dicha unidad de transcripción el potenciador del virus hCMVie, la región promotora de la β -actina, la región 5'UTR del virus HTLV-1 (U1) y la región 5' UTR es la del gen eIF4GI (U3), teniendo dicha unidad de transcripción la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 25, o una secuencia nucleotídica que presenta al menos un 70% de identidad con la SEQ ID NO: 25 y que permite una producción volúmica de una proteína de interés superior a la obtenida con la combinación del potenciador CMV asociado a la región promotora de la β -actina.

Se entiende por una "producción volúmica", una cantidad de proteína expresada en masa por unidad de volumen (g/l) también denominada título en proteína o concentración de la proteína de interés.

La presente invención se refiere también a un vector de expresión que comprende al menos una unidad de transcripción tal como se ha definido anteriormente y al menos un sitio de clonación que permite la integración de un ácido nucleotídico que codifica para una proteína de interés.

Dicho ácido nucleotídico puede ser de ADN genómico o de ADNc.

Por "sitio de clonación", se entiende un segmento corto de ADN que comprende varios sitios de restricción, reconocidos respectivamente por diferentes enzimas de restricción.

La presente invención se refiere también a un vector de expresión que comprende al menos una unidad de transcripción tal como se ha definido anteriormente y al menos un sitio para la recombinación de sitio específico que permite la integración de un ácido nucleotídico que codifica para una proteína de interés.

Dicho ácido nucleotídico puede ser de ADN genómico o de ADNc.

Por "sitio para la recombinación de sitio específico", se entiende un segmento corto de ADN que es reconocido por una recombinasa, tal como el sitio *loxP* que es reconocido por la recombinasa Cre, el sitio *xis* que es reconocido por la integrasa Int, el sitio FRT que es reconocido por la recombinasa FLP.

Un vector de expresión según la presente invención puede comprender además un gen de resistencia eucariota, un gen de resistencia bacteriana, un origen de replicación bacteriana y una unidad dedicada a la amplificación génica.

Un gen de resistencia eucariota puede ser un gen de resistencia a la Geneticina (G418), Blastidina, zeocina.

Un gen de resistencia bacteriana puede ser un gen de resistencia a la ampicilina, Kanamicina, Puomicina, Blastidina, Zeocina.

Un origen de replicación (Ori) bacteriano es una secuencia de ADN particular de origen bacteriano que permite la iniciación de la replicación del material genético como un vector de expresión y condicionar en la bacteria el número de copias de vectores por bacteria. Tal origen de replicación se puede seleccionar entre Ori-P, Ori-C, Ori-fl, ColE1, pSC101 Ori, p15A Ori, pACYC Ori, SV40 Ori, Pmb1 Ori, Puc Ori.

Por "una unidad dedicada a la amplificación génica", se entiende cualquier unidad que permite realizar una amplificación génica y/o un enriquecimiento en expresores fuertes. Lo más frecuentemente, esta unidad permite la expresión de un gen de resistencia a un inhibidor que actúa de manera dependiente de la dosis; por aumento de la dosis de inhibidor, existe una selección de variantes que expresan más fuertemente el gen de resistencia, en particular tras una amplificación génica o integración en un sitio de fuerte expresión. Los más frecuentemente, los genes próximos a esta unidad se amplifican también génicamente y/o se aumenta una expresión. Tal unidad puede ser el gen dhfr (dihidrofolato reductasa) cuyo inhibidor es el metotrexato o el gen glutamina sintetasa cuyo inhibidor es el metionil sulfoximina, un sistema de amplificación de fragmentos génicos que se basa en la selección de transformantes resistentes al metotrexato (MTX). Necesita la introducción previa de una unidad de transcripción que comprende el ácido nucleico que codifica para la enzima DHFR (dihidrofolato reductasa) en el vector de expresión para la producción de la molécula recombinante de interés (SHITARI *et al.*, 1994).

Una proteína de interés susceptible de producirse por un vector según la invención es una proteína seleccionada entre el grupo constituido de las proteínas que participan a la coagulación o una inmunoglobulina, unas citoquinas, unas hormonas, unos factores de crecimiento o factores del complemento y de cualquier proteína de fusión.

En un modo de realización más particular de la invención, el vector de expresión según la descripción comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 21 y constituido de:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, y
- (iii) la región R del LTR del virus HTLV-1 representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4.

La presente descripción se refiere, según un modo de realización más particular a un vector de expresión que comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 22 y constituido de:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, y
- (iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF- κ B (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 5.

La presente descripción se refiere, según un modo de realización más particular, a un vector de expresión que comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 23 y constituido de:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, y
- (iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6.

En un modo de realización más particular de la invención, el vector de expresión según la invención comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 25 y constituido de:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, y
- (iii) la región 5'UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 8.

La presente descripción se refiere, según un modo de realización más particular, a un vector de expresión que comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 26 y constituido de:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, y
- (iii) la región 5'UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 9.

La presente descripción se refiere, según un modo de realización más particular, a un vector de expresión que comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 27 y constituido de:

- 5
- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
 - (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, y
 - 10 (iii) la región 5'UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 10.

La presente descripción se refiere también a un vector de expresión que comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 14 y constituido de:

- 15
- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
 - (ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, y
 - 20 (iii) la región R del LTR del virus HTLV-1 representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4.

La presente descripción se refiere también a un vector de expresión que comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 15 y constituido de:

- 25
- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
 - (ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, y
 - (iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF- κ B (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 5.

30 La presente descripción se refiere también a un vector de expresión que comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 16 y constituido de:

- 35
- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
 - (ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, y
 - (iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6.

40 La presente descripción se refiere también a un vector de expresión que comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 18 y constituido de:

- 45
- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
 - (ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, y
 - (iii) la región 5'UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 8.

La presente descripción se refiere también a un vector de expresión que comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 19 y constituido de:

- 50
- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
 - (ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, y
 - 55 (iii) la región 5'UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 9.

La presente descripción se refiere también a un vector de expresión que comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 20 y constituido de:

- 60
- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
 - (ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, y
 - 65 (iii) la región 5'UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 10.

La presente descripción se refiere también a un vector de expresión que comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 40 y constituido de:

- 5 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- (ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,
- (iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, y
- 10 (iv) el intrón del gen EF1 α representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11.

La presente descripción se refiere también a un vector de expresión que comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 41 y constituido de:

- 15 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- (ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,
- 20 (iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, y
- (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12.

La presente descripción se refiere también a un vector de expresión que comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 42 y constituido de:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- 30 (ii) la región promotora del gen CDK9 representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,
- (iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, y
- 35 (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13.

La presente descripción se refiere también a un vector de expresión derivado de pcDNA3.1 (invitrogen) que comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 27 y constituido de:

- 40 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia SEQ ID NO: 1,
- (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia SEQ ID NO: 3,
- 45 (iii) la región 5'UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 10.

La invención se refiere a un modo de realización particular, a un vector de expresión derivado de pcDNA3.1 (invitrogen) que comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 25 y constituido de:

- 50 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia SEQ ID NO: 1,
- (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia SEQ ID NO: 3,
- 55 (iii) la región 5'UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 8.

La presente descripción divulga también un vector derivado de pREP4 que comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 21 y constituido de:

- 60 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia SEQ ID NO: 1,
- (ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia SEQ ID NO: 3,
- 65 (iii) la región R del LTR del virus HTLV-1 representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4.

La presente descripción divulga también un vector derivado de pREP4 que comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 23 y constituido de:

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia SEQ ID NO: 3,

10 (iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6.

En un modo de realización más particular de la invención, el vector de expresión según la invención es un vector derivado de pREP4 que comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 25 y constituido de:

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia SEQ ID NO: 3,

20 (iii) la región 5'UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 8.

La presente descripción divulga también un vector derivado de pREP4 que comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 16 y constituido de:

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

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

30 (iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6.

La presente descripción divulga también un vector derivado de pREP4 que comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 18 y constituido de:

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

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

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 8.

40 En un modo de realización más particular de la invención, el vector de expresión según la invención es un vector derivado de pCEP4 que comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 25 y constituido de:

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia SEQ ID NO: 3,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 8.

50 En un modo de realización más particular de la invención, el vector de expresión según la invención es un vector derivado de pCEP4 que comprende una unidad de transcripción que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 25 y constituido de: (E2-bActina-U1U3)

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

(ii) la región promotora de la β -actina representada por la secuencia SEQ ID NO: 3,

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 8.

60 La presente invención tiene también como objetivo proporcionar las células hospedantes que comprenden un vector de expresión tal como se describe en la presente invención.

Dichas células hospedantes pueden ser una línea celular seleccionada entre CHO-S, CHO, o HEK.

65 La presente descripción se refiere también a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

5
 • la región promotora de:
 la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9), teniendo dicha región promotora la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora

10 para la preparación de vectores de expresiones utilizados durante la transfección de una célula hospedante de la línea celular CHO.

15 La presente descripción se refiere también a la utilización de una unidad de transcripción tal como se ha descrito anteriormente para la preparación de vectores de expresión utilizados durante la transfección de una célula hospedante de la línea celular CHO, en la que dicho polinucleótido comprende también un ácido nucleotídico situado en la posición 3' de dicha región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción, comprendiendo dicho ácido nucleotídico al menos una de las regiones 5' no traducida (5' UTR) seleccionada entre las siguientes:

20 • la región reguladora R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 4,

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

• la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 6,

30 teniendo dichos ácidos nucleotídicos al menos un 70% de identidad de secuencia con una de las secuencias representadas por SEQ ID NO: 4, teniendo SEQ ID NO: 5 o SEQ ID NO: 6 esencialmente unas propiedades de estabilización de los ARNm y de facilitador de la traducción.

35 La presente descripción se refiere también, según un modo de realización particular, a la utilización de una unidad de transcripción tal como se ha descrito anteriormente, estando dicha unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

(iii) la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4,

50 estando dicha región 5' UTR situada en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción.

55 La presente descripción se refiere también, según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción tal como se ha descrito anteriormente, estando dicha unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 14 y constituido de:

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

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

(iii) la región 5'UTR del LTR del virus HTLV-1, representada por la secuencia SEQ ID NO: 4,

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

65

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1, también denominada E2-CDK9-U1.

La presente descripción se refiere también según otro modo de realización a la utilización de una unidad de transcripción tal como se ha descrito anteriormente, estando dicha unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

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

estando dicha región 5' UTR situada en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción.

La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción tal como se ha descrito anteriormente, estando dicha unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 15 y constituido de:

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

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

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

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

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U2, también denominada E2-CDK9-U2.

En otro modo de realización particular, la presente descripción se refiere también a la utilización de una unidad de transcripción tal como se ha descrito anteriormente, siendo dicha unidad de transcripción un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6,

estando dicha región 5' UTR situada en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción.

La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción tal como se ha descrito anteriormente, estando dicha unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 16 y constituido de:

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

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

(iii) la región 5' UTR del gen eIF4GI representada por la secuencia SEQ ID NO: 6,

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

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U3, también denominada E2-CDK9-U3.

5 La presente descripción se refiere también según otro modo de realización a la utilización de una unidad de transcripción que comprende dos regiones 5'UTR. Tal unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

(iii) la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4, y

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

estando las regiones 5'UTR situadas en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción.

25 La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción tal como se ha descrito anteriormente, estando dicha unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 17 y constituido de:

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

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

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

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

40 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1U2, también denominada E2-CDK9-U1U2.

La presente descripción se refiere también según otro modo de realización particular, a la utilización de una unidad de transcripción que comprende dos regiones 5'UTR. Tal unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

55 (iii) la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4, y

(iv) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6,

60 estando las regiones 5'UTR situadas en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción.

65 La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción tal como se ha descrito anteriormente, estando dicha unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 18 y constituido de:

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

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

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

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

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1U3, también denominada E2-CDK9-U1U3.

La presente descripción se refiere también según otro modo de realización a la utilización de una unidad de transcripción que comprende dos regiones 5'UTR. Tal unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

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

(iv) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6,

estando las regiones 5'UTR situadas en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción.

La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción tal como se ha descrito anteriormente, estando dicha unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 19 y constituido de:

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

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

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

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

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U2U3, también denominada E2-CDK9-U2U3.

La presente descripción se refiere también según otro modo de realización particular, a la utilización de una unidad de transcripción que comprende tres regiones 5'UTR. Tal unidad de transcripción está constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

(iii) la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4,

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

(v) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6,

5 estando las regiones 5'UTR situadas en la posición 3' de la región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción.

La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción tal como se ha descrito anteriormente, estando dicha unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 20 y constituido de:

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

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

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 10,

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

20 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1U2U3, también denominada E2-CDK9-U1U2U3.

La presente descripción se refiere también a la utilización de una unidad de transcripción para la preparación de vectores de expresión utilizados durante la transfección de una célula hospedante de la línea celular CHO, comprendiendo dicha unidad de transcripción:

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

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

35 (iii) un intrón seleccionado entre:

- el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11,

40 - el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12,

45 - el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.

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

estando dicho intrón situado:

50 (i) en la posición 3' de la región 5' UTR y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción, o

(ii) en la posición 3' del promotor y en la posición 5' de la región 5'UTR, o

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

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

La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

65

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

5 (iii) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.

La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la

10 secuencia SEQ ID NO: 28 y constituido de:

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

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

(iii) el intrón del gen EF1 α representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 28.

20 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-EF1 α , también denominada E2-CDK9-EF.

La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

35 (iii) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12.

La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la

40 secuencia SEQ ID NO: 29 y constituido de:

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

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

45 (iii) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12,

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

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-mROSA, también denominada E2-CDK9-mROSA.

50 La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

(ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la

60 secuencia SEQ ID: NO 2 y que posee esencialmente una actividad promotora, y

(iii) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.

65 En un modo de realización más particular, La presente descripción se refiere a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 30 y constituido de:

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

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

(iii) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 30.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-hROSA, también denominada E2-CDK9-hROSA.

La presente descripción se refiere también a la utilización de una unidad de transcripción para la transfección de una célula hospedante de la línea celular CHO, comprendiendo dicha unidad de transcripción:

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

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

(iii) al menos una de las regiones 5' no traducida (5' UTR) seleccionada entre:
la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4,

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

- la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6, y

(iv) un intrón seleccionado entre:

- el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11,

- el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12,

- el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.

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

estando dicha región promotora situada en la posición 5' de la región 5'UTR;

estando dicho intrón situado:

(i) en la posición 3' de la región 5' UTR y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción, o

(ii) en la posición 3' del promotor y en la posición 5' de la región 5'UTR, o

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

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

La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

5 (iii) la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4, y

(iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.

10 La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 34 y constituido de:

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

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

20 (iii) la región R del LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, y

(iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11,

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

25 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1-EF1 α , también denominada E2-CDK9-U1-EF.

La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

40 (iii) la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12.

45 La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 35 y constituido de:

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

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

55 (iii) la región R del LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12,

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

60 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1-mROSA, también denominada E2-CDK9-U1-mROSA.

La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

65

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

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

10 (iii) la región R de Repetición terminal larga (LTR) del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 4, y

(iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.

15 La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 36 y constituido de:

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

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

25 (iii) la región R del LTR del virus HTLV-1 que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 4, y

(iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 36.

30 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1-hROSA, también denominada E2-CDK9-U1-hROSA.

35 La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

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

(iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.

50 La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 37 y constituido de:

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

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

60 (iii) la región 5' UTR del gen NRF que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 5, y

(iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 37.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U2-EF1 α , también denominada E2-CDK9-U2-EF.

65

La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- 5 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
- 10 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,
- (iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 5, y
- 15 (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12.

La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 38 y constituido de:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- 25 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,
- (iii) la región 5' UTR del gen NRF que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 5, y
- (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12,
- 30 o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 38.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U2-mROSA, también denominada E2-CDK9-U2-mROSA.

La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- 40 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
- 45 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,
- (iii) la región 5' UTR del gen Factor represor NF-κB (NRF) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 5, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 5, y
- 50 (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.

La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 39 y constituido de:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- 60 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,
- (iii) la región 5' UTR del gen NRF que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 5, y
- (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 39.
- 65

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U2-hROSA, también denominada E2-CDK9-U2-hROSA.

5 La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

15 (iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6, y

20 (iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.

La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 40 y constituido de:

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

30 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen eIF4GI que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, y

35 (iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 40, y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción superiores a las del potenciador CMV asociado a la región promotora de CDK9.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U3-EF1 α , también denominada E2-CDK9-U3-EF.

40 La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6, y

55 (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12,

60 La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 41 y constituido de:

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

65 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen eIF4GI que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12,

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

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U3-mROSA, también denominada E2-CDK9-U3-mROSA.

10 La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

(iii) la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 6, y

25 (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13,

30 La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 42 y constituido de:

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

35 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,

(iii) la región 5' UTR del gen eIF4GI que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 6, y

40 (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 42.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U3-hROSA, también denominada E2-CDK9-U3-hROSA.

45 La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

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

60 (iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.

La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 43 y constituido de:

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

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

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

(iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11,

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

10 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-UIU2-EF1 α , también denominada E2-CDK9-U1U2-EF.

15 La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

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

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12.

30 La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 44 y constituido de:

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

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

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

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 44.

45 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1U2-mROSA, también denominada E2-CDK9-U1U2-mROSA.

50 La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

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

(iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.

65

La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 45 y constituido de:

- 5 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
(ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,
10 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 7, y
(iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 45.

15 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1U2-hROSA, también denominada E2-CDK9-U1U2-hROSA.

La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- 20 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
25 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,
30 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 8, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 8, y
(iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.

35 La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 46 y constituido de:

- 40 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
(ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,
45 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 8, y
(iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11,
o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 46.

50 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1U3-EF1 α , también denominada E2-CDK9-U1U3-EF.

La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- 55 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
60 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,
65 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 8, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 8, y

(iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12.

5 La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 47 y constituido de:

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

10 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,

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

15 (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 47.

20 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1U3-mROSA, también denominada E2-CDK9-U1U3-mROSA.

La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

35 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 9, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 9, y

(iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.

40 La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 48 y constituido de:

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

45 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,

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

50 (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 48.

55 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1U3-hROSA, también denominada E2-CDK9-U1U3-hROSA.

La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

(iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 9, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 9, y

5 (iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.

La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 49 y constituido de:

- 10 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,
- 15 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 9, y
- (iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11,
- 20 o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 49.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U2U3-EF1 α , también denominada E2-CDK9-U2U3-EF.

25 La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
- 30 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,
- 35 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 9, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 9,
- (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12.
- 40

La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 50 y constituido de:

- 45 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,
- 50 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 9, y
- (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12,
- 55 o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 50.

La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U2U3-mROSA, también denominada E2-CDK9-U2U3-mROSA.

60 La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
- 65

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

5 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 9, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 9, y

(iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.

10 La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 51 y constituido de:

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

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

20 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 9, y

(iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 51.

25 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U2U3-hROSA, también denominada E2-CDK9-U2U3-hROSA.

La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

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

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

40 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 10, y

(iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 11.

45 La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 52 y constituido de:

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

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

55 (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 10, y

(iv) el intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11,

o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 52.

60 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1U2U3-EF1 α , también denominada E2-CDK9-U1U2U3-EF.

La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

65

ES 2 731 954 T3

- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
- 5 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,
- (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 10, y
- 10 (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 12.
- 15 La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 53 y constituido de:
- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- 20 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,
- (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 10, y
- 25 (iv) el intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12,
- o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 53.
- 30 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1U2U3-mROSA, también denominada E2-CDK9-U1U2U3-.
- La presente descripción se refiere también según un modo de realización particular a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:
- 35 (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee esencialmente unas propiedades de activación de la transcripción,
- (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 2 y que posee esencialmente una actividad promotora,
- (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia SEQ ID NO: 10, o un ácido nucleotídico que presenta al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 10, y
- 45 (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 13.
- 50 La presente descripción se refiere también según un modo de realización más particular, a la utilización de una unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende un ácido nucleotídico representado por la secuencia SEQ ID NO: 54 y constituido de:
- (i) el potenciador del virus hCMVie representado por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1,
- 55 (ii) la región promotora de la ciclina dependiente de las quinasas 9 (CDK9) representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 2,
- (iii) la región 5' UTR representada por la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 10, y
- 60 (iv) el intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o de un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 54.
- 65 La unidad de transcripción obtenida se designa por CMV-CDK9-U1U2U3-hROSA, también denominada E2-CDK9-U1U2U3-hROSA.

En un modo de realización más particular, la presente descripción se refiere también a la utilización de una unidad de transcripción que contiene la región promotora del gen CKD9, la región 5'UTR del gen eIF4GI (U3) y el intrón del gen EF1 α para la transfección de una célula hospedante de la línea celular CHO seleccionada entre CHO-S, CHO, permitiendo dicha unidad de transcripción una producción volúmica de una proteína de interés superior a la obtenida con la combinación del potenciador CMV asociado a la región promotora de CDK9.

En un modo de realización aún más particular, la presente descripción se refiere también a la utilización de una unidad de transcripción que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 40, o una secuencia nucleotídica que presenta al menos un 70% de identidad con la SEQ ID NO: 40 para la transfección de una célula hospedante de la línea celular CHO seleccionada entre CHO-S, CHO, permitiendo dicha unidad de transcripción una producción volúmica de una proteína de interés superior a la obtenida con la combinación del potenciador CMV asociado a la región promotora de CDK9.

La línea celular CHO utilizada en la presente invención se puede seleccionar entre CHO-S, CHO.

La presente invención se refiere también a la utilización de un vector de expresión descrito anteriormente para transfectar una célula hospedante.

Otro objetivo de la presente invención es poner a disposición un sistema de expresión que comprende un vector de expresión según la presente invención y una célula hospedante tal como se ha descrito anteriormente, que permite la expresión de una proteína de interés codificada por un ácido nucleotídico.

La presente invención se refiere también a la utilización de un vector de expresión que comprende al menos una unidad de transcripción según la presente invención en una célula hospedante tal como se ha descrito anteriormente para producir una proteína codificada por un ácido nucleotídico, produciéndose dicha proteína con un título más elevado que en el vector de expresión de referencia que comprende al menos un promotor RSV, un intrón pCIneo, una secuencia de poliadenilación, un gen de resistencia eucariota, un gen de resistencia bacteriana, un origen de replicación bacteriana y una unidad dedicada a la amplificación génica, comprendiendo dicho vector la misma secuencia nucleotídica.

La presente invención tiene también por objeto un procedimiento de producción *in vitro* de una proteína recombinante de interés que comprende las etapas de:

- introducir el vector de expresión que comprende al menos una unidad de transcripción según la presente invención y un ADNc que codifica para una proteína de interés en una célula hospedante,
- seleccionar e identificar unas células hospedantes obtenidas en la etapa anterior que expresa de manera estable dicha proteína de interés,
- extraer y purificar dicha proteína de interés.

Tal proteína recombinante puede ser una proteína implicada en la coagulación, una inmunoglobulina, unas citoquinas, unas hormonas, unos factores de crecimiento o factores del complemento y de cualquier proteína de fusión.

Un procedimiento según la presente invención puede comprender además una etapa de selección y de identificación de las células hospedantes obtenidas que expresan de manera estable dicha proteína de interés.

La presente invención se ilustra mediante las figuras y los ejemplos siguientes. No obstante, la presente invención no está limitada de ninguna manera a las figuras y a los ejemplos siguientes.

Figuras

Figura 1 ilustra el vector E2-bActin-U1 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora de la β -actina y la región R del LTR del virus HTLV-1.

Figura 2 ilustra el vector E2-bActin-U2 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora de la β -actina y la región 5'UTR del gen NRF.

Figura 3 ilustra el vector E2-bActin-U3 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora de la β -actina y la región 5'UTR del gen eIF4G1.

Figura 4 ilustra el vector E2-bActin-U1U3 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora de la β -actina, la región R del LTR del virus HTLV-1 y la región 5'UTR del gen eIF4G1.

Figura 5 ilustra el vector E2-bActin-U2U3 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora de la β -actina, la región 5'UTR del gen NRF y la región 5'UTR del gen eIF4G1.

5 Figura 6 ilustra el vector E2-bActin-U1U2U3 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora de la β -actina, la región R del LTR del virus HTLV-1, la región 5'UTR del gen NRF y la región 5'UTR del gen eIF4G1.

10 Figura 7 ilustra el vector E2-CDK9-U1 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora del gen CDK9 y la región R del LTR del virus HTLV-1.

Figura 8 ilustra el vector E2-CDK9-U2 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora del gen CDK9 y la región 5'UTR del gen NRF.

15 Figura 9 ilustra el vector E2-CDK9-U3 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora del gen CDK9 y la región 5'UTR del gen eIF4G1.

20 Figura 10 ilustra el vector E2-CDK9-U1U3 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora del gen CDK9, la región R del LTR del virus HTLV-1 y la región 5'UTR del gen eIF4G1.

25 Figura 11 ilustra el vector E2-CDK9-U2U3 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora del gen CDK9, la región 5'UTR del gen NRF y la región 5'UTR del gen eIF4G1.

Figura 12 ilustra el vector E2-CDK9-U1U2U3 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora del gen CDK9, la región R del LTR del virus HTLV-1, la región 5'UTR del gen NRF y la región 5'UTR del gen eIF4G1.

30 Figura 13 ilustra el vector pcDNA3.1-E2-bActin-U1U2U3 procedente del vector pcDNA3.1 invitrogen, que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora del gen CDK9, la región R del LTR del virus HTLV-1, la región 5'UTR del gen NRF y la región 5'UTR del gen eIF4G1.

35 Figura 14 ilustra el vector pcDNA3.1-E2-bActin-U1U3 procedente del vector pcDNA3.1 invitrogen, que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora del gen CDK9, la región R del LTR del virus HTLV-1 y la región 5'UTR del gen eIF4G1.

40 Figura 15 ilustra el vector pREP4-E2-bActin-U1 procedente del vector pREP4, que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora de la β -actina y la región R del LTR del virus HTLV-1.

45 Figura 16 ilustra el vector pREP4-E2-bActin-U3 procedente del vector pREP4, que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora de la β -actina y la región 5'UTR del gen NRF.

Figura 17 ilustra el vector pREP4-E2-bActin-U1U3 procedente del vector pREP4, que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora de la β -actina, la región R del LTR del virus HTLV-1 y la región 5'UTR del gen eIF4G1.

50 Figura 18 ilustra el vector pREP4-E2-CDK9-U3 procedente del vector pREP4, que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora del gen CDK9 y la región 5'UTR del gen NRF.

55 Figura 19 ilustra el vector pREP4-E2-CDK9-U1U3 procedente del vector pREP4, que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora del gen CDK9, la región R del LTR del virus HTLV-1 y la región 5'UTR del gen eIF4G1.

60 Figura 20 ilustra el vector pCEP4-E2-bActin-U1U3 procedente del vector pCEP4, que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora de la β -actina, la región R del LTR del virus HTLV-1 y la región 5'UTR del gen eIF4G1.

Figura 21 ilustra el vector pCEP4-E2-bActin-U1U2U3 procedente del vector pCEP4, que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMVie, la región promotora de la β -actina, la región R del LTR del virus HTLV-1, la región 5'UTR del gen NRF y la región 5'UTR del gen eIF4G1.

65

Figura 22 ilustra el vector E2-CDK9-EF1 α que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMV α , la región promotora del gen CDK9 y el primer intrón del gen EF1 α .

5 Figura 23 ilustra el vector E2-CDK9-EF1 α -U1U2U3 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMV α , la región promotora del gen CDK9, el primer intrón del gen EF1 α , la región R del LTR del virus HTLV-1, la región 5'UTR del gen NRF y la región 5'UTR del gen eIF4G1.

10 Figura 24 ilustra el vector E2-CDK9-EF1 α -U1U3 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMV α , la región promotora del gen CDK9, el primer intrón del gen EF1 α , la región R del LTR del virus HTLV-1 y la región 5'UTR del gen eIF4G1.

15 Figura 25 ilustra el vector E2-CDK9-EF1 α -U2U3 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMV α , la región promotora del gen CDK9, el primer intrón del gen EF1 α , la región 5'UTR del gen NRF y la región 5'UTR del gen eIF4G1.

Figura 26 ilustra el vector E2-CDK9-EF1 α -U2 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMV α , la región promotora del gen CDK9, el primer intrón del gen EF1 α y la región 5'UTR del gen NRF.

20 Figura 27 ilustra el vector E2-CDK9-EF1 α -U1 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMV α , la región promotora del gen CDK9, el primer intrón del gen EF1 α y la región R del LTR del virus HTLV-1.

25 Figura 28 ilustra el vector E2-CDK9-EF1 α -U1U2 que comprende una unidad de transcripción que comprende el potenciador de hCMV α , la región promotora del gen CDK9, el primer intrón del gen EF1 α , la región R del LTR del virus HTLV-1 y la región 5'UTR del gen NRF.

30 Figura 29 ilustra la comparación del efecto de los diferentes intrones en asociación con el LTR RSV sobre la expresión de la cadena kappa libre del anticuerpo anti-Rh(D) T125 en la línea CHO-S evaluada en transfección transitoria. Las columnas de puntos, de la izquierda a la derecha, representan respectivamente el porcentaje de expresión de la cadena kappa libre bajo el control de los intrones: β -actina (Bact), EF, mROSA, hROSA, HTLV, ubiquitina (ubc). Los vectores de referencia son RSV_int_KT125_2STP y RSV_T125_K2. El eje de las ordenadas representa la concentración en cadenas kappa libres en el medio de cultivo.

35 Figura 30 ilustra la comparación del efecto de los diferentes intrones en asociación con la unidad de transcripción E-2CDK9-U3 o el LTR RSV sobre la expresión de la cadena kappa libre del anticuerpo anti-Rh(D) T125 en la línea CHO-S evaluada en transfección transitoria. Las columnas de puntos, de la izquierda a la derecha, representan respectivamente el porcentaje de expresión de la cadena kappa libre bajo el control de las asociaciones: E2-CDK9-U3 sin intrón, E2-CDK9-U3 con intrón hROSA, E2-CDK9-U3 con intrón mROSA, LTR RSV con intrón EF, LTR RSV con intrón mROSA, E2-CDK9-U3 con intrón EF, LTR RSV con intrón hROSA. Los vectores de referencia son RSV_T125_K2 y pRep4KT125. El eje de las ordenadas representa la concentración en cadenas kappa libres en el medio de cultivo.

45 Figura 31 ilustra la comparación de la expresión en pools estables de transfectantes que expresan la IgG anti-D en función del vector (E2CDK9U3 / LTR RSV intrón pCI neo) y más precisamente la productividad en pools estables del anticuerpo entero anti-Rh(D) T125 con el vector con unidad de transcripción E2-CDK9-U3 (HK E2 CDK9 U3) en comparación con la referencia con LTR RSV intrón pCI neo (HK463-18).

50 Figura 32 es un diagrama de repartición de los transfectantes que expresan la IgG anti-D en función del vector (E2CDK9U3 / LTR RSV intrón pCI neo). Este diagrama ilustra la productividad de clones que producen el anticuerpo entero anti-Rh(D) T125 con el vector con unidad de transcripción E2-CDK9-U3 (HK E2 CDK9 U3) en comparación con la referencia con LTR RSV intrón pCI neo (HK463-18).

55 Figura 33 ilustra los títulos medios en cadenas kappa T125 obtenidos en la línea CHO-S transfectada por un vector que contiene una unidad de transcripción a continuación respectiva: E2-bActina-control, E2-bActina-U1, E2-bActina-U3, E2-bActina-U1U2U3. el resultado se evalúa en base a tres experimentos independientes de transfección transitoria en triplicado. El eje de las ordenadas representa la concentración en cadenas kappa libres en el medio de cultivo. valor de $p < 0,05$, $n = 10$ a 13.

60 Figura 34 ilustra los títulos medios en cadenas kappa T125 obtenidos en la línea HEK transfectada por un vector que contiene una unidad de transcripción a continuación respectiva: E2-bActina-control, E2-bActina-U1, E2-bActina-U1U2U3. El resultado se evalúa en base a tres experimentos independientes de transfección transitoria en triplicado. El eje de las ordenadas representa la concentración en cadenas kappa libres en el medio de cultivo. valor de $p < 0,05$, $n = 10$ a 15.

65

Figura 35 ilustra los títulos medios en cadenas kappa T125 obtenidos en la línea CHO-S transfectada respectivamente por el vector pREP4-KT125, pREP4-E2-bActina-U3, pREP4-E2-U1U3. El resultado se evalúa en base a tres experimentos independientes de transfección transitoria en triplicado. El eje de las ordenadas representa la concentración en cadenas kappa libres en el medio de cultivo. valor de $p < 0,05$, $n = 6$.

Figura 36 ilustra los títulos medios en cadenas kappa T125 obtenidos en la línea HEK transfectada respectivamente por el vector pCEP4-KT125, pCEP4-E2-bActina-U1U3. El resultado se evalúa en base a tres experimentos independientes de transfección transitoria en triplicado. El eje de las ordenadas representa la concentración en cadenas kappa libres en el medio de cultivo. valor de $p < 0,05$, $n = 6$.

Ejemplos:

1. Materiales y métodos

1.1. Transfección transitoria

En CHO-S, las secuencias a expresar se evalúan en transfección transitoria según el protocolo del kit FreeStyle (Invitrogen). Las células parentales se siembran 24h antes de la transfección (D-1) en Erlenmeyer (VWR) a 6×10^5 cv/ml en FreeStyle CHO EM (Fisher Bioblock scientific) y se incuban a 120 rpm 37°C, 8% CO₂. El día de la transfección, se forma un complejo FreeStyle MAX Reagent (Fisher Bioblock Scientific) /ADN, en la proporción 1:1, en Opti Pro SFM (Invitrogen). El complejo se deposita después sobre las células en suspensión previamente centrifugadas y recogidas a 1×10^6 cv/ml en FreeStyle CHO EM en un cultiflask (Sartorius) (5 ml) e incubadas a 200 rpm a 37°C, 8% de CO₂. Los sobrenadantes se recogen a D+5 para evaluación del porcentaje de molécula segregada en el medio.

1.2. Transfección estable

Las evaluaciones se realizan sobre unos pools de transfectantes (“transfección en pool estable”) a fin de comparar las diferentes construcciones en base a un nivel de expresión promediado sobre un gran número de transfectantes (varios miles) así como sobre los mejores clones seleccionados por ClonePixFL sobre estos pools.

1.2.1. Obtención de los pools y evaluaciones en pools

La línea CHO-S se cultiva en medio Freestyle CHO EM + 8 mM de glutamina, en flask a 37°C, 8% CO₂, bajo agitación a 135 rpm.

Las células se reinoculan el día anterior a 6×10^5 cel/ml.

El día de la electroporación, las células se electroporan por Gene Pulser Xcell (BioRad) con un voltaje de 300 V y una capacidad de 500 µF en unos tubos de ensayos (Biorad) de 4 mm con 5×10^6 cv (csp 500 µl de tampón de electroporación del kit electrobuffer (Ozyme) que contiene ADN plasmídico linealizado). Después de la electroporación, las células se recogen a 3×10^5 cv/ml en frasco de cultivo F75.

A D+3: Se ponen medio selectivo para obtener las concentraciones finales siguientes: Freestyle CHO EM + aditivos LFB para la clonación celular de baja densidad LDCC + G418 1 mg/ml.

A D+10: Dilución de la mitad en Freestyle CHO EM + aditivos LFB para la clonación celular de baja densidad LDCC + G418 1 mg/ml.

A partir de D+12 y 3 veces por semana: si la densidad celular es superior a 6×10^5 cv/ml, reinocular las células a 3×10^5 cv/ml en F25.

A partir de D+17 reinoculación en frasco F25 o F75 en Freestyle CHO EM + G418 1 mg/ml.

A partir de D+25, realizar una producción en modo discontinuo: inocular los F25 a 3×10^5 cv/ml en Freestyle CHO EM + G418 1 mg/ml (producción en pool).

El sobrenadante se recoge a D+12 y se evalúa con el kit Fast ELYSA (RD-biotech).

1.2.2. Obtención de clones y evaluaciones de los clones

Los pools de células obtenidos anteriormente se extienden en un medio semisólido (CloneMedia CHO - Molecular Devices) en presencia de anticuerpo fluorescente de detección.

Los clones más fuertes productores de cada pool se seleccionan en primer lugar en función de su intensidad de fluorescencia (screening y picking por ClonePix^{FL}) después en función de su título de saturación en P24.

Los mejores clones se evalúan entonces en producción en modo discontinuo por inoculación de cultiflasks a 3×10^5 cv/ml en Freestyle CHO EM + G418 1 mg/ml y cultivo bajo agitación a 250 rpm.

5 El sobrenadante se recoge cuando la viabilidad es inferior al 50% y evaluado con el kit Fast ELYSA (RD-biotech).

1.3. Evaluación del porcentaje de proteína recombinante segregada

10 La evaluación del porcentaje de cadena kappa libre del anticuerpo anti-Rh(D) T125 así como la producción de IgG1 de anti-CD20 o de anti- Rh(D) T125 se determinan mediante la técnica Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

15 La cadena kappa libre presente en el sobrenadante de cultivo se captura durante 2h por un anticuerpo de cabra anti-kappa humano (Caltag Lab) que se absorbe sobre unas placas de 96 pocillos. El anticuerpo capturado se revela después por un anti-kappa humano de cabra biotinilado (Pierce) y después se añade estreptavidina acoplada a la peroxidasa (Pierce). Entre cada etapa, se efectúan 4 lavados para eliminar las proteínas y los reactivos que no entran en el complejo. La revelación se lleva a cabo por adición del sustrato de la enzima, el OPD (Sigma) y parada de la reacción por HCl 1N. La lectura se lleva a cabo con espectrofotómetro a 492 nm. La concentración de anticuerpo se determina en comparación con una gama patrón.

20 Las IgG1 producidas en transfecciones transitorias y estables se evalúan por el kit Fast ELYSA (RD-biotech) según las instrucciones del proveedor. La lectura de la densidad óptica se lleva a cabo en el espectrofotómetro a 450 nm. La concentración de anticuerpo se determina en comparación de una gama patrón contenida en el kit.

25 1.4. Análisis estadísticos

Los resultados de producción de la cadena Kappa libre o de las inmunoglobulinas enteras se comparan con unos valores normalizados por las medianas de un experimento a otro. Los análisis estadísticos se realizan con la ayuda del programa STATGRAPHICS Centurion XV. Se aplican unos ensayos extensos múltiples a los datos con el método 95,0% LSD. Los pares de datos tienen diferencias estadísticamente significativas a nivel de confianza del 95,0%.

Ejemplo 1: Construcción del vector E2-bActin-U1U2U3 (figura 6)

- 35
- Digestión del vector E2- bActin por BamHI+NheI
 - Recuperación del fragmento de 5560 eliminación del fragmento de 204 bases
 - Digestión del inserto sintético por BamHI + NheI
 - Recuperación sobre gel del inserto de 1271 bases
 - Ligación y obtención de E2-bActin-U1U2U3
 - Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 944 bases
- 40

Ejemplo 2: Construcción del vector E2-bActin-U1 (Figura 1)

- 45
- Digestión SpeI+NheI E2-bActin-U1U2U3
 - Recuperación sobre gel del fragmento a 5841 bases, eliminación del fragmento a 990 bases
 - Ligación y obtención de E2-bActin-U1
 - Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 1118 bases

Ejemplo 3: Construcción del vector E2-bActin-U3 (Figura 3)

- 50
- Digestión HpaI+PmeI sobre E2-bActin-U1U2U3
 - Recuperación sobre gel del fragmento a 5887 bases, eliminación del fragmento a 944 bases
 - Ligación y obtención de E2-bActin-U3
 - Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 1164 bases
- 55

Ejemplo 4: Construcción del vector E2-bActin-U2U3 (figura 5)

- 60
- Digestión PmeI sobre E2-bActin-U1U2U3
 - Recuperación del fragmento 6550 bases eliminación del fragmento de 281 bases
 - Ligación y obtención de E2-bActin-U2U3
 - Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 1468 bases

Ejemplo 5: Construcción del vector E2-bActin-U2 (Figura 2)

- Digestión SpeI+NheI de E2-bActin-U2U3
 - Recuperación sobre gel del fragmento a 6226 bases, eliminación del fragmento a 324 bases
 - Ligación y obtención de E2-bActin-U2
- 5
- Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 1468 bases

Ejemplo 6: Construcción del vector E2-bActin-U1U3 (Figura 4)

- Digestión SpeI sobre E2-bActin-U1U2U3
- 10
- Recuperación sobre gel del fragmento a 6165 bases, eliminación del fragmento a 666 bases
 - Ligación y obtención de E2-bActin-U1U3
 - Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 578 bases

Ejemplo 7: Construcción del Vector E2-CDK9-U1U2U3 (Figura 12)

- 15
- Digestión del vector E2-CDK9 por BamHI y NheI
 - Recuperación del fragmento de 5630 bases, eliminación del fragmento de 204 bases
 - Digestión del inserto sintético por BamHI y NheI
 - Recuperación sobre gel del inserto de 1271 bases
- 20
- Ligación y obtención de E2-CDK9-U1U2U3
 - Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 1014 bases

Ejemplo 8: Construcción del vector E2-CDK9-U2U3 (Figura 11)

- 25
- Digestión PmeI sobre E2-CDK9-U1U2U3
 - Recuperación del fragmento 6620 bases eliminación del fragmento de 281 bases
 - Ligación y obtención de E2-CDK9-U2U3
 - Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 1538 bases

Ejemplo 9: Construcción del vector E2-CDK9-U2 (Figura 8)

- Digestión SpeI+NheI de E2-CDK9-U2U3
 - Recuperación sobre gel del fragmento a 6296 bases, eliminación del fragmento a 324 bases
 - Ligación y obtención de E2-CDK9-U2
- 35
- Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 686 bases

Ejemplo 10: Construcción del vector E2-CDK9-U1 (Figura 7)

- Digestión SpeI+NheI sobre E2-CDK9-U1U2U3
- 40
- Recuperación sobre gel del fragmento a 5911 bases, eliminación del fragmento a 990 bases
 - Ligación y obtención de E2-CDK9-U1
 - Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 254 bases

Ejemplo 11: Construcción del vector E2-CDK9-U3 (Figura 9)

- 45
- Digestión HpaI+PmeI sobre E2-CDK9-U1U2U3
 - Recuperación sobre gel del fragmento a 5957 bases, eliminación del fragmento a 944 bases
 - Ligación y obtención de E2-CDK9-U3
 - Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 1234 bases
- 50

Ejemplo 12: Construcción del vector E2-CDK9-U1U3 (Figura 10)

- Digestión SpeI sobre E2-CDK9-U1U2U3
 - Recuperación sobre gel del fragmento a 6235 bases, eliminación del fragmento a 666 bases
- 55
- Ligación y obtención de E2-CDK9- U1 U3
 - Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 578 bases

Ejemplo 13: Construcción del vector pcDNA3.1-E2-bActin-U1U2U3 (figura 13)

- 60
- Digestión BglII+XbaI sobre E2-bActin-U1U2U3

- Recuperación sobre gel del fragmento a 2618 bases, eliminación del fragmento a 4213 bases
- Ligación en sustitución de la región promotora en pcDNA3.1 que contiene ya la cadena ligera KT125 y obtención de pcDNA3.1-E2-bActin-U1U2U3
- Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 651 bases

5

Ejemplo 14: Construcción del vector pcDNA3.1-E2-bActin-U1U3 (figura 14)

- Digestión BglII+XbaI sobre E2-bActin-U1U3
- Recuperación sobre gel del fragmento a 1952 bases, eliminación del fragmento a 4213 bases
- Ligación en sustitución de la región promotora en pcDNA3.1 que contiene ya la cadena ligera KT125 y obtención de pcDNA3.1-E2-bActin-U1U3
- Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 578 bases

10

Ejemplo 15: Construcción del vector pREP4-E2-bActin-U1 (figura 15)

- Digestión BglII+XbaI sobre E2-bActin-U1
- Recuperación sobre gel del fragmento a 1628 bases, eliminación del fragmento a 4213 bases
- Ligación en sustitución de la región promotora en pREP4 que contiene ya la cadena ligera KT125 y obtención de pREP4-E2-bActin-U1
- Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 254 bases

15

20

Ejemplo 16: Construcción del vector pREP4-E2-bActin-U3 (figura 16)

- Digestión BglII+XbaI sobre E2-bActin-U3
- Recuperación sobre gel del fragmento a 1674 bases, eliminación del fragmento a 4213 bases
- Ligación en sustitución de la región promotora en pREP4 que contiene ya la cadena ligera KT125 y obtención de pREP4-E2bActina-U3
- Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 752 bases

25

30

Ejemplo 17: Construcción del vector pREP4-E2-bActin-U1U3 (figura 17)

- Digestión SfuI+XbaI sobre pCEP4-E2-bActin-U1U3
- Recuperación sobre gel del fragmento a 4273 bases, eliminación del fragmento a 7188 bases
- Ligación en sustitución de la región promotora en pREP4 que contiene ya la cadena ligera KT125 y obtención de pREP4-E2-bActin-U1U3
- Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 578 bases

35

Ejemplo 18: Construcción del vector pREP4-E2-CDK9-U3 (figura 18)

- Digestión BglII+XbaI sobre E2-CDK9-U3
- Recuperación sobre gel del fragmento a 1748 bases, eliminación del fragmento a 4213 bases
- Ligación en sustitución de la región promotora en pREP4 que contiene ya la cadena ligera KT125 y obtención de pREP4-E2-CDK9-U3
- Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 752 bases

40

45

Ejemplo 19: Construcción del vector pREP4-E2-CDK9-U1U3 (figura 19)

- Digestión BglII+XbaI sobre E2-CDK9-U1U3
- Recuperación sobre gel del fragmento a 2026 bases, eliminación del fragmento a 4213 bases
- Ligación en sustitución de la región promotora en pREP4 que contiene ya la cadena ligera KT125 y obtención de pREP4-E2-CDK9-U1U3
- Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 578bases

50

Ejemplo 20: Construcción del vector pCEP4-E2-bActin-U1U3 (figura 20)

- Digestión BglII+XbaI sobre E2-bActin-U1U3
- Recuperación sobre gel del fragmento a 1956 bases, eliminación del fragmento a 4213 bases
- Ligación en sustitución de la región promotora en pCEP4 que contiene ya la cadena ligera KT125 y obtención de pCEP4-E2-bActin-U1U3
- Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 578 bases

55

60

Ejemplo 21: Construcción del vector pCEP4-E2-bActin-U1U2U3 (figura 21)

- Digestión BglII+XbaI sobre E2-bActin-U1U2U3
- Recuperación sobre gel del fragmento a 2622 bases, eliminación del fragmento a 4213 bases
- 5 • Ligación en sustitución de la región promotora en pCEP4 que contiene ya la cadena ligera KT125 y obtención de pCEP4-E2-bActin-U1U2U3
- Cribado por PCR con los cebadores apropiados que da un amplicón de 1010 bases

Ejemplo 22: Construcción del vector E2-CDK9-EF1 α (figura 22)

- 10 • Digestión SpeI+NheI de E2-CDK9
- Recuperación sobre gel del fragmento a 5636 bases, eliminación del fragmento a 198 bases
- Digestión del inserto sintético por SpeI y NheI
- Recuperación sobre gel del inserto de 1001 bases
- 15 • Ligación y obtención de E2-CDK9-EF1 α
- Cribado por PCR con los cebadores apropiados

Ejemplo 23: Construcción del vector E2-CDK9-EF1 α -U1U2U3 (figura 23)

- 20 • Digestión SpeI+BamHI de E2-CDK9-EF1 α
- Recuperación sobre gel del fragmento a 6631 bases, eliminación del fragmento de 6 bases
- Digestión del inserto sintético por BamHI y NheI
- Recuperación sobre gel del inserto de 1271 bases
- Ligación y obtención de E2-CDK9-EF1 α -U1U2U3
- 25 • Cribado por PCR con los cebadores apropiados

Ejemplo 24: Construcción del vector E2-CDK9-EF1 α -U1U3 (figura 24)

- 30 • Digestión SpeI sobre E2-CDK9-EF1 α -U1U2U3
- Recuperación del fragmento a 7236 bases y eliminación del fragmento de 666 bases
- Ligación y obtención de E2-CDK9-EF1 α -U1U3
- Cribado por PCR con los cebadores apropiados

Ejemplo 25: Construcción del vector E2-CDK9-EF1 α -U2U3 (figura 25)

- 35 • Digestión HpaI/PmeI sobre E2-CDK9-EF1 α -U1U2U3
- Recuperación del fragmento a 7230 bases, eliminación del fragmento de 672 bases
- Ligación y obtención de E2-CDK9-EF1 α -U2U3
- Cribado por PCR con los cebadores apropiados
- 40

Ejemplo 26: Construcción del vector E2-CDK9-EF1 α -U2 (figura 26)

- Digestión SpeI de E2-CDK9-EF1 α
- Recuperación sobre gel del fragmento a 6637 bases,
- 45 • Digestión del inserto sintético por SpeI
- Recuperación sobre gel del inserto de 666 bases
- Ligación y obtención de E2-CDK9-EF1 α -U2
- Cribado por PCR con los cebadores apropiados

Ejemplo 27: Construcción del vector E2-CDK9-EF1 α -U1 (figura 27)

- Digestión BamHI+SpeI de E2-CDK9-EF1 α
- Recuperación sobre gel del fragmento a 6631 bases y eliminación del fragmento de 6 bases
- Digestión del inserto sintético por BamHI+SpeI
- 55 • Recuperación sobre gel del inserto de 947 bases
- Ligación y obtención de E2-CDK9-EF1 α -U1
- Cribado por PCR con los cebadores apropiados

Ejemplo 28: Construcción del vector E2-CDK9-EF1 α -U1U2 (figura 28)

60

- Digestión Spel de E2-CDK9-EF1 α -U1
 - Recuperación sobre gel del fragmento a 9612 bases
 - Digestión del inserto sintético por Spel
 - Recuperación sobre gel del inserto de 947 bases
- 5
- Ligación y obtención de E2-CDK9-EF1 α -U1U2
 - Cribado por PCR con los cebadores apropiados

Ejemplo 29: Comparación de los intrones en asociación con el LTR RSV

10 Los intrones a ensayar (Bact (β -actina), EF, mROSA, hROSA, HTLV, ubc (ubiquitina) se insertan en el vector de expresión K622_37, que comprende el LTR RSV, para producir la cadena ligera kappa del anticuerpo T125. La ganancia de productividad de los vectores así construidos se compara con la de los vectores de referencia RSV_int_KT125_2STP y RSV_T125_K2.

15 Los resultados obtenidos a partir de 3 transfecciones realizadas en 3 semanas diferentes se ilustran en la figura 29 y permiten observar diferencias significativas entre los intrones.

20 Se realiza una comparación múltiple para las medias (ng/ml) de producción de cadena ligera de Ig obtenidas con los diferentes intrones en la línea CHO-S (Tabla 1). El método actualmente utilizado para discriminar entre las medias es el procedimiento de las diferencias significativas mínimas de Fisher (LSD). Se efectúan unos ensayos de extensiones múltiples con el método 95,0% LSD. Estos pares tienen diferencias estadísticamente significativas a nivel de confianza del 95,0%.

Tabla 1

	<i>Efectivo</i>	<i>Media</i>	<i>Grupo homogéneo</i>
RSV_int_KT125_2STP	18	25506,3	X
K622_37_HTLV	18	26511,3	X
K622_37_Ubc	18	28790,0	XX
K622_37_Bact	17	31992,3	XX
K622_37_hROSA	18	33561,0	X
RSV_T125_K2	16	34362,8	X
K622_37_mROSA	15	38874,8	X
K622_37_EF	14	44104,4	X

25 Cinco grupos homogéneos se identifican utilizando unas columnas de X. El intrón EF es significativamente el más eficaz. En segunda posición se sitúa el intrón mROSA. Los otros intrones no tienen ningún efecto positivo en asociación con el LTR RSV.

30 **Ejemplo 30: Comparación de las unidades de transcripción en los contextos E2-CDK9-U3 y LTR RSV**

35 Las diferentes unidades de transcripción a ensayar se ensayan para la producción de la cadena ligera kappa del anticuerpo T125. La ganancia de productividad de los vectores así construidos se compara con la de los vectores de referencia pRep4KT125 y RSV_T125_K2.

Los resultados obtenidos a partir de 3 transfecciones realizadas en 3 semanas diferentes se ilustran en la figura 30 y permiten observar diferencias significativas entre las asociaciones ensayadas.

40 Se realiza una comparación múltiple para las medias (ng/ml) de producción de cadena ligera de Ig obtenidas con las diferentes asociaciones en la línea CHO-S (Tabla 2). El método actualmente utilizado para discriminar entre las medias es el procedimiento de las diferencias significativas mínimas de Fisher (LSD). Se efectúan unas extensiones múltiples con el método 95,0% LSD. Estos pares tienen unas diferencias estadísticamente significativas a nivel de confianza del 95,0%.

45 Tabla 2

	<i>Efectivo</i>	<i>Media</i>	<i>Grupo homogéneo</i>
RSVT125K2	12	10940,2	X
E2CDK9U3 hRosa	12	15847,6	X
K622_37 hRosa	12	23340,0	X
pRep4KT125	12	23843,2	X
E2CDK9U3	12	31903,9	X
K622_37 mRosa	12	35041,1	X
E2CDK9U3 mRosa	12	40688,4	X
K622_37 EF	12	41708,2	X
E2CDK9U3 EF	12	51907,2	X

Se identifican cinco grupos homogéneos utilizando unas columnas de X.

5 La asociación de E2-CDK9-U3 con el intrón EF es significativamente la más eficaz. En el contexto E2-CDK9-U3, el intrón EF aporta así una ganancia del 63%.

Las asociaciones LTR RSV con intrón EF y E2-CDK9-U3 con intrón mROSA son también significativamente muy eficaces.

10 En menor medida, las otras asociaciones ensayadas son más eficaces que la referencia RSV T125 K2.

Ejemplo 31: Producción del anticuerpo anti-Rh(D) entero (HK) por unos vectores que contienen E2CDK9U3

15 Los anticuerpos anti-D enteros (HK) se producen respectivamente en las células CHO-S transfectadas por los vectores que contienen una unidad de transcripción de estructura E2-CDK9-U3 y en las células CHO-S transfectadas por los vectores que contienen una unidad de transcripción de estructura RSV-intrón pCineo (vector de referencia).

20 La tabla 3 siguiente muestra los resultados de evaluación de los anticuerpos anti-D enteros producidos por unos pools de células transfectadas por el vector HK463-18 o por el vector HK E2-CDK9-U3. La figura 31 ilustra estos resultados.

Tabla 3: F6-2= pool procedente de la transfección con HK463-18, F11-2 = pool procedente de la transfección con HK E2-CDK9-U3

25

Pool	medio	Tipo de producción discontinuo	Evaluación IgG ELISA en ng/ml	Ganancia E2CDK9U3 / RSV+intrónpCI
F6-2	Freestyle + G418	D+12 F25	2 324	
F11-2	Freestyle + G418	D+12 F25	14 193	6,1

La unidad de transcripción E2CDK9U3 permite obtener una ganancia de productividad del orden de 6 veces más elevada que la obtenida con el vector de referencia.

30 La tabla 4 siguiente muestra los resultados de evaluación de los anticuerpos anti-D enteros producidos por los mejores clones (procedentes del procedimiento de cribado descrito en materiales y métodos, sobre un número limitado de colonias) procedentes de los pools anteriormente descritos, transfectados por el vector HK463-18 o por el vector HK E2-CDK9-U3. La figura 32 ilustra estos resultados.

35 Tabla 4

Nombre del vector	cultiflask	
	Prod. Max. D-1 ELISA IgG en ng/ml	Prod. Max. ELISA IgG en ng/ml
HK 463-18	NA	<min
HK 463-18	NA	2 071
HK 463-18	NA	2 732
HK 463-18	NA	4 110
HK 463-18	NA	16 937
HK-E2-CDK9-U3	NA	4 061
HK-E2-CDK9-U3	NA	10 585
HK-E2-CDK9-U3	6 863	13 235
HK-E2-CDK9-U3	13 389	14 221
HK-E2-CDK9-U3	21 318	20 203
HK-E2-CDK9-U3	29 860	33 069
HK-E2-CDK9-U3	37 611	33 402
HK-E2-CDK9-U3	NA	36 830
HK-E2-CDK9-U3	NA	43 851
HK-E2-CDK9-U3	NA	47 315
HK-E2-CDK9-U3	58 007	58 007
HK-E2-CDK9-U3	47 056	60 304
HK-E2-CDK9-U3	61 902	74 233

La unidad de transcripción E2-CDK9-U3 permite obtener una ganancia de productividad consecuente con respecto al vector basado sobre LTR RSV + intrón pCI neo:

• la productividad máxima obtenida con E2CDK9U3 es más de 4 veces superior a la obtenida con LTR RSV+ intrón pCI neo

• las productividades observadas sobre los clones obtenidos con E2-CDK9-U3 son de promedio más elevadas que las obtenidas con LTR RSV+ intrón pCI neo: título medio de 60,0 µg/ml sobre los clones obtenidos con E2-CDK9-U3 a comparar con un título medio de 6,5 µg/ml sobre los clones obtenidos con LTR RSV+ intrón pCI neo, es decir un título medio casi 10 veces superior con E2-CDK9-U3

Ejemplo 32: Expresión transitoria de las cadenas kappa T125 en la línea CHO-S

La cadena kappa se produce en las células CHO-S transfectadas respectivamente por los vectores que contienen una unidad de transcripción de estructura: E2-bActina-control, E2-bActina-U1, E2-bActina-U3 o E2-bActina-U1U2U3.

La tabla 5 siguiente, así como la figura 33, ilustran los resultados de evaluación de las cadenas kappa en el medio de cultivo.

Estos resultados muestran que una unidad de transcripción según la presente invención que contiene al menos un 5'UTR puede aumentar la producción de cadenas kappa T125 en la línea celular CHO-S con respecto a la de un vector control que contiene sólo el potenciador hCMVie y el promotor de la β-actina.

Tabla 5

	Efectivo	Media	Grupo homogéneo
E2_bActina_control	10	35847,2	X
E2_bActina_U1	12	43788,0	X
E2_bActina_U3	11	44314,6	X
E2_bActina_U1U2U3	12	44804,5	X
E2_CDK9_U3	12	45551,4	X

La cadena kappa se ha producido también en las células CHO-S transfectadas respectivamente por los vectores pREP4-KT125, pREP4-E2-bActina-U3 o pREP4-E2-bActina-U1U3.

La tabla 6 así como la figura 35 ilustran los resultados de evaluación de las cadenas kappa en el medio de cultivo.

Tabla 6

	Efectivo	Media	Grupo homogéneo
pREP4_KT125	6	14813,8	XX
pREP4_E2_bActina_U3	6	20493,9	XX
pREP4_E2_bActina_U1U3	6	24185,5	XX

Estos resultados confirman que con una unidad de transcripción que contiene el potenciador hCMVie, el promotor de la β-actina y un 5'UTR permite aumentar la valoración de las proteínas recombinantes.

Ejemplo 33: Expresión transitoria de las cadenas kappa T125 en la línea HEK

La cadena kappa se produce en las células HEK transfectadas respectivamente por los vectores que contienen una unidad de transcripción de estructura: E2-bActina-control, E2-bActina-U1 o E2-bActina-U1U2U3.

La tabla 7 siguiente, así como la figura 34, ilustran los resultados de evaluación de las cadenas kappa en el medio de cultivo.

Estos resultados muestran que una unidad de transcripción según la presente invención que contiene al menos un 5'UTR puede también aumentar la valoración de las cadenas kappa T125 en la línea celular HEK con respecto a la de un vector control que contiene sólo el potenciador hCMVie y el promotor de la β-actina.

Tabla 7

	Efectivo	Media	Grupo homogéneo
E2_bActina_control	11	13978,9	X
E2_bActina_U1	5	37275,9	X
E2_bActina_U1U2U3	11	76477,2	X

La cadena kappa se ha producido también en las células HEK transfectadas respectivamente por los vectores pCEP4-KT125 y pCEPT4-E2-bActina-U1U3.

5 Los resultados ilustrados en la figura 36 confirman que una unidad de transcripción según la presente invención permite aumentar la valoración de las proteínas recombinantes.

REIVINDICACIONES

1. Unidad de transcripción constituida de un polinucleótido que comprende los elementos reguladores siguientes:

- 5 - el potenciador del virus hCMVie, teniendo dicho potenciador la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 1, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 1 y que posee unas propiedades de activación de la transcripción, y
- 10 - la región promotora de:
- 15 - la β -actina, teniendo dicha región promotora la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 3, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia SEQ ID NO: 3 y poseyendo una actividad promotora, y
- 20 - un ácido nucleotídico situado en la posición 3' de dicha región promotora y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción, comprendiendo dicho ácido nucleotídico la región reguladora R del 5' Long Terminal Repeat (LTR) del virus HTLV-1 y la región 5' UTR del gen del factor de iniciación eucariota 4GI (eIF4GI), teniendo dicho ácido nucleotídico la secuencia SEQ ID NO:8, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO:8 que tienen unas propiedades de estabilización de los ARNm y de facilitador de la traducción.

2. Unidad de transcripción según la reivindicación 1, en la que dicho polinucleótido tiene la secuencia SEQ ID NO:25.

25 3. Unidad de transcripción según la reivindicación 1, comprendiendo dicho polinucleótido también un intrón, seleccionándose dicho intrón entre los siguientes:

- 30 - intrón del gen Factor 1 α de Elongación (EF1 α) que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 11, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 11,
- 35 - intrón murino ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 12, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 12,
- intrón humano ROSA que tiene la secuencia nucleotídica SEQ ID NO: 13, o un ácido nucleotídico que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 13,

estando dicho intrón situado:

- 40 (i) en la posición 3' de la región 5' UTR y en la posición 5' del sitio de iniciación de la traducción, o
- (ii) en la posición 3' del promotor y en la posición 5' de la región 5'UTR, o
- (iii) después del sitio de iniciación de la traducción y en el interior de una secuencia codificante, o
- 45 (iv) entre el codón de terminación de la secuencia codificante y la señal de poliadenilación,

teniendo dicho polinucleótido especialmente una de las secuencias siguientes: SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69.

50 4. Vector de expresión que comprende al menos una unidad de transcripción tal como se define según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y al menos un sitio de clonación que permite la integración de un ácido nucleotídico que codifica para una proteína de interés especialmente seleccionada entre el grupo constituido de las proteínas de la coagulación, de las inmunoglobulinas, de las citoquinas, de las hormonas, de los factores de crecimiento o factores del complemento y de cualquier proteína de fusión,

55 comprendiendo dicho vector de expresión en particular un gen de resistencia eucariota, un gen de resistencia bacteriana, un origen de replicación bacteriana y una unidad dedicada a la amplificación génica.

60 5. Vector de expresión que comprende al menos una unidad de transcripción tal como se define según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y al menos un sitio para la recombinación de sitio específico que permite la integración de un ácido nucleotídico que codifica para una proteína de interés, especialmente seleccionada entre el grupo constituido de las proteínas de la coagulación, de las inmunoglobulinas, de las citoquinas, de las hormonas, de los factores de crecimiento o factores del complemento y de cualquier proteína de fusión,

65 comprendiendo dicho vector de expresión, especialmente, un gen de resistencia eucariota, un gen de resistencia bacteriana, un origen de replicación bacteriana y una unidad dedicada a la amplificación génica.

6. Célula hospedante que comprende un vector de expresión tal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 5, siendo dicha célula hospedante especialmente una línea celular CHO seleccionada entre CHO-S, CHO o una línea celular HEK.

5 7. Utilización *in vitro* de un vector de expresión según la reivindicación 3 para transfectar una célula hospedante.

8. Sistema de expresión que comprende un vector de expresión tal como se define según una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 5 y una célula hospedante tal como se define según la reivindicación 6 que permite la expresión de una proteína de interés codificada por un ácido nucleotídico.

10 9. Utilización *in vitro* de un vector de expresión que comprende al menos una unidad de transcripción según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en una célula hospedante según la reivindicación 5 para producir una proteína de interés codificada por un ácido nucleotídico, produciéndose dicha proteína con un título más elevado que en un vector de expresión que comprende al menos un promotor RSV, un intrón pCIneo, una secuencia de poliadenilación, un gen de resistencia eucariota, un gen de resistencia bacteriana, un origen de replicación bacteriana y una unidad dedicada a la amplificación génica, comprendiendo dicho vector de referencia la misma secuencia nucleotídica.

15 20 10. Procedimiento de producción *in vitro* de una proteína recombinante de interés que comprende las etapas de:

- introducir el vector de expresión que comprende al menos una unidad de transcripción según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y un ADNc que codifica una proteína de interés en una célula hospedante,
- 25 - extraer y purificar dicha proteína de interés,
- opcionalmente seleccionar e identificar unas células hospedantes obtenidas que expresan de manera estable dicha proteína de interés.

30

Figura 1

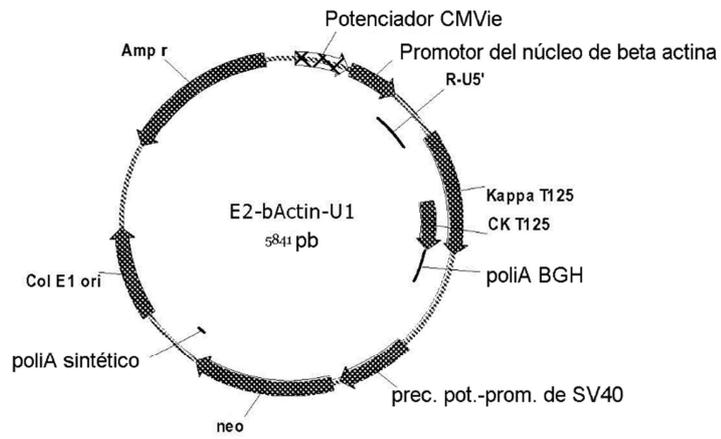


Figura 2

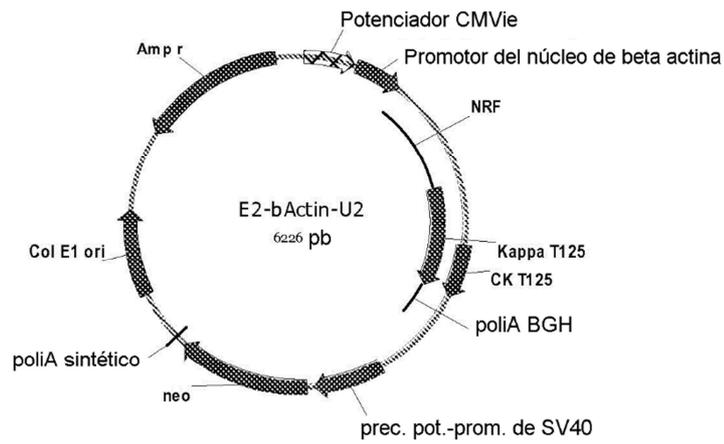


Figura 3

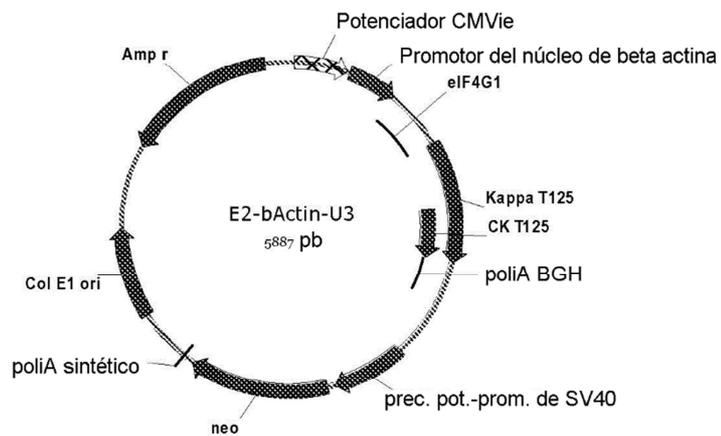


Figura 4

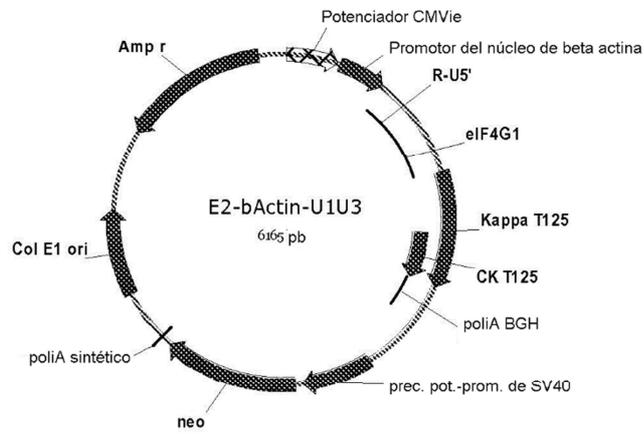


Figura 5

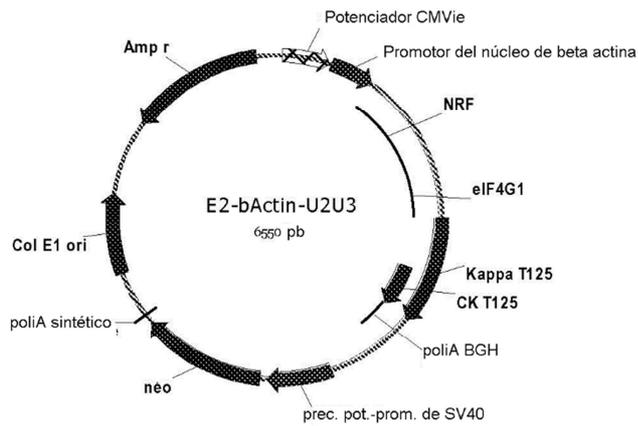


Figura 6

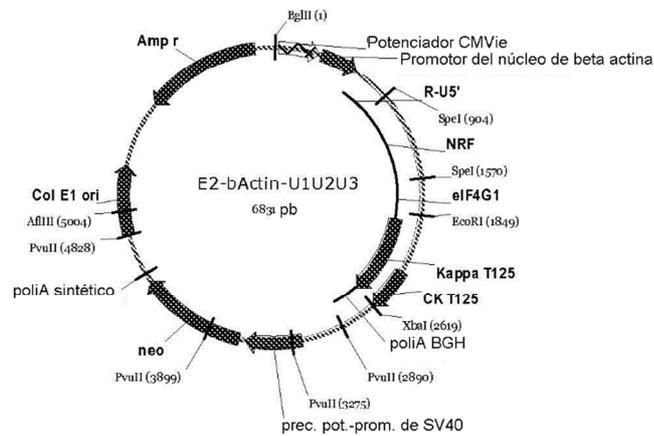


Figura 7

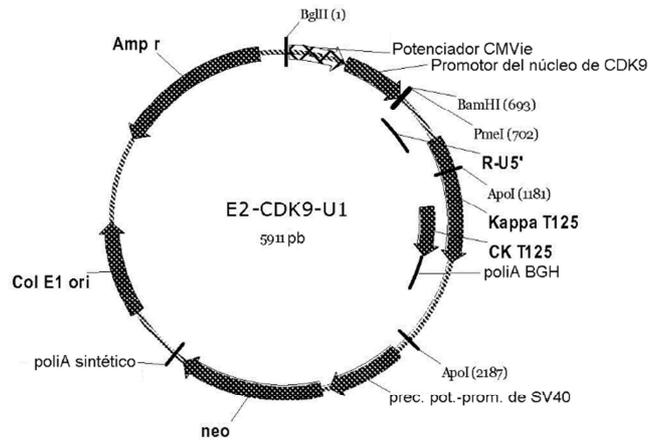


Figura 8

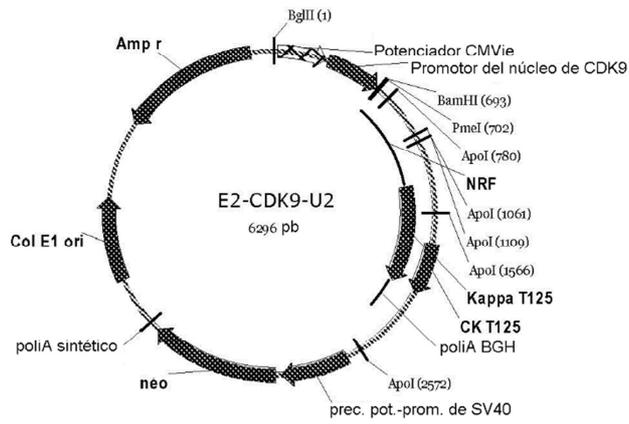


Figura 9

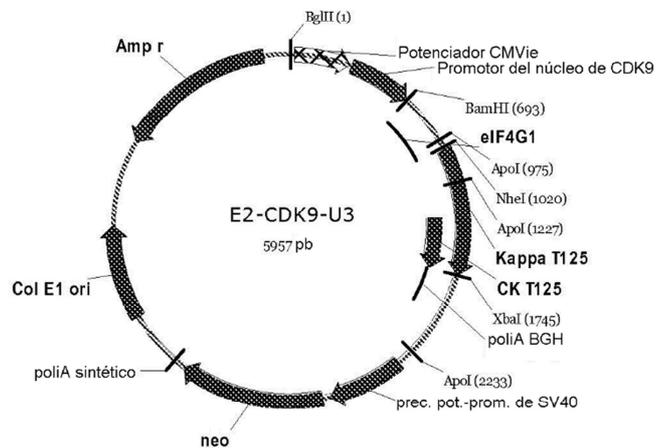


Figura 10

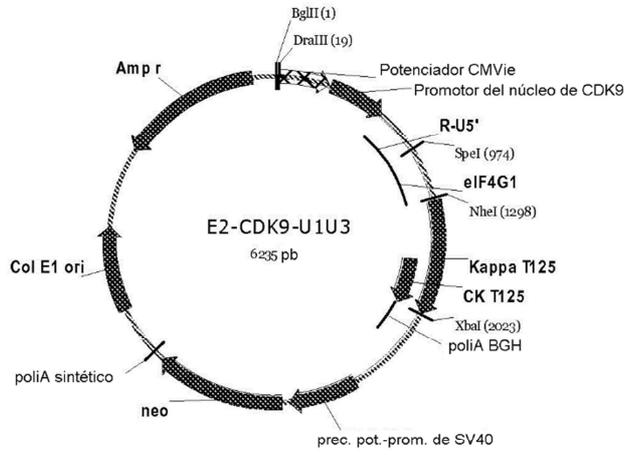


Figura 11

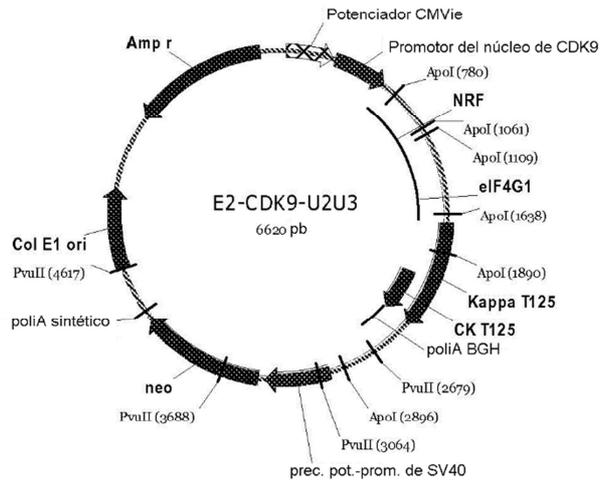


Figura 12

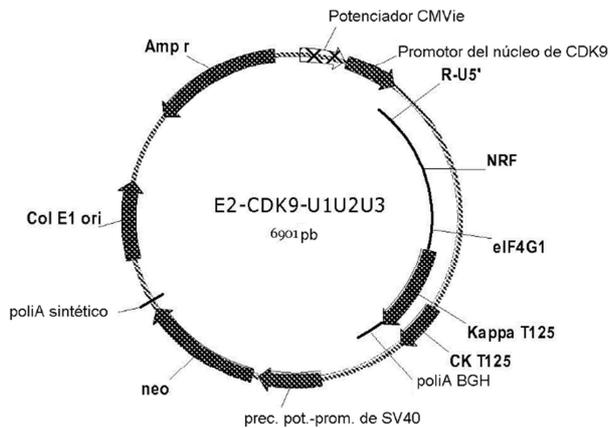


Figura 13

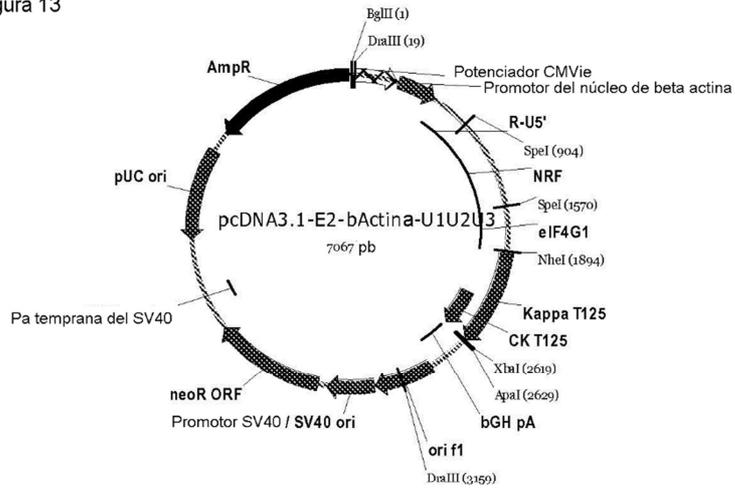


Figura 14

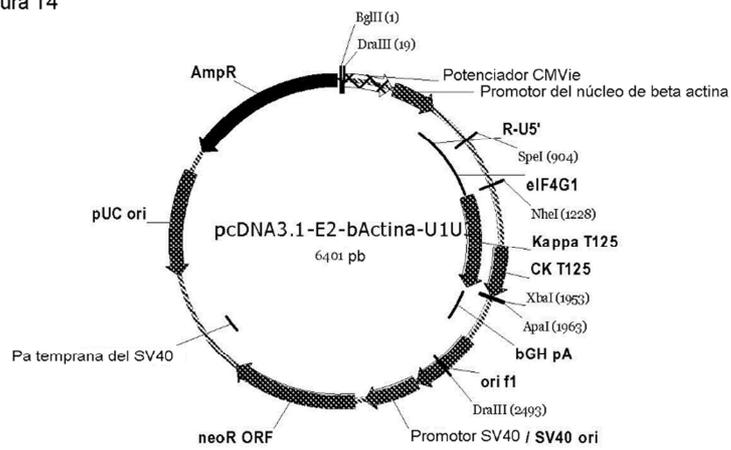


Figura 15

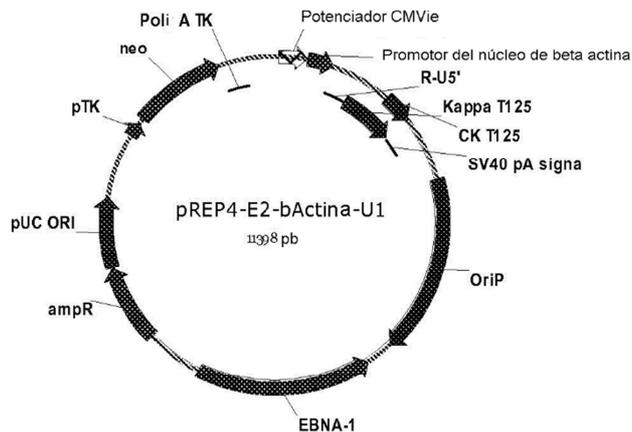


Figura 16

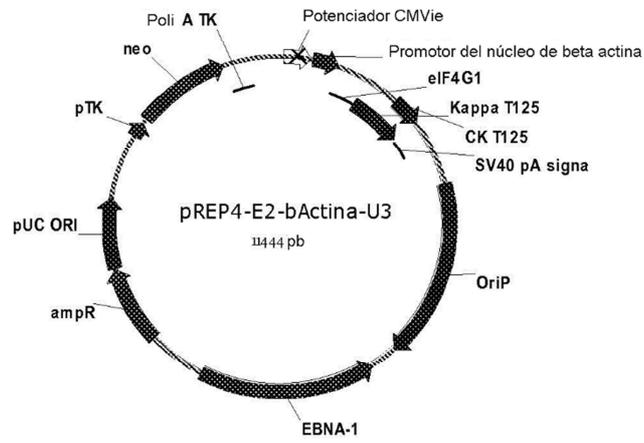


Figura 17

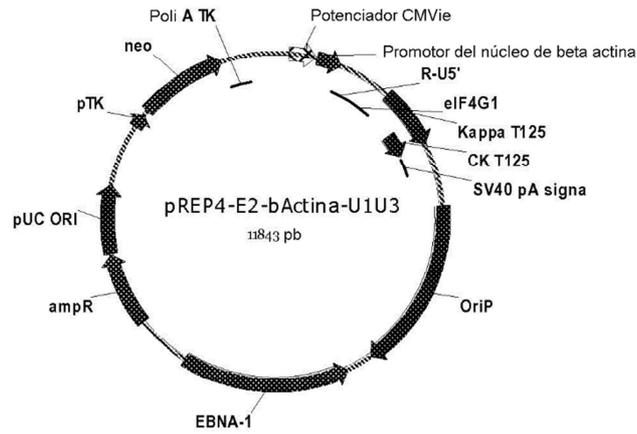


Figura 18

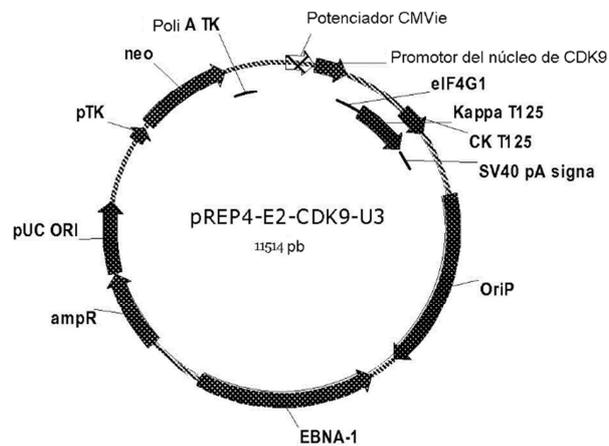


Figura 19

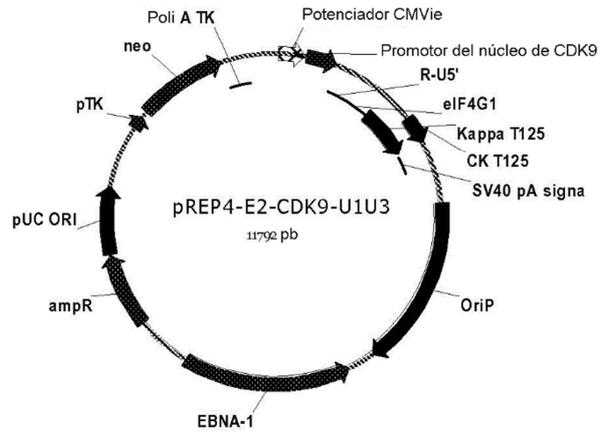


Figura 20

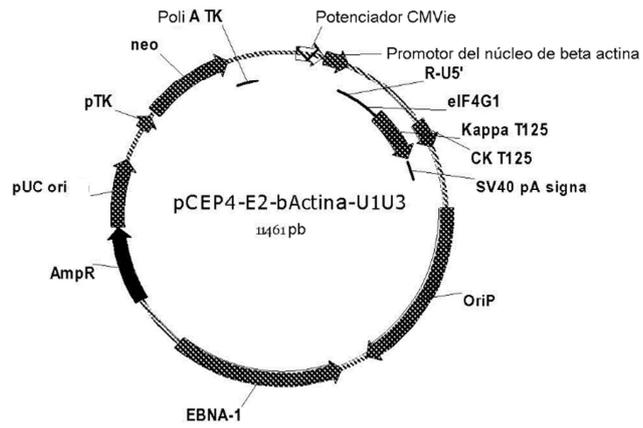


Figura 21

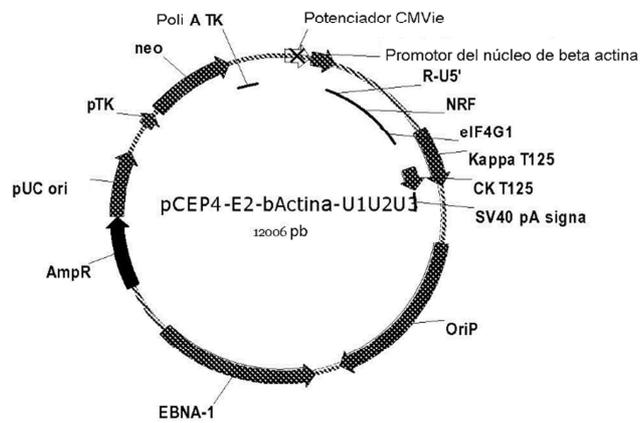


Figura 22

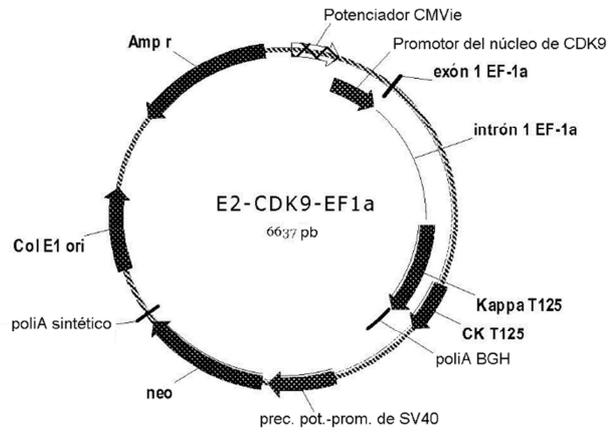


Figura 23

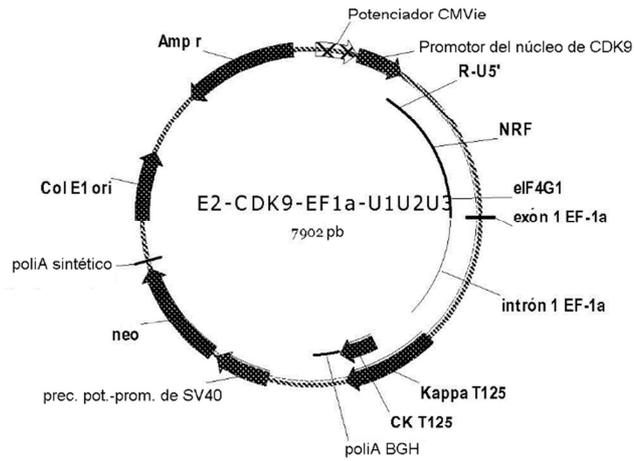


Figura 24

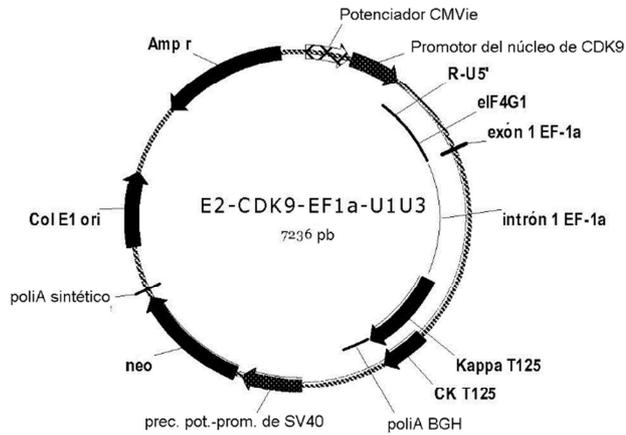


Figura 25

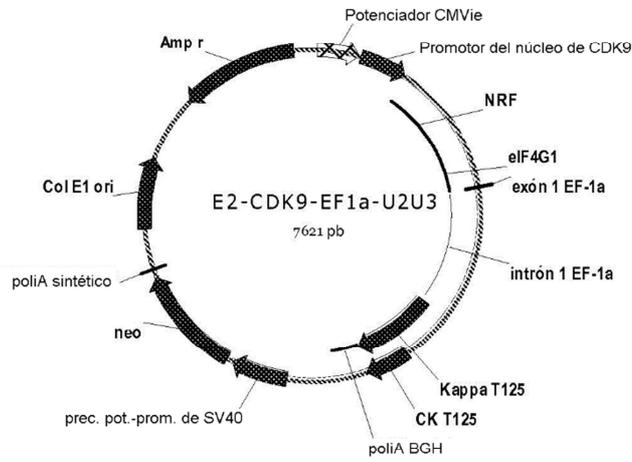


Figura 26

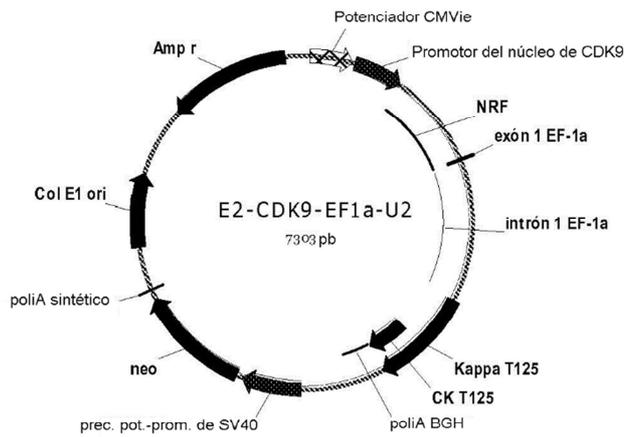


Figura 27

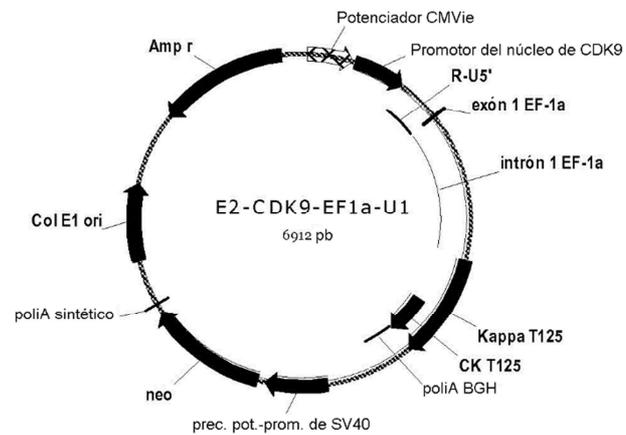


Figura 28

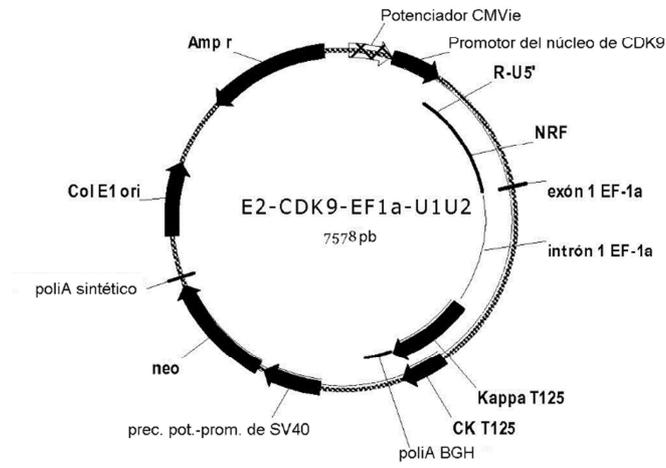


Figura 29

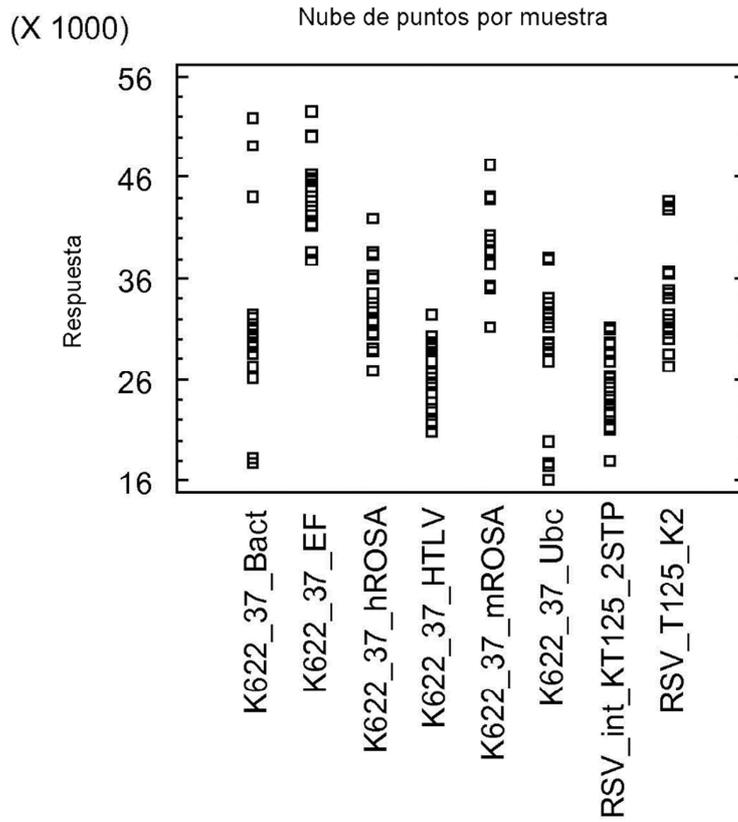


Figura 30

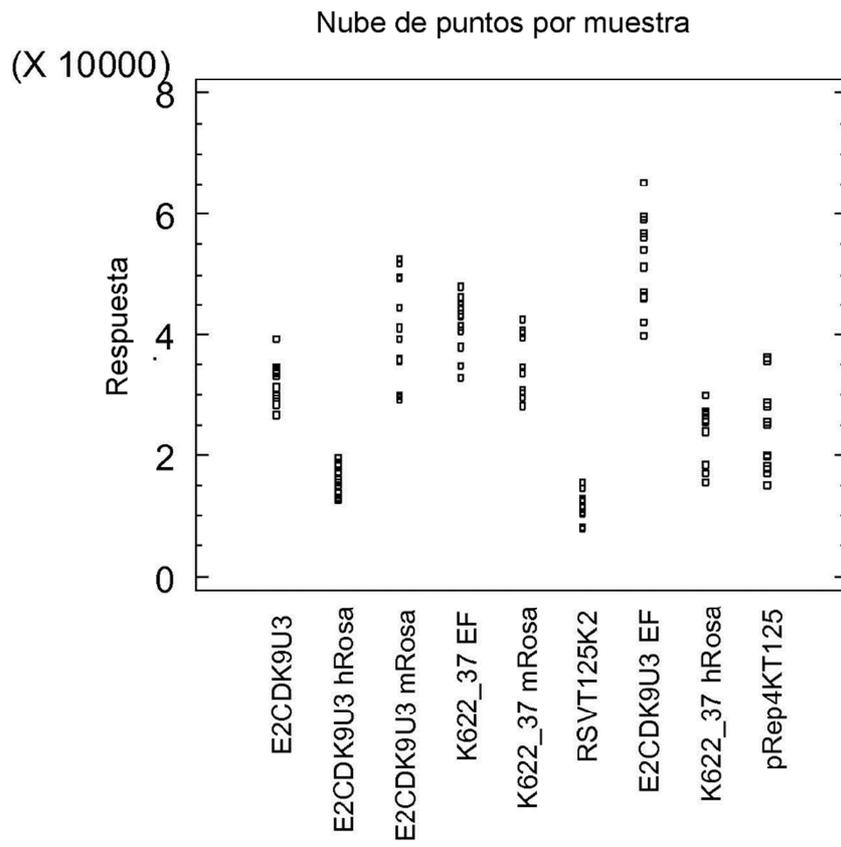


Figura 31

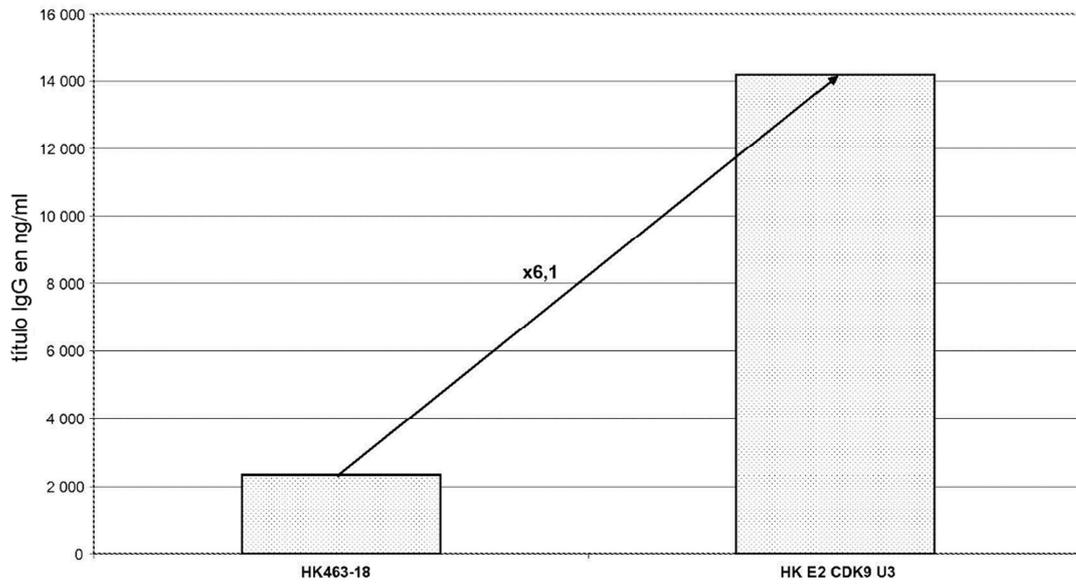


Figura 32

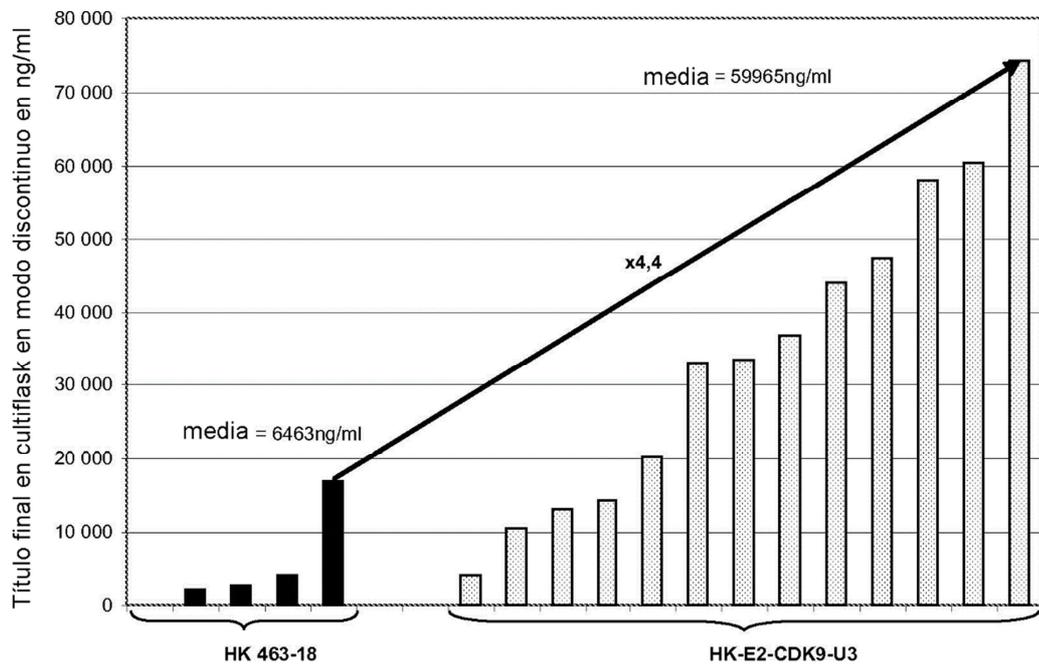


Figura 33

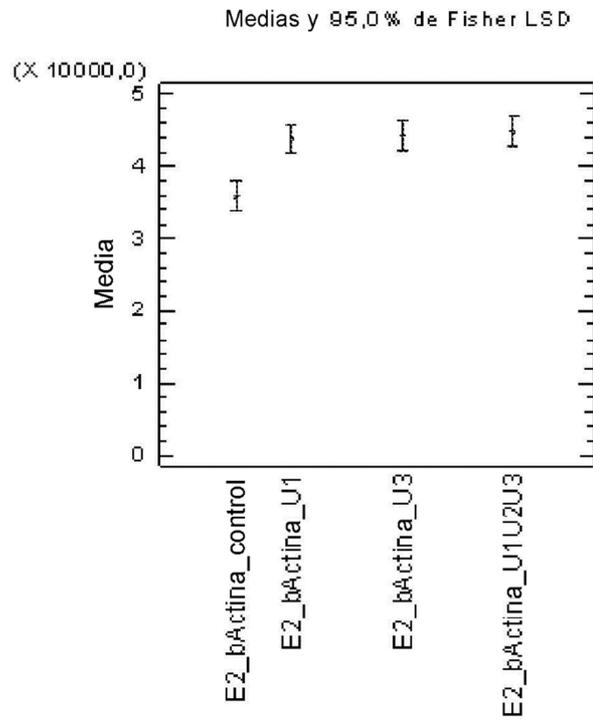


Figura 34

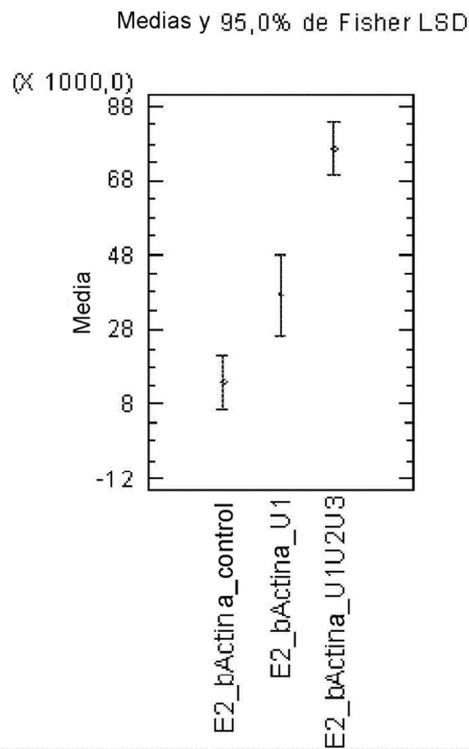


Figura 35

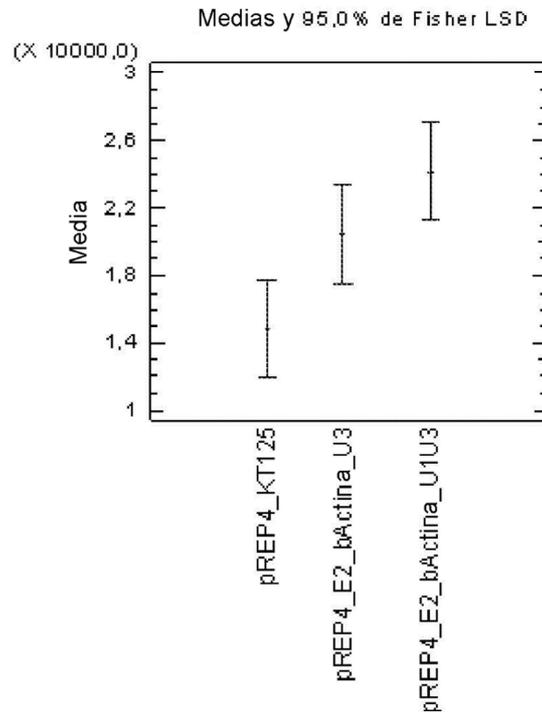


Figura 36

