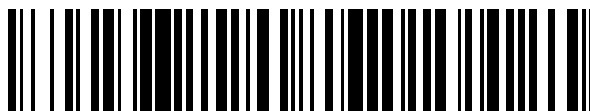


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 759 049**

51 Int. Cl.:

C12N 15/86

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.10.2014** **PCT/GB2014/053102**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.04.2015** **WO15056014**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.10.2014** **E 14787036 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.09.2019** **EP 3058076**

54 Título: **Vectores retrovirales**

30 Prioridad:

16.10.2013 GB 201318347

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

07.05.2020

73 Titular/es:

**UCL BUSINESS PLC. (100.0%)
The Network Building 97 Tottenham Court Road
LONDON W1T 4TP, GB**

72 Inventor/es:

**VINK, CONRAD y
HOWE, STEVEN**

74 Agente/Representante:

DURAN-CORRETJER, S.L.P

ES 2 759 049 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

Vectores retrovirales

5 Sector de la invención

La presente invención se refiere a un vector retroviral en el que los elementos en cis se encuentran en dirección 3' de la LTR en 3'. Por lo tanto, estos elementos están presentes en el genoma de ARN viral de manera que pueda empaquetarse en viriones, pero están fuera de la región del genoma que se transcribe de forma inversa y, por tanto, no están presentes en el ADN de vector en la célula diana. Esto reduce las desventajas asociadas con la persistencia del elemento en cis en el vector de transferencia en las células diana.

Estado de la técnica anterior

15 Los vectores retrovirales se encontraban entre los vectores virales más tempranos desarrollados para la transferencia de genes de mamífero. Se ha desarrollado un conjunto de especies retrovirales en vectores, de forma destacada alfaretrovirus (1), gammaretrovirus (2), el lentivirus virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) (3), lentivirus no humanos (4) y espumavirus (5).

20 El cambio estructural más importante en el movimiento de un retrovirus a un vector retroviral es la separación de las secuencias virales no codificantes requeridas en cis en el ácido nucleico que experimenta la transferencia de genes a partir de las secuencias codificantes de la proteína viral requeridas en trans en la célula productora para la producción de viriones. Esta separación hace que el vector sea capaz de sólo una ronda de infección, ya que no se producen proteínas virales en las células diana.

25 Un vector lentiviral de tercera generación estándar a base de VIH-1, tal como RRL o CCL (3) requiere la transfección conjunta de cuatro plásmidos en células productoras durante la producción de viriones (figura 1): un vector de transferencia que contiene los elementos en cis esenciales y el casete de expresión del transgén, un plásmido de empaquetamiento que expresa las poliproteínas de VIH-1 Gag y Gag-Pol, un plásmido para la expresión de la proteína Rev del VIH-1 y un plásmido para la expresión de la proteína de la envoltura viral. Los vectores lentivirales son capaces de incorporar proteínas de la envoltura de otros virus con envoltura si se expresan conjuntamente en células productoras, un fenómeno conocido como pseudotipado. La proteína de la envoltura utilizada más habitualmente es la glicoproteína del virus de la estomatitis vesicular (VSVG) que confiere estabilidad y un amplio tropismo sobre viriones de vector lentiviral (6).

35 Entre los elementos en cis esenciales contenidos en el vector de transferencia se incluyen las repeticiones terminales largas (LTR) de VIH-1, la señal de empaquetamiento de ARN (Ψ) y, de manera preferente, el elemento de respuesta a Rev (RRE). Las LTR contienen secuencias requeridas para la transcripción, la transcripción inversa y la integración del genoma del vector. En vectores de transferencia de autoinactivación (SIN) la casi totalidad de la región viral U3 en 3' se ha eliminado con el fin de suprimir sus actividades promotoras y potenciadoras (3). El mecanismo de transcripción inversa es tal que ambas U3 provirales se originan a partir de la LTR en 3' del genoma de ARN, de manera que los provirus resultantes de la infección con este vector carecen de la transcripción inducida por LTR y no pueden transcribir su genoma completo de manera eficaz en las células diana. Se cree que la señal de empaquetamiento de ARN se extiende en el comienzo de la secuencia codificante de gag, pero se ha introducido una mutación puntual en dirección 3' del codón de iniciación de gag para evitar la traducción de la mayor parte de esta secuencia. La proteína Rev interacciona con el RRE en células productoras para estabilizar las transcripciones, promocionar la exportación de ARN desde el núcleo y aumentar el empaquetamiento de ARN en viriones (7; 8). Entre los elementos en cis no esenciales, pero utilizados habitualmente, se incluyen un tracto de polipurina central (cPPT) derivado de VIH-1 que aumenta la transducción de células no divisoras (9) y un elemento regulador después de la transcripción del virus de la hepatitis de la marmota (WPRE) que aumenta el título viral y la expresión de transgenes a través de la mejora de la eficacia de la poliadenilación (10).

55 En un vector lentiviral de tercera generación estándar, estos elementos en cis se transcriben de forma inversa junto con el casete de expresión del transgén en células diana, lo que da lugar a un provirus que incorpora dos LTR SIN que contienen 236 pb del ADN del VIH-1 en cada una, un sitio de unión a cebador (PBS) para la región de Gag que contiene 490 pb del ADN del VIH-1, un RRE que contiene 858 pb del ADN del VIH-1 y una región de Nef al tracto de polipurina (PPT) que contiene 69 pb del ADN del VIH-1, formando un total de 1889 pb del ADN del VIH-1 suministradas a las células diana. Estos elementos en cis virales están unidos covalentemente al casete de expresión del transgén y persisten en las células diana después de la transducción. Si se utiliza un vector lentiviral de integración, se integran de forma irreversible en los cromosomas de la célula diana.

Consecuencias de la persistencia de los elementos en cis en el vector de transferencia en las células diana

65 La persistencia a largo plazo de los elementos en cis derivados del VIH-1 en células diana crea un conjunto de problemas observados experimentalmente y posibles teóricamente para la aplicación práctica de vectores lentivirales en el estudio de los efectos biológicos de los genes transferidos en cultivo celular o modelos de animales,

la generación de cepas de animales transgénicos y líneas celulares estables, y la transferencia de genes terapéuticos para tratar una enfermedad humana.

En primer lugar, los elementos en cis del vector de transferencia contienen sitios de corte y empalme aceptores activos que son capaces de empalmar con los genes de la célula huésped para crear transcripciones de fusión anormales (11-13). Se observó un caso de este tipo en un ensayo clínico de terapia génica en el que el corte y empalme entre una copia del gen de HMGA2 promotor del crecimiento del paciente y un provirus lentiviral integrado causó la desregulación de la transcripción de HMGA2 y una gran expansión clonal de una célula transducida (14).

En segundo lugar, la persistencia de elementos en cis requeridos para el empaquetamiento de ARN permite removilización de los genomas de vector lentiviral de autoinactivación en células que expresan proteínas virales (15). Si se utiliza en pacientes infectados con VIH, esto podría dar lugar a provirus con vector lentiviral removilizado y recombinación con genomas del VIH-1 de tipo salvaje.

En tercer lugar, los elementos en cis lentivirales contienen ADN rico en CpG no transcrito que está individuo a la metilación del ADN y pueden contribuir a la reducción en la expresión del transgén suministrado a través del silenciamiento en células huésped (16).

En cuarto lugar, las grandes regiones no transcritas dentro de vectores de ADN episomal se han asociado con el silenciamiento del transgén *in vivo* (17). Por lo tanto, la reducción del tamaño de la región no transcrita dentro de un vector lentiviral con deficiencia de integración episomal (IDLV) puede mejorar la expresión a largo plazo en aplicaciones de estos vectores.

En quinto lugar, la reducción del tamaño de la transcripción inversa puede aumentar la capacidad transportadora de transgenes de los vectores lentivirales. Existen potencialmente múltiples etapas del ciclo de vida lentiviral que son limitantes para el tamaño del genoma del vector, tales como el empaquetamiento de ARN (18), la transcripción inversa en tipos de células con baja concentración intracelular de dNTP (19) y la integración en los cromosomas.

Minimización de los elementos en cis dentro de los provirus de células diana

Se han realizado varios enfoques hacia el objetivo de minimizar los elementos en cis virales que persisten dentro de los provirus de las células diana.

En primer lugar, una serie de autores han investigado el efecto de delecciones simples y mutaciones puntuales sencillas para eliminar o inactivar los elementos en cis restantes. Cui et al. describieron mutaciones puntuales en el donador de corte y empalme principal (MSD) del VIH-1 situado en dirección 5' de Gag, así como delecciones incrementales adicionales de los elementos Gag y RRE que dan lugar a un vector de transferencia que contiene 550 pb del ADN en cis de VIH-1 (o 786 pb si se contabilizan ambas LTR en los provirus) (20). En células productoras 293T, estos cambios dieron lugar a una gran disminución en la expresión de ARN de vector de transferencia sin corte y empalme, pero en células TE671 este efecto fue menos pronunciado debido a los patrones de corte y empalme específicos del tipo de célula y la disminución resultante en el título fue sólo de 2 veces. Este sistema no ha sido ampliamente adoptado dentro del sector, tal vez debido a una combinación de la reducción del título y la línea celular productora inusual. Kotsopoulou et al. describieron un intento de generar un vector lentiviral independiente de Rev mediante la optimización de codones del plásmido de empaquetamiento y la delección del RRE del vector de transferencia, dando lugar a una reducción de 5 veces en el título (21). Desde entonces se ha descrito que el sistema de Rev/RRE es necesario para el empaquetamiento eficaz del ARN de vector de transferencia en viriones (8). Koldej et al. describieron la minimización de la cantidad de secuencia codificante de Nef en dirección 5' del PPT (22). La secuencia completa parece ser prescindible hasta la acción de 5 bases de timidina inmediatamente en dirección 5' del PPT.

Un segundo enfoque hacia la minimización de los elementos en cis dentro de los provirus de células diana es diseñar vectores en los que estos elementos están presentes en el genoma del ARN viral, pero posteriormente se eliminan durante la transcripción inversa o la integración.

Delviks et al. describieron un vector gammaretroviral en el que la señal de empaquetamiento de ARN estaba flanqueada por una repetición de 701 pb del gen de timidina quinasa del virus del herpes simple (VHS-TK) (23). Durante la transcripción inversa en las células diana, la conmutación de plantilla por la transcriptasa inversa de una repetición a la otra dio lugar a la delección de la señal de empaquetamiento de ARN. Dado que la conmutación de plantilla no es una actividad obligatoria para la transcriptasa inversa, se describió que la eficacia de esta delección fue del 91 % de los clones. Esta estrategia para eliminar elementos en cis tiene la desventaja de requerir la introducción de un nuevo elemento en cis (en este caso, VHS-TK), que no se elimina por sí mismo. Entre las patentes y solicitudes de patente derivadas de este vector se incluyen las Patentes US 5741486, US 5714353 y WO 95/032298. Srinivasakumar utilizó una estrategia similar en un vector lentiviral en el que el RRE estaba flanqueado por copias de repetición del gen de la higromicina fosfotransferasa, lo que daba lugar a la delección del RRE en el 84 % de los clones (24).

Torne-Celer et al. utilizaron la capacidad de integrasas retrovirales para escindir sitios att internos para generar vectores alfaretrovirales en los que la LTR en 5' y la señal de empaquetamiento de ARN se separan por escisión del complejo de preintegración por la enzima integrasa viral durante la etapa de procesamiento de integración del extremo 3' (25). Aunque el 61% de los clones en este informe contenían la delección esperada, el procesamiento del sitio att interno parece producir productos provirales heterogéneos y da lugar a títulos que son de 10^2 a 10^3 veces inferiores a lo que sería de esperar con un vector alfaretroviral más convencional (26).

Un tercer enfoque hacia la minimización de los elementos en cis lentivirales es eliminarlos de los provirus de células diana después de la transducción. Luche et al. describieron un vector lentiviral en el que la señal de empaquetamiento de ARN estaba flanqueada con sitios loxP, de manera que se pudiera escindir cuando se proporcionaba la Cre recombinasa en trans en células diana (27). En las células 293T transducidas, la escisión fue satisfactoria en el 12-20 % de las células transducidas. Fang et al. describieron un vector lentiviral autominimizando que incorpora un casete de expresión de Cre recombinasa que escindía la señal de empaquetamiento de ARN, RRE y en sí mismos después de la transducción de células diana (28). La escisión satisfactoria medida mediante la pérdida de expresión de Cre tuvo lugar en el 92 % de las células diana. Ambas estrategias se basan en la expresión y función satisfactorias de la Cre recombinasa en células diana y es muy poco probable que dicha estrategia reciba la aprobación regulatoria para su utilización en pacientes en un futuro próximo.

Características de la invención

Los inventores de la presente invención han tratado de minimizar elementos en cis dentro de provirus de células diana de una manera alternativa para reducir las desventajas asociadas con la persistencia de elementos en cis en el vector de transferencia en las células diana.

En los vectores lentivirales existentes, los elementos en cis, tales como la señal de empaquetamiento de ARN y el RRE, se encuentran entre las dos LTR virales y, de este modo, están dentro de la región del genoma que se transcribe de forma inversa. En el vector descrito en la presente invención, estos elementos en cis se encuentran en dirección 3' de la LTR en 3'. Por lo tanto, estos elementos están presentes en el genoma de ARN viral, de manera que puede empaquetarse en viriones, pero están fuera de la región del genoma que se transcribe de forma inversa y, de este modo, no están presentes en el ADN del vector en la célula diana.

Por consiguiente, en un primer aspecto de la presente invención, se da a conocer un vector retroviral que comprende un sitio de unión a cebador, una repetición terminal larga y una secuencia de empaquetamiento de ARN, en el que la secuencia de empaquetamiento de ARN se encuentra en 3' de la repetición terminal larga, de manera que la transcripción inversa iniciada en el sitio de unión a cebador no conduce a la transcripción inversa de la secuencia de empaquetamiento de ARN en ADN de vector en una célula diana. En otras palabras, la transcripción inversa del vector conduce a la exclusión de la secuencia de empaquetamiento de ARN de la transcripción inversa producida en una célula diana. En este vector, ninguna repetición terminal larga se encuentra en 3' de la secuencia de empaquetamiento de ARN.

El vector retroviral se puede basar en cualquier retrovirus adecuado que sea capaz de proporcionar información genética a células eucariotas. Por ejemplo, el vector retroviral puede ser un vector alfaretroviral, un vector gammaretroviral, un vector lentiviral o un vector espumaretroviral. Dichos vectores se han utilizado ampliamente en tratamientos de terapia génica y en otras aplicaciones de suministro de genes. En algunas realizaciones, el vector retroviral es un vector lentiviral. En algunos casos, el vector retroviral puede basarse en VIH-1.

El vector comprende un sitio de unión a cebador (PBS). Este es un sitio que se une a un cebador de ARNt que es responsable de iniciar la síntesis de la cadena negativa durante el proceso de transcripción inversa. El sitio de unión a cebador puede estar situado en 5' o 3' de la repetición terminal larga. De manera preferente, este sitio de unión a cebador se encuentra hacia el extremo 5' del vector. De manera preferente, el sitio de unión a cebador se encuentra en el lado 5' de la repetición terminal larga.

En algunas realizaciones, el vector comprende un segundo sitio de unión a cebador. De manera preferente, éste se encuentra en el lado 3' de la repetición terminal larga (LTR). En algunas realizaciones, estos dos sitios de unión a cebador se denominan un sitio de unión a cebador en 5' y un sitio de unión a cebador en 3'. En algunas realizaciones, el segundo sitio de unión a cebador se encuentra al lado de la LTR en el lado 3'. De manera preferente, el segundo sitio de unión a cebador se encuentra entre la LTR y la secuencia de empaquetamiento de ARN, de manera que la secuencia de empaquetamiento de ARN se encuentra en 3' del segundo sitio de unión a cebador.

Los sitios de unión a cebador se unen a un cebador de ARNt que es responsable de iniciar la síntesis de la cadena negativa durante el proceso de transcripción inversa. Los sitios de unión a cebador también proporcionan homología para la transferencia de la cadena positiva durante el proceso de transcripción inversa.

El vector comprende una repetición terminal larga (LTR). De manera preferente, ésta se encuentra hacia el extremo 3' del vector (aunque algunos componentes, tales como la secuencia de empaquetamiento de ARN, se pueden

encontrar más hacia el extremo 3' del vector).

En algunas realizaciones, el vector comprende dos repeticiones terminales largas, denominadas LTR en 5' y LTR en 3'. La LTR en 5' se encuentra hacia el extremo 5' del vector (aunque puede haber componentes más hacia el extremo 5'). Cuando están presentes dos LTR, el sitio de unión a cebador se encuentra, de manera preferente, en el lado 3' de la LTR en 5' (pero en el lado 5' de la LTR en 3'). El sitio de unión a cebador puede estar situado al lado de la LTR en 5' en el lado 3'.

Las LTR retrovirales, en general, se segmentan en regiones U3, R y U5. Sin embargo, en ciertas LTR, partes de estas regiones pueden estar eliminadas. El término "repetición terminal larga" o "LTR" pretende cubrir todas estas variaciones en LTR. La LTR participa en el proceso de transcripción inversa, de manera que el ADN del vector se produce en la célula diana basado en el ARN del vector. Las LTR pueden comprender un conjunto de señales necesarias para la expresión de genes, tales como un potenciador de la transcripción, un promotor, una señal de iniciación de la transcripción y/o una señal de poliadenilación.

La LTR puede ser una LTR de autoinactivación (SIN). En el vector, para una mayor seguridad la LTR es, de manera preferente, una LTR de autoinactivación, en la que se han suprimido los nucleótidos de la región U3. Esto puede incluir la caja TATA y los sitios de unión para factores de transcripción. La delección se transfiere a la LTR en 5' después de la transcripción inversa en células diana, lo que da lugar a la inactivación transcripcional de la LTR en los provirus.

Cuando el vector comprende dos LTR, ambas pueden ser LTR SIN. La región U3 de la LTR en 5' puede estar sustituida por un promotor, tal como el promotor de citomegalovirus (CMV) o del virus del sarcoma de Rous (RSV). Esto da lugar a la transcripción independiente de Tat, pero aún mantiene altos niveles de expresión. Tal como se ha indicado anteriormente, la LTR en 3' tiene nucleótidos eliminados de la región U3. Las LTR SIN son bien conocidas para los expertos en la materia (por ejemplo, véase Retrovirus. Editado por Coffin JM, Hughes SH y Varmus HE. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1997).

De manera preferente, cuando el vector comprende una LTR, el vector comprende dos PBS. Una PBS se encuentra hacia el extremo 5' del vector (PBS en 5') y puede situarse con precisión en el sitio de inicio de la transcripción para el promotor que dirige la transcripción del genoma del vector. Un PBS se encuentra hacia el extremo 3' del vector, 3' de la LTR (PBS en 3'). El PBS en 3' actúa como el sitio de iniciación de la síntesis de la cadena negativa durante el proceso de transcripción inversa. El PBS en 5' proporciona homología para la transferencia de la cadena positiva durante el proceso de transcripción inversa.

De manera preferente, cuando el vector comprende dos LTR (una LTR en 5' y una LTR en 3'), el vector comprende un PBS. El PBS se encuentra hacia el extremo 5' del vector (PBS en 5') y es la posición 3' de la LTR en 5'. El PBS actúa como el sitio de iniciación de la síntesis de la cadena negativa y proporciona homología para la transferencia de la cadena positiva durante el proceso de transcripción inversa.

En una realización particular, la presente invención da a conocer un vector retroviral que comprende: un sitio de unión a cebador en 5'; una repetición terminal larga en 3'; una secuencia de empaquetamiento de ARN; y un sitio de unión a cebador en 3' o una repetición terminal larga en 5', en el que la secuencia de empaquetamiento de ARN se encuentra en 3' de la repetición terminal larga en 3', de manera que la secuencia de empaquetamiento de ARN no se transcribe de forma inversa en el ADN del vector en una célula diana.

El vector comprende una secuencia de empaquetamiento de ARN que se encuentra en 3' de la repetición terminal larga, de manera que la secuencia de empaquetamiento de ARN no se transcribe de forma inversa en el ADN del vector en una célula diana. En realizaciones en las que el vector comprende dos repeticiones terminales largas, la secuencia de empaquetamiento de ARN se encuentra en 3' de la repetición terminal larga en 3' (es decir, 3' de ambas LTR), de manera que la secuencia de empaquetamiento de ARN no se transcribe de forma inversa en el ADN del vector en una célula diana. La secuencia de empaquetamiento de ARN es necesaria para el proceso esencial de empaquetamiento del genoma de ARN retroviral en la partícula viral, ya que es ensamblada por la célula productora. La secuencia de empaquetamiento de ARN es capaz de unirse a proteínas virales dentro de la partícula viral incipiente. En algunas realizaciones, la secuencia de empaquetamiento de ARN comprende la señal de empaquetamiento de ARN (Ψ). En el VIH-1, se ha observado que una parte del gen gag está implicada en el empaquetamiento de ARN. La secuencia de empaquetamiento de ARN también puede comprender el elemento de respuesta a Rev (RRE). Las secuencias de empaquetamiento de ARN y los componentes que las forman son bien conocidos para los expertos en la materia (por ejemplo, véase Retrovirus. Editado por Coffin JM, Hughes SH y Varmus HE. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1997).

En algunas realizaciones, el vector comprende, además, una secuencia de nucleótidos exógena para el suministro en una célula diana. Esta secuencia de nucleótidos exógena puede ser cualquier secuencia que alguien podría querer insertar en una célula diana. Por ejemplo, la secuencia de nucleótidos exógena puede ser un transgén expresable, un casete de interferencia de ARN o un código de barras molecular, por ejemplo, para marcar el linaje de células diferentes. La secuencia de nucleótidos exógena debe estar situada entre el PBS (PBS en 5', en el que

hay dos PBS) y la LTR (LTR en 3', en la que hay dos LTR).

En algunas realizaciones, la secuencia de nucleótidos exógena es un transgén expresable. Este transgén es un gen no retroviral y puede ser cualquier gen cuya expresión es deseada en una célula diana. El transgén expresable debe estar situado entre el PBS (PBS en 5', en el que hay dos PBS) y la LTR (LTR en 3', en la que hay dos LTR). El transgén puede codificar un péptido o proteína, o un ARN no codificante. En algunas realizaciones, el transgén codifica un péptido o proteína. De manera preferente, el péptido o proteína debe ser útil en terapia génica. En algunas realizaciones, el transgén está bajo el control de un promotor (por ejemplo, un promotor de PGK o GAPDH).

La expresión del transgén puede ayudar en el crecimiento normal de la célula o a mantener la salud de un individuo. En algunas realizaciones, el transgén codifica un péptido o proteína que está ausente o se subexpresa en un individuo. De manera alternativa, el transgén puede codificar un péptido o proteína que ayuda a prevenir o mejorar una afección médica. El péptido o proteína puede ser aquel o aquella que es útil en el tratamiento de enfermedades, tales como cáncer, aterosclerosis, anemia de células falciformes, infección, trastornos metabólicos, dolencias neurológicas y talasemias. Entre los ejemplos de dichos péptidos y proteínas se encuentran la hemoglobina, factores de crecimiento hematopoyético, tales como el factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), eritropoyetina (EPO), cadena gamma común, proteína del síndrome de Wiskott Aldrich (WASp), GP91phox y ABCD1. Otro ejemplo es el factor de necrosis tumoral (TNF), que es una molécula que se puede utilizar para tratar el cáncer, y en particular, los tumores. También se contemplan el supresor tumoral p53 y el retinoblastoma (RB). Diversas citocinas, tales como el factor de crecimiento de mastocitos (MGF) y las interleucinas 1-11, son también proteínas contempladas en la presente invención. Un gen de resistencia a múltiples fármacos (mdR) que codifica la glicoproteína p también se contempla como transgén. El péptido o la proteína también pueden ser un marcador seleccionable para la resistencia a antibióticos en eucariotas. También se incluyen otros tipos de marcadores seleccionables, tales como adenina fosforribosil transferasa (APRT) en células deficientes de APRT, una proteína fluorescente o el gen de luciferasa de luciérnaga. El péptido o la proteína pueden ser una proteína que proporcionará al huésped una actividad enzimática adicional o alterada, tal como la proteína timidina quinasa del virus del herpes simple para "terapia suicida" de los trasplantes de reactivos, o una toxina, tal como la proteína toxina de la difteria para el tratamiento del cáncer. Los transgenes que codifican estas proteínas se pueden proporcionar mediante cualquiera de un conjunto de procedimientos, tales como procedimientos de clonación de rutina (Sambrook et al. (1989), Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, NY), escisión a partir de un vector que contiene el gen de interés, o síntesis química o enzimática basada en la información de la secuencia publicada. En muchos casos, el ADN que codifica la proteína de interés está disponible en el mercado. En otra realización, el transgén codifica una proteína que permite la manipulación experimental de la célula, por ejemplo, una toxina o un marcador fluorescente o seleccionable de fármacos.

En otra realización preferente, el transgén es capaz de transcribirse en una molécula de ARN no codificante. En algunas realizaciones, el transgén puede codificar un ARN no codificante que pueden alterar el nivel de expresión de genes dentro de la célula o es un componente de un complejo de ribonucleoproteínas con actividad enzimática. Entre los ejemplos de dichos ARN no codificantes se encuentran ARN de interferencia corto (ARNsi), microARN, ARN nucleolares pequeños (ARNsno), ARN nucleares pequeños (ARNsn), ARN de interacción piwi (ARNpi), ARN no codificantes lagos, ARN de transferencia (ARNt) y ARN ribosómicos (ARNr). En algunas realizaciones, el transgén puede codificar un ARN no codificante que es suficientemente complementario para hibridarse con un ARNm o ADN de interés. Dicha molécula de ARN es un ARN antisentido y tiene utilidad en la prevención o limitación de la expresión de moléculas sobreproducidas, defectuosas o, en cualquier caso, indeseables o para investigar la función de un gen. El vector de la presente invención puede comprender, como transgén, una secuencia que codifica un ARN antisentido que es suficientemente complementaria a una secuencia diana, de manera que se une a la secuencia diana. Por ejemplo, la secuencia diana puede ser parte del ARNm que codifica un polipéptido, de manera que se une al ARNm que codifica el polipéptido y evita la traducción del mismo. En otra realización, la secuencia diana es un segmento de un gen que es esencial para la transcripción, de manera que el ARN antisentido se une al segmento (por ejemplo, un promotor o región codificante) y evita o limita la transcripción. Por lo tanto, el ARN antisentido debe ser de longitud y complementariedad suficientes para evitar la traducción de su ARNm diana o la transcripción de su ADN diana. Un experto en la materia puede determinar las moléculas antisentido que tienen suficiente complementariedad con una secuencia diana, de manera que la molécula antisentido es capaz de unirse a la diana y, de este modo, inhibir la traducción o la transcripción. La secuencia transgénica puede proporcionarse, por ejemplo, mediante síntesis química o enzimática, o a partir de fuentes comerciales.

El vector puede comprender elementos adicionales que ayudan en la transducción y la expresión del vector. Estos elementos se encuentran, en general, entre el PBS (PBS en 5', en el que hay dos PBS) y la LTR (LTR en 3', en la que hay dos LTR).

Por ejemplo, el vector puede comprender, además, un tracto de polipurina en 3' (PPT en 3'). Este es un sitio que es resistente a la actividad de ARNasa H de la transcriptasa inversa retroviral cuando está presente en el ARN. De manera preferente, se encuentra en 5' de la LTR (la LTR en 3', si hay dos). El PPT puede estar situado al lado de la LTR (la LTR en 3', si hay dos) en el lado 5'.

El vector puede comprender, además, un tracto de polipurina central (cPPT). El vector puede comprender, además, un elemento regulador posterior a la transcripción (PRE), tal como un elemento regulador posterior a la transcripción del virus de la hepatitis de marmota (WPRE). En algunas realizaciones, el vector comprende, además, un tramo de polipurina central (cPPT) y un elemento regulador posterior a la transcripción (PRE).

El vector puede comprender, además, una señal de poliadenilación (poliA), tal como la señal de poliadenilación (poliA) temprana o tardía del virus de simio 40 (SV40). De manera preferente, la señal de poliA se encuentra en 3' de la secuencia de empaquetamiento de ARN. De manera preferente, el vector comprende, además, una señal de poliA tardía de SV40. De manera preferente, ésta se encuentra en el extremo 3' del vector después de los otros componentes, tales como la secuencia de empaquetamiento de ARN.

El vector comprende, de manera preferente, un promotor para dirigir la transcripción del genoma del vector. Éste puede ser cualquier promotor adecuado, que incluye un promotor del virus del sarcoma de Rous (RSV), un promotor temprano inmediato del citomegalovirus humano (CMV), un promotor del virus formador de foco en el bazo (SFFV) o un promotor de U3 del VIH-1. Este promotor se coloca de manera preferente, en el extremo 5' del vector.

De manera preferente, el sitio de unión a cebador del vector se coloca de manera precisa en el sitio de inicio de la transcripción para el promotor que dirige la transcripción del genoma del vector. Cuando hay dos PBS, el PBS en 5' se coloca, de manera preferente, de forma precisa, en el sitio de inicio de la transcripción para el promotor que dirige la transcripción del genoma del vector.

De manera preferente, un sitio donador de empalme principal (MSD) retroviral se encuentra cerca del extremo 5' del vector cerca del promotor. Este MSD puede estar situado en 3' del PBS (el PBS en 5', en el que hay dos). Se ha encontrado que esto aumenta los niveles de títulos del vector.

En una realización en la que el vector comprende una LTR y dos PBS, el vector comprende, en dirección de 5' a 3', los siguientes componentes:
5' - promotor - PBS - transgén expresable - LTR - PBS - secuencia de empaquetamiento de ARN - 3'.

En una realización en la que el vector comprende dos LTR y un PBS, el vector comprende, en dirección de 5' a 3', los siguientes componentes:
5' - promotor - LTR - PBS - transgén expresable - LTR - secuencia de empaquetamiento de ARN - 3'.

En una realización en la que el vector comprende una LTR y dos PBS, el vector comprende, en dirección de 5' a 3', los siguientes componentes:
5' - promotor - PBS - MSD (opcional) - cPPT (opcional) - transgén expresable - WPRE (opcional) - PPT - LTR - PBS - MSD (opcional) - secuencia de empaquetamiento de ARN - señal de poliA (opcional) - 3'.

En una realización en la que el vector comprende dos LTR y un PBS, el vector comprende, en dirección de 5' a 3', los siguientes componentes:
5' - promotor - LTR - PBS - MSD (opcional) - cPPT (opcional) - transgén expresable - WPRE (opcional) - PPT - LTR - MSD (opcional) - secuencia de empaquetamiento de ARN - señal de poliA (opcional) - 3'.

En otra realización, se da a conocer una célula huésped que contiene el vector descrito anteriormente. La célula huésped puede ser cualquier célula eucariota adecuada en el que puede introducirse el vector.

Los plásmidos que codifican los vectores retrovirales de la presente invención se transfectan en células huésped adecuadas (o células de empaquetamiento) mediante procedimientos estándar conocidos por un experto en la materia. Las células de empaquetamiento adecuadas se definen en el presente documento como células que contienen un virus auxiliar suficiente para permitir el empaquetamiento de ARN transcrito a partir del vector retroviral y la liberación de partículas de virus del vector, o viriones. En general, se transfectan conjuntamente plásmidos adicionales que codifican secuencias virales de transacción, pero que carecen de las secuencias que actúan en cis requeridas para el empaquetamiento. Éstas suministran las proteínas estructurales y enzimáticas requeridas para empaquetar y producir el ARN de esqueleto viral expresado. Dichas células de empaquetamiento son conocidas y están disponibles para un experto en la materia e incluyen, por ejemplo, células HEK293T.

El retrovirus recombinante producido a partir de las células transfectadas se recoge mediante procedimientos estándar. El retrovirus recogido, en forma de viriones, se utiliza para transducir una célula diana permisiva mediante técnicas estándar. Una célula diana se define en el presente documento como cualquier célula que es permisiva a la infección por el virus producido por el vector retroviral de la presente invención. La célula diana puede ser *in vivo* o *ex vivo*. Entre las células diana representativas se incluyen, por ejemplo, células madre de médula ósea, hepatocitos, células musculares, células tumorales, neuronas, células epiteliales de la retina y de las vías respiratorias. El provirus que se forma en la célula diana puede entonces expresar el transgén. Dado que el provirus no contiene ninguna secuencia de empaquetamiento de ARN, ninguna proteína auxiliar endógena presente puede desencadenar la producción de un virus infeccioso a partir del provirus.

En una realización adicional, se da a conocer un virión que contiene el vector descrito anteriormente.

También se da a conocer una composición farmacéutica que comprende el vector o virión descrito anteriormente. La composición farmacéutica puede comprender, además, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

Adicionalmente, se da a conocer un vector o virión para la utilización en terapia, en particular, terapia génica.

También se da a conocer un vector o virión para la utilización en el suministro de un transgén a un individuo en terapia génica.

La presente invención da a conocer un procedimiento para suministrar un gen a una célula diana, comprendiendo el procedimiento administrar una cantidad eficaz de un vector o virión a la célula diana, en el que la célula diana no está en un cuerpo humano o animal, y en el que el vector o virión comprende un transgén expresable. Este procedimiento se puede utilizar para crear una línea celular que expresa un gen de interés. Por ejemplo, el gen puede codificar para un agente bioterapéutico, de manera que la línea celular produce el agente bioterapéutico, por ejemplo, una proteína o anticuerpo terapéuticos.

La presente invención también da a conocer una célula producida mediante el procedimiento anterior, en la que la célula contiene el vector o virión descrito anteriormente, en la que el vector o virión comprende un transgén expresable.

El vector o virión descrito anteriormente se puede utilizar en un procedimiento para suministrar un gen a una célula diana en un individuo, comprendiendo el procedimiento administrar una cantidad eficaz de un vector o virión al individuo.

El individuo puede ser un ser humano o animal. Cuando el individuo es un ser humano, el gen se puede suministrar al individuo como parte de terapia génica, de manera que el gen se expresa en el individuo. Cuando el individuo es un animal, el procedimiento anterior se puede utilizar para producir un animal transgénico en el que se expresa el gen.

La presente invención también da a conocer un animal mamífero transgénico no humano producido mediante el procedimiento anterior. Después de la administración, el animal comprende una célula que contiene el vector o virión descrito anteriormente, en la que el vector o virión comprende un transgén expresable.

La presente invención se describirá, a continuación, en detalle, sólo a modo de ejemplo, con referencia a las siguientes figuras.

Descripción breve de las figuras

Figura 1. Representación esquemática del genoma del VIH-1 y un sistema de vectores lentivirales de tercera generación RRL/CCL derivado del mismo. U3, único en la región 3'; R, región de repetición; U5, único en la región 5'; PBS, sitio de unión a cebador; Ψ, señal de empaquetamiento de ARN; PPT, tracto de polipurina; LTR, repetición terminal larga; RSV, promotor U3 del virus de sarcoma de Rous; CMV, promotor temprano inmediato del citomegalovirus humano; Δgag, secuencia de gag truncada; fs, mutación por desplazamiento del marco; RRE, elemento de respuesta a Rev; cPPT, tracto de polipurina central; wPRE, elemento regulador posterior a la transcripción del virus de la hepatitis de marmota; ΔU3, región U3 de autoinactivación; pA, señal de poliadenilación; VSV-G, glicoproteína del virus de la estomatitis vesicular.

Figura 2. Esquema del plásmido vector desarrollado en la presente invención y esquema de la transcripción inversa de vectores de LTR1 que muestran que las secuencias de empaquetamiento (Gag + RRE) en el extremo 3' del genoma de ARN no están transcritas de forma inversa. LTR SIN, LTR de autoinactivación; SV40pA, señal de poliadenilación del virus de simio 40; GAPDH, promotor de la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa humana; eGFP, proteína fluorescente verde mejorada.

Figura 3. Esquema detallado de la transcripción inversa del vector lentiviral de tercera generación que muestra que todas las secuencias se transcriben de forma inversa. PGK, promotor de fosfoglicerato quinasa humana.

Figura 4. Esquema detallado de la transcripción inversa de LTR1 que muestra la exclusión de la secuencia de ARN de PBS-Ψ-RRE a partir de la transcripción inversa.

Figura 5. Mapas de los plásmidos vectores descritos en la presente invención. SV40EpA, señal de poliadenilación temprana del virus de simio 40; SV40LpA, señal de poliadenilación tardía del virus de simio 40; DIS, señal de dimerización del VIH-1; pA', señal de poliadenilación mutante AATAAA a AACAAA. AmpR, gen de resistencia a ampicilina; ori, origen de replicación bacteriano.

Descripción detallada de la invenciónCaracterísticas

Los elementos en cis del vector de transferencia lentiviral, tales como la señal de empaquetamiento de ARN del VIH-1 (Ψ) y el elemento de respuesta a Rev (RRE) son esenciales para el empaquetamiento del genoma del ARN viral en viriones en células productoras. En los vectores lentivirales estándar, estos elementos en cis se transcriben de forma inversa en ADN junto con el casete de expresión del transgén y persisten en las células diana después de la transducción. Esta persistencia crea diversos problemas conocidos y potenciales para aplicaciones de terapia génica con vectores lentivirales. Se ha observado que los sitios de corte y empalme dentro de los elementos en cis se empalman con genes del huésped cercanos, creando transcripciones de fusión anormales. La isla de CpG dentro de la secuencia de empaquetamiento de ARN experimenta la metilación del ADN en algunas células diana, lo que contribuye potencialmente al silenciamiento del transgén. La secuencia de empaquetamiento de ARN también permite la removilización de los genomas de vectores lentivirales en células que expresan proteínas lentivirales, lo que podría ser problemático en pacientes positivos de VIH. Las secuencias de empaquetamiento grandes dentro de la transcripción inversa pueden reducir el tamaño del casete de transgén que se puede acomodar.

En los vectores lentivirales estándar, los elementos en cis esenciales están situados entre las dos repeticiones terminales largas virales (LTR) y, de este modo, están dentro de la región del vector que se transcribe de forma inversa. Los inventores de la presente invención han desarrollado un vector de transferencia novedoso en el que la señal de empaquetamiento de ARN y el RRE se encuentran en dirección 3' de la LTR en 3', de manera que están presentes en el genoma de ARN durante el empaquetado de viriones, pero están fuera de la región del genoma que se transcribe de forma inversa en ADN en la célula diana. Estos vectores pueden producirse a un título elevado ($2,6 \times 10^8$ UT/ml mediante citometría de flujo con eGFP de 293Ts, preparación paralela de pCCL $1,3 \times 10^9$ UT/ml) y la expresión de eGFP se mantiene hasta 14 días después de la transducción. Se sugiere que la utilización de esta configuración para eliminar la mayor parte del ADN viral restante de los provirus de las células diana podría ser una característica de la nueva generación de vectores de terapia génica basados en el VIH-1 y otros retrovirus.

Introducción

En los vectores lentivirales existentes, los elementos en cis, tales como la señal de empaquetamiento de ARN y el RRE, se encuentran entre las dos LTR virales y, de este modo, están dentro de la región del genoma que se transcribe de forma inversa. En el vector de LTR1 descrito en la presente invención, los elementos en cis se encuentran en dirección 3' de la LTR en 3' (figura 2). Por lo tanto, estos elementos están presentes en el genoma del ARN viral, de manera que se puede empaquetar en viriones, pero están fuera de la región del genoma que se transcribe de forma inversa y, de este modo, no están presentes en el ADN del vector en la célula diana. Se eligió el nombre "LTR1" porque estos vectores contienen sólo una LTR en el plásmido vector de transferencia en lugar de las dos LTR presentes en un vector lentiviral convencional.

Para entender el mecanismo tras la presente invención es útil resumir el modelo clásico de la transcripción inversa retroviral utilizado por vectores lentivirales de tercera generación, tales como RRL o CCL (figura 3). En estos vectores (como en los de las generaciones anteriores), el sustrato para la transcripción inversa es un genoma de ARN viral que se encuentra en la célula diana. Una molécula de ARNt derivada del huésped unida al PBS actúa como cebador para la iniciación de la síntesis de ADN de la cadena negativa por la enzima de transcriptasa inversa viral. Una vez iniciada, la síntesis de la cadena negativa prosigue hasta el extremo de la región R en 5'. A medida que se sintetiza la cadena negativa, la actividad de ARNasaH de la transcriptasa inversa degrada la cadena de ARN del híbrido de doble cadena resultante de ARN-ADN. Tras llegar al extremo de la región R en 5', tiene lugar la transferencia de la cadena negativa a través de homología entre las regiones R en el ADN de la cadena negativa y el extremo 3' del genoma de ARN. La síntesis de la cadena negativa continúa a partir de esta región. La degradación por la ARNasaH continúa, pero un PPT corto dentro del genoma de ARN inmediatamente en dirección 5' de la región U3 no se degrada. El PPT actúa como cebador para la iniciación de la síntesis de ADN de la cadena positiva. La síntesis de la cadena positiva continúa en el cebador de ARNt y se detiene después de las primeras 18 pb debido a la presencia de un nucleótido de ARN modificado en la siguiente posición en el ARNt que la transcriptasa inversa no puede utilizar como plantilla. A continuación, tiene lugar la transferencia de la cadena positiva a través de la homología entre las secuencias de PBS complementarias en cada cadena de ADN, y la síntesis de ambas cadenas de ADN continúa hasta que se crea un provirus de ADN de doble cadena de longitud completa.

El vector de LTR1 descrito en la presente invención utiliza un mecanismo diferente para la transcripción inversa (figura 4). En este vector, se prevé que el cebador de ARNt se una a un PBS situado más cerca del extremo 3' del genoma de ARN. Una molécula de ARNt unida al PBS en 5' no puede iniciar la síntesis de la cadena negativa porque no hay plantilla en dirección 5' desde esta posición. Después de iniciar la síntesis de la cadena negativa en el PBS en 3', continúa hasta el extremo del PBS en 5' sin que tenga lugar una etapa de transferencia de la cadena negativa. La síntesis de la cadena positiva se inicia en el PPT, tal como anteriormente y la transferencia de la cadena positiva tiene lugar a través de la homología entre las secuencias de PBS complementarias antes de la síntesis del provirus de doble cadena de ADN. Se prevé que el extremo 3' del genoma de ARN, que incluye la señal de empaquetamiento de ARN y el RRE, no se transcriba de forma inversa, ya que carece de homología con las

cadenas positivas y negativas, de manera que no se puede cebar para la transcripción inversa. En cambio, se prevé que se separe del complejo de transcripción inversa y, finalmente, se degrade por ARNasas de la célula diana.

Un conjunto de informes confirman que la configuración novedosa del genoma de LTR1 es competente para el empaquetado en viriones y la transcripción inversa en células diana. En primer lugar, se ha observado que la señal de empaquetamiento de ARN del VIH-1 y el RRE siguen siendo capaces de un empaquetamiento eficaz en viriones cuando se traslada cerca del centro de moléculas de ARN heterólogas (8). En segundo lugar, se ha observado que un PBS flanqueado por la estructura secundaria del VIH local apropiada sigue siendo capaz de una iniciación eficaz de la síntesis de la cadena negativa cuando se traslada al centro de un genoma de vector lentiviral (29).

El desarrollo práctico de un vector lentiviral que utiliza este mecanismo de transcripción inversa novedoso para eliminar elementos en cis, tales como la señal de empaquetamiento de ARN y el RRE, de los provirus de la célula diana se describe en el presente documento.

1. Materiales y procedimientos

1.1. Plásmidos

Los plásmidos parentales para las construcciones descritas en la presente invención fueron los plásmidos vectores de transferencia lentiviral pRRL.SIN y pCCL.SIN para componentes del VIH-1, el promotor PGK, el ADNc de eGFP y el wPRE (3), el plásmido pCI para la señal de poliadenilación tardía de SV40 (Promega) y la síntesis de genes del promotor de GAPDH (Life Technologies) basada en la construcción del genoma humano hg19 de la Universidad de California, Santa Cruz (UCSC) entre las secuencias de los cebadores descritos en (30). Las secuencias para todos los plásmidos se proporcionan en el apéndice. Los plásmidos pCMV-dR8.74 y pMDG2 fueron generados y distribuidos por Didier Trono en la Escuela politécnica federal de Lausanne.

1.2. Preparación de vectores lentivirales

Se sembraron $1,2 \times 10^7$ células HEK293T (293T) en matraces T175 en 20 ml de Medio de Eagle modificado por Dulbecco complementado con suero bovino fetal al 10 % y penicilina-estreptomicina al 1 % (DMEM completo) un día antes de la transfección hasta alcanzar > 90 % de confluencia. Para cada matraz, se añadieron 50 µg de plásmido vector, 325 µg de plásmido de empaquetamiento pCMV-dR8.74 y 17,5 µg de plásmido de la envoltura del virus de la estomatitis vesicular pMDG2 a 5 ml de Optimem (Gibco) y se filtraron a 0,22 µm. Se añadió 1 µl de PEI 10 mM (Sigma-Aldrich 40872-7) a 5 ml de Optimem y se filtró a 0,22 µm. Las dos mezclas se combinaron y se dejaron que formaran un complejo durante 20 minutos. El complejo se añadió al matraz T175 que contenía células 293T y se incubó a 37 °C con CO₂ al 5 % durante 4 horas. El complejo se extrajo y fue reemplazado por 20 ml de DMEM completo. 24 horas más tarde, se reemplazó el medio. 48 horas después de la transfección, se extrajo el medio, se filtró a 0,22 µm y se centrifugó a 50.000 g durante 2 horas. Los gránulos de virus se resuspendieron en 150 µl de Optimem y las alícuotas se almacenaron a -80 °C.

1.3. Titulación de vectores lentivirales mediante citometría de flujo

Se sembraron 10^5 células 293T en 250 µl de DMEM completo en cada pocillo de una placa de 24 pocillos un día antes de la transducción. Para la transducción, se realizó una serie de diluciones de 5 veces de virus en 50 µl de alícuotas de Optimem. Se añadió cada alícuota de virus diluido al medio en un pocillo. La expresión del transgén se midió mediante citometría de flujo de 14 días después de la transducción. El título de la expresión se calculó mediante la selección del pocillo en el que el 5-15 % de células transducidas expresaron el transgén de interés y dividiendo el número de células transducidas en este pocillo por el volumen de virus utilizado para transducirlas.

1.4. Rescate del plásmido

De manera resumida, se transdujeron células HEK 293T a una MOI elevada con LTR1.20/AmpR-ori, que contenía un gen de resistencia a ampicilina y el origen bacteriano de replicación del plásmido, y se dejaron cultivar durante 1 semana antes de la recuperación de los sedimentos celulares. Se extrajo el ADN genómico utilizando un kit comercial (Qiagen) y se cuantificó mediante Nanodrop. Se digirieron 10 µg de ADNg con la endonucleasa de restricción XbaI, que no tiene como diana ninguna secuencia dentro del provirus, pero que existe dentro del genoma humano con una incidencia de aproximadamente 279,3 sitios por pareja de megabases. A continuación, el ADNg digerido se purificó en columna antes de la ligación para circularizar cualquier fragmento de esqueleto lentiviral liberado, seguido de la transformación de Escherichia coli electrocompetente. Se seleccionaron y se hicieron crecer colonias bacterianas individuales en una preparación para el análisis de las secuencias; éstas sólo crecían si recibían una copia recircularizada del esqueleto del vector que contenía AmpR y ori. El ADN recuperado se secuenció utilizando los cebadores que reconocían la región RRE (que debe omitirse del provirus final), el origen de replicación bacteriano y el gen de resistencia a ampicilina.

2. Resultados

2.1. Optimización del casete de transcripción del ARN genómico

La producción de viriones lentivirales infecciosos requiere el ensamblaje conjunto del ARN genómico viral con Gag viral, Gag-Pol y proteínas de la envoltura. En informes anteriores de la expresión de Gag-Pol con codones optimizados, los plásmidos mejoraron la expresión intracelular de estas proteínas, pero no dieron lugar a títulos elevados (21; 31). Es probable que la expresión del genoma de ARN viral sea, en general, el factor limitante para el título viral en muchos protocolos de preparación de vectores. Por lo tanto, a efectos de maximizar el título obtenible con el vector de LTR1, se llevaron a cabo experimentos para optimizar los elementos utilizados para dirigir la transcripción del genoma del ARN viral.

Una poliadenilación eficaz está asociada con niveles más elevados en estado estacionario de transcripciones de ARN polimerasa II (Pol II) y se ha observado que la señal de poliadenilación (poliA) tardía del virus de simio 40 (SV40) actúa como una señal de poliadenilación más fuerte que la señal de poliA temprana de SV40 (32). Por lo tanto, los inventores de la presente invención generaron dos configuraciones de LTR1: LTR1.0/PGK-eGFP-WPRE (LTR1.0/PEW) utiliza la señal de poliA temprana de SV40 presente en el esqueleto de RRL parental, mientras que LTR1.5/PEW utiliza una señal de poliA tardía de SV40 derivada de pCI (figura 5). El vector lentiviral se preparó en paralelo utilizando estas dos construcciones y una construcción RRL/PEW convencional y se tituló en células 293T mediante citometría de flujo. Los títulos de vector se calcularon como LTR1.0 PEW $2,3 \times 10^4$ unidades transductoras/ml (UT/ml), LTR1.5 PEW $4,5 \times 10^4$ UT/ml, RRL PEW $6,9 \times 10^7$ UT/ml. Como la señal de poliA tardía de SV40 produjo un título más elevado, se utilizó este elemento en todas las construcciones de LTR1 posteriores. La expresión de eGFP continuada 14 días después de la transducción y siguiendo, como mínimo, cuatro pasajes de células divisoras sugiere que los vectores de LTR1 son competentes para la integración cromosómica mediada por integrasa.

Los niveles elevados en estado estacionario de transcripciones de Pol II también se pueden conseguir a través de la utilización de un promotor fuerte, de manera que se generaron construcciones en las que el promotor del virus del sarcoma de Rous (RSV) derivado del esqueleto de RRL parental fue reemplazado por un promotor temprano inmediato de citomegalovirus humano (CMV) derivado de un plásmido CCL. A efectos de optimizar la alineación del promotor de CMV y el PBS en 5' de LTR1, se generaron tres construcciones en las que el PBS se colocó con precisión en el sitio de inicio de transcripción descrito para el promotor de CMV (33) (LTR1.7.672/PEW), 1 pb en dirección 5' (LTR1.7.671/PEW) o 1 pb en dirección 3' (LTR1.7.673/PEW). Se preparó el vector lentiviral en paralelo a partir de estas construcciones, LTR1.5/PEW y RRL/PEW, y se tituló en células 293T mediante citometría de flujo. La sustitución del promotor de RSV por el promotor de CMV dio lugar a un incremento de 25 veces en el título de vector de LTR1 (LTR1.5 PEW $2,3 \times 10^4$ UT/ml, LTR1.7.671 PEW $5,6 \times 10^5$ UT/ml, LTR1.7.672 PEW $5,4 \times 10^5$ UT/ml, LTR1.7.673 PEW $4,7 \times 10^5$ UT/ml, RRL PEW $5,8 \times 10^7$ UT/ml). Como la configuración LTR1.7.671 CMV produjo el título más elevado, este promotor y la alineación se utilizaron en construcciones de LTR1 posteriores.

2.2. Efecto de la traducción del ARN del vector de transferencia de LTR1

Los genomas de ARN Lentiviral adquieren una caperuza de 7-metilguanilato (m7G) en 5' durante la transcripción por PolII y, por lo tanto, son competentes para la traducción por ribosomas de las células productoras. En el modelo de barrido de iniciación de la traducción en células de mamífero, el ribosoma se carga en la caperuza en 5' y barre en una dirección 5'-3' hasta que alcanza el codón ATG más próximo a 5', en cuyo punto se puede iniciar la traducción. En los genomas de ARN de RRL y CCL, el ATG más próximo a 5' se produce en el inicio del elemento de Gag truncado y es seguido por un marco de lectura abierto de 21 codones. En la configuración del vector de LTR1, el ATG más próximo a 5' se encontrará dentro del casete de expresión del transgén, probablemente en un ATG críptico dentro del promotor interno.

Por ejemplo, en el vector LTR1.7.671 PEW el ATG más próximo a 5' se produce cerca de la mitad del promotor de PGK y está en marco con la secuencia codificante de eGFP en dirección 3' sin codones de parada intermedios. Dado que se encontró que LTR1.7.671 PEW producía títulos de vector alrededor de 10^2 veces menores que un vector RRL PEW, se planteó la hipótesis de que este producto de traducción críptico podría estar interfiriendo con la producción de viriones en células productoras.

Para ensayar esta hipótesis, el promotor de PGK fue reemplazado por el promotor de GAPDH humano que carece de codones ATG de forma completa. En LTR1.7.671 GAPDH-eGFP-WPRE (LTR1.7.671 GEW), el ATG más próximo a 5' se encuentra al inicio del marco de lectura abierto de eGFP, de manera que la traducción del ARN del vector de longitud completa debe producir solamente eGFP. El vector lentiviral se preparó a partir RRL PEW, RRL GEW, LTR1.7.671 PEW y LTR1.7.671 GEW y se tituló en células 293T mediante citometría de flujo. Los títulos resultantes fueron RRL PEW $6,4 \times 10^7$ UT/ml, RRL GEW $1,6 \times 10^8$ UT/ml, LTR1.7.671 PEW $7,1 \times 10^5$ UT/ml y LTR1.7.671 GEW $7,6 \times 10^5$ UT/ml. La iniciación de la traducción críptica no parece haber sido el factor limitante en esta preparación del vector de LTR1, pero se utilizó el promotor de GAPDH en construcciones posteriores, ya que la intensidad de fluorescencia media indica que es un promotor más fuerte que el promotor de PGK, de manera que es un mejor informador de la transducción exitosa.

2.3. Prevención de la escisión y la poliadenilación dentro de la LTR interna

La LTR SIN situada cerca del punto medio en la configuración del vector de LTR1 contiene la señal de poliadenilación del VIH-1. Aunque un informe previo, en el que la LTR del VIH-1 se trasladó al punto medio de un vector, describió una transcripción de longitud completa eficaz (8), se decidió investigar la posibilidad de que la poliadenilación en la LTR SIN de un vector de LTR1 podría prevenir la producción de genomas de ARN de longitud completa y, por lo tanto, causar la reducción observada en el título con respecto a configuraciones lentivirales de tercera generación.

A efectos de evitar la escisión y la poliadenilación en la señal de poliA de LTR, se mutó el motivo AATAAA que se une al factor de especificidad de la escisión y la poliadenilación (CPSF) a AACAAA en la construcción LTR1.11.0 GEW. Anteriormente, se describió que esta mutación anulaba la escisión y la poliadenilación en la señal de poliA del VIH-1 (34). Como se requiere una señal de poliA funcional para la expresión del gen informador en células diana, se introdujo un fragmento del genoma del VIH-1 que cubría la región desde el R en 5' al tallo bucle del donador principal de empalme (MSD) en el extremo 5' de esta construcción y se eliminó el PBS en 3'. Se prevé que este vector inicia la síntesis de la cadena negativa en el PBS en 5' y experimenta la transferencia de la cadena negativa y las etapas posteriores de transcripción inversa de la misma manera que un vector lentiviral de tercera generación, de manera que la señal de poliA mutada en 3' se sustituye por la señal de poliA en 5' funcional. La construcción LTR1.11.1 GEW es la misma que LTR1.11.0, a excepción de que conserva un motivo AATAAA funcional.

El vector lentiviral preparado a partir de LTR1.11.0 GEW y LTR1.11.1 GEW produjo títulos de $2,5 \times 10^8$ UT/ml y $1,7 \times 10^8$ UT/ml, respectivamente, en comparación con el título de un control paralelo CCL GEW de $1,3 \times 10^9$ UT/ml. Esto sugiere que la señal de poliA del punto medio no se utiliza de manera eficaz en una configuración de LTR1. Es posible que el MSD situado en dirección 3' de la LTR sea capaz de bloquear de poliadenilación en este sitio, tal como sucede en la señal de poliA en 5' en un vector lentiviral convencional (35).

2.4. Efectos de la transferencia de la cadena negativa y un donador de corte y empalme principal en 5'

Los títulos muy mejorados observados con la configuración LTR1.11 sugirieron dos explicaciones posibles. En primer lugar, la iniciación de la síntesis de la cadena negativa en el PBS en 5' y/o la transferencia de la cadena negativa podrían mejorar la eficacia de la transcripción inversa. En segundo lugar, la presencia del MSD en el extremo 5' del vector podría mejorar la eficacia de la transcripción del genoma de ARN. A efectos de probar estas hipótesis, se generó la construcción LTR1.13.0 GEW que se asemeja a LTR1.7.671, excepto en que el extremo 5' del ARN incluye el genoma del VIH-1 completo entre el PBS y el tallo bucle de MSD en lugar de sólo el PBS de 18 pb. En esta construcción, se prevé que la iniciación de la síntesis de ADN de la cadena negativa tiene lugar en el punto medio del vector. La construcción LTR1.13.1 GEW es idéntica a LTR1.13.0 GEW, excepto en que se ha suprimido la secuencia entre el PBS en 5' y el tallo bucle de MSD.

El vector lentiviral se preparó a partir LTR1.13.0 GEW, LTR1.13.1 GEW y LTR1.7.671 GEW y se tituló mediante citometría de flujo. Estas construcciones produjeron títulos de $2,6 \times 10^8$ UT/ml, $9,2 \times 10^7$ UT/ml y $3,2 \times 10^7$ UT/ml, respectivamente, en comparación con el título de un control paralelo CCL GEW de $1,3 \times 10^9$ UT/ml. Estos resultados sugieren que la eliminación de la transferencia de la cadena negativa a partir de la transcripción inversa no tiene ningún impacto negativo sobre el título viral y que el gran aumento en el título observado con la configuración LTR1.11 era debido a la presencia de la secuencia completa entre el PBS en 5' y el tallo bucle de MSD. Anteriormente se ha descrito que los sitios de corte y empalme próximos al promotor activan la transcripción de genes de mamíferos (36) y los intentos anteriores para mutar el donador principal de corte y empalme en vectores lentivirales dio lugar a títulos reducidos de vector (20; 21). Por lo tanto, parece que la presencia de factores de corte y empalme próximos al extremo 5' del genoma de ARN del vector es necesaria para la producción de vectores lentivirales de títulos más elevados en una configuración convencional y de LTR1.

A efectos de imitar el efecto activador de la transcripción del MSD en vectores de LTR-1 reduciendo al mismo tiempo la secuencia del VIH, se sustituyó por un intrón quimérico del plásmido de expresión pCI, insertado entre el PBS y el cPPT, para producir pLTR1.20/GAPDH-eGFP-WPRE. Como la LTR en 5' de tipo salvaje se ha eliminado de LTR-1, el MSD del VIH ya no funciona para regular la producción de ARN subgenómicos en este vector y se puede intercambiar. La utilización del intrón heterólogo fuerte de pCI ofrece ventajas sobre la inclusión del MSD, dado que no se requieren potenciadores de corte y empalme flanqueantes y también incluye un aceptor de corte y empalme que facilita su extracción del ARN viral en células productoras.

La adición del intrón quimérico de pCI en el vector pLTR1.20/GAPDH-eGFP-WPRE condujo a una mejora de 3 veces en el título, tal como se calcula mediante FACS.

2.5 PCR de longitud completa y secuenciación del provirus pLTR1.7.671/GAPDH-eGFP-WPRE

Para demostrar la estructura del ADN proviral transcrito de forma inversa del vector pLTR1.7.671/GAPDH-eGFP-WPRE, se transdujeron células HEK293T a una multiplicidad de infección de 10. El ADN genómico se extrajo 1

semana después de la transducción. El provirus de longitud completa se amplificó mediante PCR utilizando los oligonucleótidos designados a continuación para proporcionar un amplicón de 2,1 kb, que se extrajo después de la separación en un gel de agarosa al 1% y se clonó en TA (Lifetechnologies) antes de la secuenciación.

- 5 U5 directo: 5' GGTAAGTAGAGATCCCTCAGACCC 3' (SEQ ID NO. 1)
U3 inverso: 5' CGTTGGGAGTGAATTAGCCCTTCC 3' (SEQ ID NO. 2)

El análisis de secuencia mostró que el provirus contenía las LTR en 5' y 3' correctas después de la transcripción inversa, presentando la secuencia esperada con la región gag-RRE eliminada, cuando se examinó el provirus.

10 2.6 Examen de las secuencias de provirus con LTR-1 integrado mediante "rescate de plásmido"

A efectos de investigar rigurosamente las secuencias de provirus con LTR-1 y confirmar la ausencia de las secuencias de empaquetamiento del VIH-1 eliminadas, se utilizó una técnica en la que se eliminaron el marcador de resistencia a ampicilina y el origen bacteriano de replicación del esqueleto del plásmido pLTR1.20 y se insertaron dentro de la región transgénica, entre las LTR. Esto permite la escisión del ADN proviral de pLTR1.20/Amp1R-Ori de las células HEK 293T transducidas, la recircularización y la transformación en bacterias *Escherichia coli* que replicarían y formarían colonias después de la captación de un genoma de vector que contiene un gen de resistencia a ampicilina (AmpR) y un origen bacteriano de replicación (ori) entre las LTR. La propagación de secuencias provirales en bacterias permite estudiar en detalle la secuencia transcrita de forma inversa. La secuenciación del ADN proviral rescatado en bacterias se ensaya a través de la LTR y en una región dentro del ADN cromosómico de la célula huésped que se identificó mediante búsqueda BLAT. La secuencia interna del provirus confirmó que el mecanismo de transcripción inversa dio lugar a la estructura esperada, tal como se muestra en la figura 4. No fue posible secuenciar el elemento RRE, lo que sugiere que estaba ausente del provirus integrado, tal como se predijo.

25 2.7. Función *in vivo* de pLTR1.20/SFFV-eGFP-WPRE

Para demostrar la función *in vivo* del vector de LTR-1, se inyectaron ratones CD-1 neonatales de 1 día de vida por vía intravenosa con $4,5 \times 10^5$ partículas de vector de LTR1.20/SFFV-eGFP-WPRE. Los ratones se sacrificaron y se diseccionaron los hígados 1 semana después de la administración del vector y se obtuvieron imágenes que revelan células positivas de GFP visibles en los hígados de animales inyectados, lo que demuestra que la LTR-1 es capaz de suministrar genes a células *in vivo*.

35 3. Discusión

Se han desarrollado un conjunto de diferentes retrovirus como vectores retrovirales para la transferencia de genes de mamíferos (1-5). El cambio más grande que tiene lugar durante la vectorización de un retrovirus es la separación de componentes virales en elementos *in cis* que deben permanecer presentes en el ácido nucleico que se transfiere a la célula diana y elementos *in trans* que sólo necesitan ser proporcionados en células productoras para permitir la producción de partículas infecciosas. Entre los ejemplos de elementos *in cis* retrovirales se incluyen la señal de empaquetamiento de ARN del VIH-1 (Ψ) y el elemento de respuesta a Rev (RRE), que deben permanecer unidos covalentemente al casete de expresión del transgén a efectos de que pueda ser empaquetado en viriones, mientras que entre los elementos *in trans* se incluyen secuencias de codificación de las poliproteínas Gag y Gag-Pol y la glicoproteína de la envoltura viral.

Al igual que con otros vectores retrovirales, los elementos *in cis* dentro de los vectores lentivirales a base del VIH-1 están situados entre las repeticiones terminales largas (LTR), de manera que se transcriben de forma inversa y permanecen asociados con el casete de expresión de los transgenes dentro de la célula diana. La presencia de estos elementos *in cis* dentro del provirus de la célula diana crea un conjunto de problemas observados empíricamente y posibles teóricamente para la aplicación práctica de los vectores lentivirales, en particular para la terapia génica. Los elementos *in cis* contienen sitios de corte y empalme capaces de empalmar con genes del huésped implicados en el control de la proliferación celular y la desregulación de los mismos (14), islas CpG capaces de experimentar la metilación del ADN (16), grandes regiones no transcritas asociadas con el silenciamiento de la transcripción de moléculas de ADN episomal (17) y señales de empaquetamiento de ARN capaces de mediar la removilización del vector (15). Los elementos *in cis* lentivirales también ocupan hasta 2 kb de la transcripción inversa, lo cual puede reducir el tamaño de casetes de expresión de transgenes que se pueden suministrar con estos vectores.

En este informe, se describe un enfoque para la eliminación de elementos *in cis* derivados del VIH-1 del ADN suministrado a células diana. En la configuración de LTR1 novedosa, los elementos *in cis* se encuentran en dirección 3' de la LTR en 3'. Por lo tanto, estos elementos están presentes en el genoma de ARN viral, de manera que se pueden empaquetar en viriones, pero están fuera de la región del genoma que se transcribe de forma inversa y, por tanto, no están presentes en el ADN del vector en la célula diana.

En la primera configuración probada, la transcripción del genoma de ARN de LTR1 estaba dirigida por un casete de promotor de RSV y señal de poliA temprana de SV40. Esta configuración produjo títulos de vectores funcionales

3.000 veces menores que un vector de RRL convencional. Un casete modificado utilizando el promotor de CMV y una señal de poliadenilación tardía de SV40 mejoró los títulos de manera significativa a aproximadamente 100 veces menos que un vector de RRL convencional.

Mediante el traslado de las secuencias líder en 5' derivadas del VIH-1, la nueva configuración elevó la posibilidad de productos de traducción anormales procedentes de dentro del casete del transgén. Se sugirió que la traducción anormal podría ser la reducción de los títulos de vectores obtenidos con estas construcciones. Los inventores de la presente invención abordaron esta posibilidad mediante la sustitución del promotor de PGK, que contiene un codón de inicio críptico, por un promotor de GAPDH que carece de codones ATG. No se observaron diferencias en el título.

Otro problema potencial para el título del vector es la presencia de una señal de poliadenilación funcional dentro de la LTR situada cerca del punto medio del vector. La terminación de la transcripción en este sitio podría prevenir la producción del ARN del vector de transferencia de longitud completa competente para el empaquetamiento en viriones. Se introdujo una mutación puntual en el hexámero AATAAA que se mostró previamente que anulaba la escisión y la poliadenilación en la señal de polIA del VIH-1, pero no se observó ningún incremento en el título. Los inventores de la presente invención plantean como hipótesis que el donador principal de corte y empalme (MSD) del VIH-1 situado en dirección 3' de la LTR en la configuración de LTR1 es capaz de bloquear la escisión y la poliadenilación en este sitio, tal como lo hace en VIH-1 de tipo salvaje y vectores lentivirales convencionales (35).

Por lo tanto, los inventores de la presente invención reintrodujeron secuencias entre el PBS y el tallo bucle de MSD en el extremo 5' del ARN genómico de LTR1 y observaron un aumento significativo en el título de hasta 5 veces de una construcción a base de CCL. La presencia de factores de corte y empalme próximos al extremo 5' del ARN genómico del vector parece ayudar en la producción de vectores lentivirales de título elevado en configuraciones convencionales y de LTR1, pero no es esencial (20; 21).

La configuración del vector de LTR1 descrita en este informe potencialmente podría reemplazar todos los vectores lentivirales de tercera generación a base del VIH-1 en las aplicaciones en las que se utilizan actualmente. Además, el mecanismo de la transcripción inversa está altamente conservado entre los retrovirus, de manera que podría aplicarse una configuración de LTR1 en vectores basados en retrovirus distintos del VIH-1.

Referencias

- (1) Suerth JD, Maetzig T, Galla M, Baum C, Schambach A. *Journal of Virology*, 1 de julio de 2010; 84 (13): 6.626-35.
- (2) Hildinger M, Abel KL, Ostertag W, Baum C. *Journal of Virology*, 1 de mayo de 1999; 73 (5): 4.083-9.
- (3) Zufferey R, Dull T, Mandel RJ, Bukovsky A, Quiroz D, Naldini L, et al. *Journal of Virology*, 1 de diciembre de 1998; 72 (12): 9.873-80.
- (4) Jarraya B+, Boulet S, Scott Ralph G, Jan C, Bonvento G, Azzouz M, et al. *Science Translational Medicine*, 14 de octubre de 2009; 1 (2): 2ra4.
- (5) Heinkelstein M, Dressler M, Jirmy G, Rammling M, Imrich H, Thurow J, et al. *Journal of Virology*, 15 de abril de 2002; 76 (8): 3.774-83.
- (6) Burns JC, Friedmann T, Driever W, Burrascano M, Yee JK. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1 de septiembre 1993; 90 (17): 8.033-7.
- (7) Malim MH, Hauber J, Le SY, Maizel JV, Cullen BR. *Nature*, 16 de marzo de 1989; 338 (6212): 254-7.
- (8) Cockrell A, van Praag H, Santistevan N, Ma H, Kafri T. *Retrovirology* 2011; 8(1): 51.
- (9) Sirven A, Pflumio F, Zennou V, Titeux M, Vainchenker W, Coulombel L, et al. *Blood*, 15 de diciembre de 2000; 96 (13): 4.103-10.
- (10) Higashimoto T, Urbinati F, Perumbeti A, Jiang G, Zarzuela A, Chang LJ, et al. *Gene Ther*, 28 de junio de 2007; 14 (17): 1.298-304.
- (11) Cesana D, Sgualdino J, Rudilosso L, Merella S, Naldini L, Montini E. *J Clin Invest*, 1 de mayo de 2012; 122 (5): 1.667-1676.
- (12) Moiani A, Paleari Y, Sartori D, Mezzadra R, Miccio A, Cattoglio C, et al. *J Clin Invest*, 1 de mayo de 2012; 122 (5): 1.653-1666.
- (13) Almaraz D, Bussadori G, Navarro M, Mavilio F, Larcher F, Murillas R. *Gene Ther*, julio 2011; 18(7): 674-81.
- (14) Cavazzana-Calvo M, Payen E, Negre O, Wang G, Hehir K, Fusil F, et al. *Nature*, 16 de septiembre de 2010; 467 (7313): 318-22.
- (15) Hanawa H, Persons DA, Nienhuis AW. *Journal of Virology*, 1 de julio de 2005; 79 (13): 8.410-21.
- (16) He J, Q Yang, Chang LJ. *Journal of Virology*, 1 de noviembre de 2005; 79 (21): 13.497-508.
- (17) Lu J, Zhang F, Xu S, Fire AZ, Kay MA. *Mol Ther*, noviembre de 2012; 20 (11): 2.111-9.
- (18) Kumar M, Keller B, Makalou N, Sutton RE. *Hum Gene Ther*, 10 de octubre de 2001; 12 (15): 1.893-905.
- (19) Descours B, Cribier A, Chable-Bessia C, Ayinde D, Rice G, Crow Y, et al. *Retrovirology*, 23 de octubre de 2012; 9: 87. doi: 10.1186/1742-4690-9-87:87-9.
- (20) Cui Y, Iwakuma T, Chang LJ. Contributions of Viral Splice Sites and cis-Regulatory Elements to Lentivirus Vector Function. *Journal of Virology*, 1 de julio de 1999; 73 (7): 6.171-6.
- (21) Kotsopoulou E, Kim VN, Kingsman AJ, Kingsman SM, Mitrophanous KA. *Journal of Virology*, 15 de mayo de 2000; 74 (10): 4.839-52.
- (22) Koldej R, Anson D. *BMC Biotechnology*, 2009; 9(1): 86.

- (23) Delviks KA, Pathak VK. Journal of Virology, 1 de octubre de 1999; 73(10): 7.923-32.
 (24) Srinivasakumar N. Peer J, 4 de junio de 2013; 1:e84. doi: 10.7717/peerj.84. Print;% 2013: e84.
 (25) Torne-Celer C, Moreau K, Faure C, Verdier G, Ronfort C. Intervirology 2008; 51(6): 447-52.
 (26) Torne-Celer C, Moreau K, Faure C, Verdier G+, Ronfort C. Arch Virol 2008; 153(12): 2.233-43.
 5 (27) Luche RM, Enssle J, Kiem HP. Sci Rep, 1 de junio de 2012; 2.
 (28) Fang Y, Gong X, Xu H, Zeng F, Zhang J. J Gene Med, 1 de febrero de 2013; 15(2): 102-12.
 (29) Voronin YA, Pathak VK. Journal of Virology, 15 de mayo de 2004; 78(10): 5.402-13.
 (30) Aki T, Yanagisawa S, Akanuma H. Journal of Biochemistry, 1 de agosto de 1997; 122(2): 271-8.
 (31) Fuller M, Anson DS. Hum Gene Ther, noviembre de 2001; 20%; 12(17): 2.081-93.
 10 (32) Carswell S, Alwine JC. Molecular and Cellular Biology, 1 de octubre de 1989; 9(10): 4.248-58.
 (33) Isomura H, Stinski MF, Kudoh A, Nakayama S, Murata T, Sato Y, et al. Journal of Virology, 15 de enero de 2008; 82(2): 849-58.
 (34) Perkins KJ, Lusic M, Mitar I, Giacca M, Proudfoot NJ. Molecular Cell, 18 de enero de 2008; 29(1): 56-68.
 (35) Ashe MP, Pearson LH, Proudfoot NJ. EMBO J, 15 de septiembre de 1997; 16(18): 5.752-63.
 15 (36) Furger A, Binnie JMO, Lee BA, Proudfoot NJ. Genes & Development, 1 de noviembre de 2002; 16(21): 2.792-9.

Apéndice

Secuencias de construcciones

- 20 Las construcciones tienen las secuencias según el identificador de secuencia mostrado a continuación. La secuencia real de cada construcción se proporciona en el listado de secuencias que se acompaña. Las características de estas construcciones se muestran también en la figura 5.
- 25 a) pRRL/PGK-eGFP-WPRE - SEQ ID NO. 3.
 b) pRRL/GAPDH-eGFP-WPRE - SEQ ID NO. 4.
 c) pCCL/GAPDH-eGFP-WPRE - SEQ ID NO. 5.
 d) pLTR1.0/PGK-eGFP-WPRE - SEQ ID NO. 6.
 e) pLTR1.5/PGK-eGFP-WPRE - SEQ ID NO. 7.
 f) pLTR1.7.671/PGK-eGFP-WPRE - SEQ ID NO. 8.
 30 g) pLTR1.7.672/PGK-eGFP-WPRE - SEQ ID NO. 9.
 h) pLTR1.7.673/PGK-eGFP-WPRE - SEQ ID NO. 10.
 i) pLTR1.7.671/GAPDH-eGFP-WPRE - SEQ ID NO. 11.
 j) pLTR1.11.0/GAPDH-eGFP-WPRE - SEQ ID NO. 12.
 k) pLTR1.11.1/GAPDH-eGFP-WPRE - SEQ ID NO. 13.
 35 l) pLTR1.13.0/GAPDH-eGFP-WPRE - SEQ ID NO. 14.
 m) pLTR1.13.1/GAPDH-eGFP-WPRE - SEQ ID NO. 15.
 n) pLTR1.20/GAPDH-eGFP-WPRE - SEQ ID NO. 16.

LISTADO DE SECUENCIAS

- 40 <110> UCL Business PLC
- <120> Vectores retrovirales
- 45 <130> P529543PCTJW
- <150> GB 1318347.0
 <151> 16-10-2013
- 50 <160> 16
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
 55 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
- <220>
 60 <223> Oligómero para PCR
- <400> 1
 ggtaactaga gatccctcag accc
- 65 <210> 2
 <211> 24

<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Oligómero para PCR

<400> 2
cgttgggagt gaattagccc ttcc

24

<210> 3
<211> 7387
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción pRRL/PGK-eGFP-WPRE

<400> 3

20	agcttaaatgt agtcttatgc aatactcttg tagtcttgca acatggtaac gatgagttag	60
	caacatgcct tacaaggaga gaaaaagcac cgtgcatgcc gattggtgga agtaaggtgg	120
	tacgatcgtg cttattagg aaggcaacag acgggtctga catggattgg acgaaccact	180
25	gaattgccgc attgcagaga tattgtatct aagtcctag ctcgatacaa taaacgggtc	240
	tctctgggta gaccagatct gagcctggga gctctctggc taactaggga acccactgct	300
30	taagcctcaa taaagcttgc cttgagtgc tcaagtagtg tgtgcccgtc tggtgtgtga	360
	ctctggtaac tagagatccc tcagaccctt ttagtcagtg tggaaaatct ctagcagtgg	420
	cgcccgaaca gggacttgaa agcgaaggag aaaccagagg agctctctcg acgcaggact	480
35	cggcttgctg aagcgcgcac ggcaagaggc gaggggaggc gactggtgag tacgccaaaa	540
	attttgacta gcggaggcta gaaggagaga gatgggtgcg agagcgtagc tattaagcgg	600
40	gggagaatta gatcgcgatg ggaaaaaatt cggttaaggc caggggggaaa gaaaaaatat	660
	aaattaaaac atatagtatg ggcaagcagg gagctagaac gattcgtagt taatcctggc	720
	ctgttagaaa catcagaagg ctgtagacaa atactgggac agctacaacc atcccttcag	780
45	acaggatcag aagaacttag atcattatat aatacagtag caaccctcta ttgtgtgcat	840
	caaaggatag agataaaaga caccaaggaa gcttttagaca agatagagga agagcaaaac	900
50	aaaagtaaga ccaccgcaca gcaagcggcc gctgatcttc agacctggag gaggagatat	960
	gaggggacaat tggagaagtg aattatataa atataaagta gtaaaaattg aaccattagg	1020
	agtagcacc accaaggcaa agagaagagt ggtgcagaga gaaaaaagag cagtgggaat	1080
55	aggagctttg ttccttgggt tcttgggagc agcaggaagc actatgggag cagcgtcaat	1140
	gacgctgacg gtacaggcca gacaattatt gtctgggata gtgcagcagc agaacaattt	1200
60	gctgagggct attgaggcgc aacagcatct gttgcaactc acagtctggg gcatcaagca	1260
	gctccaggca agaactctgg ctgtggaaag atacctaaag gatcaacagc tcctggggat	1320
	ttgggggttg tctggaaaac tcatttgcac cactgctgtg ccttggaatg ctagtggag	1380
65	taataaatct ctggaacaga tttggaatca cagcactgg atggagtggg acagagaaat	1440
	taacaattac acaagcttaa tacactcctt aattgaagaa tcgcaaaacc agcaagaaaa	1500

ES 2 759 049 T3

	gaatgaacaa gaattattgg aattagataa atgggcaagt ttgtggaatt ggtttaacat	1560
5	aacaaattgg ctgtggtata taaaattatt cataatgata gtaggaggct tggtaggttt	1620
	aagaatagtt tttgctgtac tttctatagt gaatagagtt aggcagggat attcaccatt	1680
	atcgtttcag acccacctcc caaccccgag gggacccgac aggcccgag gaatagaaga	1740
10	agaaggtgga gagagagaca gagacagatc cattcgatta gtgaacggat ctcgacggta	1800
	tcggttaact tttaaaagaa aaggggggat tggggggtac agtgcagggg aaagaatagt	1860
15	agacataata gcaacagaca tacaaactaa agaattacaa aaacaaatta caaaaattca	1920
	aaattttatc gatcacgaga ctagcctcga gaagcttgat atcgaattcc cacgggggtg	1980
	gggttgcgcc ttttccaagg cagccctggg tttgctcagg gacgcggctg ctctgggcgt	2040
20	ggttccggga aacgcagcgg cgccgaccct ggtctcga cattcttcac gtccgttcgc	2100
	agcgtcaccg ggatcttcgc cgctaccctt gtgggcccc cggcgacgct tcctgctccg	2160
25	cccctaagtc gggaagggtt cttgcggttc gcggcgtgcc ggacgtgaca aacggaagcc	2220
	gcacgtctca ctagtaccct cgcagacgga cagcgccagg gagcaatggc agcgcgccga	2280
	ccgcgatggg ctgtggccaa tagcggctgc tcagcggggc gcgccgagag cagcggccgg	2340
30	gaaggggagg tgaggaggc ggggtgtggg gcggtagtgt gggccctgtt cctgcccgcg	2400
	cggtgttccg cattctgcaa gcctccggag cgcacgtcgg cagtcggctc cctcgttgac	2460
35	cgaatcaccg acctctctcc ccagggggat ccaccggtcg ccaccatggt gagcaagggc	2520
	gaggagctgt tcaccggggt ggtgcccata ctggtcgagc tggacggcga cgtaaagggc	2580
	cacaagttca gcgtgtccgg cgagggcgag ggcgatgcca cctacggcaa gctgaccctg	2640
40	aagttcatct gcaccaccgg caagctgccc gtgccctggc ccaccctcgt gaccaccctg	2700
	acctacggcg tgcagtgttt cagccgctac cccgaccaca tgaagcagca cgacttcttc	2760
45	aagtccgcca tgcccgaagg ctacgtccag gagcgacca tcttcttcaa ggacgacggc	2820
	aactacaaga cccgcgccga ggtgaagttc gagggcgaca ccctggtgaa ccgcatcgag	2880
	ctgaagggca tcgacttcaa ggaggacggc aacatcctgg ggcacaagct ggagtacaac	2940
50	tacaacagcc acaacgtcta tatcatggcc gacaagcaga agaacggcat caaggtgaac	3000
	ttcaagatcc gccacaacat cgaggacggc agcgtgcagc tcgccgacca ctaccagcag	3060
55	aacaccccca tcggcgacgg ccccggtgctg ctgcccgaca accactacct gagcaccag	3120
	tccgccctga gcaaagaccc caacgagaag cgcgatcaca tggctctgct ggagtctgtg	3180
	accgccgccc ggatcactct cggcatggac gagctgtaca agtaaagcgg ccgcgtcgac	3240
60	aatcaacctc tggattacaa aatttgtgaa agattgactg gtattcttaa ctatgttgct	3300
	ccttttacgc tatgtggata cgctgcttta atgcctttgt atcatgctat tgcttcccgt	3360
65	atggctttca ttttctcctc cttgtataaa tcctggttgc tgtctcttta tgaggagttg	3420
	tggcccgttg tcaggcaacg tggcgtggtg tgcactgtgt ttgctgacgc aacccccact	3480
	ggttggggca ttgccaccac ctgtcagctc ctttccggga ctttcgcttt cccctccct	3540

ES 2 759 049 T3

	attgccacgg	cggaactcat	cgccgcctgc	cttgcccgt	gctggacagg	ggctcggctg	3600
5	ttgggcactg	acaattccgt	gggtgtgtcg	gggaagctga	cgtcctttcc	atggctgctc	3660
	gcctgtgttg	ccacctggat	tctgcgcggg	acgtccttct	gctacgtccc	ttcggccctc	3720
	aatccagcgg	accttccttc	ccgcggcctg	ctgccggctc	tgcggcctct	tccgcgtctt	3780
10	cgccttcgcc	ctcagacgag	tcggatctcc	ctttgggccg	cctccccgcc	tggaattcga	3840
	gctcggtagc	tttaagacca	atgacttaca	aggcagctgt	agatcttagc	cactttttaa	3900
15	aagaaaaggg	gggactggaa	gggctaattc	actcccaacg	aagacaagat	ctgctttttg	3960
	cttgtactgg	gtctctctgg	ttagaccaga	tctgagcctg	ggagctctct	ggctaactag	4020
	ggaaccact	gcttaagcct	caataaagct	tgccctgagt	gcttcaagta	gtgtgtgccc	4080
20	gtctgttgtg	tgactctggg	aactagagat	ccctcagacc	cttttagtca	gtgtggaaaa	4140
	tctctagcag	tagtagttca	tgtcatctta	ttattcagta	tttataactt	gcaaagaaat	4200
25	gaatatcaga	gagtgagagg	aacttgttta	ttgcagctta	taatggttac	aaataaagca	4260
	atagcatcac	aaatttcaca	aataaagcat	ttttttcact	gcattctagt	tgtggtttgt	4320
	ccaaactcat	caatgtatct	tatcatgtct	ggctctagct	atcccgcccc	taactccgcc	4380
30	cagttccgcc	catttctccg	cccatggctg	actaattttt	tttatttatg	cagaggccga	4440
	ggccgcctcg	gcctctgagc	tattccagaa	gtagttagga	ggcttttttg	gaggcctagg	4500
35	cttttgcgtc	gagacgtacc	caattcgccc	tatagttagt	cgtattacgc	gcgctcactg	4560
	gccgtcgttt	tacaacgtcg	tgactgggaa	aaccctggcg	ttacccaact	taatcgccct	4620
	gcagcacatc	cccctttcgc	cagctggcgt	aatagcgaag	agggccgcac	cgatcgccct	4680
40	tcccaacagt	tgcgagcct	gaatggcgaa	tggcgcgacg	cgccctgtag	cggcgcataa	4740
	agcgcgggcg	gtgtgggtgg	tacgcgcagc	gtgaccgcta	cacttgccag	cgccctagcg	4800
45	cccgtctcct	tcgctttctt	cccttccttt	ctcgccacgt	tcgcccggct	tccccgtcaa	4860
	gctctaaatc	gggggctccc	tttaggggtc	cgatttagtg	ctttacggca	cctcgacccc	4920
	aaaaaacttg	attaggggtga	tggttcacgt	agtgggccat	cgccctgata	gacggttttt	4980
50	cgccctttga	cgttggagtc	cacgttcttt	aatagtggac	tcttgttcca	aactggaaca	5040
	acactcaacc	ctatctcggt	ctattctttt	gatttataag	ggattttgcc	gatttcggcc	5100
55	tattgggttaa	aaaatgagct	gatttaacaa	aaatttaacg	cgaattttta	caaaatatta	5160
	acgttttaca	tttcccagggt	ggcacttttc	ggggaaatgt	gcgcggaacc	cctattttgt	5220
	tatttttcta	aatacattca	aatatgtatc	cgctcatgag	acaataaccc	tgataaatgc	5280
60	ttcaataata	ttgaaaaagg	aagagtatga	gtattcaaca	tttccgtgtc	gcccttattc	5340
	cctttttttgc	ggcattttgc	cttcctgttt	ttgctcacc	agaaacgctg	gtgaaagtaa	5400
65	aagatgctga	agatcagttg	gggtgcacgag	tgggttacat	cgaactggat	ctcaacagcg	5460
	gtaagatcct	tgagagtttt	cgccccgaag	aacgttttcc	aatgatgagc	acttttaaaag	5520
	ttctgctatg	tggcgcggtg	ttatccccgt	ttgacgccgg	gcaagagcaa	ctcggtcgcc	5580

ES 2 759 049 T3

	gcatacacta ttctcagaat gacttggttg agtactcacc agtcacagaa aagcatctta	5640
5	cggatggcat gacagtaaga gaattatgca gtgctgccat aaccatgagt gataaactg	5700
	cggccaactt acttctgaca acgatcggag gaccgaagga gctaaccgct tttttgcaca	5760
	acatggggga tcatgtaact cgccttgatc gttgggaacc ggagctgaat gaagccatac	5820
10	caaacgacga gcgtgacacc acgatgcctg tagcaatggc aacaacgttg cgcaaactat	5880
	taactggcga actacttact ctagcttccc ggcaacaatt aatagactgg atggaggcgg	5940
	ataaagttgc aggaccactt ctgcgctcgg ccttccggc tggctggttt attgctgata	6000
15	aatctggagc cggtgagcgt ggggtctcgg gtatcattgc agcactgggg ccagatggta	6060
	agccctcccg tatcgtagtt atctacacga cggggagtca ggcaactatg gatgaacgaa	6120
20	atagacagat cgctgagata ggtgcctcac tgattaagca ttggtaactg tcagaccaag	6180
	tttactcata tatacttttag attgatttaa aacttcattt ttaatttaaa aggatctagg	6240
	tgaagatcct ttttgataat ctcatgacca aaatccctta acgtgagttt tcgttccact	6300
25	gagcgtcaga ccccgtagaa aagatcaaag gatcttcttg agatcctttt tttctgcgcg	6360
	taatctgctg cttgcaaaca aaaaaaccac cgctaccagc ggtggtttgt ttgccggatc	6420
30	aagagctacc aactcttttt ccgaaggtaa ctggcttcag cagagcgcag ataccaaata	6480
	ctgtccttct agtgtagccg tagttaggcc accacttcaa gaactctgta gcaccgccta	6540
	catacctcgc tctgctaata ctgttaccag tggctgctgc cagtggcgat aagtcgtgtc	6600
35	ttaccggggt ggactcaaga cgatagttac cggataaggc gcagcggtcg ggctgaacgg	6660
	ggggttcgtg cacacagccc agcttgagc gaacgaccta caccgaactg agatacctac	6720
40	agcgtgagct atgagaaagc gccacgcttc ccgaaggag aaaggcggac aggtatccgg	6780
	taagcggcag ggtcggaaaca ggagagcgca cgaggagct tccaggggga aacgcctggt	6840
	atctttatag tcctgtcggg tttcgccacc tctgacttga gcgtcgattt ttgtgatgct	6900
45	cgtcaggggg gcggagccta tggaaaaacg ccagcaacgc ggcttttta cggttcctgg	6960
	ccttttgctg gccttttgct cacatgttct ttcctgcgtt atccccctgat tctgtggata	7020
50	accgtattac cgcttttgag tgagctgata ccgctcgccg cagccgaacg accgagcgca	7080
	gcgagtcagt gagcgaggaa gcggaagagc gccaataacg caaaccgcct ctccccgcgc	7140
	gttgccgat tcattaatgc agctggcacg acaggtttcc cgactggaaa gcgggcagtg	7200
55	agcgcaacgc aattaatgtg agttagctca ctcataggc accccaggct ttacacttta	7260
	tgcttccggc tcgtatgttg tgtggaattg tgagcggata acaatttcac acaggaaaca	7320
60	gctatgacca tgattacgcc aagcgcgcaa ttaaccctca cttaaaggga caaaagctgg	7380
	agctgca	7387
65	<210> 4 <211> 7354 <212> ADN <213> Secuencia artificial	

ES 2 759 049 T3

<220>

<223> Construcción pRRL/GAPDH-eGFP-WPRE

<400> 4

5	agcttaaatgt agtcttatgc aatactcttg tagtcttgca acatggtaac gatgagttag	60
	caacatgcct tacaaggaga gaaaaagcac cgtgcatgcc gattggtgga agtaagggtg	120
10	tacgatcgtg ctttattagg aaggcaacag acgggtctga catggattgg acgaaccact	180
	gaattgccgc attgcagaga tattgtatgt aagtcctag ctcgatacaa taaacgggtc	240
	tctctgggta gaccagatct gagcctggga gctctctggc taactaggga acccactgct	300
15	taagcctcaa taaagcttgc cttgagtgc tcaagtagtg tgtgcccgtc tgttgtgtga	360
	ctctggtaac tagagatccc tcagaccctt ttagtcagtg tggaaaatct ctagcagtgg	420
20	cggcgaaca gggacttgaa agcgaaggag aaaccagagg agctctctcg acgcaggact	480
	cggcttgctg aagcgcgcac ggcaagaggc gaggggaggc gactggtgag tacgccaaaa	540
	attttgacta gcggaggcta gaaggagaga gatgggtgag agagcgtag tattaagcgg	600
25	gggagaatta gatcgcatg ggaataaatt cggttaaggc cagggggaaa gaaaaaatat	660
	aaattaaaac atatagtatg ggcaagcagg gagctagaac gattcgtagt taatcctggc	720
30	ctgttagaaa catcagaagg ctgtagacaa atactgggac agctacaacc atcccttcag	780
	acaggatcag aagaacttag atcattatat aatacagtag caaccctcta ttgtgtgcat	840
	caaaggatag agataaaaga caccaaggaa gcttttagaca agatagagga agagcaaaac	900
35	aaaagtaaga ccaccgcaca gcaagcggcc gctgatcttc agacctggag gaggagatat	960
	gaggggacaat tggagaagtg aattatataa atataaagta gtaaaaattg aaccattagg	1020
40	agtagcacc accaaggcaa agagaagagt ggtgcagaga gaaaaaagag cagtgggaat	1080
	aggagctttg ttccttgggt tcttgggagc agcaggaagc actatgggag cagcgtcaat	1140
	gacgctgacg gtacaggcca gacaattatt gtctgggtata gtgcagcagc agaacaattt	1200
45	gctgagggct attgaggcgc aacagcatct gttgcaactc acagtctggg gcatcaagca	1260
	gctccaggca agaattcctg ctgtggaaag atacctaaag gatcaacagc tcctggggat	1320
50	ttgggggttg tctggaaaac tcatttgcac cactgctgtg ccttggaatg ctagttggag	1380
	taataaatct ctggaacaga tttggaatca cagcacttg atggagtggg acagagaaat	1440
	taacaattac acaagcttaa tacactcctt aattgaagaa tcgcaaaacc agcaagaaaa	1500
55	gaatgaacaa gaattattgg aattagataa atgggcaagt ttgtggaatt ggtttaacat	1560
	aacaaattgg ctgtgggtata taaaattatt cataatgata gtaggaggct tggtaggttt	1620
60	aagaatagtt tttgctgtac tttctatagt gaatagagtt aggcagggat attcaccatt	1680
	atcgtttcag acccacctcc caaccccgag gggacccgac agggccgaag gaatagaaga	1740
	agaagggtgga gagagagaca gagacagatc cattcgatta gtgaacggat ctcgacggta	1800
65	tcggttaact tttaaaagaa aaggggggat tggggggtac agtgcagggg aaagaatagt	1860
	agacataata gcaacagaca tacaactaa agaattacaa aaacaaatta caaaaattca	1920

ES 2 759 049 T3

	aaatTTtAtc	gAtcAcgAgA	cTagcCtCgA	gGAtAtcAgT	tCccCAActT	tCccGcCtCt	1980
5	cAgCctTtGtA	aAGaaAGaaa	gGgAggGgGg	cAgGccGcgT	gCagccGcgA	gCggtGctGg	2040
	gCtccGgGtC	CAAtTccccA	tCtCagTcgT	tCccAAagTc	cTcCtGtTtC	AtccAagcgT	2100
	gTaaGggtCc	cGgtCcTtGtA	cTccCtagTg	tCctGctGcc	cAcagTccAg	tCctGggaAc	2160
10	cAgcAcCgAt	cAcCtccCA	cGgGccAA	tCagTccCtT	CCCCcTAcG	tCgGgGccCA	2220
	cAcGctCggt	gCgtGcccAg	tTgaAccAgg	cGgctGcgga	AAAAaaaaG	cGgGgAGaaa	2280
15	gTagGgcccG	gCtActAgcG	gTttTAcGgG	cGcAcGtagC	tCagGcCtCA	AGacCtTgGg	2340
	cTgGgActGg	cTgAgcCtGg	cGgGAgGcGg	gGtccGagTc	AcCGcCtGcc	gCcgGcGccc	2400
	cGgtTtCtAt	AAAtTgAgCc	cGcAgcCtCc	cGctTcGctC	tCtGctCctC	cTgGgAtCCA	2460
20	cCggtCgCCA	cCAtggtAg	CAAgGgCgAg	gAgctGttCA	cCgGggtGgt	gCCAtcCtG	2520
	gTcGagctGg	AcGgCgAcgT	AAAcGgCCAc	AagTtCagcG	tGtccGgCgA	gGgCgAggGc	2580
25	gAtGccAcCt	AcGgCAagCt	gAcCctGaAg	tTcAtCtGcA	cCaccGgCAa	gCtGcccGtG	2640
	cCctGgCCCA	cCctCgtGAc	cAcCctGAcC	tAcGgCgtGc	AgTgCtTcAg	cCgCtAcCCc	2700
	gAcCAcAtGa	AgcAgcAcGtA	cTtCtTcAag	tCcGccAtGc	cCgaAgGctA	cGtCcAggAg	2760
30	cGcAcCAcTcT	tCtTtCAaggA	cGAcGgCAAc	tAcAagAcCC	gCgCcGaggt	gAagTtCgAg	2820
	gGcGAcAcCC	tGgtGaAcCG	cAtCgAgctG	AagGgCAtcG	AcTtCAaggA	gGAcGgCAAc	2880
35	AtCctGgGgC	AcAagCtGgA	gTAcAAcTAc	AAcAgCCAcA	AcGtCtAtAt	cAtGgCCgAc	2940
	AAgcAgAagA	AcGgCAtCAa	gGtGaAcTtC	AAgAtccGcc	AcAAcAtCgA	gGAcGgCagC	3000
	gTgCagctCg	cCgAcCAcTtA	cCagCAGaAc	AcCCcCAtcG	gCgAcGgCCc	cGtGctGctG	3060
40	cCCgAcAAcc	AcTAcCtGAg	cAcCCAgTcc	gCCcTgAgCA	AAgAcCCCAa	cGAgAagCgC	3120
	gAtcAcAtGg	tCctGctGgA	gTtCgtGAcC	gCCgCCgGgA	tCActCtCgG	cAtGgAcGAg	3180
45	cTgtAcAagT	AAAgCgGccG	cGtCgAcAAt	CAAcCtCtGg	AttAcAAaAt	tTgtGaAagA	3240
	tTgActGgTtA	tTcTtAAcTtA	tGtTgCtCct	tTtAcGctAt	gTgGAtAcGc	tGcTtTtAatG	3300
	cCtTtGtAtC	AtGctAtTtGc	tTccCGtAtG	gCtTtCAtTt	tCtCctCctT	gTAtAAAtCc	3360
50	tGgtTgctGt	cTcTtTtAtGa	gGAgTtGtGg	cCgTtGtCA	gGCAAcGtGg	cGtGgtGtGc	3420
	AcTgtGtTtG	cTgAcGCAAc	cCCcActGgt	tGgGgCAtTg	cCaccAcCtG	tCagCtCctT	3480
55	tCCgGgActT	tCgCtTtCCc	cCtCCcTAtT	gCCAcGgCgG	AActCAtCgC	cGcCtGcCtT	3540
	gCCcGctGct	gGAcAgGgGc	tCgGctGtTg	gGcActGAcA	AttccGtGgt	gTtGtCgGgG	3600
	AAgctGAcgT	cCtTtCCAtG	gCtGctCgCc	tGtGtTgCCA	cCtGgAtTct	gCgCgGgAcG	3660
60	tCctTtCtGct	AcGtCCcTtC	gGccCtCAAt	cCagCgGAcC	tTcCtTccCG	cGgCctGctG	3720
	cCgGctCtGc	gGcCtCtTcc	gCgtCtTcGc	cTtCgCCcTc	AgAcGAgTcG	gAtCtCCcTt	3780
65	tGgGccGcCt	CCCCgCctGg	AAttCgAgCt	cGgtAcCtTt	AAgAcCAAtG	AcTtAcAagG	3840
	cAgctGtAgA	tCtTAgCCAc	tTtTtAAaAg	AAAagGgGgG	ActGgAagGg	cTaatTcAct	3900
	CCCAAcGAag	AcAAGAtCtG	cTtTtTgCtT	gTActGgGtC	tCtCtGgtTA	gAcCAGAtCt	3960

ES 2 759 049 T3

	gagcctggga gctctctggc taactagggg acccactgct taagcctcaa taaagcttgc	4020
5	cttgagtgct tcaagtagtg tgtgcccgtc tgttgtgtga ctctggtaac tagagatccc	4080
	tcagaccctt ttagtcagtg tggaaaatct ctagcagtag tagttcatgt catcttatta	4140
	ttcagtattt ataacttgca aagaaatgaa tatcagagag tgagaggaac ttgtttattg	4200
10	cagcttataa tggttacaaa taaagcaata gcatcacaaa tttcacaaat aaagcatttt	4260
	tttactgca ttctagttgt ggtttgtcca aactcatcaa tgtatcttat catgtctggc	4320
	tctagctatc ccgcccctaa ctccgcccag ttccgcccac tctccgcccc atggctgact	4380
15	aatTTTTTTT atttatgcag aggccgaggc cgctcggcc tctgagctat tccagaagta	4440
	gtgaggaggc ttttttgag gcctaggctt ttgcgtcgag acgtacccaa ttcgccctat	4500
20	agtgagtcgt attacgcgcg ctactggcc gtcgttttac aacgtcgtga ctgggaaaac	4560
	cctggcggtta cccaacttaa tcgccttgca gcacatcccc ctttcgccag ctggcgtaat	4620
	agcgaagagg cccgcaccga tcgcccttcc caacagttgc gcagcctgaa tggcgaatgg	4680
25	cgcgacgcgc cctgtagcgg cgcatthaagc gcggcggggtg tgggtggttac gcgcagcgtg	4740
	accgctacac ttgccagcgc cctagcggcc gctcctttcg ctttcttccc ttcctttctc	4800
30	gccacgttcg ccggctttcc ccgtcaagct ctaaatacggg ggctcccttt agggttccga	4860
	tttagtgctt tacggcacct cgaccccaaa aaacttgatt agggtgatgg ttcacgtagt	4920
	gggccatcgc cctgatagac ggTTTTTcgc ctttgacgt tggagtccac gttctttaat	4980
35	agtggactct tgttccaaac tggaacaaca ctcaacccta tctcgggtcta ttcttttgat	5040
	ttataaggga ttttgccgat ttcggcctat tgggttaaaaa atgagctgat ttaacaaaaa	5100
40	tttaacgcga attttaacaa aatattaacg tttaacaattt cccagggtggc acttttcggg	5160
	gaaatgtgcg cggaaccctt atttgtttat ttttctaaat acattcaaata atgtatccgc	5220
	tcatgagaca ataaccctga taaatgcttc aataatattg aaaaagggaag agtatgagta	5280
45	ttcaacattt ccgtgtcgcc cttattccct tttttgcggc attttgccct cctgtttttg	5340
	ctcaccaga aacgttggtg aaagtaaaag atgctgaaga tcagttgggt gcacgagtgg	5400
50	gttacatcga actggatctc aacagcggta agatccttga gaggtttcgc cccgaagaac	5460
	gttttccaat gatgagcact tttaaagttc tgctatgtgg cgcggtatta tcccgtattg	5520
	acgccgggca agagcaactc ggtcgccgca tacactattc tcagaatgac ttggttgagt	5580
55	actcaccagt cacagaaaag catcttacgg atggcatgac agtaagagaa ttatgcagtg	5640
	ctgccataac catgagtgat aacactgcgg ccaacttact tctgacaacg atcggaggac	5700
60	cgaaggagct aaccgctttt ttgcacaaca tgggggatca tgtaactcgc cttgatcggt	5760
	gggaaccgga gctgaatgaa gccataccaa acgacgagcg tgacaccacg atgcctgtag	5820
	caatggcaac aacgttgcg aaactattaa ctggcgaact acttactcta gttccccggc	5880
65	aacaattaat agactggatg gaggcggata aagttgcagg accacttctg cgctcggccc	5940
	ttccggctgg ctggtttatt gctgataaat ctggagccgg tgagcgtggg tctcgcggta	6000

ES 2 759 049 T3

	tcattgcagc actggggcca gatggttaagc cctcccgtat cgtagttatc tacacgacgg	6060
5	ggagtcaggc aactatggat gaacgaaata gacagatcgc tgagataggt gcctcactga	6120
	ttaagcattg gtaactgtca gaccaagttt actcatatat acttttagatt gatttaaaac	6180
	ttcattttta atttaaaagg atctaggtga agatcctttt tgataatctc atgaccaaaa	6240
10	tcccttaacg tgagttttcg ttccactgag cgtcagaccc cgtagaaaaag atcaaaggat	6300
	cttcttgaga tccttttttt ctgcgcgtaa tctgctgctt gcaaacaaaa aaaccaccgc	6360
	taccagcggg ggtttgtttg ccggatcaag agctaccaac tctttttccg aaggtaactg	6420
15	gcttcagcag agcgcagata ccaaatactg tccttctagt gtagccgtag ttaggccacc	6480
	acttcaagaa ctctgtagca ccgcctacat acctcgtctt gctaatacctg ttaccagtgg	6540
20	ctgctgccag tggcgataag tcgtgtctta ccgggttgga ctcaagacga tagttaccgg	6600
	ataaggcgca gcggtcgggc tgaacggggg gttcgtgcac acagcccagc ttggagcgaa	6660
	cgacctacac cgaactgaga tacctacagc gtgagctatg agaaagcgcc acgcttcccg	6720
25	aagggagaaa ggcggacagg tatccggtaa gcggcagggg cggaacagga gagcgcacga	6780
	gggagcttcc agggggaaac gcctgggtatc tttatagtcc tgtcgggttt cgccacctct	6840
30	gacttgagcg tcgatttttg tgatgctcgt caggggggcg gagcctatgg aaaaacgcca	6900
	gcaacgcggc ctttttacgg ttcctggcct tttgctggcc ttttgctcac atgttctttc	6960
35	ctgcgttatc ccctgattct gtggataacc gtattaccgc ctttgagtga gctgataccg	7020
	ctcgccgcag ccgaacgacc gagcgcagcg agtcagtgag cgaggaagcg gaagagcgcc	7080
	caatacgcaa accgcctctc ccgcgcggtt ggccgattca ttaatgcagc tggcacgaca	7140
40	ggtttcccga ctggaaagcg ggcagtgagc gcaacgcaat taatgtgagt tagctcactc	7200
	attaggcacc ccaggcttta cactttatgc ttccggctcg tatgttggtg ggaattgtga	7260
	gcggataaca atttcacaca ggaacagct atgaccatga ttacgccaag cgcgcaatta	7320
45	accctcacta aaggaacaa aagctggagc tgca	7354

<210> 5

<211> 7810

50 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

55 <223> Construcción pCCL/GAPDH-eGFP-WPRE

<400> 5

	ccattgcata cgttgtatcc atatcataat atgtacattt atattggctc atgtccaaca	60
60	ttaccgccat gttgacattg attattgact agttattaat agtaatcaat tacgggggtca	120
	ttagttcata gcccatatat ggagttccgc gttacataac ttacggtaaa tggcccgctt	180
	ggctgaccgc ccaacgaccc ccgcccattg acgtcaataa tgacgtatgt tcccatagta	240
65	acgccaatag ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt atttacggta aactgccac	300
	ttggcagtac atcaagtgtg tcatatgccg agtacgcccc ctattgacgt caatgacggg	360

ES 2 759 049 T3

	aaatggcccg	cctggcatta	tgcccagtac	atgaccttat	gggactttcc	tacttggcag	420
5	tacatctacg	tattagtcac	cgctattacc	atgggtgatgc	ggtttttgga	gtacatcaat	480
	gggcgtggat	agcggtttga	ctcacgggga	tttccaagtc	tccaccccat	tgacgtcaat	540
	gggagtttgt	tttggcacca	aaatcaacgg	gactttccaa	aatgtcgtaa	caactccgcc	600
10	ccattgacgc	aaatgggagg	taggcgtgta	cggtgggagg	tctatataag	cagagctcgt	660
	ttagtgaacc	ggggtctctc	tggttagacc	agatctgagc	ctgggagctc	tctggctaac	720
	tagggaaccc	actgcttaag	cctcaataaa	gcttgccctg	agtgcctcaa	gtagtgtgtg	780
15	cccgtctgtt	gtgtgactct	ggtaactaga	gatccctcag	acccttttag	tcagtgtgga	840
	aaatctctag	cagtggcgcc	cgaacaggga	cttgaaaagcg	aaagggaaac	cagaggagct	900
20	ctctcgacgc	aggactcggc	ttgctgaagc	gcgcacggca	agaggcgagg	ggcggcgact	960
	ggtgagtacg	ccaaaaat	tgactagcgg	aggctagaag	gagagagatg	ggtgagagag	1020
	cgtcagtatt	aagcggggga	gaattagatc	gcgatgggaa	aaaattcggt	taaggccagg	1080
25	gggaaagaaa	aaatataaat	taaaacatat	agtatgggca	agcagggagc	tagaacgatt	1140
	cgcagttaat	cctggcctgt	tagaaacatc	agaaggctgt	agacaaatac	tgggacagct	1200
30	acaaccatcc	cttcagacag	gatcagaaga	acttagatca	ttatataata	cagtagcaac	1260
	cctctattgt	gtgcatcaaa	ggatagagat	aaaagacacc	aaggaagctt	tagacaagat	1320
	agaggaagag	caaaacaaaa	gtaagaccac	cgcacagcaa	gcggccgctg	atcttcagac	1380
35	ctggaggagg	agatatgagg	gacaattgga	gaagtgaatt	atataaatat	aaagtagtaa	1440
	aaattgaacc	attaggagta	gcacccacca	aggcaaagag	aagagtgggtg	cagagagaaa	1500
40	aaagagcagt	gggaatagga	gctttgttcc	ttgggttctt	gggagcagca	ggaagcacta	1560
	tgggagcagc	gtcaatgacg	ctgacgggtac	aggccagaca	attattgtct	ggtatagtgc	1620
	agcagcagaa	caatttgctg	agggctattg	aggcgcaaca	gcattctgtg	caactcacag	1680
45	tctggggcat	caagcagctc	caggcaagaa	tcctggctgt	ggaaagatac	ctaaaggatc	1740
	aacagctcct	ggggatttgg	ggttgctctg	gaaaactcat	ttgcaccact	gctgtgcctt	1800
50	ggaatgctag	ttggagtaat	aaatctctg	aacagatttg	gaatcacacg	acctggatgg	1860
	agtgggacag	agaaattaac	aattacacaa	gcttaataca	ctccttaatt	gaagaatcgc	1920
	aaaaccagca	agaaaagaat	gaacaagaat	tattggaatt	agataaatgg	gcaagtttgt	1980
55	ggaattgggt	taacataaca	aattggctgt	ggtatataaa	attattcata	atgatagtag	2040
	gaggcttggg	aggtttaaga	atagtttttg	ctgtactttc	tatagtgaat	agagttaggc	2100
60	agggatattc	accattatcg	tttcagaccc	acctcccaac	cccaggggga	cccagcaggc	2160
	ccgaaggaat	agaagaagaa	ggtggagaga	gagacagaga	cagatccatt	cgattagtag	2220
	acggatctcg	acggtatcgg	ttaactttta	aaagaaaagg	ggggattggg	gggtacagtg	2280
65	caggggaaag	aatagtagac	ataatagcaa	cagacataca	aactaaagaa	ttacaaaaac	2340
	aaattacaaa	aattcaaaat	tttatcgatc	acgagactag	cctcgaggat	atcagttccc	2400

ES 2 759 049 T3

	caactttccc	gcctctcagc	ctttgaaaga	aagaaagggg	agggggcagg	ccgcgtgcag	2460
5	ccgcgagcgg	tgctgggctc	cggctccaat	tccccatctc	agtcgttccc	aaagtcctcc	2520
	tgtttcatcc	aagcgtgtaa	gggtccccgt	ccttgactcc	ctagtgtcct	gctgcccaca	2580
	gtccagtcct	gggaaccagc	accgatcacc	tcccatcggg	ccaatctcag	tcccttcccc	2640
10	cctacgtcgg	ggcccacacg	ctcgggtgct	gcccagttga	accaggcggc	tgcggaaaaa	2700
	aaaaagcggg	gagaaagtag	ggcccggcta	ctagcggttt	tacgggcgca	cgtagctcag	2760
	gcctcaagac	cttgggctgg	gactggctga	gcctggcggg	aggcggggtc	cgagtcaccg	2820
15	cctgccgcgg	cgcccccggt	ttctataaat	tgagcccgca	gcctcccgt	tcgctctctg	2880
	ctcctcctgg	gatccaccgg	tcgccaccat	ggtgagcaag	ggcgaggagc	tggtcaccgg	2940
20	ggtggtgccc	atcctggtcg	agctggacgg	cgacgtaaac	ggccacaagt	tcagcgtgtc	3000
	cggcgagggc	gagggcgatg	ccacctacgg	caagctgacc	ctgaagttca	tctgcaccac	3060
	cggcaagctg	cccgtgccct	ggcccaccct	cgtgaccacc	ctgacctacg	gcgtgcagtg	3120
25	cttcagccgc	taccccgacc	acatgaagca	gcacgacttc	ttcaagtccg	ccatgcccgga	3180
	aggctacgtc	caggagcgca	ccatcttctt	caaggacgac	ggcaactaca	agacccgcgc	3240
30	cgaggtgaag	ttcgagggcg	acaccctggt	gaaccgcata	gagctgaagg	gcatcgactt	3300
	caaggaggac	ggcaacatcc	tggggcacaa	gctggagtac	aactacaaca	gccacaacgt	3360
	ctatatcatg	gccgacaagc	agaagaacgg	catcaagggt	aacttcaaga	tccgccacaa	3420
35	catcgaggac	ggcagcgtgc	agctcgccga	ccactaccag	cagaacaccc	ccatcggcga	3480
	cggccccgtg	ctgctgcccg	acaaccacta	cctgagcacc	cagtccgccc	tgagcaaaga	3540
40	ccccaacgag	aagcgcgata	acatggtcct	gctggagttc	gtgaccgccg	ccgggatcac	3600
	tctcggcatg	gacgagctgt	acaagtaaag	cggccgcgtc	gacaatcaac	ctctggatta	3660
	caaaatttgt	gaaagattga	ctggtattct	taactatggt	gctcctttta	cgctatgtgg	3720
45	atacgtgct	ttaatgcctt	tgtatcatgc	tattgcttcc	cgtatggctt	tcattttctc	3780
	ctccttgtat	aaatcctggt	tgctgtctct	ttatgaggag	ttgtggcccg	ttgtcaggca	3840
50	acgtggcgtg	gtgtgcactg	tgtttgctga	cgcaaccccc	actggttggg	gcattgccac	3900
	cacctgtcag	ctcctttccg	ggactttcgc	tttccccctc	cctattgcca	cggcggaact	3960
	catcgccgcc	tgcccttgccc	gctgctggac	aggggctcgg	ctgttgggca	ctgacaattc	4020
55	cgtggtgttg	tcggggaagc	tgacgtcctt	tccatggctg	ctcgctgtg	ttgccacctg	4080
	gattctgcgc	gggacgtcct	tctgctacgt	cccttcggcc	ctcaatccag	cggaccttcc	4140
60	ttcccgcggc	ctgctgccgg	ctctgcggcc	tcttccgcgt	cttcgccttc	gccctcagac	4200
	gagtcggatc	tccctttggg	ccgcctcccc	gcctggaatt	cgagctcggg	acctttaaga	4260
	ccaatgactt	acaaggcagc	tgtagatctt	agccactttt	taaaagaaaa	ggggggactg	4320
65	gaagggctaa	ttcactccca	acgaagacaa	gatctgcttt	ttgcttgtag	tgggtctctc	4380
	tggttagacc	agatctgagc	ctgggagctc	tctggctaac	tagggaaccc	actgcttaag	4440

ES 2 759 049 T3

	cctcaataaa	gcttgcccttg	agtgccttcaa	gtagtggtgtg	cccgtctgtt	gtgtgactct	4500
5	ggtaactaga	gatccctcag	acccttttag	tcagtgtgga	aaatctctag	cagtagtagt	4560
	tcatgtcatc	ttattattca	gtatttataa	cttgcaaaga	aatgaatatac	agagagttag	4620
	aggaacttgt	ttattgcagc	ttataatggt	tacaaataaa	gcaatagcat	cacaaatttc	4680
10	acaaataaag	catttttttc	actgcattct	agttgtgggt	tgtccaaact	catcaatgta	4740
	tcttatcatg	tctggctcta	gctatcccgc	ccctaactcc	gcccattccc	cccctaactc	4800
	cgcccagttc	cgccatttct	ccgccccatg	gctgactaat	tttttttatt	tatgcagagg	4860
15	ccgaggccgc	ctcggcctct	gagctattcc	agaagtagtg	aggaggcttt	tttggaggcc	4920
	tagggacgta	cccaattcgc	cctatagtga	gtcgtattac	gcgcgctcac	tggccgtcgt	4980
20	tttacaacgt	cgtgactggg	aaaaccctgg	cgttacccaa	cttaatcgcc	ttgcagcaca	5040
	tccccctttc	gccagctggc	gtaatagcga	agaggcccg	accgatcgcc	cttcccaaca	5100
	gttgcgagc	ctgaatggcg	aatgggacgc	gccctgtagc	ggcgcatata	gcgcggcggg	5160
25	tgtgggtggt	acgcgcagcg	tgaccgctac	acttgccagc	gccctagcgc	ccgctccttt	5220
	cgctttcttc	ccttcctttc	tcgccacggt	cgccggcttt	ccccgtcaag	ctctaaatcg	5280
30	ggggctccct	ttagggttcc	gatttagtgc	tttacggcac	ctcgacccca	aaaaacttga	5340
	ttagggtgat	ggttcacgta	gtggggccatc	gccctgatag	acggtttttc	gccctttgac	5400
	gttggagtcc	acgttcttta	atagtggact	cttgttccaa	actggaacaa	cactcaacc	5460
35	tatctcggtc	tattcttttg	atttataagg	gattttgccg	atttcggcct	attgggttaa	5520
	aaatgagctg	atttaacaaa	aatttaacgc	gaattttaac	aaaatattaa	cgcttacaat	5580
40	ttagggtggca	cttttcgggg	aatgtgagc	ggaaccctta	tttgtttatt	tttctaaata	5640
	cattcaaata	tgtatccgct	catgagacaa	taaccctgat	aatgcttca	ataatagcac	5700
	ctagatcaag	agacaggatg	aggatcggtt	cgcattgattg	aacaagatgg	attgcacgca	5760
45	ggttctccgg	ccgcttgggt	ggagaggcta	ttcggctatg	actgggcaca	acagacaatc	5820
	ggctgctctg	atgccgccgt	gttccggctg	tcagcgcagg	ggcgcccggt	tctttttgtc	5880
50	aagaccgacc	tgtccggtgc	cctgaatgaa	ctgcaagacg	aggcagcgcg	gctatcgtgg	5940
	ctggccacga	cgggcggttc	ttgagcagct	gtgctcgacg	ttgtcactga	agcgggaagg	6000
	gactggctgc	tattgggcga	agtgccgggg	caggatctcc	tgtcatctca	ccttgctcct	6060
55	gccgagaaag	tatccatcat	ggctgatgca	atgcggcggc	tgcatacgct	tgatccggct	6120
	acctgccc	tcgaccacca	agcgaaacat	cgcattcgagc	gagcacgtac	tcggatggaa	6180
60	gccgggtcttg	tcgatcagga	tgatctggac	gaagagcatc	aggggctcgc	gccagccgaa	6240
	ctgttcgcca	ggctcaaggc	gagcatgccc	gacggcgagg	atctcgtcgt	gacccatggc	6300
	gatgcctgct	tgccgaatat	catggtggaa	aatggccgct	tttctggatt	catcgactgt	6360
65	ggccggctgg	gtgtggcgga	ccgctatcag	gacatagcgt	tggctacccg	tgatattgct	6420
	gaagagcttg	gcggcgaatg	ggctgaccgc	ttcctcgtgc	tttacgggtat	cgccgctccc	6480

ES 2 759 049 T3

	gattcgcagc gcatcgcctt ctatcgcctt cttgacgagt tcttctgaat tattaacgct	6540
5	tacaatttcc tgatgcggta ttttctcctt acgcatctgt gcggtatttc acaccgcac	6600
	aggtggcact tttcggggaa atgtgcgcgg aacccttatt tgtttatttt tctaaataca	6660
	ttcaaataatg tatccgctca tgaccaaaat cccttaacgt gagttttcgt tccactgagc	6720
10	gtcagacccc gtagaaaaga tcaaaggatc ttcttgagat cctttttttc tgcgcgtaat	6780
	ctgctgcttg caaacaacaaa aaccaccgct accagcgggtg gtttggttg cggatcaaga	6840
	gctaccaact ctttttccga aggtaactgg cttcagcaga gcgcagatac caaatactgt	6900
15	tcttctagt tagccgtagt taggccacca cttcaagaac tctgtagcac cgcctacata	6960
	cctcgtcttg ctaatcctgt taccagtggc tgctgccagt ggcgataagt cgtgtcttac	7020
20	cgggttgac tcaagacgat agttaccgga taaggcgcag cggtcgggct gaacgggggg	7080
	gtcgtgcaca cagcccagct tggagcgaac gacctacacc gaactgagat acctacagcg	7140
	tgagctatga gaaagcgcca cgcttcccga agggagaaaag gcggacaggt atccggtaag	7200
25	cggcagggtc ggaacaggag agcgcacgag ggagcttcca gggggaaacg cctggtatct	7260
	ttatagtcct gtcgggtttc gccacctctg acttgagcgt cgatttttgt gatgctcgtc	7320
30	aggggggagg agcctatgga aaaacgccag caacgcggcc tttttacggt tcctggcctt	7380
	ttgctggcct tttgctcaca tgttctttcc tgcgttatcc cctgattctg tggataaccg	7440
	tattaccgcc tttgagtgag ctgataccgc tcgccgcagc cgaacgaccg agcgcagcga	7500
35	gtcagtgagc gaggaagcgg aagagcgcgc aatacgcaaa ccgcctctcc ccgcgcgttg	7560
	gccgattcat taatgcagct ggcacgacag gtttcccagc tggaaagcgg gcagtgagcg	7620
40	caacgcaatt aatgtgagtt agctcactca ttaggcaccc caggctttac actttatgct	7680
	tccggctcgt atgttggttg gaattgtgag cggataacaa tttcacacag gaaacagcta	7740
	tgaccatgat tacgccaagc gcgcaattaa ccctcactaa agggaacaaa agctggagct	7800
45	gcaagcttg	7810
	<210> 6	
	<211> 7245	
50	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Construcción pLTR1.0/PGK-eGFP-WPRE	
55	<400> 6	
	agcttaatgt agtcttatgc aatactcttg tagtcttgca acatggtaac gatgagttag	60
60	caacatgcct tacaaggaga gaaaaagcac cgtgcatgcc gattggtgga agtaagggtg	120
	tacgatcgtg ctttattagg aaggcaacag acgggtctga catggattgg acgaaccact	180
	gaattgccgc attgcagaga tattgtatgt aagtgcctag ctcgatacaa taaacgtggc	240
65	gcccgaacag ggactcgacg gtatcgggta acttttaaaa gaaaaggggg gattgggggg	300
	tacagtgcag gggaaagaat agtagacata atagcaacag acatacaaac taaagaatta	360

ES 2 759 049 T3

	caaaaacaaa	ttacaaaaat	tcaaaatttt	atcgatcacg	agactagcct	cgagaagctt	420
5	gatatcgaat	tcccacgggg	ttgggggttg	gcctttttcca	aggcagccct	gggtttgctc	480
	agggacgcgg	ctgctctggg	cgtgggttcg	ggaaacgcag	cggcgccgac	cctgggtctc	540
	gcacattctt	cacgtccgtt	cgcagcgtca	cccggatctt	cgccgctacc	cttgtggggc	600
10	ccccggcgac	gcttcctgct	ccgcccctaa	gtcgggaagg	ttccttgctg	ttcgcggcgt	660
	gccggacgtg	acaaacggaa	gccgcacgtc	tcactagtac	cctcgagac	ggacagcgcc	720
	agggagcaat	ggcagcgctc	cgaccgcgat	gggctgtggc	caatagcggc	tgctcagcgg	780
15	ggcgcgccga	gagcagcggc	cgggaagggg	cgggtgcggga	ggcgggggtg	ggggcggtag	840
	tgtggggcct	gttcctgccc	gcgcggtggt	ccgcattctg	caagcctccg	gagcgcacgt	900
20	cggcagtcgg	ctccctcggt	gaccgaatca	ccgacctctc	tccccagggg	gatccaccgg	960
	tcgccaccat	ggtgagcaag	ggcgaggagc	tggtcaccgg	ggtggtgccc	atcctggtcg	1020
	agctggacgg	cgacgtaaac	ggccacaagt	tcagcgtgtc	cggcgagggc	gagggcgatg	1080
25	ccacctacgg	caagctgacc	ctgaagttca	tctgcaccac	cggcaagctg	cccgtgccct	1140
	ggccccaccct	cgtgaccacc	ctgacctacg	gcgtgcagtg	cttcagccgc	taccccgacc	1200
30	acatgaagca	gcacgacttc	ttcaagtccg	ccatgcccga	aggctacgtc	caggagcgca	1260
	ccatcttctt	caaggacgac	ggcaactaca	agaccgcgc	cgaggtgaag	ttcgagggcg	1320
	acaccctggt	gaaccgcctc	gagctgaagg	gcacgacttc	caaggaggac	ggcaacatcc	1380
35	tggggcacia	gctggagtac	aactacaaca	gccacaacgt	ctatatcatg	gccgacaagc	1440
	agaagaacgg	catcaagggt	aacttcaaga	tccgccacia	catcgaggac	ggcagcgtgc	1500
40	agctcgccga	ccactaccag	cagaacaccc	ccatcgccga	cggccccgtg	ctgctgcccg	1560
	acaaccacta	cctgagcacc	cagtccgccc	tgagcaaaga	ccccaacgag	aagcgcgatc	1620
	acatggtcct	gctggagtcc	gtgaccgccc	ccgggatcac	tctcggcatg	gacgagctgt	1680
45	acaagtaaag	cggccgcgtc	gacaatcaac	ctctggatta	caaaatttgt	gaaagattga	1740
	ctggtattct	taactatggt	gctcctttta	cgctatgtgg	atacgtctgt	ttaatgcctt	1800
50	tgtatcatgc	tattgcttcc	cgtatggctt	tcatcttctc	ctccttgat	aaatcctggt	1860
	tgctgtctct	ttatgaggag	ttgtggcccg	ttgtcaggca	acgtggcgtg	gtgtgactg	1920
	tgtttgctga	cgcaaccccc	actgggtggg	gcattgccac	cacctgtcag	ctcctttccg	1980
55	ggactttcgc	tttccccctc	cctattgcca	cggcggaact	catcgccgcc	tgccttgccc	2040
	gctgctggac	aggggctcgg	ctggtgggca	ctgacaattc	cgtggtgttg	tcggggaagc	2100
60	tgacgtcctt	tccatggctg	ctcgccctgt	ttgccacctg	gattctgcgc	gggacgtcct	2160
	tctgctacgt	cccttcggcc	ctcaatccag	cggaccttcc	ttcccgcggc	ctgctgccgg	2220
	ctctgcggcc	tcttccgcgt	cttcgccttc	gccctcagac	gagtcggatc	tccctttggg	2280
65	ccgcctcccc	gcctggaatt	cgagctcggg	acctttaaga	ccaatgactt	acaaggcagc	2340
	tgtagatctt	agccactttt	taaaagaaaa	ggggggactg	gaagggctaa	ttcactccca	2400

ES 2 759 049 T3

	acgaagacaa gatctgcttt ttgcttgtagc tgggtctctc tggtagacc agatctgagc	2460
5	ctgggagctc tctggctaac tagggaaccc actgcttaag cctcaataaa gcttgccttg	2520
	agtgtctcaa gtagtgtgtg cccgtctgtt gtgtgactct ggtaactaga gatccctcag	2580
	acccttttag tcagtgtgga aaatctctag cagtggcgcc cgaacaggga cttgaaagcg	2640
10	aaagggaaac cagaggagct ctctcgacgc aggactcggc ttgctgaagc gcgcacggca	2700
	agaggcgagg ggcggcgact ggtgagtacg ccaaaaattt tgactagcgg aggctagaag	2760
15	gagagagatg ggtgcgagag cgtcagtatt aagcggggga gaattagatc gcgatgggaa	2820
	aaaattcggg taaggccagg gggaaagaaa aaatataaat taaaacatat agtatgggca	2880
	agcagggagc tagaacgatt cgcagttaat cctggcctgt tagaaacatc agaaggctgt	2940
20	agacaaatac tgggacagct acaaccatcc cttcagacag gatcagaaga acttagatca	3000
	ttatataata cagtagcaac cctctattgt gtgcatcaaa ggatagagat aaaagacacc	3060
25	aaggaagctt tagacaagat agaggaagag caaaacaaaa gtaagaccac cgcacagcaa	3120
	gcggccgctg atcttcagac ctggaggagg agatatgagg gacaattgga gaagtgaatt	3180
	atataaatat aaagtagtaa aaattgaacc attaggagta gcacccacca aggcaaagag	3240
30	aagagtgggtg cagagagaaa aaagagcagt gggaaatagga gctttgttcc ttgggttctt	3300
	gggagcagca ggaagcacta tgggcgcagc gtcaatgacg ctgacggtac aggccagaca	3360
35	attattgtct ggtatagtgc agcagcagaa caatttgctg agggctattg aggcgcaaca	3420
	gcatctgttg caactcacag tctggggcat caagcagctc caggcaagaa tcctggctgt	3480
	ggaaagatac ctaaaggatc aacagctcct ggggatttgg ggttgctctg gaaaactcat	3540
40	ttgcaccact gctgtgcctt ggaatgctag ttggagtaat aaatctctgg aacagatttg	3600
	gaatcacacg acctggatgg agtgggacag agaaattaac aattacacaa gcttaataca	3660
45	ctccttaatt gaagaatcgc aaaaccagca agaaaagaat gaacaagaat tattggaatt	3720
	agataaatgg gcaagtttgt ggaattgggt taacataaca aattggctgt ggtatataaa	3780
	attattcata atgatagtag gaggcttggg aggtttaaga atagtttttg ctgtactttc	3840
50	tatagtgaat agagttaggc agggatattc accattatcg tttcagaccc acctccaac	3900
	cccgagggga cccgacaggc ccgaaggaat agaagaagaa ggtggagaga gagacagaga	3960
55	cagatccatt cgattagtga acggatctag tagttcatgt catcttatta ttcagtattt	4020
	ataacttgca aagaaatgaa tatcagagag tgagaggaac ttgtttattg cagcttataa	4080
	tggttacaaa taaagcaata gcatcacaaa tttcacaaat aaagcatttt tttactgca	4140
60	ttctagttgt ggtttgtcca aactcatcaa tgtatcttat catgtctggc tctagctatc	4200
	ccgcccctaa ctccgcccct cccgccccta actccgccc gttccgccc ttctccgcc	4260
65	catggctgac taatTTTTTT tatttatgca gaggccgagg ccgcctcggc ctctgagcta	4320
	ttccagaagt agtgaggagg cttttttgga ggcctaggct tttgcgtcga gacgtacca	4380
	attcgccta tagtgagtcg tattacgcgc gctcactggc cgtcgtttta caacgtcgtg	4440

ES 2 759 049 T3

	actgggaaaa	ccctggcggtt	acccaactta	atcgcccttg	agcacatccc	cctttcgcca	4500
5	gctggcgtaa	tagcgaagag	gcccgcaccg	atcgcccttc	ccaacagttg	cgagcctga	4560
	atggcgaaatg	gcgcgacgcg	ccctgtagcg	gcgcattaag	cgcggcgggt	gtggtggtta	4620
	cgcgagcgt	gaccgctaca	cttgccagcg	ccctagcgcc	cgctccttc	gctttcttc	4680
10	cttcctttct	cgccacgttc	gccggctttc	cccgtcaagc	tctaaatcgg	gggctccctt	4740
	taggggttcg	atttagtgct	ttacggcacc	tcgaccccaa	aaaacttgat	taggggtgatg	4800
	gttcacgtag	tgggccatcg	ccctgataga	cggtttttcg	cccttgacg	ttggagtcca	4860
15	cgttctttta	tagtggactc	ttgttccaaa	ctggaacaac	actcaaccct	atctcgggtct	4920
	attcttttga	tttataaggg	attttgccga	tttcggccta	ttggttaaaa	aatgagctga	4980
20	tttaacaaaa	atttaacgcg	aattttaaca	aaatattaac	gtttacaatt	tcccaggtgg	5040
	cacttttcgg	ggaaatgtgc	gcggaacccc	tatttgttta	tttttctaaa	tacattcaaa	5100
25	tatgtatccg	ctcatgagac	aataaccctg	ataaatgctt	caataatatt	gaaaaaggaa	5160
	gagtatgagt	attcaacatt	tccgtgtcgc	ccttattccc	ttttttgcgg	cattttgcct	5220
	tcctgttttt	gctcaccag	aaacgctggt	gaaagtaaaa	gatgctgaag	atcagttggg	5280
30	tgcacgagtg	ggttacatcg	aactggatct	caacagcggg	aagatccttg	agagttttcg	5340
	ccccgaagaa	cgttttccaa	tgatgagcac	ttttaagtt	ctgctatgtg	gcgcggtatt	5400
35	atcccgtatt	gacgccgggc	aagagcaact	cggtcgccgc	atacactatt	ctcagaatga	5460
	cttggttgag	tactcaccag	tcacagaaaa	gcatcttacg	gatggcatga	cagtaagaga	5520
	attatgcagt	gctgccataa	ccatgagtga	taacactgcg	gccaacttac	ttctgacaac	5580
40	gatcggagga	ccgaaggagc	taaccgcttt	tttgcacaa	atgggggatc	atgtaactcg	5640
	ccttgatcgt	tgggaaccgg	agctgaatga	agccatacca	aacgacgagc	gtgacaccac	5700
45	gatgcctgta	gcaatggcaa	caacgttgcg	caaactatta	actggcgaac	tacttactct	5760
	agcttcccgg	caacaattaa	tagactggat	ggaggcggt	aaagttgcag	gaccacttct	5820
	gcgctcgcc	cttcgggctg	gctgggttat	tgctgataaa	tctggagccg	gtgagcgtgg	5880
50	gtctcgcggt	atcattgcag	cactggggcc	agatggtaag	ccctcccgt	tcgtagtatt	5940
	ctacacgacg	gggagtcagg	caactatgga	tgaacgaaat	agacagatcg	ctgagatagg	6000
55	tgcctcactg	attaagcatt	ggtaactgtc	agaccaagtt	tactcatata	tacttttagat	6060
	tgatttaaaa	cttcattttt	aatttaaaa	gatctagggt	aagatccttt	ttgataatct	6120
	catgacaaa	atcccttaac	gtgagttttc	gttccactga	gcgtcagacc	ccgtagaaaa	6180
60	gatcaaagga	tcttcttgag	atcctttttt	tctgcgcgta	atctgctgct	tgcaaacaaa	6240
	aaaaccaccg	ctaccagcgg	tgggttggtt	gccggatcaa	gagctaccaa	ctctttttcc	6300
65	gaaggtaact	ggcttcagca	gagcgcagat	accaaatact	gtccttctag	tgtagccgta	6360
	gttaggccac	cacttcaaga	actctgtagc	accgcctaca	tacctcgctc	tgctaatacct	6420
	gttaccagtg	gctgctgcca	gtggcgataa	gtcgtgtctt	accgggttgg	actcaagacg	6480

ES 2 759 049 T3

	atagttaccg gataaggcgc agcggctcggg ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag	6540
5	cttggagcga acgacctaca ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gagaaagcgc	6600
	cacgcttccc gaagggagaa aggcggacag gtatccggta agcggcaggg tcggaacagg	6660
	agagcgcacg agggagcttc cagggggaaa cgcttggtat ctttatagtc ctgtcgggtt	6720
10	tcgccacctc tgacttgagc gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg	6780
	gaaaaacgcc agcaacgcgg cttttttacg gttcctggcc ttttgctggc cttttgctca	6840
15	catgttcttt cctgcgttat cccctgattc tgtggataac cgtattaccg cttttgagtg	6900
	agctgatacc gctcgccgca gccgaacgac cgagcgcagc gagtcagtga gcgaggaagc	6960
	ggaagagcgc ccaatacgca aaccgcctct ccccgcgctg tggccgattc attaatgcag	7020
20	ctggcacgac aggtttcccg actggaaagc gggcagtgag cgcaacgcaa ttaatgtgag	7080
	ttagctcact cattaggcac cccaggcttt acactttatg cttccggctc gtatgtttgtg	7140
25	tggaattgtg agcggataac aatttcacac aggaaacagc tatgaccatg attacgccaa	7200
	gcgcgcaatt aaccctcact aaagggaaaca aaagctggag ctgca	7245
	<210> 7	
	<211> 7257	
30	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Construcción pLTR1.5/PGK-eGFP-WPRE	
35	<400> 7	
	agcttaatgt agtcttatgc aatactcttg tagtcttgca acatggtaac gatgagttag	60
40	caacatgcct tacaaggaga gaaaaagcac cgtgcatgcc gattggtgga agtaagggtg	120
	tacgatcgtg ctttattagg aaggcaacag acgggtctga catggattgg acgaaccact	180
45	gaattgccgc attgcagaga tattgtatgt aagtgcctag ctcgatacaa taaacgtggc	240
	gcccgaacag ggactcgacg gtatcggtta acttttataaa gaaaaggggg gattgggggg	300
	tacagtgcag gggaaagaat agtagacata atagcaacag acatacaaac taaagaatta	360
50	caaaaacaaa ttacaaaaat tcaaaatttt atcgatcacg agactagcct cgagaagctt	420
	gatatcgaat tcccacgggg ttgggggttg gcctttttcca aggcagccct gggtttgctc	480
55	agggacgcgg ctgctctggg cgtggttccg ggaaacgcag cggcgccgac cctgggtctc	540
	gcacattctt cacgtccgtt cgcagcgtca cccggatctt cgccgctacc cttgtggggc	600
	ccccggcgac gcttcctgct ccgcccctaa gtcgggaagg ttccttgctg ttcgcggcgt	660
60	gccggacgtg acaaacggaa gccgcacgtc ttagtagtac cctcgagac ggacagcgcc	720
	agggagcaat ggcagcgcgc cgaccgcgat gggctgtggc caatagcggc tgctcagcgg	780
65	ggcgcgccga gagcagcggc cgggaagggg cgggtgcggga ggcgggggtgt ggggcggtag	840
	tgtggggcct gttcctgccc gcgcgggtgt ccgcattctg caagcctccg gagcgcacgt	900
	cggcagtcgg ctccctcgtt gaccgaatca ccgacctct tccccagggg gatccaccgg	960

ES 2 759 049 T3

	tcgccaccat	ggtgagcaag	ggcgaggagc	tgttcaccgg	ggtggtgccc	atcctggtcg	1020
5	agctggacgg	cgacgtaaac	ggccacaagt	tcagcgtgtc	cggcgagggc	gagggcgatg	1080
	ccacctacgg	caagctgacc	ctgaagttca	tctgcaccac	cggcaagctg	cccgtgccct	1140
	ggccccaccct	cgtgaccacc	ctgacctacg	gcgtgcagtg	cttcagccgc	taccccgacc	1200
10	acatgaagca	gcacgacttc	ttcaagtccg	ccatgcccga	aggctacgtc	caggagcgca	1260
	ccatcttctt	caaggacgac	ggcaactaca	agacccgcgc	cgaggtgaag	ttcgagggcg	1320
	acaccctggt	gaaccgcac	gagctgaagg	gcatcgactt	caaggaggac	ggcaacatcc	1380
15	tggggcacia	gctggagtac	aactacaaca	gccacaacgt	ctatatcatg	gccgacaagc	1440
	agaagaacgg	catcaagggt	aacttcaaga	tccgccacia	catcgaggac	ggcagcgtgc	1500
20	agctcgccga	ccactaccag	cagaacaccc	ccatcgccga	cggccccgtg	ctgctgcccg	1560
	acaaccacta	cctgagcacc	cagtccgccc	tgagcaaaga	ccccaacgag	aagcgcgatc	1620
	acatggtcct	gctggagttc	gtgaccgccg	ccgggatcac	tctcggcatg	gacgagctgt	1680
25	acaagtaaag	cgcccgcgtc	gacaatcaac	ctctggatta	caaaatttgt	gaaagattga	1740
	ctggtattct	taactatggt	gctcctttta	cgctatgtgg	atacgctgct	ttaatgcctt	1800
30	tgtatcatgc	tattgcttcc	cgtatggctt	tcattttctc	ctccttgat	aaatcctggt	1860
	tgctgtctct	ttatgaggag	ttgtggcccc	ttgtcaggca	acgtggcgtg	gtgtgactg	1920
	tgtttgctga	cgcaaccccc	actggttggg	gcattgccac	cacctgtcag	ctcctttccg	1980
35	ggactttcgc	tttccccctc	cctattgcca	cgccggaact	catcgccgcc	tgccctgccc	2040
	gctgctggac	aggggctcgg	ctggtgggca	ctgacaattc	cgtggtgttg	tcggggaagc	2100
40	tgacgtcctt	tccatggctg	ctcgccgtg	ttgccacctg	gattctgcgc	gggacgtcct	2160
	tctgctacgt	cccttcggcc	ctcaatccag	cggaccttcc	ttcccgccgc	ctgctgccgg	2220
	ctctgcggcc	tcttcgcgt	cttcgccttc	gccctcagac	gagtcggatc	tccctttggg	2280
45	ccgcctcccc	gcctggaatt	cgagctcgg	acctttaaga	ccaatgactt	acaaggcagc	2340
	tgtagatctt	agccactttt	taaaagaaaa	ggggggactg	gaagggctaa	ttactccca	2400
50	acgaagacia	gatctgcttt	ttgcttgtag	tgggtctctc	tggtagtagc	agatctgagc	2460
	ctgggagctc	tctggctaac	tagggaaccc	actgcttaag	cctcaataaa	gcttgccctg	2520
	agtgccttcaa	gtagtgtgtg	cccgtctgtt	gtgtgactct	ggtaactaga	gatccctcag	2580
55	acccttttag	tcagtgtgga	aaatctctag	cagtggcgcc	cgaacaggga	cttgaaagcg	2640
	aaagggaaac	cagaggagct	ctctcgacgc	aggactcggc	ttgctgaagc	gcgcacggca	2700
60	agaggcgagg	ggcggcgact	ggtgagtacg	ccaaaaattt	tgactagcgg	aggctagaag	2760
	gagagagatg	ggtgcgagag	cgtcagtatt	aagcggggga	gaattagatc	gcgatgggaa	2820
	aaaattcggg	taaggccagg	gggaaagaaa	aaatataaat	taaaacatat	agtatgggca	2880
65	agcagggagc	tagaacgatt	cgcagttaat	cctggcctgt	tagaaacatc	agaaggctgt	2940
	agacaaatac	tgggacagct	acaaccatcc	cttcagacag	gatcagaaga	acttagatca	3000

ES 2 759 049 T3

	ttatataata	cagtagcaac	cctctattgt	gtgcatcaaa	ggatagagat	aaaagacacc	3060
5	aaggaagctt	tagacaagat	agaggaagag	caaaacaaaa	gtaagaccac	cgcacagcaa	3120
	gcggccgctg	atcttcagac	ctggaggagg	agatatgagg	gacaattgga	gaagtgaatt	3180
	atataaatat	aaagtagtaa	aaattgaacc	attaggagta	gcacccacca	aggcaaagag	3240
10	aagagtgggtg	cagagagaaa	aaagagcagt	gggaatagga	gctttgttcc	ttgggttctt	3300
	gggagcagca	ggaagcacta	tgggcgcagc	gtcaatgacg	ctgacggtac	aggccagaca	3360
	attattgtct	ggtatagtgc	agcagcagaa	caatttgctg	agggctattg	aggcgcaaca	3420
15	gcatctgttg	caactcacag	tctggggcat	caagcagctc	caggcaagaa	tcctggctgt	3480
	ggaaagatac	ctaaaggatc	aacagctcct	ggggatttgg	ggttgctctg	gaaaactcat	3540
20	ttgcaccact	gctgtgcctt	ggaatgctag	ttggagtaat	aaatctctgg	aacagatttg	3600
	gaatcacacg	acctggatgg	agtgggacag	agaaattaac	aattacacaa	gcttaataca	3660
	ctccttaatt	gaagaatcgc	aaaaccagca	agaaaagaat	gaacaagaat	tattggaatt	3720
25	agataaatgg	gcaagtttgt	ggaattgggt	taacataaca	aattggctgt	ggtatataaa	3780
	attattcata	atgatagtag	gaggcttggg	aggtttaaga	atagtttttg	ctgtactttc	3840
30	tatagtgaat	agagttaggc	agggatattc	accattatcg	tttcagaccc	acctcccaac	3900
	cccgagggga	cccgacaggc	ccgaaggaat	agaagaagaa	ggtggagaga	gagacagaga	3960
	cagatccatt	cgattagtga	acggatccag	acatgataag	atacattgat	gagtttggac	4020
35	aaaccacaac	tagaatgcag	tgaaaaaaat	gctttatttg	tgaaatttgt	gatgctattg	4080
	ctttatttgt	aaccattata	agctgcaata	aacaagttaa	caacaacaat	tgcattcatt	4140
40	ttatgtttca	ggttcagggg	gagatgtggg	aggtttttta	aagcaagtaa	aacctctaca	4200
	aatgtggtaa	tcccgcctt	aactccgccc	atcccgcctt	taactccgcc	cagttccgcc	4260
	cattctccgc	cccatggctg	actaattttt	tttatttatg	cagaggccga	ggccgcctcg	4320
45	gcctctgagc	tattccagaa	gtagtgagga	ggcttttttg	gaggcctagg	cttttgctgc	4380
	gagacgtacc	caattcgccc	tatagttagt	cgtattacgc	gcgctcactg	gccgtcgttt	4440
50	tacaacgtcg	tgactgggaa	aaccctggcg	ttacccaact	taatcgctt	gcagcacatc	4500
	cccccttcgc	cagctggcgt	aatagcgaag	aggcccgcac	cgatcgccct	tccaacagt	4560
	tgcgcagcct	gaatggcgaa	tggcgcgacg	cgccctgtag	cggcgcatta	agcgcggcgg	4620
55	gtgtgggtgg	tacgcgcagc	gtgaccgcta	cacttgccag	cgccctagcg	cccgtcctt	4680
	tcgctttctt	cccttccttt	ctcgccacgt	tcgccggctt	tccccgtcaa	gctctaaatc	4740
60	gggggctccc	tttaggggtt	cgatttagtg	ctttacggca	cctcgacccc	aaaaaacttg	4800
	attaggggtga	tggttcacgt	agtgggccat	cgccctgata	gacggttttt	cgcccttgga	4860
	cgttggagtc	cacgttcttt	aatagtggac	tcttgttcca	aactggaaca	acactcaacc	4920
65	ctatctcggt	ctattctttt	gattttataag	ggattttgcc	gatttcggcc	tattgggttaa	4980
	aaaatgagct	gatttaacaa	aaatttaacg	cgaattttta	caaaatatta	acgtttacaa	5040

ES 2 759 049 T3

	tttcccaggt	ggcacttttc	ggggaaatgt	gcgcggaacc	cctattttgtt	tatTTTTtcta	5100
5	aatacattca	aatatgtatc	cgctcatgag	acaataaccc	tgataaatgc	ttcaataata	5160
	ttgaaaaagg	aagagtatga	gtattcaaca	tttccgtgtc	gcccttattc	cctTTTTtgc	5220
	ggcattttgc	cttcctgttt	ttgctcaccc	agaaacgctg	gtgaaagtaa	aagatgctga	5280
10	agatcagttg	ggtgcacgag	tgggttacat	cgaactggat	ctcaacagcg	gtaagatcct	5340
	tgagagtttt	cgccccgaag	aacgttttcc	aatgatgagc	acttttaaag	ttctgctatg	5400
	tggcgcggta	ttatcccgtg	ttgacgccgg	gcaagagcaa	ctcggtcgcc	gcatacacta	5460
15	ttctcagaat	gacttggttg	agtactcacc	agtcacagaa	aagcatctta	cggatggcat	5520
	gacagtaaga	gaattatgca	gtgctgccat	aaccatgagt	gataacactg	cggccaactt	5580
20	acttctgaca	acgatcggag	gaccgaagga	gctaaccgct	tttttgacac	acatggggga	5640
	tcatgtaact	cgccttgatc	gttggggaacc	ggagctgaat	gaagccatac	caaacgacga	5700
	gcgtgacacc	acgatgcctg	tagcaatggc	aacaacgttg	cgcaaacctat	taactggcga	5760
25	actacttact	ctagcttccc	ggcaacaatt	aatagactgg	atggaggcgg	ataaagtgtc	5820
	aggaccactt	ctgcgctcgg	cccttccggc	tggctggttt	attgctgata	aatctggagc	5880
30	cgggtgagcgt	gggtctcgcg	gtatcattgc	agcactgggg	ccagatggta	agccctcccg	5940
	tatcgtagtt	atctacacga	cggggagtcg	ggcaactatg	gatgaacgaa	atagacagat	6000
	cgctgagata	ggtgcctcac	tgattaagca	ttggtaactg	tcagaccaag	tttactcata	6060
35	tatacttttag	attgatttaa	aacttcattt	ttaatttaaa	aggatctagg	tgaagatcct	6120
	ttttgataat	ctcatgacca	aaatccctta	acgtgagttt	tcgttccact	gagcgtcaga	6180
40	ccccgtagaa	aagatcaaag	gatcttcttg	agatcctttt	tttctgcgcg	taatctgctg	6240
	cttgcaaaca	aaaaaaccac	cgctaccagc	ggtggtttgt	ttgccggatc	aagagctacc	6300
	aactcttttt	ccgaaggtaa	ctggcttcag	cagagcgcag	ataccaaata	ctgtccttct	6360
45	agtgtagccg	tagttaggcc	accacttcaa	gaactctgta	gcaccgccta	catacctcgc	6420
	tctgctaata	ctgttaccag	tggctgctgc	cagtggcgat	aagtcgtgtc	ttaccggggt	6480
50	ggactcaaga	cgatagttac	cggataaggc	gcagcggtcg	ggctgaacgg	ggggttcgtg	6540
	cacacagccc	agcttgagac	gaacgacctg	caccgaactg	agatacctac	agcgtgagct	6600
	atgagaaagc	gccacgcttc	ccgaaggag	aaaggcggac	aggtatccgg	taagcggcag	6660
55	ggtcggaaac	ggagagcgca	cgagggagct	tccaggggga	aacgcctggg	atctttatag	6720
	tcctgtcggg	tttcgccacc	tctgacttga	gcgtcgattt	ttgtgatgct	cgtcaggggg	6780
60	gcggagccta	tggaaaaaac	ccagcaacgc	ggccttttta	cgggttcctg	ccttttgctg	6840
	gccttttgct	cacatgttct	ttcctgcggt	atcccctgat	tctgtggata	accgtattac	6900
	cgcctttgag	tgagctgata	ccgctcgccg	cagccgaacg	accgagcgca	gcgagtcagt	6960
65	gagcgaggaa	gcggaagagc	gcccataacg	caaaccgcct	ctccccgcgc	gttgggcgat	7020
	tcattaatgc	agctggcacg	acaggtttcc	cgactggaaa	gcgggcagtg	agcgcaacgc	7080

ES 2 759 049 T3

	aattaatgtg agttagctca ctcattaggc accccaggct ttacacttta tgcttccggc	7140
5	tcgtatgttg tgtggaattg tgagcggata acaatttcac acaggaaaca gctatgacca	7200
	tgattacgcc aagcgcgcaa ttaaccctca ctaaaggga caaaagctgg agctgca	7257
10	<210> 8 <211> 7688 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
15	<220> <223> Construcción pLTR1.7.671/PGK-eGFP-WPRE	
	<400> 8	
	ccattgcata cgttgtatcc atatcataat atgtacattt atattggctc atgtccaaca	60
20	ttaccgccat gttgacattg attattgact agttattaat agtaatcaat tacgggggtca	120
	ttagttcata gcccatatat ggagttccgc gttacataac ttacggtaaa tggcccgct	180
25	ggctgaccgc ccaacgaccc ccgcccattg acgtcaataa tgacgtatgt tcccatagta	240
	acgccaatag ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt atttacggta aactgcccac	300
	ttggcagtac atcaagtgt tcatatgcc agtacgcccc ctattgacgt caatgacggg	360
30	aaatggcccg cctggcatta tgcccagtac atgaccttat gggactttcc tacttggcag	420
	tacatctacg tattagtcac cgctattacc atgggtgatgc ggttttggca gtacatcaat	480
35	gggcgtggat agcgggttga ctcacgggga tttccaagtc tccaccccat tgacgtcaat	540
	gggagtttgt tttggcacca aaatcaacgg gactttccaa aatgtcgtaa caactccgcc	600
	ccattgacgc aaatgggagg taggcgtgta cggtgggagg tctatataag cagagctcgt	660
40	ttagtgaacc tggcgccga acagggactg ctagcggtta cttttaaaag aaaagggggg	720
	attggggggg acagtgcagg ggaaagaata gtagacataa tagcaacaga catacaaaact	780
45	aaagaattac aaaaacaaat tacaataatt caaaatttta tcgatcacga gactagcctc	840
	gagaagcttg atatcgaatt cccacggggg tgggggttgcg ccttttccaa ggcagccctg	900
	ggtttgcgca gggacgcggc tgctctgggc gtggttccgg gaaacgcagc ggcgccgacc	960
50	ctgggtctcg cacattcttc acgtccgttc gcagcgtcac ccggtatctc gccgctaccc	1020
	ttgtggggcc cccggcgacg cttcctgctc cgcccctaag tcgggaagggt tccttgcggt	1080
55	tcgcggcgtg ccggacgtga caaacggaag ccgcacgtct cactagtacc ctgcgagacg	1140
	gacagcgcca gggagcaatg gcagcgcgcc gaccgcgatg ggctgtggcc aatagcggct	1200
	gctcagcggg gcgcgccgag agcagcggcc ggggaagggg ggtgcgggag gcgggggtgtg	1260
60	gggcggtagt gtggggccctg ttcctgcccg cgcggtgttc cgcatcttc aagcctccgg	1320
	agcgcacgtc ggcagtcggc tccctcggtt accgaatcac cgacctctt ccccaggggg	1380
65	atccaccggg cgccaccatg gtgagcaagg gcgaggagct gttcaccggg gtggtgcca	1440
	tcctggtcga gctggacggc gacgtaaagc gccacaagtt cagcgtgtcc ggcgagggcg	1500
	agggcgatgc cacctacggc aagctgaccc tgaagttcat ctgcaccacc ggcaagctgc	1560

ES 2 759 049 T3

	ccgtgccctg	gcccaccctc	gtgaccaccc	tgacctacgg	cgtgcagtgc	ttcagccgct	1620
5	accccgacca	catgaagcag	cacgacttct	tcaagtccgc	catgcccga	ggctacgtcc	1680
	aggagcgcac	catcttcttc	aaggacgacg	gcaactacaa	gacccgcgcc	gaggtgaagt	1740
	tcgagggcga	caccctggtg	aaccgcatcg	agctgaaggg	catcgacttc	aaggaggacg	1800
10	gcaacatcct	ggggcacaag	ctggagtaca	actacaacag	ccacaacgtc	tatatcatgg	1860
	ccgacaagca	gaagaacggc	atcaaggtga	acttcaagat	ccgccacaac	atcgaggacg	1920
	gcagcgtgca	gctcgccgac	cactaccagc	agaacacccc	catcggcgac	ggccccgtgc	1980
15	tgctgcccga	caaccactac	ctgagcaccc	agtccgccct	gagcaaagac	cccaacgaga	2040
	agcgcgatca	catggtcctg	ctggagttcg	tgaccgccgc	cgggatcact	ctcggcatgg	2100
20	acgagctgta	caagtaaagc	ggccgcgctg	acaatcaacc	tctggattac	aaaatttgtg	2160
	aaagattgac	tggtattctt	aactatgttg	ctccttttac	gctatgtgga	tacgctgctt	2220
	taatgccttt	gtatcatgct	attgcttccc	gtatggcttt	cattttctcc	tccttgata	2280
25	aatcctggtt	gctgtctctt	tatgaggagt	tgtggcccg	tgtcaggcaa	cgtggcgtgg	2340
	tgtgcactgt	gtttgctgac	gcaaccccc	ctggttggg	cattgccacc	acctgtcagc	2400
30	tcctttccgg	gactttcgct	ttccccctcc	ctattgccac	ggcggaaact	atcgccgcct	2460
	gccttgcccg	ctgctggaca	ggggctcggc	tggtgggcac	tgacaattcc	gtggtgttgt	2520
	cggggaagct	gacgtccttt	ccatggctgc	tcgcctgtgt	tgccacctgg	attctgcgcg	2580
35	ggacgtcctt	ctgctacgtc	ccttcggccc	tcaatccagc	ggaccttcct	tcccgcggcc	2640
	tgctgccggc	tctgcgccct	cttcgcgctc	ttcgcccttcg	ccctcagacg	agtcggatct	2700
40	ccctttgggc	cgcctccccg	cctggaattc	gagctcggta	cctttaagac	caatgactta	2760
	caaggcagct	gtagatctta	gccacttttt	aaaagaaaag	gggggactgg	aagggtta	2820
	tcactcccaa	cgaagacaag	atctgctttt	tgcttgact	gggtctctct	ggttagacca	2880
45	gatctgagcc	tgggagctct	ctggctaact	agggaacca	ctgcttaagc	ctcaataaag	2940
	cttgccctga	gtgcttcaag	tagtgtgtgc	ccgtctgttg	tgtgactctg	gtaactagag	3000
50	atccctcaga	cccttttagt	cagtgtggaa	aatctctagc	agtggcgccc	gaacagggac	3060
	ttgaaagcga	aagggaaacc	agaggagctc	tctcgacgca	ggactcggct	tgctgaagcg	3120
	cgcacggcaa	gaggcgaggg	gcggcgactg	gtgagtacgc	caaaaatttt	gactagcggg	3180
55	ggctagaagg	agagagatgg	gtgcgagagc	gtcagtatta	agcgggggag	aattagatcg	3240
	cgatgggaaa	aaattcgggt	aaggccaggg	ggaaagaaaa	aatataaatt	aaaacatata	3300
60	gtatgggcaa	gcaggagagct	agaacgattc	gcagttaatc	ctggcctgtt	agaaacatca	3360
	gaaggctgta	gacaaatact	gggacagcta	caaccatccc	ttcagacagg	atcagaagaa	3420
	cttagatcat	tatataatac	agtagcaacc	ctctattgtg	tgcatcaaag	gatagagata	3480
65	aaagacacca	aggaagcttt	agacaagata	gaggaagagc	aaaacaaaag	taagaccacc	3540
	gcacagcaag	cggccgctga	tcttcagacc	tggaggagga	gatatgaggg	acaattggag	3600

ES 2 759 049 T3

	aagtgaatta	tataaatata	aagtagtaaa	aattgaacca	ttaggagtag	caccaccaa	3660
5	ggcaaagaga	agagtgggtgc	agagagaaaa	aagagcagtg	ggaataggag	ctttgttcct	3720
	tgggttcttg	ggagcagcag	gaagcactat	gggcgcagcg	tcaatgacgc	tgacggtaca	3780
	ggccagacaa	ttattgtctg	gtatagtgc	gcagcagaac	aatttgctga	gggctattga	3840
10	ggcgcaacag	catctgttgc	aactcacagt	ctggggcatc	aagcagctcc	aggcaagaat	3900
	cctggctgtg	gaaagatacc	taaaggatca	acagctcctg	gggatttggg	gttgctctgg	3960
15	aaaactcatt	tgcaccactg	ctgtgccttg	gaatgctagt	tggagtaata	aatctctgga	4020
	acagatttgg	aatcacacga	cctggatgga	gtgggacaga	gaaattaaca	attacacaag	4080
	cttaatacac	tccttaattg	aagaatcgca	aaaccagcaa	gaaaagaatg	aacaagaatt	4140
20	attggaatta	gataaatggg	caagtttgtg	gaattggttt	aacataacaa	attggctgtg	4200
	gtatataaaa	ttattcataa	tgatagtagg	aggcttggtg	ggtttaagaa	tagtttttgc	4260
25	tgtactttct	atagtgaata	gagttaggca	gggatattca	ccattatcgt	ttcagacca	4320
	cctcccaacc	ccgaggggac	ccgacaggcc	cgaaggaata	gaagaagaag	gtggagagag	4380
	agacagagac	agatccattc	gattagtga	cggatccaga	catgataaga	tacattgatg	4440
30	agtttggaca	aaccacaact	agaatgcagt	gaaaaaatg	ctttatttgt	gaaatttgtg	4500
	atgctattgc	tttatttgtg	accattataa	gctgcaataa	acaagttaac	aacaacaatt	4560
35	gcattcattt	tatgtttcag	gttcaggggg	agatgtggga	ggttttttaa	agcaagtaaa	4620
	acctctacaa	atgttggaat	cccgcctcta	actccgcca	tcccgcccct	aactccgccc	4680
	agttccgccc	attctccgcc	ccatggctga	ctaatttttt	ttatttatgc	agaggccgag	4740
40	gccgcctcgg	cctctgagct	attccagaag	tagtgaggag	gcttttttgg	aggcctaggg	4800
	acgtacccaa	ttcgccctat	agtgagtcgt	attacgcgcg	ctcactggcc	gtcgttttac	4860
45	aacgtcgtga	ctgggaaaac	cctggcggtta	cccaacttaa	tcgccttgca	gcacatcccc	4920
	ctttcgccag	ctggcgtaat	agcgaagagg	ccgcaccga	tcgcccttcc	caacagttgc	4980
	gcagcctgaa	tggcgaaatg	cgcgacgcgc	cctgtagcgg	cgcatthaagc	gcggcggggtg	5040
50	tgggtggttac	gcgcagcgtg	accgctacac	ttgccagcgc	cctagcgcgc	gctcctttcg	5100
	ctttctttccc	ttcctttctc	gccacgttcg	ccggctttcc	ccgtcaagct	ctaaatcggg	5160
55	ggctcccttt	agggtttccga	tttagtgctt	tacggcacct	cgaccccaaa	aaacttgatt	5220
	agggtgatgg	ttcacgtagt	gggccatcgc	cctgatagac	ggtttttcgc	cctttgacgt	5280
	tggagtccac	gttctttaat	agtggactct	tgttccaaac	tggacaaca	ctcaacccta	5340
60	tctcgggtcta	ttcttttgat	ttataaggga	ttttgccgat	ttcggcctat	tggttaaaaa	5400
	atgagctgat	ttacaacaaa	tttaacgcga	attttaacaa	aatattaacg	tttacaattt	5460
65	cccaggtggc	acttttcggg	gaaatgtgcg	cggaaaccct	atttgtttat	ttttctaaat	5520
	acattcaaat	atgtatccgc	tcatgagaca	ataaccctga	taaatgcttc	aataatattg	5580
	aaaaaggaag	agtatgagta	ttcaacattt	ccgtgtcgcc	cttattccct	ttttgcggc	5640

	at tt t t t g c c t t	c c t g t t t t t g	c t c a c c c a g a	a a c g c t g g t g	a a a g t a a a a g	a t g c t g a a g a	5700
5	t c a g t t g g g t	g c a c g a g t g g	g t t a c a t c g a	a c t g g a t c t c	a a c a g c g g t a	a g a t c c t t g a	5760
	g a g t t t t c g c	c c c g a a g a a c	g t t t t c c a a t	g a t g a g c a c t	t t t a a a g t t c	t g c t a t g t g g	5820
	c g c g g t a t t a	t c c c g t a t t g	a c g c c g g g c a	a g a g c a a c t c	g g t c g c c g c a	t a c a c t a t t c	5880
10	t c a g a a t g a c	t t g g t t g a g t	a c t c a c c a g t	c a c a g a a a a g	c a t c t t a c g g	a t g g c a t g a c	5940
	a g t a a g a g a a	t t a t g c a g t g	c t g c c a t a a c	c a t g a g t g a t	a a c a c t g c g g	c c a a c t t a c t	6000
	t c t g a c a a c g	a t c g g a g g a c	c g a a g g a g c t	a a c c g c t t t t	t t g c a c a a c a	t g g g g g a t c a	6060
15	t g t a a c t c g c	c t t g a t c g t t	g g g a a c c g g a	g c t g a a t g a a	g c c a t a c c a a	a c g a c g a g c g	6120
	t g a c a c c a c g	a t g c c t g t a g	c a a t g g c a a c	a a c g t t g c g c	a a a c t a t t a a	c t g g c g a a c t	6180
20	a c t t a c t c t a	g c t t c c c g g c	a a c a a t t a a t	a g a c t g g a t g	g a g g c g g a t a	a a g t t g c a g g	6240
	a c c a c t t c t g	c g c t c g g c c c	t t c c g g c t g g	c t g g t t t a t t	g c t g a t a a a t	c t g g a g c c g g	6300
	t g a g c g t g g g	t c t c g c g g t a	t c a t t g c a g c	a c t g g g g c c a	g a t g g t a a g c	c c t c c c g t a t	6360
25	c g t a g t t a t c	t a c a c g a c g g	g g a g t c a g g c	a a c t a t g g a t	g a a c g a a a t a	g a c a g a t c g c	6420
	t g a g a t a g g t	g c c t c a c t g a	t t a a g c a t t g	g t a a c t g t c a	g a c c a a g t t t	a c t c a t a t a t	6480
30	a c t t t a g a t t	g a t t t t a a a c	t t c a t t t t t a	a t t t a a a a g g	a t c t a g g t g a	a g a t c c t t t t	6540
	t g a t a a t c t c	a t g a c c a a a a	t c c t t a a c g	t g a g t t t t c g	t t c c a c t g a g	c g t c a g a c c c	6600
	c g t a g a a a a g	a t c a a a g g a t	c t t c t t g a g a	t c c t t t t t t t	c t g c g c g t a a	t c t g c t g c t t	6660
35	g c a a a c a a a a	a a a c c a c c g c	t a c c a g c g g t	g g t t t g t t t g	c c g g a t c a a g	a g c t a c c a a c	6720
	t c t t t t t t c c g	a a g g t a a c t g	g c t t c a g c a g	a g c g c a g a t a	c c a a a t a c t g	t c c t t c t a g t	6780
40	g t a g c c g t a g	t t a g g c c a c c	a c t t c a a g a a	c t c t g t a g c a	c c g c c t a c a t	a c c t c g c t c t	6840
	g c t a a t c c t g	t t a c c a g t g g	c t g c t g c c a g	t g g c g a t a a g	t c g t g t c t t a	c c g g g t t g g a	6900
	c t c a a g a c g a	t a g t t a c c g g	a t a a g g c g c a	g c g g t c g g g c	t g a a c g g g g g	g t t c g t g c a c	6960
45	a c a g c c c a g c	t t g g a g c g a a	c g a c c t a c a c	c g a a c t g a g a	t a c c t a c a g c	g t g a g c t a t g	7020
	a g a a a g c g c c	a c g c t t c c c g	a a g g g a g a a a	g g c g g a c a g g	t a t c c g g t a a	g c g g c a g g g t	7080
50	c g g a a c a g g a	g a g c g c a c g a	g g g a g c t t c c	a g g g g g a a a c	g c c t g g t a t c	t t t a t a g t c c	7140
	t g t c g g g t t t	c g c c a c c t c t	g a c t t g a g c g	t c g a t t t t t g	t g a t g c t c g t	c a g g g g g g c g	7200
	g a g c c t a t g g	a a a a a c g c c a	g c a a c g c g g c	c t t t t t a c g g	t t c c t g g c c t	t t t g c t g g c c	7260
55	t t t t g c t c a c	a t g t t c t t t c	c t g c g t t a t c	c c c t g a t t c t	g t g g a t a a c c	g t a t t a c c g c	7320
	c t t t g a g t g a	g c t g a t a c c g	c t c g c c g c a g	c c g a a c g a c c	g a g c g c a g c g	a g t c a g t g a g	7380
60	c g a g g a a g c g	g a a g a g c g c c	c a a t a c g c a a	a c c g c c t c t c	c c c g c g c g t t	g g c c g a t t c a	7440
	t t a a t g c a g c	t g g c a c g a c a	g g t t t c c c g a	c t g g a a a g c g	g g c a g t g a g c	g c a a c g c a a t	7500
	t a a t g t g a g t	t a g c t c a c t c	a t t a g g c a c c	c c a g g c t t t a	c a c t t t a t g c	t t c c g g c t c g	7560
65	t a t g t t g t g t	g g a a t t g t g a	g c g g a t a a c a	a t t t c a c a c a	g g a a a c a g c t	a t g a c c a t g a	7620
	t t a c g c c a a g	c g c g c a a t t a	a c c c t c a c t a	a a g g g a a c a a	a a g c t g g a g c	t g c a a g c t t g	7680

	catgctgg	7688
	<210> 9	
5	<211> 7689	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Construcción pLTR1.7.672/PGK-eGFP-WPRE	
	<400> 9	
15	ccattgcata cgttgtatcc atatcataat atgtacattt atattggctc atgtccaaca	60
	ttaccgccat gttgacattg attattgact agttattaat agtaatcaat tacgggggtca	120
	ttagttcata gcccatatat ggagttccgc gttacataac ttacggtaaa tggcccgct	180
20	ggctgaccgc ccaacgaccc ccgcccattg acgtcaataa tgacgtatgt tcccatagta	240
	acgccaatag ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt atttacggta aactgcccac	300
	ttggcagtac atcaagtgt tcatatgcc agtacgcccc ctattgacgt caatgacggg	360
25	aaatggcccc cctggcatta tgcccagtac atgaccttat gggactttcc tacttggcag	420
	tacatctacg tatttagtcat cgctattacc atgggtgatgc gggtttggca gtacatcaat	480
30	gggcgtggat agcgggtttga ctcacgggga tttccaagtc tccaccccat tgacgtcaat	540
	gggagtttgt tttggcacca aaatcaacgg gactttccaa aatgtcgtaa caactccgcc	600
	ccattgacgc aaatgggcg taggcgtgta cgggtggagg tctatataag cagagctcgt	660
35	ttagtgaacc gtggcgcccc aacagggact gctagcgta acttttaaaa gaaaagggg	720
	gattgggggg tacagtgcag gggaaagaat agtagacata atagcaacag acatacaaac	780
40	taaagaatta caaaaacaaa ttacaaaaat tcaaaatttt atcgatcacg agactagcct	840
	cgagaagctt gatatcgaat tcccacgggg ttgggggtgc gccttttcca aggcagccct	900
	gggtttgctc agggacgcgg ctgctctggg cgtggttccg ggaaacgcag cggcgccgac	960
45	cctgggtctc gcacattctt cacgtccgtt cgcagcgta cccggatctt cgccgctacc	1020
	cttgtgggccc ccccggcgac gcttcctgct ccgcccctaa gtcgggaagg ttccttgagg	1080
50	ttcgcggcgt gccggacgtg acaaacggaa gccgcacgtc tactagtagt cctcgagac	1140
	ggacagcgcc agggagcaat ggcagcgcg cgaccgcgat gggctgtggc caatagcggc	1200
	tgctcagcgg ggcgcgccga gagcagcggc cgggaagggg cgggtgcggga ggcgggggtgt	1260
55	ggggcggttag tgtgggccct gttcctgccc gcgcgggtgtt ccgcattctg caagcctccg	1320
	gagcgcacgt cggcagtcgg ctccctcggt gaccgaatca ccgacctct tccccagggg	1380
60	gatccaccgg tcgccaccat ggtgagcaag ggcgaggagc tggtcaccgg ggtggtgccc	1440
	atcctgggtc agctggacgg cgacgtaaac ggccacaagt tcagcgtgtc cggcgagggc	1500
	gagggcgatg ccacctacgg caagctgacc ctgaagttca tctgcaccac cggcaagctg	1560
65	cccgtgccct ggcccaccct cgtgaccacc ctgacctacg gcgtgcagtg cttcagccgc	1620
	taccccgacc acatgaagca gcacgacttc ttcaagtccg ccatgcccga aggctacgtc	1680

ES 2 759 049 T3

	caggagcgca	ccatcttctt	caaggacgac	ggcaactaca	agacccgcgc	cgaggtgaag	1740
5	ttcagagggcg	acaccctggt	gaaccgcatc	gagctgaagg	gcatcgactt	caaggaggac	1800
	ggcaacatcc	tggggcacia	gctggagtac	aactacaaca	gccacaacgt	ctatatcatg	1860
	gccgacaagc	agaagaacgg	catcaagggtg	aacttcaaga	tccgccacaa	catcgaggac	1920
10	ggcagcgtgc	agctcgccga	ccactaccag	cagaacaccc	ccatcggcga	cggccccgtg	1980
	ctgctgcccg	acaaccacta	cctgagcacc	cagtccgccc	tgagcaaaga	ccccaacgag	2040
	aagcgcgatc	acatggctct	gctggagttc	gtgaccgccc	ccgggatcac	tctcggcatg	2100
15	gacgagctgt	acaagtaaag	cggccgcgtc	gacaatcaac	ctctggatta	caaaatttgt	2160
	gaaagattga	ctggtattct	taactatggt	gctcctttta	cgctatgtgg	atacgctgct	2220
20	ttaatgcctt	tgtatcatgc	tattgcttcc	cgtatggctt	tcattttctc	ctccttgtat	2280
	aaatcctggt	tgctgtctct	ttatgaggag	ttgtggcccc	ttgtcaggca	acgtggcgtg	2340
	gtgtgcactg	tgtttgctga	cgcaaccccc	actggttggg	gcattgccac	cacctgtcag	2400
25	ctcctttccg	ggactttcgc	tttccccctc	cctattgcca	cggcggaact	catcgccgcc	2460
	tgccttgccc	gctgctggac	aggggctcgg	ctgttgggca	ctgacaattc	cgtggtgttg	2520
30	tcggggaagc	tgacgtcctt	tccatggctg	ctcgcctgtg	ttgccacctg	gattctgcgc	2580
	gggacgtcct	tctgctacgt	cccttcggcc	ctcaatccag	cggaccttcc	ttcccgcggc	2640
	ctgctgccgg	ctctgcggcc	tcttccgcgt	cttcgccttc	gccctcagac	gagtcggatc	2700
35	tccctttggg	ccgcctcccc	gcctggaatt	cgagctcggg	acctttaaga	ccaatgactt	2760
	acaaggcagc	tgtagatctt	agccactttt	taaaagaaaa	ggggggactg	gaagggctaa	2820
40	ttcactccca	acgaagacaa	gatctgcttt	ttgcttgtag	tgggtctctc	tggttagacc	2880
	agatctgagc	ctgggagctc	tctggctaac	tagggaaccc	actgcttaag	cctcaataaa	2940
	gcttgccctt	agtgtctcaa	gtagtggtgt	cccgtctgtt	gtgtgactct	ggtaactaga	3000
45	gatccctcag	acccttttag	tcagtgtgga	aaatctctag	cagtggcgcc	cgaacaggga	3060
	cttgaaagcg	aaagggaaac	cagaggagct	ctctcgacgc	aggactcggc	ttgctgaagc	3120
50	gcgcacggca	agaggcgagg	ggcggcgact	ggtgagtacg	ccaaaaattt	tgactagcgg	3180
	aggctagaag	gagagagatg	ggtgagagag	cgtcagtatt	aagcggggga	gaattagatc	3240
	gcgatgggaa	aaaattcggt	taaggccagg	gggaaagaaa	aaatataaat	taaaacatat	3300
55	agtatgggca	agcaggagag	tagaacgatt	cgcagttaat	cctggcctgt	tagaaacatc	3360
	agaaggctgt	agacaaatac	tgggacagct	acaaccatcc	cttcagacag	gatcagaaga	3420
60	acttagatca	ttatataata	cagtagcaac	cctctattgt	gtgcatcaaa	ggatagagat	3480
	aaaagacacc	aaggaagctt	tagacaagat	agaggaagag	caaaacaaaa	gtaagaccac	3540
	cgcacagcaa	gcggccgctg	atcttcagac	ctggaggagg	agatatgagg	gacaattgga	3600
65	gaagtgaatt	atataaatat	aaagtagtaa	aaattgaacc	attaggagta	gcacccacca	3660
	aggcaaagag	aagagtgggt	cagagagaaa	aaagagcagt	gggaatagga	gctttgttcc	3720

ES 2 759 049 T3

	ttgggttctt	gggagcagca	ggaagcacta	tgggcgcagc	gtcaatgacg	ctgacggtac	3780
5	agggcagaca	attattgtct	ggtatagtgc	agcagcagaa	caatttgctg	agggctattg	3840
	aggcgcaaca	gcatctgttg	caactcacag	tctggggcat	caagcagctc	caggcaagaa	3900
	tcctggctgt	ggaaagatac	ctaaaggatc	aacagctcct	ggggatttgg	ggttgctctg	3960
10	gaaaactcat	ttgcaccact	gctgtgcctt	ggaatgctag	ttggagtaat	aatctctctg	4020
	aacagatttg	gaatcacacg	acctggatgg	agtgggacag	agaaattaac	aattacacaa	4080
15	gcttaataca	ctccttaatt	gaagaatcgc	aaaaccagca	agaaaagaat	gaacaagaat	4140
	tattggaatt	agataaatgg	gcaagtttgt	ggaattgggt	taacataaca	aattggctgt	4200
	ggtatataaa	attattcata	atgatagtag	gaggcttggt	aggtttaaga	atagtttttg	4260
20	ctgtactttc	tatagtgaat	agagttaggc	agggatattc	accattatcg	tttcagaccc	4320
	acctcccaac	cccagagggg	cccgcacagg	ccgaagggaat	agaagaagaa	ggtggagaga	4380
25	gagacagaga	cagatccatt	cgattagtga	acggatccag	acatgataag	atacattgat	4440
	gagtttgac	aaaccacaac	tagaatgcag	tgaaaaaaat	gctttatttg	tgaaatttgt	4500
	gatgctattg	ctttatttgt	aaccattata	agctgcaata	aacaagttaa	caacaacaat	4560
30	tgcattcatt	ttatgtttca	ggttcagggg	gagatgtggg	aggtttttta	aagcaagtaa	4620
	aacctctaca	aatgtggtaa	tcccgcctt	aactccgccc	atcccgcctt	taactccgcc	4680
35	cagttccgcc	cattctccgc	cccatggctg	actaatTTTT	tttatttatg	cagaggccga	4740
	ggccgcctcg	gcctctgagc	tattccagaa	gtagtgagga	ggcttttttg	gaggcctagg	4800
	gacgtacca	attcgcccta	tagtgagtcg	tattacgcgc	gctcactggc	cgctcgttta	4860
40	caacgtcgtg	actgggaaaa	ccctggcggt	acccaactta	atcgcccttc	agcacatccc	4920
	cctttcgcca	gctggcgtaa	tagcgaagag	gcccgcaccg	atcgcccttc	ccaacagttg	4980
45	cgcagcctga	atggcgaatg	gcgcgacgcg	ccctgtagcg	gcgcattaag	cgcggcgggt	5040
	gtggtgggtta	cgcgacgcgt	gaccgctaca	cttgccagcg	ccctagcgcc	cgctcctttc	5100
	gctttcttcc	cttcctttct	cgccacgttc	gccggctttc	cccgtcaagc	tctaaatcgg	5160
50	gggctccctt	taggggttccg	atttagtgct	ttacggcacc	tcgaccccaa	aaaacttgat	5220
	taggggtgatg	gttcacgtag	tgggccatcg	ccctgataga	cggtttttcg	ccctttgacg	5280
55	ttggagtcca	cgttctttta	tagtggaactc	ttgttccaaa	ctggaacaac	actcaaccct	5340
	atctcgggtct	attcttttga	tttataaggg	attttgccga	tttcggccta	ttgggttaaaa	5400
	aatgagctga	tttaacaaaa	atttaacgcg	aatttttaaca	aaatattaac	gtttacaatt	5460
60	tcccaggtgg	cacttttctg	ggaaatgtgc	gcggaacccc	tatttggtta	tttttctaaa	5520
	tacattcaaa	tatgtatccg	ctcatgagac	aataaccctg	ataaatgctt	caataatatt	5580
65	gaaaaaggaa	gagtatgagt	attcaacatt	tccgtgtcgc	ccttattccc	ttttttgcgg	5640
	cattttgcct	tcctgttttt	gctcacccag	aaacgctggg	gaaagtaaaa	gatgctgaag	5700
	atcagttggg	tgcacgagtg	ggttacatcg	aactggatct	caacagcggg	aagatccttg	5760

ES 2 759 049 T3

	agagtttttcg	ccccgaagaa	cgtttttccaa	tgatgagcac	ttttaaagtt	ctgctatgtg	5820
5	gcgcggtatt	atcccgtatt	gacgccgggc	aagagcaact	cggtcgccgc	atacactatt	5880
	ctcagaatga	cttggttgag	tactcaccag	tcacagaaaa	gcatcttacg	gatggcatga	5940
	cagtaagaga	attatgcagt	gctgccataa	ccatgagtga	taacactgcg	gccaacttac	6000
10	ttctgacaac	gatcggagga	ccgaaggagc	taaccgcttt	tttgacaaac	atgggggatc	6060
	atgtaactcg	ccttgatcgt	tggaaccgg	agctgaatga	agccatacca	aacgacgagc	6120
	gtgacaccac	gatgcctgta	gcaatggcaa	caacgttgcg	caaactatta	actggcgaac	6180
15	tacttactct	agcttcccg	caacaattaa	tagactggat	ggaggcggat	aaagttgcag	6240
	gaccacttct	gcgctcggcc	cttcgggctg	gctggtttat	tgctgataaa	tctggagccg	6300
20	gtgagcgtgg	gtctcgcggt	atcattgcag	cactggggcc	agatggtaag	ccctcccgta	6360
	tcgtagttat	ctacacgacg	gggagtcagg	caactatgga	tgaacgaaat	agacagatcg	6420
	ctgagatagg	tgccctactg	attaagcatt	ggtaactgtc	agaccaagtt	tactcatata	6480
25	tacttttagat	tgatttaaaa	cttcattttt	aatttaaaag	gatctagggtg	aagatccttt	6540
	ttgataatct	catgacaaaa	atcccttaac	gtgagttttc	gttcactga	gcgtcagacc	6600
30	ccgtagaaaa	gatcaaagga	tcttcttgag	atcctttttt	tctgcgcgta	atctgctgct	6660
	tgcaaaaaa	aaaaccaccg	ctaccagcgg	tggtttgttt	gccggatcaa	gagctaccaa	6720
	ctctttttcc	gaaggtaact	ggcttcagca	gagcgcagat	accaaatact	gtccttctag	6780
35	tgtagccgta	gttaggccac	cacttcaaga	actctgtagc	accgcctaca	tacctcgctc	6840
	tgctaatacct	gttaccagtg	gctgctgcca	gtggcgataa	gtcgtgtctt	accgggttgg	6900
40	actcaagacg	atagttaccg	gataaggcgc	agcggtcggg	ctgaacgggg	ggttcgtgca	6960
	cacagcccag	cttgagcgga	acgacctaca	ccgaactgag	atacctacag	cgtgagctat	7020
	gagaaagcgc	cacgcttccc	gaagggagaa	aggcggacag	gtatccggta	agcggcaggg	7080
45	tcggaacagg	agagcgcacg	agggagcttc	cagggggaaa	cgcttggtat	ctttatagtc	7140
	ctgtcggggt	tcgccacctc	tgacttgagc	gtcgattttt	gtgatgctcg	tcaggggggc	7200
50	ggagcctatg	gaaaaacgcc	agcaacgcgg	ccttttttacg	gttcctggcc	ttttgctggc	7260
	cttttgctca	catgttcttt	cctgcgttat	cccctgattc	tgtggataac	cgtattaccg	7320
	cctttgagtg	agctgatacc	gctcgccgca	gccgaacgac	cgagcgcagc	gagtcagtga	7380
55	gcgaggaagc	ggaagagcgc	ccaatacgca	aaccgcctct	ccccgcgcgt	tggccgattc	7440
	attaatgcag	ctggcacgac	aggtttcccg	actggaaagc	gggcagtga	cgcaacgcaa	7500
60	ttaatgtgag	ttagctcact	cattaggcac	cccaggcttt	acactttatg	cttcgggctc	7560
	gtatgttgtg	tggaattgtg	agcggataac	aatttcacac	aggaaacagc	tatgaccatg	7620
	attacgcaa	gcgcgcaatt	aaccctcact	aaagggaaaca	aaagctggag	ctgcaagctt	7680
65	gcatgctgg						7689

<210> 10

ES 2 759 049 T3

<211> 7690
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> Construcción pLTR1.7.673/PGK-eGFP-WPRE

<400> 10

10	ccattgcata cgttgtatcc atatcataat atgtacat	60
	ttaccgccat gttgacattg attattgact agttattaat	120
	ttagttcata gcccatatat ggagttccgc gttacataac	180
15	ggctgaccgc ccaacgaccc ccgcccattg acgtcaataa	240
	acgccaatag ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt	300
20	ttggcagtac atcaagtgtg tcatatgccca agtacgcccc	360
	aaatggcccg cctggcatta tgcccagtac atgaccttat	420
	tacatctacg tattagtcac cgctattacc atgggtgatgc	480
25	gggctgggat agcggtttga ctcacgggga tttccaagtc	540
	gggagtttgt tttggcacca aaatcaacgg gactttccaa	600
30	ccattgacgc aaatgggagg taggcgtgta cgggtggagg	660
	ttagtgaacc ggtggcgccc gaacagggac tgctagcgtt	720
	ggattggggg gtacagtgtg ggggaaagaa tagtagacat	780
35	ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaaa ttcaaaat	840
	tcgagaagct tgatatcgaa ttcccacggg gttgggggtg	900
40	tggggtttgcg cagggacgcg gctgctcttg gcgtgggttc	960
	ccctgggtct cgacattct tcacgtccgt tcgcagcgtc	1020
	ccttggtggc ccccgggcga cgcttcctgc tccgccccta	1080
45	gttcgcggcg tgccggacgt gacaaacgga agccgcacgt	1140
	cggacagcgc cagggagcaa tggcagcgcg ccgaccgcga	1200
50	ctgctcagcg gggcgcgccg agagcagcgg ccgggaaggg	1260
	tggggaggta gtgtgggccc tgttcctgcc cgcgcggtgt	1320
	ggagcgcacg tcggcagtcg gctccctcgt tgaccgaatc	1380
55	ggatccaccg gtcgccacca tgggtgagcaa gggcgaggag	1440
	catcctggtc gagctggacg gcgacgtaaa cggccacaag	1500
60	cgagggcgat gccacctacg gcaagctgac cctgaagttc	1560
	gcccgtgccc tggccacccc tcgtgaccac cctgacctac	1620
	ctaccccgac cacatgaagc agcacgactt cttcaagtcc	1680
65	ccaggagcgc accatcttct tcaaggacga cggcaactac	1740
	gttcgagggc gacaccctgg tgaaccgcat cgagctgaag	1800

ES 2 759 049 T3

	cggcaacatc	ctggggcaca	agctggagta	caactacaac	agccacaacg	tctatatcat	1860
5	ggccgacaag	cagaagaacg	gcatcaaggt	gaacttcaag	atccgccaca	acatcgagga	1920
	cggcagcgtg	cagctcgccg	accactacca	gcagaacacc	cccatcggcg	acggccccgt	1980
	gctgctgccc	gacaaccact	acctgagcac	ccagtccgcc	ctgagcaaag	accccaacga	2040
10	gaagcgcgat	cacatggtcc	tgctggagtt	cgtagaccgcc	gccgggatca	ctctcggcat	2100
	ggacgagctg	tacaagtaaa	gcggccgcgt	cgacaatcaa	cctctggatt	acaaaatttg	2160
	tgaaagattg	actggtattc	ttaactatgt	tgctcctttt	acgctatgtg	gatacgctgc	2220
15	tttaatgcct	ttgtatcatg	ctattgcttc	ccgtatggct	ttcattttct	cctccttgta	2280
	taaatcctgg	ttgctgtctc	tttatgagga	gttggtgccc	gttgtcaggc	aacgtggcgt	2340
20	ggtgtgcact	gtgtttgctg	acgcaacccc	cactggttgg	ggcattgcca	ccacctgtca	2400
	gctcctttcc	gggactttcg	ctttccccct	ccctattgcc	acggcggaac	tcatcgccgc	2460
	ctgccttgcc	cgctgctgga	caggggctcg	gctgttgggc	actgacaatt	ccgtggtgtt	2520
25	gtcggggaag	ctgacgtcct	ttccatggct	gctcgcctgt	gttgccacct	ggattctgcg	2580
	cgggacgtcc	ttctgctacg	tcccttcggc	cctcaatcca	gcggaccttc	cttcccgcgg	2640
30	cctgctgccg	gctctgcggc	ctcttccgcg	tcttcgcctt	cgccctcaga	cgagtcggat	2700
	ctcccttttg	gccgcctccc	cgcttgaat	tcgagctcgg	tacctttaag	accaatgact	2760
	tacaaggcag	ctgtagatct	tagccacttt	ttaaagaaaa	aggggggact	ggaagggcta	2820
35	attcactccc	aacgaagaca	agatctgctt	tttgcttgta	ctgggtctct	ctggttagac	2880
	cagatctgag	cctgggagct	ctctggctaa	ctaggggaacc	cactgcttaa	gcctcaataa	2940
40	agcttgccct	gagtgccttca	agtagtgtgt	gcccgtctgt	tgtgtgactc	tggttaactag	3000
	agatccctca	gaccctttta	gtcagtgttg	aaaatctcta	gcagtggcgc	ccgaacaggg	3060
	acttgaaagc	gaaagggaaa	ccagaggagc	tctctcgacg	caggactcgg	cttgctgaag	3120
45	cgcgcacggc	aagaggcgag	gggcggcgac	tggtgagtac	gccaaaaatt	ttgactagcg	3180
	gaggctagaa	ggagagagat	gggtgcgaga	gcgtcagtat	taagcggggg	agaattagat	3240
50	cgcgatggga	aaaaattcgg	ttaaggccag	ggggaaagaa	aaaatataaa	ttaaacata	3300
	tagtatgggc	aagcaggggag	ctagaacgat	tcgcagttaa	tcctggcctg	ttagaaacat	3360
	cagaaggctg	tagacaaata	ctgggacagc	tacaaccatc	ccttcagaca	ggatcagaag	3420
55	aacttagatc	attatataat	acagtagcaa	ccctctattg	tgtgcatcaa	aggatagaga	3480
	taaaagacac	caaggaagct	ttagacaaga	tagaggaaga	gcaaaaacaaa	agtaagacca	3540
60	ccgcacagca	agcggccgct	gatcttcaga	cctggaggag	gagatatgag	ggacaattgg	3600
	agaagtgaat	tatataaata	taaagtagta	aaaattgaac	cattaggagt	agcaccacc	3660
	aaggcaaaga	gaagagtggg	gcagagagaa	aaaagagcag	tgggaatagg	agctttgttc	3720
65	cttgggttct	tgggagcagc	aggaagcact	atgggcgcag	cgtaaatgac	gctgacggta	3780
	caggccagac	aattattgtc	tggtatagtg	cagcagcaga	acaatttgct	gagggtatt	3840

	gagggcgcaac agcatctgtt gcaactcaca gtctgggggca tcaagcagct ccaggcaaga	3900
5	atcctggctg tggaaagata cctaaaggat caacagctcc tggggatttg gggttgctct	3960
	ggaaaactca tttgcaccac tgctgtgcct tggaatgcta gttggagtaa taaatctctg	4020
	gaacagattt ggaatcacac gacctggatg gagtgggaca gagaaattaa caattacaca	4080
10	agcttaatac actccttaat tgaagaatcg caaaaccagc aagaaaagaa tgaacaagaa	4140
	ttattggaat tagataaatg ggcaagtttg tggaattggg ttaacataac aaattggctg	4200
	tggtatataa aattattcat aatgatagta ggaggcttgg taggtttaag aatagttttt	4260
15	gctgtacttt ctatagtga tagagttagg cagggatatt caccattatc gtttcagacc	4320
	cacctcccaa ccccgagggg acccgacagg cccgaaggaa tagaagaaga aggtggagag	4380
20	agagacagag acagatccat tcgattagtg aacggatcca gacatgataa gatacattga	4440
	tgagtttgga caaaccacaa ctagaatgca gtgaaaaaaaa tgctttattt gtgaaatttg	4500
	tgatgctatt gctttatttg taaccattat aagctgcaat aaacaagtta acaacaacaa	4560
25	ttgcattcat tttatgtttc aggttcaggg ggagatgtgg gaggtttttt aaagcaagta	4620
	aaacctctac aaatgtggta atcccgcccc taactccgcc catcccgccc ctaactccgc	4680
30	ccagttccgc ccattctccg ccccatggct gactaatttt tttattttat gcagaggccg	4740
	aggccgcctc ggcctctgag ctattccaga agtagtgagg aggccttttt ggaggcctag	4800
	ggacgtaccc aattcgccct atagtgagtc gtattacgcg cgctcactgg ccgtcgtttt	4860
35	acaacgtcgt gactgggaaa accctggcgt tacccaactt aatcgccctg cagcacatcc	4920
	ccctttcgcc agctggcgta atagcgaaga ggcccgacc gatcgccctt cccaacagtt	4980
40	gcgagcctg aatggcgaat ggcgcgacgc gccctgtagc ggcgcattaa gcgcggcggg	5040
	tgtggtggtt acgcgcagcg tgaccgctac acttgccagc gccctagcgc ccgctccttt	5100
	cgctttcttc ctttcctttc tcgccacggt cgccggcttt cccgtcaag ctctaaatcg	5160
45	ggggctccct ttagggttcc gatttagtgc ttacggcac ctcgacccca aaaaacttga	5220
	ttagggtgat ggttcacgta gtgggccatc gccctgatag acggtttttc gcccttgac	5280
50	gttgagatcc acgttcttta atagtggact cttgttccaa actggaacaa cactcaacc	5340
	tatctcggtc tattcttttg atttataagg gattttgccg atttcggcct attggttaaa	5400
	aaatgagctg atttaacaaa aatttaacgc gaattttaac aaaatattaa cgtttacaat	5460
55	ttcccaggtg gcacttttcg gggaaatgtg cgcggaaccc ctatttggtt atttttctaa	5520
	atacattcaa atatgtatcc gctcatgaga caataaccct gataaatgct tcaataatat	5580
60	tgaaaaagga agagtatgag tattcaacat ttccgtgtcg cccttattcc cttttttgcg	5640
	gcattttgcc ttctgttttt tgctcaccca gaaacgctgg tgaaagtaaa agatgctgaa	5700
	gatcagttgg gtgcacgagt gggttacatc gaactggatc tcaacagcgg taagatcctt	5760
65	gagagttttc gccccgaaga acgttttcca atgatgagca ctttttaaagt tctgctatgt	5820
	ggcgcggtat tatcccgat tgacgccggg caagagcaac tcggtcgccg catacactat	5880

ES 2 759 049 T3

	tctcagaatg	acttggttga	gtactcacca	gtcacagaaa	agcatcttac	ggatggcatg	5940
5	acagtaagag	aattatgcag	tgctgccata	accatgagtg	ataaactgc	ggccaactta	6000
	cttctgacaa	cgatcggagg	accgaaggag	ctaaccgctt	ttttgcacaa	catgggggat	6060
	catgtaactc	gccttgatcg	ttgggaaccg	gagctgaatg	aagccatacc	aaacgacgag	6120
10	cgtgacacca	cgatgcctgt	agcaatggca	acaacgttgc	gcaaactatt	aactggcgaa	6180
	ctacttactc	tagcttccc	gcaacaatta	atagactgga	tggaggcgga	taaagttgca	6240
	ggaccacttc	tgcgctcggc	ccttccggct	ggctggttta	ttgctgataa	atctggagcc	6300
15	ggtgagcgtg	ggtctcgcgg	tatcattgca	gcactggggc	cagatggtaa	gccctcccgt	6360
	atcgtagtta	tctacacgac	ggggagtcag	gcaactatgg	atgaacgaaa	tagacagatc	6420
20	gctgagatag	gtgcctcact	gattaagcat	tggttaactgt	cagaccaagt	ttactcatat	6480
	atactttaga	ttgatttaaa	acttcatttt	taatttaaaa	ggatctaggt	gaagatcctt	6540
	tttgataatc	tcatgaccaa	aatcccttaa	cgtgagtttt	cgttccactg	agcgtcagac	6600
25	cccgtagaaa	agatcaaagg	atcttcttga	gatccttttt	ttctgcgcgt	aatctgctgc	6660
	ttgcaaacaa	aaaaaccacc	gctaccagcg	gtggtttgtt	tgccggatca	agagctacca	6720
30	actctttttc	cgaaggtaac	tggtcttcagc	agagcgcaga	taccaaatac	tgtccttcta	6780
	gtgtagccgt	agttaggcca	ccacttcaag	aactctgtag	caccgcctac	atacctcgct	6840
	ctgctaatcc	tgttaccagt	ggctgctgcc	agtggcgata	agtcgtgtct	taccgggttg	6900
35	gactcaagac	gatagttacc	ggataaggcg	cagcggtcgg	gctgaacggg	gggttcgtgc	6960
	acacagccca	gcttgagcg	aacgacctac	accgaactga	gatacctaca	gctgtagcta	7020
40	tgagaaagcg	ccacgcttcc	cgaagggaga	aaggcggaca	ggtatccggt	aagcggcagg	7080
	gtcggaaacag	gagagcgcac	gagggagctt	ccagggggaa	acgcctggta	tctttatagt	7140
	cctgtcgggt	ttcgccacct	ctgacttgag	cgctgatttt	tgtgatgctc	gtcagggggg	7200
45	cggagcctat	ggaaaaacgc	cagcaacgcg	gcctttttac	ggttcctggc	cttttgctgg	7260
	ccttttgctc	acatgttctt	tcctgcgtta	tcccctgatt	ctgtggataa	ccgtattacc	7320
50	gcctttgagt	gagctgatac	cgctcgccgc	agccgaacga	ccgagcgag	cgagtcatg	7380
	agcgaggaag	cggaagagcg	ccaatacgc	aaaccgcctc	tccccgcgcg	ttggccgatt	7440
	cattaatgca	gctggcacga	caggtttccc	gactggaaaag	cgggcagtga	gcgcaacgca	7500
55	attaatgtga	gttagctcac	tcattaggca	ccccaggctt	tacactttat	gcttccggct	7560
	cgtatgttgt	gtggaattgt	gagcggataa	caatttcaca	caggaaacag	ctatgaccat	7620
60	gattacgcca	agcgcgcaat	taaccctcac	taaagggaa	aaaagctgga	gctgcaagct	7680
	tgcatgctgg						7690
65	<210> 11						
	<211> 7655						
	<212> ADN						
	<213> Secuencia artificial						

ES 2 759 049 T3

<220>

<223> Construcción pLTR1.7.671/GAPDH-eGFP-WPRE

<400> 11

5	ccattgcata cgttgtatcc atatcataat atgtacattt atattggctc atgtccaaca	60
	ttaccgccat gttgacattg attattgact agttattaat agtaatcaat tacgggggtca	120
10	ttagttcata gcccatatat ggagttccgc gttacataac ttacggtaaa tggcccgct	180
	ggctgaccgc ccaacgaccc ccgcccattg acgtcaataa tgacgtatgt tcccatagta	240
	acgccaatag ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt atttacggta aactgcccac	300
15	ttggcagtac atcaagtgt tcatatgcc agtacgcccc ctattgacgt caatgacggt	360
	aaatggcccc cctggcatta tgcccagtac atgaccttat gggactttcc tacttggcag	420
20	tacatctacg tattagtcac cgctattacc atgggtgatgc ggttttggca gtacatcaat	480
	gggcgtggat agcggtttga ctcacgggga tttccaagtc tccaccccat tgacgtcaat	540
	gggagtttgt tttggcacca aaatcaacgg gactttccaa aatgtcgtaa caactccgcc	600
25	ccattgacgc aaatgggagg taggcgtgta cgggtggagg tctatataag cagagctcgt	660
	ttagtgaacc tggcgccccga acagggactg ctagcggttaa cttttaaaag aaaagggggg	720
30	attgggggggt acagtgacag ggaaagaata gtagacataa tagcaacaga catacaaact	780
	aaagaattac aaaaacaaat tacaaaaatt caaaatttta tcgatcacga gactagcctc	840
	gaggatatca gttccccaac tttcccgct ctcagccttt gaaagaaaaga aaggggaggg	900
35	ggcaggccgc gtgcagccgc gagcgggtgct gggctccggc tccaattccc catctcagtc	960
	gttcccaaag tctctctgtt tcatccaagc gtgtaagggc ccccgctcctt gactccctag	1020
40	tgtcctgctg cccacagtcc agtcctggga accagcaccg atcacctccc atcgggccaa	1080
	tctcagtcct tcccccccta cgtcggggcc cacacgctcg gtgcgtgccc agttgaacca	1140
	ggcggctgcg gaaaaaaaaa agcggggaga aagtagggcc cggctactag cggttttacg	1200
45	ggcgcacgta gctcaggcct caagaccttg ggctgggact ggctgagcct ggcgggaggg	1260
	ggggtccgag tcaccgcctg ccgcccgcgc cccggtttct ataaattgag cccgcagcct	1320
50	cccgcttcgc tctctgctcc tcctgggagc caccggctgc caccatgggt agcaagggcg	1380
	aggagctgtt caccgggggtg gtgcccattc tggtcgagct ggacggcgac gtaaagggcc	1440
	acaagttcag cgtgtccggc gagggcgagg gcgatgccac ctacggcaag ctgaccctga	1500
55	agttcatctg caccaccggc aagctgcccg tgccctggcc caccctcgtg accaccctga	1560
	cctacggcgt gcagtgttc agccgctacc ccgaccacat gaagcagcac gacttcttca	1620
60	agtccgccat gcccgaggc tacgtccagg agcgcaccat cttcttcaag gacgacggca	1680
	actacaagac ccgcgccgag gtgaagtctg agggcgacac cctggtgaac cgcatcgagc	1740
	tgaagggcat cgacttcaag gaggacggca acatcctggg gcacaagctg gagtacaact	1800
65	acaacagcca caacgtctat atcatggccg acaagcagaa gaacggcatc aaggtgaact	1860
	tcaagatccg ccacaacatc gaggacggca gcgtgcagct cgccgaccac taccagcaga	1920

ES 2 759 049 T3

	acacccccat	cggcgacggc	cccgtgctgc	tgcccgacaa	ccactacctg	agcaccacagt	1980
5	ccgccctgag	caaagacccc	aacgagaagc	gcgatcacat	ggtcctgctg	gagttcgtga	2040
	ccgccgccgg	gatcactctc	ggcatggacg	agctgtacaa	gtaaagcggc	cgcgtcgaca	2100
	atcaacctct	ggattacaaa	atttgtgaaa	gattgactgg	tattcttaac	tatgttgctc	2160
10	cttttacgct	atgtggatac	gctgctttaa	tgcccttgta	tcattgctatt	gcttcccgtg	2220
	tggctttcat	tttctcctcc	ttgtataaat	cctgggttgct	gtctctttat	gaggagtgtg	2280
	ggcccgttgt	caggcaacgt	ggcgtgggtg	gactgtgtgt	tgctgacgca	acccccactg	2340
15	gttggggcat	tgccaccacc	tgtcagctcc	tttccgggac	tttcgctttc	cccctcccta	2400
	ttgccacggc	ggaactcatc	gccgcctgcc	ttgcccgtg	ctggacaggg	gctcggctgt	2460
20	tgggcactga	caattccgtg	gtgttgctcg	ggaagctgac	gtcctttcca	tggctgctcg	2520
	cctgtgttgc	cacctggatt	ctgcgcggga	cgctcttctg	ctacgtccct	tcggccctca	2580
	atccagcggg	ccttccttcc	cgcgccctgc	tgccggctct	gcggcctctt	ccgcgtcttc	2640
25	gccttcgccc	tcagacgagt	cggatctccc	tttggggcgc	ctccccgcct	ggaattcgag	2700
	ctcgggtacct	ttaagaccaa	tgacttacaa	ggcagctgta	gatcttagcc	actttttaaa	2760
30	agaaaagggg	ggactggaag	ggctaattca	ctcccaacga	agacaagatc	tgctttttgc	2820
	ttgtactggg	tctctctggg	tagaccagat	ctgagcctgg	gagctctctg	gctaactagg	2880
	gaaccacactg	cttaagcctc	aataaagctt	gccttgagtg	cttcaagtag	tgtgtgccccg	2940
35	tctgtttgtgt	gactctggta	actagagatc	cctcagaccc	ttttagtcag	tgtggaaaat	3000
	ctctagcagt	ggcgcccga	cagggacttg	aaagcgaaag	ggaaaccaga	ggagctctct	3060
40	cgacgcagga	ctcggcttgc	tgaagcgcgc	acggcaagag	gcgaggggcg	gcgactgggtg	3120
	agtacgccaa	aaattttgac	tagcggaggc	tagaaggaga	gagatgggtg	cgagagcgtc	3180
	agtattaagc	gggggagaat	tagatcgcg	tgggaaaaaa	ttcgggttaag	gccaggggga	3240
45	aagaaaaaat	ataaattaaa	acatatagta	tgggcaagca	gggagctaga	acgattcgca	3300
	gttaatcctg	gcctgttaga	aacatcagaa	ggctgtagac	aaatactggg	acagctacaa	3360
50	ccatcccttc	agacaggatc	agaagaactt	agatcattat	ataatacagt	agcaaccctc	3420
	tattgtgtgc	atcaaaggat	agagataaaa	gacaccaagg	aagctttaga	caagatagag	3480
	gaagagcaaa	acaaaagtaa	gaccaccgca	cagcaagcgg	ccgctgatct	tcagacctgg	3540
55	aggaggagat	atgagggaca	attggagaag	tgaattatat	aaatataaag	tagtaaaaat	3600
	tgaaccatta	ggagtagcac	ccaccaaggc	aaagagaaga	gtggtgcaga	gagaaaaaag	3660
60	agcagtggga	ataggagctt	tgttccttgg	gttcttggga	gcagcaggaa	gcactatggg	3720
	cgcagcgtca	atgacgtga	cggtagcaggc	cagacaatta	ttgtctggta	tagtgcagca	3780
	gcagaacaat	ttgctgaggg	ctattgaggc	gcaacagcat	ctgttgcaac	tcacagtctg	3840
65	gggcatcaag	cagctccagg	caagaatcct	ggctgtggaa	agatacctaa	aggatcaaca	3900
	gctcctgggg	atttgggggtt	gctctggaaa	actcatttgc	accactgctg	tgccctggaa	3960

ES 2 759 049 T3

	tgctagttgg	agtaataaat	ctctggaaca	gattttggaat	cacacgacct	ggatgggagt	4020
5	ggacagagaa	attaacaatt	acacaagctt	aatacactcc	ttaattgaag	aatcgcaaaa	4080
	ccagcaagaa	aagaatgaac	aagaattatt	ggaattagat	aaatgggcaa	gtttgtggaa	4140
	ttggtttaac	ataacaaatt	ggctgtggta	tataaaatta	ttcataatga	tagtaggagg	4200
10	cttggttaggt	ttaagaatag	tttttgctgt	actttctata	gtgaatagag	ttaggcaggg	4260
	atattcacca	ttatcgtttc	agaccacact	cccaaccccg	aggggacccg	acaggcccga	4320
15	aggaatagaa	gaagaagggt	gagagagaga	cagagacaga	tccattcgat	tagtgaacgg	4380
	atccagacat	gataagatac	attgatgagt	ttggacaaac	cacaactaga	atgcagtga	4440
	aaaaatgctt	tatttgtgaa	atttgtgatg	ctattgcttt	atttghtaacc	attataagct	4500
20	gcaataaaca	agttaacaac	aacaattgca	ttcattttat	gtttcagggt	cagggggaga	4560
	tgtgggaggt	tttttaaagc	aagtaaaacc	tctacaaatg	tggtaatccc	gcccctaact	4620
25	ccgcccattc	cgcccctaac	tccgcccagt	tccgcccatt	ctccgcccc	tggttgacta	4680
	atTTTTTTT	tttatgcaga	ggccgaggcc	gcctcggcct	ctgagctatt	ccagaagtag	4740
	tgaggaggct	tttttgagg	cctagggacg	taccaattc	gccctatagt	gagtcgtatt	4800
30	acgcgcgctc	actggccgct	gttttacaac	gtcgtgactg	ggaaaaccct	ggcgttacct	4860
	aacttaatcg	ccttgcagca	catccccctt	tcgccagctg	gcgtaatagc	gaagaggccc	4920
35	gcaccgatcg	cccttcccaa	cagttgcgca	gcctgaatgg	cgaatggcgc	gacgcgccct	4980
	gtagcggcgc	attaagcgcg	gcgggtgtgg	tggttacgcg	cagcgtgacc	gctacacttg	5040
	ccagcgccct	agcgcccgt	cctttcgctt	tcttcccttc	ctttctcgcc	acgttcgccc	5100
40	gctttccccg	tcaagctcta	aatcgggggc	tccctttagg	gttccgattt	agtgcctttac	5160
	ggcacctcga	ccccaaaaa	cttgattagg	gtgatgggtt	acgtagtggg	ccatcgccct	5220
45	gatagacggt	ttttcgccct	ttgacgttgg	agtccacggt	ctttaatagt	ggactcttgt	5280
	tccaaactgg	aacaacactc	aaccctatct	cggtctattc	ttttgattta	taagggattt	5340
	tgccgatttc	ggcctatttg	ttaaaaaatg	agctgattta	acaaaaattt	aacgcgaatt	5400
50	ttaacaaaat	attaacgttt	acaattttcc	aggtggcact	tttcggggaa	atgtgcgcgg	5460
	aacccttatt	tgttttattt	tctaaataca	ttcaaataatg	tatccgctca	tgagacaata	5520
55	accctgataa	atgcttcaat	aatattgaaa	aaggaagagt	atgagtattc	aacattttccg	5580
	tgctgccttt	attccctttt	ttgcggcatt	ttgccttcct	gtttttgctc	accagaaac	5640
	gctggtgaaa	gtaaaagatg	ctgaagatca	gttgggtgca	cgagtgggtt	acatcgaact	5700
60	ggatctcaac	agcggtaaga	tccttgagag	ttttcgcccc	gaagaacggt	ttccaatgat	5760
	gagcactttt	aaagttctgc	tatgtggcgc	ggtattatcc	cgtattgacg	ccgggcaaga	5820
65	gcaactcggg	cgccgcatac	actattctca	gaatgacttg	gttgagtact	caccagtcac	5880
	agaaaagcat	cttacggatg	gcatgacagt	aagagaatta	tgagtgctg	ccataaccat	5940
	gagtataaac	actgcggcca	acttacttct	gacaacgatc	ggaggaccga	aggagctaac	6000

ES 2 759 049 T3

	cgcttttttg cacaacatgg gggatcatgt aactcgcctt gatcgttggg aaccggagct	6060
5	gaatgaagcc ataccaaacg acgagcgtga caccacgatg cctgtagcaa tggcaacaac	6120
	gttgcgcaaa ctattaactg gcgaactact tactctagct tcccggcaac aattaataga	6180
	ctggatggag gcggataaag ttgcaggacc acttctgcgc tcggcccttc cggctggctg	6240
10	gtttattgct gataaatctg gagccggtga gcgtgggtct cgcggtatca ttgcagcact	6300
	ggggccagat ggtaagccct cccgtatcgt agttatctac acgacgggga gtcaggcaac	6360
15	tatggatgaa cgaaatagac agatcgctga gatagggtgcc tctactgatta agcattggta	6420
	actgtcagac caagtttact catatatact ttagattgat ttaaaaacttc atttttaatt	6480
	taaaaggatc taggtgaaga tcctttttga taatctcatg accaaaatcc cttaacgtga	6540
20	gttttcgttc cactgagcgt cagaccccgt agaaaagatc aaaggatctt cttgagatcc	6600
	tttttttctg cgcgtaatct gctgcttgca aacaaaaaaa ccaccgctac cagcggtggt	6660
25	ttgtttgccg gatcaagagc taccaactct ttttccgaag gtaactggct tcagcagagc	6720
	gcagatacca aatactgtcc ttctagtgtg gccgtagtta ggccaccact tcaagaactc	6780
	tgtagcaccg cctacatacc tcgctctgct aatcctgtta ccagtggctg ctgccagtgg	6840
30	cgataagtcg tgtcttaccg gggttgactc aagacgatag ttaccggata aggcgcagcg	6900
	gtcgggctga acgggggggtt cgtgcacaca gcccgacttg gagcgaacga cctacaccga	6960
35	actgagatac ctacagcgtg agctatgaga aagcgccacg cttcccgaag ggagaaaggc	7020
	ggacaggatc ccggtaaagc gcaggggtcgg aacaggagag cgcacgaggg agcttcagg	7080
	gggaaacgcc tggatatctt atagtcctgt cgggtttcgc cacctctgac ttgagcgtcg	7140
40	atttttgtga tgctcgtcag gggggcggag cctatggaaa aacgccagca acgcggcctt	7200
	tttacggttc ctggcctttt gctggccttt tgctcacatg ttctttcctg cgttatcccc	7260
45	tgattctgtg gataaccgta ttaccgcctt tgagttagct gataccgctc gccgcagccg	7320
	aacgaccgag cgcagcgagt cagttagcga ggaagcggaa gagcgcccaa tacgcaaacc	7380
	gcctctcccc gcgcgttggt cgattcatta atgcagctgg cacgacaggt ttcccgactg	7440
50	gaaagcgggc agtgagcgca acgcaattaa tgtgagttag ctactcatt aggcaccca	7500
	ggctttacac tttatgcttc cggctcgtat gttgtgtgga attgtgagcg gataacaatt	7560
55	tcacacagga aacagctatg accatgatta cgccaagcgc gcaattaacc ctactaaag	7620
	ggaacaaaag ctggagctgc aagcttgcac gctgg	7655
	<210> 12	
	<211> 7922	
60	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Construcción pLTR1.11.0/GAPDH-eGFP-wPRE	
65	<400> 12	
	tggccattgc atacgttgta tccatatcat aatatgtaca tttatatattg ctcattgtcca	60

ES 2 759 049 T3

	acattaccgc	catgttgaca	ttgattattg	actagttatt	aatagtaatc	aattacgggg	120
5	tcattagttc	atagcccata	tatggagttc	cgcgttacat	aacttacggt	aaatggccccg	180
	cctggctgac	cgcccaacga	cccccgccca	ttgacgtcaa	taatgacgta	tgttcccata	240
	gtaacgccaa	tagggacttt	ccattgacgt	caatgggtgg	agtatttacg	gtaaactgcc	300
10	cacttggcag	tacatcaagt	gtatcatatg	ccaagtacgc	cccctattga	cgtcaatgac	360
	ggtaaatggc	ccgcctggca	ttatgcccag	tacatgacct	tatgggactt	tcctacttgg	420
	cagtacatct	acgtattagt	catcgctatt	accatggtga	tgcggttttg	gcagtacatc	480
15	aatgggcgtg	gatagcgggt	tgactcacgg	ggatttccaa	gtctccaccc	cattgacgtc	540
	aatgggagtt	tgttttggca	ccaaaatcaa	cgggactttc	caaaatgtcg	taacaactcc	600
20	gccccattga	cgcaaattgg	cggtaggcgt	gtacgggtggg	aggtctatat	aagcagagct	660
	cgtttagtga	accgggggtct	ctctgggttag	accagatctg	agcctgggag	ctctctggct	720
	aactagggaa	cccactgctt	aagcctcaat	aaagcttgcc	ttgagtgcct	caagtagtgt	780
25	gtgcccgtct	gttgtgtgac	tctggtaact	agagatccct	cagacccttt	tagtcagtgt	840
	ggaaaatctc	tagcagtggc	gcccgaacag	ggacttgaaa	gcgaaaggga	aaccagagga	900
30	gctctctcga	cgcaggactc	ggcttgctga	agcgcgcacg	gcaagaggcg	aggggcggcg	960
	actggtgagt	acgccaaagt	agcgtaact	tttaaaagaa	aaggggggat	tggggggtac	1020
	agtgcagggg	aaagaatagt	agacataata	gcaacagaca	tacaaaactaa	agaattacaa	1080
35	aaacaaatta	caaaaattca	aaattttatc	gatcacgaga	ctagcctcga	ggatatcagt	1140
	tccccaaactt	tccgcctct	cagcctttga	aagaaagaaa	ggggaggggg	caggccgcgt	1200
40	gcagccgcga	gcggtgctgg	gctccggctc	caattcccca	tctcagtcgt	tcccaaagtc	1260
	ctcctgtttc	atccaagcgt	gtaagggtcc	ccgtccttga	ctccctagt	tcctgctgcc	1320
	cacagtccag	tcctgggaac	cagcaccgat	cacctcccat	cgggccaatc	tcagtccctt	1380
45	ccccctacg	tcggggccca	cacgctcgg	gcgtgcccag	ttgaaccagg	cggctgcgga	1440
	aaaaaaaaag	cggggagaaa	gtagggcccc	gctactagcg	gttttacggg	cgcacgtagc	1500
50	tcaggcctca	agaccttg	ctgggactgg	ctgagcctgg	cgggaggcgg	ggtccgagtc	1560
	accgcctgcc	gccgcgcccc	cggtttctat	aaattgagcc	cgcagcctcc	cgcttcgctc	1620
	tctgctcctc	ctgtgatcaa	ccggtcgcca	ccatggtgag	caagggcgag	gagctgttca	1680
55	ccggggtggt	gcccatacct	gtcgagctgg	acggcgacgt	aaacggccac	aagttcagcg	1740
	tgtccggcga	gggcgagggc	gatgccacct	acggcaagct	gaccctgaag	ttcatctgca	1800
60	ccaccggcaa	gctgcccgtg	ccctggccca	ccctcgtgac	caccctgacc	tacggcgtgc	1860
	agtgtttcag	ccgctacccc	gaccacatga	agcagcacga	cttcttcaag	tccgccatgc	1920
	ccgaaggcta	cgtccaggag	cgcaccatct	tcttcaagga	cgacggcaac	tacaagaccc	1980
65	gcgccgaggt	gaagttcgag	ggcgacaccc	tggtgaaccg	catcgagctg	aagggcatcg	2040
	acttcaagga	ggacggcaac	atcctggggc	acaagctgga	gtacaactac	aacagccaca	2100

ES 2 759 049 T3

	acgtctatat	catggccgac	aagcagaaga	acggcatcaa	ggtgaacttc	aagatccgcc	2160
5	acaacatcga	ggacggcagc	gtgcagctcg	ccgaccacta	ccagcagaac	acccccatcg	2220
	gcgacggccc	cgtgctgctg	cccgacaacc	actacctgag	cacccagtcc	gccctgagca	2280
	aagaccccaa	cgagaagcgc	gatcacatgg	tcctgctgga	gttcgtgacc	gccgccggga	2340
10	tcactctcgg	catggacgag	ctgtacaagt	aaagcggccg	cgtcgacaat	caacctctgg	2400
	attacaaaat	ttgtgaaaga	ttgactggta	ttcttaacta	tgttgctcct	tttacgctat	2460
	gtggatacgc	tgctttaatg	cctttgtatc	atgctattgc	ttcccgtatg	gctttcattt	2520
15	tctcctcctt	gtataaatcc	tggttgctgt	ctctttatga	ggagttgtgg	cccgttgtca	2580
	ggcaacgtgg	cgtggtgtgc	actgtgtttg	ctgacgcaac	ccccactggg	tggggcattg	2640
20	ccaccacctg	tcagctcctt	tccgggactt	tcgctttccc	cctccctatt	gccacggcgg	2700
	aactcatcgc	cgctgcctt	gcccgtgct	ggacaggggc	tcggctgttg	ggcactgaca	2760
	attccgtggg	gttgctgggg	aagctgacgt	cctttccatg	gctgctcgcc	tgtgttgcca	2820
25	cctggattct	gcgcgggacg	tccttctgct	acgtcccttc	ggccctcaat	ccagcggacc	2880
	ttccttcccg	cggcctgctg	ccggctctgc	ggcctcttcc	gcgtcttcgc	cttcgccctc	2940
30	agacgagtcg	gatctccctt	tgggccgcct	ccccgcctgg	aattcgagct	cggtaccttt	3000
	aagaccaatg	acttacaagg	cagctgtaga	tcttagccac	tttttaaaag	aaaagggggg	3060
	actggaaggg	ctaattcact	cccaacgaag	acaagatctg	ctttttgctt	gtactgggtc	3120
35	tctctgggta	gaccagatct	gagcctggga	gctctctggc	taactagggg	accactgct	3180
	taagcctcaa	caaagcttgc	cttgagtgct	tcaagtagtg	tgtgcccgtc	tgttgtgtga	3240
40	ctctggtaac	tagagatccc	tcagaccctt	ttagtcagtg	tggaaaatct	ctagcagttg	3300
	aaagcgaaag	ggaaaccaga	ggagctctct	cgacgcagga	ctcggcttgc	tgaagcgcgc	3360
	acggcaagag	gcgaggggcg	gcgactggtg	agtacgcaa	aaattttgac	tagcggaggc	3420
45	tagaaggaga	gagatgggtg	cgagagcgtc	agtattaagc	gggggagaat	tagatcgcg	3480
	tgggaaaaaa	ttcgggtaag	gccaggggga	aagaaaaaat	ataaattaaa	acatatagta	3540
50	tgggcaagca	gggagctaga	acgattcgca	gttaatcctg	gcctgttaga	aacatcagaa	3600
	ggctgtagac	aaatactggg	acagctacaa	ccatcccttc	agacaggatc	agaagaactt	3660
	agatcattat	ataatacagt	agcaaccctc	tattgtgtgc	atcaaaggat	agagataaaa	3720
55	gacaccaagg	aagcttttag	caagatagag	gaagagcaaa	acaaaagtaa	gaccaccgca	3780
	cagcaagcgg	ccgctgatct	tcagacctgg	aggaggagat	atgagggaca	attggagaag	3840
60	tgaattatat	aaatataaag	tagtaaaaaat	tgaaccatta	ggagtagcac	ccaccaaggc	3900
	aaagagaaga	gtggtgcaga	gagaaaaaag	agcagtggga	ataggagctt	tgttccttgg	3960
	gttcttgggg	gcagcaggaa	gcactatggg	cgcagcgtca	atgacgctga	cggtacaggc	4020
65	cagacaatta	ttgtctggta	tagtgcagca	gcagaacaat	ttgctgaggg	ctattgaggc	4080
	gcaacagcat	ctgttgcaac	tcacagtctg	gggcatcaag	cagctccagg	caagaatcct	4140

ES 2 759 049 T3

	ggctgtggaa agatacctaa aggatcaaca gctcctgggg atttgggggtt gctctggaaa	4200
5	actcatttgc accactgctg tgccttggaa tgctagttag agtaataaat ctctggaaca	4260
	gatttggaat cacacgacct ggatggagtg ggacagagaa attaacaatt acacaagctt	4320
	aatacactcc ttaattgaag aatcgcaaaa ccagcaagaa aagaatgaac aagaattatt	4380
10	ggaattagat aaatgggcaa gtttgtggaa ttggtttaac ataacaaatt ggctgtggta	4440
	tataaaatta ttcataatga tagtaggagg cttggtaggt ttaagaatag tttttgctgt	4500
15	actttctata gtgaatagag ttaggcaggg atattcacca ttatcgtttc agaccacct	4560
	cccaaccccg aggggacccg acaggcccga aggaatagaa gaagaagggtg gagagagaga	4620
	cagagacaga tccattcgat tagtgaacgg atccagacat gataagatac attgatgagt	4680
20	ttggacaaac cacaactaga atgcagtga aaaaatgctt tatttgtgaa atttgtgatg	4740
	ctattgcttt atttgtaacc attataagct gcaataaaca agttaacaac aacaattgca	4800
25	ttcattttat gtttcagggt cagggggaga tgtgggaggt tttttaagc aagtaaaacc	4860
	tctacaaatg tggtaatccc gcccttaact ccgcccattc cgcccctaac tccgcccagt	4920
	tccgcccatt ctccgcccga tggctgacta atttttttta tttatgcaga ggccgaggcc	4980
30	gcctcggcct ctgagctatt ccagaagtag tgaggaggct tttttggagg cctagggacg	5040
	taccaaatc gccctatagt gagtcgtatt acgcgcgctc actggccgtc gttttacaac	5100
35	gtcgtgactg ggaaaaccct ggcgttacct aacttaatcg ccttgcagca catccccctt	5160
	tcgccagctg gcgtaatagc gaagaggccc gcaccgatcg cccttccaa cagttgcgca	5220
	gcctgaatgg cgaatggcgc gacgcgccct gtagcggcgc attaagcgcg gcgggtgtgg	5280
40	tggttacgcg cagcgtgacc gctacacttg ccagcgccct agcgcccgtc ctttcgctt	5340
	tcttcccttc ctttctcgcc acgttcgccg gctttcccg tcaagctcta aatcgggggc	5400
45	tcccttttagg gttccgattt agtgctttac ggcacctcga ccccaaaaaa cttgattagg	5460
	gtgatggttc acgtagtggg ccatcgccct gatagacggt ttttcgccct ttgacgttgg	5520
	agtccacgtt ctttaatagt ggactcttgt tccaaactgg aacaacactc aaccctatct	5580
50	cggctctattc ttttgattta taagggattt tgccgatttc ggcttattgg ttaaaaaatg	5640
	agctgattta acaaaaattt aacgcgaatt ttaacaaaat attaacgttt acaatttccc	5700
55	aggtggcact tttcggggaa atgtgcgcgg aaccctattt tgtttatttt tctaaataca	5760
	ttcaaatatg tatccgctca tgagacaata accctgataa atgcttcaat aatattgaaa	5820
	aaggaagagt atgagtattc aacatttccg tgctgccctt attccctttt ttgcggcatt	5880
60	ttgccttcct gtttttgctc acccagaaac gctggtgaaa gtaaaaagatg ctgaagatca	5940
	gttggttgca cgagtgggtt acatcgaact ggatctcaac agcggttaaga tccttgagag	6000
65	ttttcgcccc gaagaacgtt ttccaatgat gagcactttt aaagttctgc tatgtggcgc	6060
	ggatttatcc cgtattgacg ccgggcaaga gcaactcggc cgccgcatac actatttctca	6120
	gaatgacttg gttgagtact caccagtcac agaaaagcat cttacggatg gcatgacagt	6180

ES 2 759 049 T3

	aagagaatta tgcagtgctg ccataaccat gagtgataac actgcggccca acttacttct	6240
5	gacaacgatac ggaggaccga aggagctaac cgcttttttg cacaacatgg gggatcatgt	6300
	aactcgcctt gatcgttggg aaccggagct gaatgaagcc ataccaaacg acgagcgtga	6360
	caccacgatg cctgtagcaa tggcaacaac gttgcgcaaa ctattaactg gcgaactact	6420
10	tactctagct tcccggcaac aattaataga ctggatggag gcggataaaag ttgcaggacc	6480
	acttctgctg tcggcccttc cggttggtg gtttattgct gataaatctg gagccggtga	6540
	gcgtgggtct cgcggtatca ttgcagcact ggggccagat ggtaagccct cccgtatcgt	6600
15	agttatctac acgacgggga gtcaggcaac tatggatgaa cgaaatagac agatcgtctga	6660
	gataggtgcc tcaactgatta agcattggta actgtcagac caagtttact catatatact	6720
20	ttagattgat ttaaaacttc atttttaatt taaaaggatc taggtgaaga tcctttttga	6780
	taatctcatg accaaaatcc cttaacgtga gttttcgttc cactgagcgt cagaccccgt	6840
	agaaaagatc aaaggatctt cttgagatcc tttttttctg cgcgtaatct gctgcttgca	6900
25	aacaaaaaaaa ccaccgctac cagcgggtgg ttgtttgccg gatcaagagc taccaactct	6960
	ttttccgaag gtaactggct tcagcagagc gcagatacca aataactgtcc ttctagtgtga	7020
30	gccgtagtta ggccaccact tcaagaactc tgtagcaccg cctacatacc tcgctctgct	7080
	aatcctgtta ccagtggctg ctgccagtgg cgataagtcg tgtcttaccg ggttgactc	7140
	aagacgatag ttaccggata aggcgcagcg gtcgggctga acgggggggt cgtgcacaca	7200
35	gcccagcttg gagcgaacga cctacaccga actgagatac ctacagcgtg agctatgaga	7260
	aagcgccacg cttcccgaag ggagaaaggc ggacaggtat ccggtaagcg gcagggtcgg	7320
40	aacaggagag cgcacgaggg agcttccagg gggaaacgcc tggatatctt atagtcctgt	7380
	cgggtttcgc cacctctgac ttgagcgtcg atttttgtga tgctcgtcag gggggcggag	7440
	cctatgaaa aacgccagca acgcggcctt ttacgggtc ctggcctttt gctggccttt	7500
45	tgctcacatg ttcttttctg cgttatcccc tgattctgtg gataaccgta ttaccgcctt	7560
	tgagtgaact gataccgctc gccgcagccg aacgaccgag cgcagcagat cagtgaacga	7620
50	ggaagcggaa gagcgcccaa tacgcaaacc gcctctcccc gcgcgttggc cgattcatta	7680
	atgcagctgg cacgacaggt ttcccgaact gaaagcgggc agtgagcgca acgcaattaa	7740
	tgtgagttag ctactcatt aggcacccca ggcttttacac tttatgcttc cggctcgtat	7800
55	gttgtgtgga attgtgagcg gataacaatt tcacacagga aacagctatg accatgatta	7860
	cgccaagcgc gcaattaacc ctactaaag ggaacaaaag ctggagctgc aagcttgcac	7920
60	gc	7922

<210> 13

<211> 7922

<212> ADN

65 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción pLTR1.11.1/GAPDH-eGFP-WPRE

<400> 13

5	ctggccattg catacgttgt atccatatca taatatgtac atttatattg gctcatgtcc	60
	aacattaccg ccatgttgac attgattatt gactagttat taatagtaat caattacggg	120
	gtcattagtt catagcccat atatggagtt ccgcgttaca taacttacgg taaatggccc	180
10	gcctggctga ccgccaacg acccccgcgc attgacgtca ataatgacgt atgttcccat	240
	agtaacgcca atagggactt tccattgacg tcaatgggtg gagtatttac ggtaaactgc	300
15	ccacttgga gtacatcaag tgtatcatat gccaaagtacg cccctattg acgtcaatga	360
	cggtaaatgg ccgcctggc attatgcca gtacatgacc ttatgggact ttcctacttg	420
	gcagtacatc tacgtattag tcatcgctat taccatgggtg atgcggtttt ggcagtacat	480
20	caatgggcgt ggatagcggg ttgactcacg gggatttcca agtctccacc ccattgacgt	540
	caatgggagt ttgttttggc accaaaatca acgggacttt ccaaaatgac gtaacaactc	600
25	cgccccattg acgcaaatgg gcggtaggcg tgtacgggtg gaggtctata taagcagagc	660
	tcgttttagtg aaccgggggc tctctgggta gaccagatct gagcctggga gctctctggc	720
	taactaggga acccactgct taagcctcaa taaagcttgc cttgagtgc tcaagtagtg	780
30	tgtgcccgtc tgttgtgtga ctctggtaac tagagatccc tcagaccctt ttagtcagt	840
	tggaaaatct ctagcagtgg cggccgaaca gggacttgaa agcgaaaggg aaaccagagg	900
35	agctctctcg acgcaggact cggcttgctg aagcgcgcac ggcaagaggc gaggggcggc	960
	gactggtgag tacgccaagc tagcggttaac ttttaaaaga aaagggggga ttggggggta	1020
	cagtgcaggg gaaagaatag tagacataat agcaacagac atacaaacta aagaattaca	1080
40	aaaacaaatt acaaaaattc aaaattttat cgatcacgag actagcctcg aggatatcag	1140
	ttccccaact ttccgcctc tcagcctttg aaagaaagaa aggggagggg gcaggccgcg	1200
45	tgcagccgcg agcgggtgctg ggctccggct ccaattcccc atctcagtcg ttcccaaagt	1260
	cctcctgttt catccaagcg tgtaagggc cccgtccttg actccctagt gtcctgctgc	1320
	ccacagtcca gtcctgggaa ccagcaccga tcacctcca tcgggccaat ctcagtcctt	1380
50	tccccctac gtcggggccc acacgctcgg tgcgtgcca gttgaaccag gcggctgcgg	1440
	aaaaaaaaa gcggggagaa agtagggccc ggctactagc ggttttacgg gcgcacgtag	1500
55	ctcaggcctc aagaccttgg gctgggactg gctgagcctg gcgggaggcg ggggccgagt	1560
	caccgcctgc cgccgcgccc ccggtttcta taaattgagc ccgcagcctc ccgcttcgct	1620
	ctctgctcct cctgtgatca accggctcgc accatggtga gcaagggcga ggagctgttc	1680
60	accgggggtg tgcccatcct ggtcgagctg gacggcgacg taaacggcca caagttcagc	1740
	gtgtccggcg agggcgaggg cgatgccacc tacggcaagc tgaccctgaa gttcatctgc	1800
65	accaccggca agctgcccgt gccctggccc accctcgtga ccacctgac ctacggcgtg	1860
	cagtgttca gccgtaccc cgaccacatg aagcagcacg acttcttcaa gtccgcatg	1920

ES 2 759 049 T3

	cccgaaggct	acgtccagga	gcgcaccatc	ttcttcaagg	acgacggcaa	ctacaagacc	1980
5	cgcgccgagg	tgaagttcga	gggcgacacc	ctggtgaacc	gcatcgagct	gaagggcatc	2040
	gacttcaagg	aggacggcaa	catcctgggg	cacaagctgg	agtacaacta	caacagccac	2100
	aacgtctata	tcatggccga	caagcagaag	aacggcatca	aggtgaactt	caagatccgc	2160
10	cacaacatcg	aggacggcag	cgtgcagctc	gccgaccact	accagcagaa	cacccccatc	2220
	ggcgacggcc	ccgtgctgct	gcccgacaac	cactacctga	gcacccagtc	cgccctgagc	2280
	aaagacccca	acgagaagcg	cgatcacatg	gtcctgctgg	agttcgtgac	cgccgccggg	2340
15	atcactctcg	gcatggacga	gctgtacaag	taaagcggcc	gcgtcgacaa	tcaacctctg	2400
	gattacaaaa	tttgtgaaag	attgactggg	attcttaact	atgttgctcc	ttttacgcta	2460
20	tgtggatacg	ctgctttaat	gcctttgtat	catgctattg	cttcccgtat	ggctttcatt	2520
	ttctcctcct	tgtataaatc	ctggttgctg	tctctttatg	aggagttgtg	gcccgttgtc	2580
	aggcaacgtg	gcgtgggtgtg	cactgtgttt	gctgacgcaa	ccccactgg	ttggggcatt	2640
25	gccaccacct	gtcagctcct	ttccgggact	ttcgttttcc	ccctccctat	tgccacggcg	2700
	gaactcatcg	ccgcctgcct	tgcccgtctg	tggacagggg	ctcggctgtt	gggcactgac	2760
30	aattccgtgg	tggtgtcggg	gaagctgacg	tcctttccat	ggctgctcgc	ctgtgttgcc	2820
	acctggattc	tgcgcgggac	gtccttctgc	tacgtccctt	cggccctcaa	tccagcggac	2880
	cttcctttccc	gcggcctgct	gccggctctg	cggcctcttc	cgcgctttcg	ccttcgccct	2940
35	cagacgagtc	ggatctccct	ttgggccgcc	tccccgcctg	gaattcgagc	tcggtacctt	3000
	taagaccaat	gacttacaag	gcagctgtag	atcttagcca	ctttttaaaa	gaaaaggggg	3060
40	gactggaagg	gctaattcac	tcccaacgaa	gacaagatct	gctttttgct	tgtactgggt	3120
	ctctctgggt	agaccagatc	tgagcctggg	agctctctgg	ctaactaggg	aaccactgac	3180
	ttaagcctca	ataaagcttg	ccttgagtgc	ttcaagtagt	gtgtgcccgt	ctgttgtgtg	3240
45	actctggtaa	ctagagatcc	ctcagaccct	tttagtcagt	gtggaaaatc	tctagcagtt	3300
	gaaagcgaaa	gggaaaccag	aggagctctc	tcgacgcagg	actcggcttg	ctgaagcgcg	3360
50	cacggcaaga	ggcgaggggg	ggcgactggg	gagtacgcca	aaaattttga	ctagcggagg	3420
	ctagaaggag	agagatgggt	gcgagagcgt	cagtattaag	cgggggagaa	ttagatcgcg	3480
	atgggaaaaa	attcgggttaa	ggccaggggg	aaagaaaaaa	tataaattaa	aacatatagt	3540
55	atgggcaagc	aggagactag	aacgattcgc	agttaatcct	ggcctgttag	aaacatcaga	3600
	aggctgtaga	caaatactgg	gacagctaca	accatccctt	cagacaggat	cagaagaact	3660
60	tagatcatta	tataatacag	tagcaaccct	ctattgtgtg	catcaaagga	tagagataaa	3720
	agacaccaag	gaagcttttag	acaagataga	ggaagagcaa	aacaaaagta	agaccaccgc	3780
	acagcaagcg	gccgctgata	ttcagacctg	gaggaggaga	tatgagggac	aattggagaa	3840
65	gtgaattata	taaatataaa	gtagtaaaaa	ttgaaccatt	aggagtagca	cccaccaagg	3900
	caaagagaag	agtgggtgcag	agagaaaaaa	gagcagtggg	aataggagct	ttgttccttg	3960

	ggttcttggg	agcagcagga	agcactatgg	gcgagcgctc	aatgacgctg	acggtacagg	4020
5	ccagacaatt	attgtctggt	atagtgcagc	agcagaacaa	tttgctgagg	gctattgagg	4080
	cgcaacagca	tctgttgcaa	ctcacagtct	ggggcatcaa	gcagctccag	gcaagaatcc	4140
	tggctgtgga	aagataccta	aaggatcaac	agctcctggg	gatttggggg	tgctctggaa	4200
10	aactcatttg	caccactgct	gtgccttgga	atgctagttg	gagtaataaa	tctctggaac	4260
	agatttgga	tcacacgacc	tggatggagt	gggacagaga	aattaacaat	tacacaagct	4320
15	taatacactc	cttaattgaa	gaatcgcaaa	accagcaaga	aaagaatgaa	caagaattat	4380
	tggaattaga	taaatgggca	agtttgtgga	attggtttaa	cataacaaat	tggctgtggg	4440
	atataaaatt	attcataatg	atagtaggag	gcttggtagg	tttaagaata	gtttttgctg	4500
20	tacttttctat	agtgaataga	gttaggcagg	gatattcacc	attatcgttt	cagaccacc	4560
	tcccaacccc	gaggggaccc	gacaggcccc	aaggaataga	agaagaaggt	ggagagagag	4620
25	acagagacag	atccattcga	ttagtgaacg	gatccagaca	tgataagata	cattgatgag	4680
	tttggaacaaa	ccacaactag	aatgcagtga	aaaaaatgct	ttatttgtga	aatttgtgat	4740
	gctattgctt	tatttghtaac	cattataagc	tgcaataaac	aagttaacaa	caacaattgc	4800
30	attcatttta	tgtttcaggt	tcagggggag	atgtgggagg	ttttttaaaag	caagtaaaac	4860
	ctctacaaat	gtggtaatcc	cgcccctaac	tccgcccatac	ccgcccctaa	ctccgcccag	4920
35	ttccgcccac	tctccgcccc	atggctgact	aatttttttt	atttatgcag	aggccgaggc	4980
	cgcctcggcc	tctgagctat	tccagaagta	gtgaggaggc	ttttttggag	gcctagggac	5040
	gtaccaat	cgccctatag	tgagtcgtat	tacgcgcgct	cactggccgt	cgttttacaa	5100
40	cgtcgtgact	gggaaaaccc	tggcgttacc	caacttaatc	gccttgagc	acatccccct	5160
	ttcgccagct	ggcgtaatag	cgaagaggcc	cgcaccgatc	gcccttccca	acagttgcgc	5220
45	agcctgaatg	gcgaatggcg	cgacgcgccc	tgtagcggcg	cattaagcgc	ggcgggtgtg	5280
	gtggttacgc	gcagcgtgac	cgctacactt	gccagcgcgc	tagcgcccg	tcctttcgct	5340
	ttctttccctt	cctttctcgc	cacgttcgcc	ggctttcccc	gtcaagctct	aaatcggggg	5400
50	ctcccttttag	ggttccgatt	tagtgcttta	cggcacctcg	accccaaaaa	acttgattag	5460
	ggtgatgggt	cacgtagtgg	gccatcgccc	tgatagacgg	tttttcgccc	tttgacgttg	5520
55	gagtcacagt	tctttaatag	tggactcttg	ttccaaactg	gaacaacact	caaccctatc	5580
	tcgggtctatt	cttttgattt	ataagggatt	ttgccgattt	cggcctattg	gttaaaaaat	5640
	gagctgattt	aacaaaaatt	taacgcgaat	tttaacaaaa	tattaacgtt	tacaatttcc	5700
60	caggtggcac	ttttcgggga	aatgtgcgcg	gaacccctat	ttgtttattt	ttctaaatac	5760
	attcaaatat	gtatccgctc	atgagacaat	aaccctgata	aatgcttcaa	taatattgaa	5820
65	aaaggaagag	tatgagtatt	caacatttcc	gtgtcgccct	tattcccttt	tttgcgcat	5880
	tttgccttcc	tgtttttgct	caccagaaa	cgctgggtgaa	agtaaaagat	gctgaagatc	5940
	agttgggtgc	acgagtgggt	tacatcgaac	tggatctcaa	cagcggtaa	atccttgaga	6000

ES 2 759 049 T3

	gttttcgccc	cgaagaacgt	tttccaatga	tgagcacttt	taaagttctg	ctatgtggcg	6060
5	cgggtattatc	ccgtattgac	gccgggcaag	agcaactcgg	tcgccgcata	cactattctc	6120
	agaatgactt	ggttgagtac	tcaccagtca	cagaaaagca	tcttacggat	ggcatgacag	6180
	taagagaatt	atgcagtgtc	gccataacca	tgagtataaa	cactgcggcc	aacttacttc	6240
10	tgacaacgat	cggaggaccg	aaggagctaa	ccgctttttt	gcacaacatg	ggggatcatg	6300
	taactcgcct	tgatcgttgg	gaaccggagc	tgaatgaagc	cataccaaac	gacgagcgtg	6360
	acaccacgat	gcctgtagca	atggcaacaa	cgttgcgcaa	actattaact	ggcgaactac	6420
15	ttactctagc	ttcccggcaa	caattaatag	actggatgga	ggcggataaa	gttgcaggac	6480
	cacttctgcg	ctcggccctt	ccggctggct	ggtttattgc	tgataaatct	ggagccggtg	6540
20	agcgtgggtc	tcgcgggtatc	attgcagcac	tggggccaga	tggttaagccc	tcccgtatcg	6600
	tagttatcta	cacgacgggg	agtcaggcaa	ctatggatga	acgaaataga	cagatcgctg	6660
	agataggtgc	ctcactgatt	aagcattggg	aactgtcaga	ccaagtttac	tcatatatac	6720
25	tttagattga	tttaaaactt	catttttaat	ttaaagggat	ctaggtgaag	atcctttttg	6780
	ataatctcat	gaccaaatac	ccttaacgtg	agttttcggt	ccactgagcg	tcagaccccg	6840
30	tagaaaagat	caaaggatct	tcttgagatc	ctttttttct	gcgcgtaatc	tgctgcttgc	6900
	aaacaaaaaa	accaccgcta	ccagcgggtg	tttgtttgcc	ggatcaagag	ctaccaactc	6960
	tttttccgaa	ggtaactggc	ttcagcagag	cgcagatacc	aaatactgtc	cttctagtgt	7020
35	agccgtagtt	aggccaccac	ttcaagaact	ctgtagcacc	gcctacatac	ctcgctctgc	7080
	taatcctgtt	accagtggct	gctgccagtg	gcgataagtc	gtgtcttacc	gggttgact	7140
40	caagacgata	gttaccggat	aaggcgcagc	ggtcgggctg	aacggggggg	tcgtgcacac	7200
	agcccagctt	ggagcgaacg	acctacaccg	aactgagata	cctacagcgt	gagctatgag	7260
	aaagcgccac	gcttcccga	gggagaaagg	cggacaggta	tccggtaagc	ggcagggctg	7320
45	gaacaggaga	gcgcacgagg	gagcttccag	ggggaaacgc	ctggtatctt	tatagtcctg	7380
	tcggggtttc	ccacctctga	cttgagcgtc	gattttttgt	atgctcgtca	ggggggcgga	7440
50	gcctatggaa	aaacgccagc	aacgcggcct	ttttacgggt	cctggccttt	tgctggcctt	7500
	ttgctcacat	gttcttttct	gcgttatccc	ctgattctgt	ggataaccgt	attaccgcct	7560
	ttgagttagc	tgataccgct	cgccgcagcc	gaacgaccga	gcgcagcgag	tcagttagcg	7620
55	aggaagcgga	agagcgccca	atacgcaaac	cgcctctccc	cgcgcggttg	ccgattcatt	7680
	aatgcagctg	gcacgacagg	tttcccga	ggaaagcggg	cagttagcgc	aacgcaatta	7740
60	atgtgagtta	gctcactcat	taggcacccc	aggctttaca	ctttatgctt	ccggctcgta	7800
	tggtgtgtgg	aattgtgagc	ggataacaat	ttcacacagg	aaacagctat	gaccatgatt	7860
	acgccaagcg	cgcaattaac	cctcactaaa	gggaacaaaa	gctggagctg	caagcttgca	7920
65	tg						7922

ES 2 759 049 T3

<211> 7757
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> Construcción pLTR1.13.0/GAPDH-eGFP-WPRE

<400> 14

10	taatcaatta cggggtcatt agttcatagc ccatatatgg agttccgcgt tacataactt	60
	acggtaaatg gcccgctgg ctgaccgccc aacgaccccc gccattgac gtcaataatg	120
	acgtatgttc ccatagtaac gccaataggg actttccatt gacgtcaatg ggtggagtat	180
15	ttacggtaaa ctgcccactt ggcagtacat caagtgtatc atatgccaaag tacgccccct	240
	attgacgtca atgacggtaa atggcccgcc tggcattatg cccagtacat gaccttatgg	300
20	gactttccta cttggcagta catctacgta ttagtcatcg ctattaccat ggtgatgcgg	360
	ttttggcagt acatcaatgg gcgtggatag cggtttgact cacggggatt tccaagtctc	420
	caccccattg acgtcaatgg gagtttgttt tggcaccaaa atcaacggga ctttccaaaa	480
25	tgtcgtaaaca actccgcccc attgacgcaa atgggcggta ggcgtgtacg gtgggaggtc	540
	tatataagca gagctcgttt agtgaacctg gcgcccgaac agggacttga aagcgaaagg	600
30	gaaaccagag gagctctctc gacgcaggac tcggcttgct gaagcgcgca cggcaagagg	660
	cgagggggcgg cgactggtga gtacgccaag ctagcggttaa cttttaaaag aaaagggggg	720
	attgggggggt acagtgcagg ggaagaata gtagacataa tagcaacaga catacaaact	780
35	aaagaattac aaaaacaaat tacaaaaatt caaaatttta tcgatcacga gactagcctc	840
	gaggatatca gttccccaac tttcccgct ctcagccttt gaaagaaaaga aaggggaggg	900
40	ggcaggccgc gtgcagccgc gagcggtgct gggctccggc tccaattccc catctcagtc	960
	gttcccaaag tcctcctggt tcatccaagc gtgtaagggt ccccgctcctt gactccctag	1020
	tgtcctgctg cccacagtc agtcctggga accagcaccg atcacctccc atcggggcaa	1080
45	tctcagtcctc tttcccccta cgtcggggcc cacacgctcg gtgcgtgccc agttgaacca	1140
	ggcggctgcg gaaaaaaaaa agcggggaga aagtagggcc cggctactag cggttttacg	1200
50	ggcgacgta gctcaggcct caagaccttg ggctgggact ggctgagcct ggcgggagggc	1260
	gggggtccgag tcaccgcctg ccgcccgcgc cccggtttct ataaattgag cccgcagcct	1320
	cccgtttcgc tctctgctcc tcctgggac caccggctcg caccatggtg agcaagggcg	1380
55	aggagctggt caccgggggtg gtgcccaccc tggtcgagct ggacggcgac gtaaagggcc	1440
	acaagttcag cgtgtccggc gagggcgagg gcgatgccac ctacggcaag ctgaccctga	1500
60	agttcatctg caccaccggc aagctgcccg tgccctggcc caccctcgtg accaccctga	1560
	cctacggcgt gcagtgttc agccgctacc ccgaccacat gaagcagcac gacttcttca	1620
	agtccgcat gcccgaggc tacgtccagg agcgcaccat cttcttcaag gacgacggca	1680
65	actacaagac ccgcccggag gtgaagttcg agggcgacac cctggtgaac cgcacgcagc	1740
	tgaagggcat cgacttcaag gaggacggca acatcctggg gcacaagctg gagtacaact	1800

ES 2 759 049 T3

	acaacagcca	caacgtctat	atcatggccg	acaagcagaa	gaacggcatc	aaggtgaact	1860
5	tcaagatccg	ccacaacatc	gaggacggca	gcgtgcagct	cgccgaccac	taccagcaga	1920
	acacccccat	cggcgacggc	cccgtgctgc	tgcccagaaa	ccactacctg	agcaccagct	1980
	ccgccctgag	caaagacccc	aacgagaagc	gcgatcacat	ggtcctgctg	gagttcgtga	2040
10	ccgccgcccg	gatcactctc	ggcatggacg	agctgtacaa	gtaaaagcggc	cgcgctcgaca	2100
	atcaacctct	ggattacaaa	atgtgtgaaa	gattgactgg	tattcttaac	tatgttgctc	2160
	cttttacgct	atgtggatac	gctgctttta	tgcttttgta	tcattgctatt	gcttccccgta	2220
15	tggctttcat	tttctcctcc	ttgtataaat	cctggttgct	gtctctttat	gaggagttgt	2280
	ggcccgttgt	caggcaacgt	ggcgtggtgt	gcactgtggt	tgctgacgca	acccccactg	2340
20	gttggggcat	tgccaccacc	tgtcagctcc	tttccgggac	tttcgctttc	cccctcccta	2400
	ttgccacggc	ggaactcatc	gccgcctgcc	ttgcccgtg	ctggacaggg	gctcggctgt	2460
	tgggcaactga	caattccgtg	gtgttgtcgg	ggaagctgac	gtcctttcca	tggctgctcg	2520
25	cctgtgttgc	cacctggatt	ctgcgcggga	cgctcttctg	ctacgtccct	tcggccctca	2580
	atccagcggg	ccttccttcc	cgcgccctgc	tgccggctct	gcggccctct	ccgcgtcttc	2640
30	gccttcgccc	tcagacgagt	cggatctccc	tttgggcccgc	ctccccgcct	ggaattcgag	2700
	ctcgggtacct	ttaagaccaa	tgacttacaa	ggcagctgta	gatcttagcc	actttttaaa	2760
	agaaaagggg	ggactggaag	ggctaattca	ctcccaacga	agacaagatc	tgctttttgc	2820
35	ttgtactggg	tctctctggt	tagaccagat	ctgagcctgg	gagctctctg	gctaactagg	2880
	gaacccactg	cttaagcctc	aataaagctt	gccttgagtg	cttcaagtag	tgtgtgccccg	2940
40	tctgttgtgt	gactctggta	actagagatc	cctcagaccc	ttttagtcag	tgtggaaaat	3000
	ctctagcagt	ggcgcccga	cagggaactt	aaagcgaaaag	ggaaaccaga	ggagctctct	3060
	cgacgcagga	ctcggcttgc	tgaagcgcg	acggcaagag	gcgagggggcg	gcgactggtg	3120
45	agtacgcca	aaattttgac	tagcggaggc	tagaaggaga	gagatgggtg	cgagagcgctc	3180
	agtattaagc	gggggagaat	tagatcgcg	tgggaaaaaa	ttcgggttaag	gccagggggga	3240
50	aagaaaaaat	ataaattaaa	acatatagta	tgggcaagca	gggagctaga	acgattcgca	3300
	gttaatcctg	gcctgttaga	aacatcagaa	ggctgtagac	aaatactggg	acagctacaa	3360
	ccatcccttc	agacaggatc	agaagaactt	agatcattat	ataatacagt	agcaaccctc	3420
55	tattgtgtgc	atcaaaggat	agagataaaa	gacaccaagg	aagctttaga	caagatagag	3480
	gaagagcaaa	acaaaagtaa	gaccaccgca	cagcaagcgg	ccgctgatct	tcagacctgg	3540
60	aggaggagat	atgaggggaca	attggagaag	tgaattatat	aaatataaag	tagtaaaaat	3600
	tgaaccatta	ggagtagcac	ccaccaaggc	aaagagaaga	gtggtgcaga	gagaaaaaag	3660
	agcagtggga	ataggagctt	tgttccttgg	gttcttggga	gcagcaggaa	gcactatggg	3720
65	cgcagcgtca	atgacgctga	cgggtacaggc	cagacaatta	ttgtctggta	tagtgcagca	3780
	gcagaacaat	ttgctgaggg	ctattgaggc	gcaacagcat	ctgttgcaac	tcacagtctg	3840

ES 2 759 049 T3

	gggcatcaag	cagctccagg	caagaatcct	ggctgtggaa	agatacctaa	aggatcaaca	3900
5	gctcctgggg	atgtgggggt	gctctggaaa	actcatttgc	accactgctg	tgccttggaa	3960
	tgctagttag	agtaataaat	ctctggaaca	gatttggaa	cacacgacct	ggatggagt	4020
	ggacagagaa	attaacaatt	acacaagctt	aatacactcc	ttaattgaag	aatcgcaaaa	4080
10	ccagcaagaa	aagaatgaac	aagaattatt	ggaattagat	aaatgggcaa	gtttgtggaa	4140
	ttggtttaac	ataacaaatt	ggctgtggta	tataaaatta	ttcataatga	tagtaggagg	4200
	cttggttagt	ttaagaatag	tttttgctgt	actttctata	gtgaatagag	ttaggcagg	4260
15	atattcacca	ttatcgtttc	agaccacact	cccaaccccg	aggggacccg	acaggcccga	4320
	aggaatagaa	gaagaagggt	gagagagaga	cagagacaga	tccattcgat	tagtgaacgg	4380
20	atccagacat	gataagatac	attgatgagt	ttggacaaac	cacaactaga	atgcagtga	4440
	aaaaatgctt	tatttgtgaa	atttgtgatg	ctattgcttt	atttgaacc	attataagct	4500
	gcaataaaca	agttaacaac	aacaattgca	ttcattttat	gtttcagggt	cagggggaga	4560
25	tgtgggaggt	tttttaaagc	aagtaaaacc	tctacaaatg	tggtaatccc	gcccctaact	4620
	ccgcccattc	cgcccctaac	tccgcccagt	tccgcccatt	ctccgcccc	tggctgacta	4680
30	atTTTTTTT	tttatgcaga	ggccgaggcc	gcctcggcct	ctgagctatt	ccagaagtag	4740
	tgaggaggct	tttttgagg	cctagggacg	tacccaattc	gccctatagt	gagtcgtatt	4800
	acgcgcgctc	actggccgct	gttttacaac	gtcgtgactg	ggaaaaccct	ggcgttacct	4860
35	aacttaatcg	ccttgcagca	catccccctt	tcgccagctg	gcgtaatagc	gaagaggccc	4920
	gcaccgatcg	cccttcccaa	cagttgcgca	gcctgaatgg	cgaatggcgc	gacgcgcctt	4980
40	gtagcggcgc	attaagcgcg	gcgggtgtgg	tggttacgcg	cagcgtgacc	gctacacttg	5040
	ccagcgcctt	agcgcgcgct	cctttcgctt	tcttcccttc	ctttctcgcc	acgttcgccc	5100
	gctttccccg	tcaagctcta	aatcgggggc	tccctttagg	gttccgattt	agtgccttac	5160
45	ggcacctcga	ccccaaaaaa	cttgattagg	gtgatgggtc	acgtagtggg	ccatcgccct	5220
	gatagacggt	ttttcgccct	ttgacgttgg	agtccacggt	ctttaatagt	ggactcttgt	5280
50	tccaaactgg	aacaacactc	aaccctatct	cggctctattc	ttttgattta	taagggtatt	5340
	tgccgatttc	ggcctattgg	ttaaaaaatg	agctgattta	acaaaaattt	aacgcgaatt	5400
	ttaacaaaat	attaacgttt	acaatttccc	aggtggcact	tttcggggaa	atgtgcgcgg	5460
55	aacccttatt	tgtttttttt	tctaaatata	ttcaaataatg	tatccgctca	tgagacaata	5520
	accctgataa	atgcttcaat	aatattgaaa	aaggaagagt	atgagtattc	aacatttccg	5580
60	tgctgccttt	attccctttt	ttgcggcatt	ttgccttcct	gtttttgctc	accagaaaac	5640
	gctggtgaaa	gtaaaagatg	ctgaagatca	gttggttgca	cgagtgggtt	acatcgaact	5700
	ggatctcaac	agcggtaaga	tccttgagag	ttttcgcccc	gaagaacggt	ttccaatgat	5760
65	gagcactttt	aaagtcttgc	tatgtggcgc	gggtattatcc	cgtattgacg	ccgggcaaga	5820
	gcaactcggt	cgccgcatac	actattctca	gaatgacttg	gttgagtact	caccagtcac	5880

ES 2 759 049 T3

	agaaaagcat	cttacggatg	gcatgacagt	aagagaatta	tgcagtgctg	ccataaccat	5940
5	gagtataac	actgcgcca	acttacttct	gacaacgatc	ggaggaccga	aggagctaac	6000
	cgcttttttg	cacaacatgg	gggatcatgt	aactcgcctt	gatcgttggg	aaccggagct	6060
	gaatgaagcc	ataccaaacg	acgagcgtga	caccacgatg	cctgtagcaa	tggcaacaac	6120
10	gttgcgcaaa	ctattaactg	gcgaactact	tactctagct	tcccggcaac	aattaataga	6180
	ctggatggag	gcggataaag	ttgcaggacc	acttctgcgc	tcggcccttc	cggctggctg	6240
	gtttattgct	gataaatctg	gagccggtga	gcgtgggtct	cgcggtatca	ttgcagcact	6300
15	ggggccagat	ggtaagccct	cccgtatcgt	agttatctac	acgacgggga	gtcaggcaac	6360
	tatggatgaa	cgaaatagac	agatcgctga	gatagggtgcc	tactgatta	agcattggta	6420
20	actgtcagac	caagtttact	catatatact	ttagattgat	ttaaaacttc	atttttaatt	6480
	taaaaggatc	taggtgaaga	tcctttttga	taatctcatg	acaaaaatcc	cttaacgtga	6540
	gttttcgttc	cactgagcgt	cagaccccgt	agaaaagatc	aaaggatctt	cttgagatcc	6600
25	tttttttctg	cgcgtaatct	gctgcttgca	aacaaaaaaa	ccaccgctac	cagcggtggt	6660
	ttgtttgccg	gatcaagagc	taccaactct	ttttccgaag	gtaactggct	tcagcagagc	6720
30	gcagatacca	aatactgtcc	ttctagtgtg	gccgtagtta	ggccaccact	tcaagaactc	6780
	tgtagcaccg	cctacatacc	tcgctctgct	aatcctgtta	ccagtggctg	ctgccagtgg	6840
	cgataagtcg	tgtcttaccg	ggttggactc	aagacgatag	ttaccggata	aggcgcagcg	6900
35	gtcgggctga	acgggggggt	cgtgcacaca	gcccagcttg	gagcgaacga	cctacaccga	6960
	actgagatac	ctacagcgtg	agctatgaga	aagcgccacg	cttcccgaag	ggagaaaggc	7020
40	ggacaggtat	ccggtaagcg	gcaggggtcgg	aacaggagag	cgcacgaggg	agcttccagg	7080
	gggaaacgcc	tggtatcttt	atagtcctgt	cgggtttcgc	cacctctgac	ttgagcgtcg	7140
	attttttgtga	tgctcgtcag	gggggaggag	cctatggaaa	aacgccagca	acgcggcctt	7200
45	tttacggttc	ctggcctttt	gctggccttt	tgctcacatg	ttctttcctg	cgttatcccc	7260
	tgattctgtg	gataaccgta	ttaccgcctt	tgagttagct	gataccgctc	gccgcagccg	7320
50	aacgaccgag	cgagcagagt	cagttagcga	ggaagcggaa	gagcgcccaa	tacgcaaacc	7380
	gcctctcccc	gcgcgttggc	cgattcatta	atgcagctgg	cacgacaggt	ttcccgaactg	7440
	gaaagcgggc	agttagcgca	acgcaattaa	tgtgagttag	ctcactcatt	aggcacccca	7500
55	ggcttttacac	tttatgcttc	cggctcgtat	gttgtgtgga	attgtgagcg	gataacaatt	7560
	tcacacagga	aacagctatg	accatgatta	cgccaagcgc	gcaattaacc	ctcactaaag	7620
60	ggaacaaaag	ctggagctgc	aagcttgcat	gctggccatt	gcatacgctg	tatccatatc	7680
	ataatatgta	catttatatt	ggctcatgtc	caacattacc	gccatgttga	cattgattat	7740
65	tgactagtta	ttaatag					7757

<210> 15
<211> 7676
<212> ADN

ES 2 759 049 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción pLTR1.13.1/GAPDH-eGFP-WPRE

5

<400> 15

	tatcataata tgtacattta tattggctca tgtccaacat taccgccatg ttgacattga	60
10	ttattgacta gttattaata gtaatcaatt acggggtcat tagttcatag cccatatatg	120
	gagttccgcg ttacataact tacggtaaatt ggcccgctg gctgaccgcc caacgacccc	180
	cgccattga cgtcaataat gacgtatgtt cccatagtaa cgccaatagg gactttccat	240
15	tgacgtcaat ggggtggagta ttacggtaa actgcccact tggcagtaca tcaagtgtat	300
	catatgccaa gtacgcccc tattgacgtc aatgacggta aatggccgc ctggcattat	360
20	gcccagtaca tgaccttatg ggactttcct acttggcagt acatctacgt attagtcac	420
	gctattacca tggatgatgc gttttggcag tacatcaatg ggcgtggata gcggtttgac	480
	tcacggggat ttccaagtct ccacccatt gacgtcaatg ggagtttgtt ttggcaccaa	540
25	aatcaacggg actttccaaa atgtcgtaac aactccgccc cattgacgca aatgggagggt	600
	aggcgtgtac ggtgggagggt ctatataagc agagctcgtt tagtgaacct ggcgcccga	660
30	cagggactgg cgactggtga gtacgccaag ctacggttaa cttttaaag aaaagggggg	720
	attgggggggt acagtgcagg ggaaagaata gtagacataa tagcaacaga catacaact	780
	aaagaattac aaaaacaaat tacaaaaatt caaaatttta tcgatcacga gactagcctc	840
35	gaggatatca gttccccaac tttcccgct ctcagccttt gaaagaaaga aaggggaggg	900
	ggcaggccgc gtgcagccgc gagcgggtgct gggctccggc tccaattccc catctcagtc	960
40	gttcccaaag tcctcctgtt tcatccaagc gtgtaaggggt ccccgctcctt gactccctag	1020
	tgtcctgctg cccacagtcc agtcctggga accagcaccg atcacctccc atcgggcaa	1080
	tctcagtcct tccccctta cgtcggggcc cacacgctcg gtgcgtgccc agttgaacca	1140
45	ggcggctgcg gaaaaaaaaa agcggggaga aagtagggcc cggtactag cggttttacg	1200
	ggcgacgta gctcaggcct caagacctg ggctgggact ggctgagcct ggcgggaggc	1260
50	ggggtccgag taccgcctg ccgcccgc cccggtttct ataaattgag cccgcagcct	1320
	cccgttctgc tctctgtctc tcctgggatc caccggctgc caccatggtg agcaagggcg	1380
	aggagctgtt caccggggtg gtgcccattc tggtcgagct ggacggcgac gtaaacggcc	1440
55	acaagttcag cgtgtccggc gagggcgagg gcgatgccac ctacggcaag ctgaccctga	1500
	agttcatctg caccaccggc aagctgcccg tgccctggcc caccctcgtg accaccctga	1560
60	cctacggcgt gcagtgttc agccgtacc ccgaccacat gaagcagcac gacttcttca	1620
	agtccgcat gccgaaggc tacgtccagg agcgcaccat cttcttcaag gacgacggca	1680
	actacaagac ccgcgccgag gtgaagtctg agggcgacac cctggtgaac cgcacgagc	1740
65	tgaaggcat cgacttcaag gaggacggca acatcctggg gcacaagctg gagtacaact	1800
	acaacagcca caacgtctat atcatggccg acaagcagaa gaacggcatc aaggtgaact	1860

ES 2 759 049 T3

	tcaagatccg	ccacaacatc	gaggacggca	gcgtgcagct	cgccgaccac	taccagcaga	1920
5	acacccccat	cggcgacggc	cccgtgctgc	tgcccgacaa	ccactacctg	agcaccagtg	1980
	ccgccctgag	caaagacccc	aacgagaagc	gcgatcacat	ggtcctgctg	gagttcgtga	2040
	ccgccgcccg	gatcactctc	ggcatggacg	agctgtacaa	gtaaagcggc	cgcgtcgaca	2100
10	atcaacctct	ggattacaaa	atttgtgaaa	gattgactgg	tattcttaac	tatgttgctc	2160
	cttttacgct	atgtggatac	gctgctttta	tgcccttgta	tcatgctatt	gcttcccgtg	2220
	tggctttcat	tttctcctcc	ttgtataaat	cctgggtgct	gtctctttat	gaggagttgt	2280
15	ggcccgttgt	caggcaacgt	ggcgtggtgt	gcactgtgtt	tgctgacgca	acccccactg	2340
	gttggggcat	tgccaccacc	tgtcagctcc	tttccgggac	tttcgctttc	cccctcccta	2400
20	ttgccacggc	ggaactcatc	gccgcctgcc	ttgcccgctg	ctggacaggg	gctcggctgt	2460
	tgggcactga	caattccgtg	gtgttgctcg	ggaagctgac	gtcctttcca	tggctgctcg	2520
	cctgtgttgc	cacctggatt	ctgcgcggga	cgctcttctg	ctacgtccct	tcggccctca	2580
25	atccagcggg	ccttccttcc	cgcggcctgc	tgccggctct	gcggcctctt	ccgcgtcttc	2640
	gccttcgccc	tcagacgagt	cggatctccc	tttgggccgc	ctccccgcct	ggaattcgag	2700
30	ctcgggtacct	ttaagaccaa	tgacttacaa	ggcagctgta	gatcttagcc	actttttaaa	2760
	agaaaagggg	ggactggaag	ggctaattca	ctcccaacga	agacaagatc	tgctttttgc	2820
	ttgtactggg	tctctctggt	tagaccagat	ctgagcctgg	gagctctctg	gctaactagg	2880
35	gaaccactg	cttaagcctc	aataaagctt	gccttgagtg	cttcaagtag	tgtgtgcccg	2940
	tctgtttgtg	gactctggta	actagagatc	cctcagaccc	ttttagtcag	tgtggaaaat	3000
40	ctctagcagt	ggcgccccga	cagggacttg	aaagcgaaa	ggaaaccaga	ggagctctct	3060
	cgacgcagga	ctcggcttgc	tgaagcgcgc	acggcaagag	gcgaggggcg	gcgactggtg	3120
	agtacgcaa	aaattttgac	tagcggaggc	tagaaggaga	gagatgggtg	cgagagcgtc	3180
45	agtattaagc	gggggagaat	tagatcgcg	tgggaaaaaa	ttcgggttaag	gccaggggga	3240
	aagaaaaaat	ataaattaaa	acatatagta	tgggcaagca	gggagctaga	acgattcgca	3300
50	gttaatcctg	gcctgttaga	aacatcagaa	ggctgtagac	aaatactggg	acagctacaa	3360
	ccatcccttc	agacaggatc	agaagaactt	agatcattat	ataatacagt	agcaaccctc	3420
	tattgtgtgc	atcaaaggat	agagataaaa	gacaccaagg	aagctttaga	caagatagag	3480
55	gaagagcaaa	acaaaagtaa	gaccaccgca	cagcaagcgg	ccgtgatct	tcagacctgg	3540
	aggaggagat	atgagggaca	attggagaag	tgaattatat	aaatataaag	tagtaaaaaat	3600
60	tgaaccatta	ggagtagcac	ccaccaaggc	aaagagaaga	gtggtgcaga	gagaaaaaag	3660
	agcagtggga	ataggagctt	tgttccttgg	gttcttggga	gcagcaggaa	gcactatggg	3720
	cgcagcgtca	atgacgtga	cggtagaggc	cagacaatta	ttgtctggta	tagtgcagca	3780
65	gcagaacaat	ttgctgaggg	ctattgaggc	gcaacagcat	ctgttgcaac	tcacagtctg	3840
	gggcatcaag	cagctccagg	caagaatcct	ggctgtggaa	agatacctaa	aggatcaaca	3900

ES 2 759 049 T3

5	gctcctgggg	atttggggtt	gctctggaaa	actcatttgc	accactgctg	tgccttgga	3960
	tgctagttag	agtaataaat	ctctggaaca	gattttggaat	cacacgacct	ggatggagtg	4020
	ggacagagaa	attaacaatt	acacaagctt	aatacactcc	ttaattgaag	aatcgcaaaa	4080
10	ccagcaagaa	aagaatgaac	aagaattatt	ggaattagat	aaatgggcaa	gtttgtggaa	4140
	ttgggtttaac	ataacaaatt	ggctgtggta	tataaaatta	ttcataatga	tagtaggagg	4200
	cttggtaggt	ttaagaatag	tttttgctgt	actttctata	gtgaatagag	ttaggcaggg	4260
15	atattcacca	ttatcgtttc	agaccacact	cccaaccccg	aggggacccg	acaggcccga	4320
	aggaatagaa	gaagaaggtg	gagagagaga	cagagacaga	tccattcgat	tagtgaacgg	4380
	atccagacat	gataagatac	attgatgagt	ttggacaaac	cacaactaga	atgcagtgaa	4440
20	aaaaatgctt	tattttgtgaa	attttgtgatg	ctatttgcttt	attttgtaacc	attataagct	4500
	gcaataaaca	agttaacaac	aacaattgca	ttcattttat	gtttcagggt	cagggggaga	4560
	tgtgggaggt	tttttaaagc	aagtaaaacc	tctacaaatg	tggtaatccc	gcccctaact	4620
25	ccgcccattc	cgcccctaac	tccgcccagt	tccgcccatt	ctccgcccc	tggctgacta	4680
	atTTTTTTT	tttatgcaga	ggccgaggcc	gcctcggcct	ctgagctatt	ccagaagtag	4740
	tgaggaggct	tttttggagg	cctagggacg	tacccaattc	gccctatagt	gagtcgtatt	4800
30	acgcgcgctc	actggccgtc	gtttttacaac	gtcgtgactg	ggaaaaccct	ggcgttacct	4860
	aacttaatcg	ccttgcagca	catccccctt	tcgccagctg	gcgtaatagc	gaagaggccc	4920
	gcaccgatcg	cccttcccaa	cagttgcgca	gcctgaatgg	cgaatggcgc	gacgcgccct	4980
35	gtagcggcgc	attaagcgcg	gcgggtgtgg	tggttacgcg	cagcgtgacc	gctacacttg	5040
	ccagcgccct	agcgcccgtc	cctttcgctt	tcttcccttc	ctttctcgcc	acgttcgccg	5100
	gctttccccg	tcaagctcta	aatcgggggc	tccctttagg	gttccgattt	agtgctttac	5160
40	ggcacctcga	ccccaaaaaa	cttgatttagg	gtgatgggtc	acgtagtggg	ccatcgccct	5220
	gatagacggt	ttttcgccct	ttgacgttgg	agtccacgtt	ctttaatagt	ggactcttgt	5280
	tccaaactgg	aacaacactc	aaccctatct	cggctctattc	ttttgattta	taagggattt	5340
45	tgccgatttc	ggcctatttg	ttaaaaaatg	agctgattta	acaaaaattt	aacgcgaatt	5400
	ttaacaaaat	attaacgttt	acaattttccc	aggtggcact	tttcggggaa	atgtgcgcgg	5460
	aacccttatt	tgttttattt	tctaaataca	ttcaaatatg	tatccgctca	tgagacaata	5520
50	accctgataa	atgcttcaat	aatattgaaa	aaggaagagt	atgagtattc	aacatttccg	5580
	tgtcgccctt	attccctttt	ttgcggcatt	ttgccttcct	gtttttgctc	accagaaac	5640
	gctggtgaaa	gtaaaagatg	ctgaagatca	gttgggtgca	cgagtgggtt	acatcgaact	5700
55	ggatctcaac	agcggtaaga	tccttgagag	ttttcgcccc	gaagaacgtt	ttccaatgat	5760
	gagcactttt	aaagtctctg	tatgtggcgc	ggatttatcc	cgtattgacg	ccgggcaaga	5820
	gcaactcgg	cgccgcatac	actatttcta	gaatgacttg	gttgagtact	caccagtcac	5880
60	agaaaaagcat	cttacggatg	gcattgacagt	aagagaatta	tgcagtgcct	ccataaccat	5940

ES 2 759 049 T3

	gagtgataac actgcggccca acttacttct gacaacgatc ggaggaccga aggagctaac	6000
5	cgctttttttg cacaacatgg gggatcatgt aactcgcctt gatcgttggg aaccggagct	6060
	gaatgaagcc ataccaaacg acgagcgtga caccacgatg cctgtagcaa tggcaacaac	6120
	gttgcgcaaa ctattaactg gcgaactact tactctagct tcccggcaac aattaataga	6180
10	ctggatggag gcgataaag ttgcaggacc acttctgctc tcggcccttc cggctggctg	6240
	gtttattgct gataaatctg gagccgggtga gcgtgggtct cgcggtatca ttgcagcact	6300
	ggggccagat ggtaagccct cccgtatcgt agttatctac acgacgggga gtcaggcaac	6360
15	tatggatgaa cgaaatagac agatcgctga gatagggtgcc tctactgatta agcattggta	6420
	actgtcagac caagtttact catatatact ttagattgat ttaaaacttc atttttaatt	6480
20	taaaaggatc taggtgaaga tcctttttga taatctcatg accaaaatcc cttaacgtga	6540
	gttttcgttc cactgagcgt cagaccccgt agaaaagatc aaaggatctt cttgagatcc	6600
	tttttttctg cgcgtaatct gctgcttgca aacaaaaaaaa ccaccgctac cagcggtggt	6660
25	ttgtttgccc gatcaagagc taccaactct ttttccgaag gtaactggct tcagcagagc	6720
	gcagatacca aatactgtcc ttctagtgtg gccgtagtta ggccaccact tcaagaactc	6780
30	tgtagcaccg cctacatacc tcgctctgct aatcctgtta ccagtggctg ctgccagtgg	6840
	cgataagtcg tgtcttaccg ggttggtgactc aagacgatag ttaccggata aggcgagcgc	6900
	gtcgggctga acgggggggtt cgtgcacaca gcccagcttg gagcgaacga cctacaccga	6960
35	actgagatac ctacagcgtg agctatgaga aagcgccacg cttcccgaag ggagaaaggc	7020
	ggacaggtat ccggttaagcg gcaggggtcgg aacaggagag cgacagaggg agcttccagg	7080
40	gggaaacgcc tggatatctt atagtcctgt cgggtttcgc cacctctgac ttgagcgtcg	7140
	atTTTTgtga tgctcgtcag gggggcggag cctatggaaa aacgccagca acgcgccctt	7200
45	tttacggttc ctggcctttt gctggccttt tgctcacatg ttctttcctg cgttatcccc	7260
	tgattctgtg gataaccgta ttaccgcctt tgagtgaact gataccgctc gccgcagccg	7320
	aacgaccgag cgcagcgagt cagtgaagca ggaagcggaa gagcgcccaa tacgcaaacc	7380
50	gcctctcccc gcgcgttggc cgattcatta atgcagctgg cacgacaggt ttcccagctg	7440
	gaaagcgggc agtgagcgca acgcaattaa tgtgagttag ctactcatt aggcaccca	7500
55	ggcttttacac tttatgcttc cggctcgtat gttgtgtgga attgtgagcg gataacaatt	7560
	tcacacagga aacagctatg accatgatta cgccaagcgc gcaattaacc ctactaaaag	7620
	ggaacaaaag ctggagctgc aagcttgcct gctggccatt gcatacgttg tatcca	7676
60	<210> 16 <211> 7819 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
65	<220> <223> Construcción pLTR1.20/GAPDH-eGFP-WPRE	
	<400> 16	

ES 2 759 049 T3

	ccattgcata	cgttgtatcc	atatcataat	atgtacat	atattggctc	atgtccaaca	60
5	ttaccgccat	gttgacattg	attattgact	agttattaat	agtaatcaat	tacgggggtca	120
	ttagttcata	gcccataatat	ggagttccgc	gttacataac	ttacggtaaa	tggcccgctt	180
	ggctgaccgc	ccaacgaccc	ccgcccattg	acgtcaataa	tgacgtatgt	tcccatagta	240
10	acgccaatag	ggactttcca	ttgacgtcaa	tgggtggagt	atttacggta	aactgcccac	300
	ttggcagtac	atcaagtgtg	tcatatgcc	agtacgcccc	ctattgacgt	caatgacggt	360
15	aaatggcccg	cctggcatta	tgccagtag	atgaccttat	gggactttcc	tacttggcag	420
	tacatctacg	tattagtc	cgctattacc	atggtgatgc	ggttttggca	gtacatcaat	480
	gggcgtggat	agcggtttga	ctcacgggga	tttccaagtc	tccaccccat	tgacgtcaat	540
20	gggagtttgt	tttggcacca	aatcaacgg	gactttccaa	aatgtcgtaa	caactccgcc	600
	ccattgacgc	aaatgggagg	taggcgtgta	cggtgggagg	tctatataag	cagagctcgt	660
25	ttagtgaacc	tggcgcccg	acagggactg	ctagcctggg	caggtaagta	tcaagggttac	720
	aagacagggt	taaggagacc	aatagaaact	gggcttgtcg	agacagagaa	gactcttgcg	780
	tttctgatag	gcacctattg	gtcttactga	catccacttt	gcctttctct	ccacagggtgt	840
30	ccactcccag	ttcgctagcg	ttaactttta	aaagaaaagg	ggggattggg	gggtacagtg	900
	caggggaaag	aatagtagac	ataatagcaa	cagacataca	aactaaagaa	ttacaaaaac	960
35	aaattacaaa	aattcaaaat	tttatcgatc	acgagactag	cctcgaggat	atcagttccc	1020
	caactttccc	gcctctcagc	ctttgaaaga	aagaaagggg	agggggcagg	ccgcgtgcag	1080
	ccgcgagcgg	tgctgggctc	cggctccaat	tccccatctc	agtcgttccc	aaagtcctcc	1140
40	tgtttcatcc	aagcgtgtaa	gggtccccgt	ccttgactcc	ctagtgtcct	gctgcccaca	1200
	gtccagtcct	gggaaccagc	accgatcacc	tcccatcggg	ccaatctcag	tcccttcccc	1260
45	cctacgtcgg	ggcccacacg	ctcggtgcgt	gcccagttga	accaggcggc	tgcggaaaaa	1320
	aaaaagcggg	gagaaagtag	ggcccggcta	ctagcggttt	tacgggcgca	cgtagctcag	1380
	gcctcaagac	cttgggctgg	gactggctga	gcctggcggg	aggcgggggtc	cgagtcaccg	1440
50	cctgccgccg	cgcccccggt	ttctataaat	tgagcccgc	gcctcccgct	tcgctctctg	1500
	ctcctcctgg	gatccaccgg	tcgccaccat	ggtgagcaag	ggcgaggagc	tgttcaccgg	1560
55	ggtggtgccc	atcctgggtc	agctggacgg	cgacgtaaac	ggccacaagt	tcagcgtgtc	1620
	cggcgagggc	gagggcgatg	ccacctacgg	caagctgacc	ctgaagttca	tctgcaccac	1680
	cggcaagctg	cccgtgccct	ggcccaccct	cgtgaccacc	ctgacctacg	gcgtgcagtg	1740
60	cttcagccgc	taccccgacc	acatgaagca	gcacgacttc	ttcaagtccg	ccatgcccga	1800
	aggctacgtc	caggagcgca	ccatcttctt	caaggacgac	ggcaactaca	agaccgcgc	1860
65	cgaggtgaag	ttcgagggcg	acaccctgg	gaaccgcac	gagctgaagg	gcatcgactt	1920
	caaggaggac	ggcaacatcc	tggggcacia	gctggagtac	aactacaaca	gccacaacgt	1980
	ctatatcatg	gccgacaagc	agaagaacgg	catcaagggtg	aacttcaaga	tccgccacia	2040

ES 2 759 049 T3

	catcgaggac	ggcagcgtgc	agctcgccga	ccactaccag	cagaacaccc	ccatcggcga	2100
5	cggccccgtg	ctgctgcccg	acaaccacta	cctgagcacc	cagtccgccc	tgagcaaaga	2160
	ccccaacgag	aagcgcgatc	acatggtcct	gctggagttc	gtgaccgccg	ccgggatcac	2220
	tctcggcatg	gacgagctgt	acaagtaaag	cggccgcgtc	gacaatcaac	ctctggatta	2280
10	caaaatttgt	gaaagattga	ctggatttct	taactatgtt	gctcctttta	cgctatgtgg	2340
	atacgctgct	ttaatgcctt	tgtatcatgc	tattgcttcc	cgtatggcct	tcattttctc	2400
	ctccttgat	aaatcctggg	tgctgtctct	ttatgaggag	ttgtggcccg	ttgtcaggca	2460
15	acgtggcgtg	gtgtgcactg	tgtttgctga	cgcaaccccc	actggttggg	gcattgccac	2520
	cacctgtcag	ctcctttccg	ggactttcgc	tttccccctc	cctattgcca	cggcggaact	2580
20	catcgccgcc	tgctttgccc	gctgctggac	aggggctcgg	ctgttgggca	ctgacaattc	2640
	cgtggtgttg	tcggggaagc	tgacgtcctt	tccatggctg	ctcgcctgtg	ttgccacctg	2700
	gattctgctg	gggacgtcct	tctgctacgt	cccttcggcc	ctcaatccag	cggaccttcc	2760
25	ttcccgccg	ctgctgcccg	ctctgcggcc	tcttcgcgt	cttcgccttc	gccctcagac	2820
	gagtcggatc	tccttttggg	ccgcctcccc	gcctggaatt	cgagctcggg	acctttaaga	2880
30	ccaatgactt	acaaggcagc	tgtagatctt	agccactttt	taaaagaaaa	ggggggactg	2940
	gaagggctaa	ttcactccca	acgaagacaa	gatctgcttt	ttgcttgtag	tggtgtctct	3000
	tggttagacc	agatctgagc	ctgggagctc	tctggctaac	tagggaaccc	actgcttaag	3060
35	cctcaataaa	gcttgccctg	agtgcctcaa	gtagtgtgtg	cccgtctgtt	gtgtgactct	3120
	ggtaactaga	gatccctcag	acccttttag	tcagtgtgga	aaatctctag	cagtggcgcc	3180
40	cgaacagggg	cttgaaagcg	aaagggaaac	cagaggagct	ctctcgacgc	aggactcggc	3240
	ttgctgaagc	gcgcacggca	agaggcgagg	ggcggcgact	ggtgagtacg	ccaaaaattt	3300
	tgactagcgg	aggctagaag	gagagagatg	ggtgcgagag	cgtcagtatt	aagcggggga	3360
45	gaattagatc	gcgatgggaa	aaaattcggg	taaggccagg	gggaaagaaa	aaatataaat	3420
	taaaacatat	agtatgggca	agcagggagc	tagaacgatt	cgcagttaat	cctggcctgt	3480
50	tagaaacatc	agaaggctgt	agacaaatac	tgggacagct	acaaccatcc	cttcagacag	3540
	gatcagaaga	acttagatca	ttatataata	cagtagcaac	cctctattgt	gtgcatcaaa	3600
	ggatagagat	aaaagacacc	aaggaagctt	tagacaagat	agaggaagag	caaaacaaaa	3660
55	gtaagaccac	cgcacagcaa	gcggccgctg	atcttcagac	ctggaggagg	agatatgagg	3720
	gacaattgga	gaagtgaatt	atataaatat	aaagtagtaa	aaattgaacc	attaggagta	3780
60	gcaccaccca	aggcaaagag	aagagtgggtg	cagagagaaa	aaagagcagt	gggaatagga	3840
	gctttgttcc	ttgggttctt	gggagcagca	ggaagcacta	tgggcgcagc	gtcaatgacg	3900
	ctgacgggtac	aggccagaca	attattgtct	ggtatagtgc	agcagcagaa	caatttgctg	3960
65	agggctattg	aggcgcaaca	gcatctgttg	caactcacag	tctggggcat	caagcagctc	4020
	caggcaagaa	tcctggctgt	ggaaagatac	ctaaaggatc	aacagctcct	ggggatttgg	4080

ES 2 759 049 T3

	ggttgctctg	gaaaactcat	ttgcaccact	gctgtgcctt	ggaatgctag	ttggagtaat	4140
5	aaatctctgg	aacagatttg	gaatcacacg	acctggatgg	agtgggacag	agaaattaac	4200
	aattacacaa	gcttaataca	ctccttaatt	gaagaatcgc	aaaaccagca	agaaaagaat	4260
	gaacaagaat	tattggaatt	agataaatgg	gcaagtttgt	ggaattgggt	taacataaca	4320
10	aattggctgt	ggtatataaa	attattcata	atgatatag	gaggcttgg	aggtttaaga	4380
	atagtttttg	ctgtactttc	tatagtgaat	agagttaggc	agggatattc	accattatcg	4440
	tttcagaccc	acctcccaac	cccgagggga	cccgacaggc	ccgaaggaat	agaagaagaa	4500
15	ggtggagaga	gagacagaga	cagatccatt	cgattagtga	acggatccag	acatgataag	4560
	atacattgat	gagtttggac	aaaccacaac	tagaatgcag	tgaaaaaaat	gctttatttg	4620
20	tgaaatttgt	gatgctattg	ctttatttgt	aaccattata	agctgcaata	aacaagttaa	4680
	caacaacaat	tgcattcatt	ttatgtttca	ggttcagggg	gagatgtggg	aggtttttta	4740
	aagcaagtaa	aacctctaca	aatgtggtaa	tcccgcccct	aactccgccc	atcccgcccc	4800
25	taactccgcc	cagttccgcc	cattctccgc	cccatggctg	actaattttt	tttatttatg	4860
	cagaggccga	ggccgcctcg	gcctctgagc	tattccagaa	gtagtgagga	ggcttttttg	4920
30	gaggcctagg	gacgtaccca	attcgcccta	tagtgagtcg	tattacgcgc	gctcactggc	4980
	cgtcgtttta	caacgtcgtg	actgggaaaa	ccctggcggt	acccaactta	atcgccctgc	5040
	agcacatccc	cctttcgcca	gctggcgtaa	tagcgaagag	gcccgcaccg	atcgcccttc	5100
35	ccaacagttg	cgcagcctga	atggcgaatg	gcgcgacgcg	ccctgtagcg	gcgcattaag	5160
	cgcgggcggt	gtgggtggta	cgcgcagcgt	gaccgctaca	cttgccagcg	ccctagcgcc	5220
40	cgctcctttc	gctttctttc	cttcctttct	cgccacgttc	gccggctttc	cccgtcaagc	5280
	tctaaatcgg	gggctccctt	tagggttccg	atttagtgct	ttacggcacc	tcgaccccaa	5340
	aaaacttgat	taggggtgatg	gttcacgtag	tgggcatcg	ccctgataga	cggtttttcg	5400
45	ccctttgacg	ttggagtcca	cgttctttta	tagtggactc	ttgttccaaa	ctggaacaac	5460
	actcaaccct	atctcggctt	attcttttga	tttataaggg	attttgccga	tttcggccta	5520
50	ttgggttaaaa	aatgagctga	tttaacaaaa	atttaacgcg	aattttaaca	aaatattaac	5580
	gtttacaatt	tcccagggtg	cacttttcgg	ggaaatgtgc	gcggaacccc	tatttgttta	5640
	tttttctaaa	tacattcaaa	tatgtatccg	ctcatgagac	aataaccctg	ataaatgctt	5700
55	caataatatt	gaaaaaggaa	gagtatgagt	attcaacatt	tccgtgtcgc	ccttattccc	5760
	ttttttgcgg	cattttgcct	tcctgttttt	gctcaccag	aaacgctgg	gaaagtaaaa	5820
60	gatgctgaag	atcagttggg	tgacagagtg	ggttacatcg	aactggatct	caacagcggt	5880
	aagatccttg	agagttttcg	ccccgaagaa	cgttttccaa	tgatgagcac	ttttaagtt	5940
	ctgctatgtg	gcgcgggtatt	atcccgtatt	gacgccgggc	aagagcaact	cggtcgccgc	6000
65	atacactatt	ctcagaatga	cttggttgag	tactcaccag	tcacagaaaa	gcattcttacg	6060
	gatggcatga	cagtaagaga	attatgcagt	gctgccataa	ccatgagtga	taacactgcg	6120

ES 2 759 049 T3

	gccaacttac	ttctgacaac	gatcggagga	ccgaaggagc	taaccgcttt	tttgacacaac	6180
5	atgggggatc	atgtaactcg	ccttgatcgt	tggaaccgg	agctgaatga	agccatacca	6240
	aacgacgagc	gtgacaccac	gatgcctgta	gcaatggcaa	caacgttgcg	caaactatta	6300
	actggcgaac	tacttactct	agcttcccgg	caacaattaa	tagactggat	ggaggcggat	6360
10	aaagttgcag	gaccacttct	gcgctcggcc	cttccggctg	gctggtttat	tgctgataaa	6420
	tctggagccg	gtgagcgtgg	gtctcgcggt	atcattgcag	cactggggcc	agatggtaag	6480
	ccctcccgtg	tcgtagttat	ctacacgacg	gggagtcagg	caactatgga	tgaacgaaat	6540
15	agacagatcg	ctgagatagg	tgcctcactg	attaagcatt	ggtaactgtc	agaccaagtt	6600
	tactcatata	tacttttagat	tgatttaaaa	cttcattttt	aatttaaaaag	gatctaggtg	6660
20	aagatccttt	ttgataatct	catgaccaa	atcccttaac	gtgagttttc	gttcactga	6720
	gcgtcagacc	ccgtagaaaa	gatcaaagga	tcttcttgag	atcctttttt	tctgcgcgta	6780
	atctgctgct	tgcaaacaaa	aaaaccaccg	ctaccagcgg	tggtttgttt	gccggatcaa	6840
25	gagctaccaa	ctctttttcc	gaaggtaact	ggcttcagca	gagcgcagat	accaaatact	6900
	gtccttctag	tgtagccgta	gttaggccac	cacttcaaga	actctgtagc	accgcctaca	6960
30	tacctcgctc	tgctaatacct	gttaccagtg	gctgctgcca	gtggcgataa	gtcgtgtctt	7020
	accgggttgg	actcaagacg	atagttaccg	gataaggcgc	agcggtcggg	ctgaacgggg	7080
	ggttcgtgca	cacagcccag	cttggagcga	acgacctaca	ccgaactgag	atacctacag	7140
35	cgtgagctat	gagaaagcgc	cacgcttccc	gaagggagaa	aggcggacag	gtatccggta	7200
	agcggcaggg	tcggaacagg	agagcgcacg	agggagcttc	cagggggaaa	cgcctgggtat	7260
40	ctttatagtc	ctgtcggggt	tcgccacctc	tgacttgagc	gtcgattttt	gtgatgctcg	7320
	tcaggggggc	ggagcctatg	gaaaaacgcc	agcaacgcgg	ccttttttacg	gttcctggcc	7380
	ttttgctggc	cttttgctca	catgttcttt	cctgcgttat	cccctgattc	tgtggataac	7440
45	cgtattaccg	cctttgagtg	agctgatacc	gctcgccgca	gccgaacgac	cgagcgcagc	7500
	gagtcagtga	gcgaggaagc	ggaagagcgc	ccaatacgca	aaccgcctct	ccccgcgcgt	7560
50	tggccgattc	attaatgcag	ctggcacgac	aggtttcccg	actggaaagc	gggcagtga	7620
	cgcaacgcaa	ttaatgtgag	ttagctcact	cattaggcac	cccaggcttt	acactttatg	7680
	cttccggctc	gtatgtttgtg	tggaattgtg	agcggataac	aatttcacac	aggaaacagc	7740
55	tatgaccatg	attacgcaa	gcgcgcaatt	aaccctcact	aaaggaaca	aaagctggag	7800
	ctgcaagctt	gcatgctgg					7819

REIVINDICACIONES

1. Vector retroviral que comprende un sitio de unión a cebador (PBS), una repetición terminal larga (LTR) y una secuencia de empaquetamiento de ARN, en el que la secuencia de empaquetamiento de ARN se encuentra en 3' de la repetición terminal larga y ninguna repetición terminal larga se encuentra en 3' de la secuencia de empaquetamiento de ARN, de manera que la transcripción inversa iniciada en el sitio de unión a cebador no conduce a la transcripción inversa de la secuencia de empaquetamiento de ARN en el ADN del vector en una célula diana.
2. Vector retroviral, según la reivindicación 1, en el que la repetición terminal larga es una LTR de autoinactivación (SIN).
3. Vector retroviral, según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que el vector comprende dos repeticiones terminales largas y la secuencia de empaquetamiento de ARN se encuentra en 3' de la repetición terminal larga en 3' y en el que, de manera preferente, ambas repeticiones terminales largas son LTR de autoinactivación (SIN).
4. Vector retroviral, según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que el sitio de unión a cebador es un sitio de unión a cebador en 5' y el vector comprende, además, un sitio de unión a cebador en 3'.
5. Vector retroviral, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la secuencia de empaquetamiento de ARN comprende la señal de empaquetamiento de ARN Ψ y en el que, de manera preferente, la secuencia de empaquetamiento de ARN también comprende el elemento de respuesta a Rev (RRE).
6. Vector retroviral, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el vector comprende, además:
 - 1) una secuencia de nucleótidos exógena para el suministro en una célula diana, tal como un transgén expresable;
 - 2) un tracto de polipurina en 3' (PPT en 3');
 - 3) un tracto de polipurina central (cPPT);
 - 4) un elemento regulador posterior a la transcripción (PRE);
 - 5) una señal de poliadenilación (poliA);
 - 6) un promotor para dirigir la transcripción del genoma del vector, en el que, de manera opcional, el sitio de unión a cebador se coloca de manera precisa en el sitio de inicio de la transcripción para el promotor que dirige la transcripción del genoma del vector; y/o
 - 7) un sitio donador principal de corte y empalme (MSD).
7. Vector retroviral, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el vector comprende, en dirección de 5' a 3', los siguientes componentes:
 - a) 5' - promotor - PBS - transgén expresable - LTR - PBS - secuencia de empaquetamiento de ARN - 3'; o
 - b) 5' - promotor - LTR - PBS - transgén expresable - LTR - secuencia de empaquetamiento de ARN - 3'.
8. Vector retroviral, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el vector comprende, en dirección de 5' a 3', los siguientes componentes:
 - a) 5' - promotor - PBS - MSD (opcional) - cPPT (opcional) - transgén expresable - WPRE (opcional) - PPT - LTR - PBS - MSD (opcional) - secuencia de empaquetamiento de ARN - señal de poliA (opcional) - 3'; o
 - b) 5' - promotor - LTR - PBS - MSD (opcional) - cPPT (opcional) - transgén expresable - WPRE (opcional) - PPT - LTR - MSD (opcional) - secuencia de empaquetamiento de ARN - señal de poliA (opcional) - 3'.
9. Célula huésped, un virión o una composición farmacéutica que contiene el vector, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.
10. Vector, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o el virión, según la reivindicación 9, para utilizar en terapia, tal como terapia génica.
11. Vector, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o el virión, según la reivindicación 9, para utilizar en el suministro de un transgén a un individuo en terapia génica.
12. Procedimiento de suministro de un gen a una célula diana, comprendiendo el procedimiento administrar una cantidad eficaz del vector, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o el virión, según la reivindicación 9, a la célula diana, en el que la célula diana no está en un cuerpo humano o animal, y en el que el vector o virión comprende un transgén expresable.
13. Célula producida mediante el procedimiento, según la reivindicación 12, en la que la célula contiene el vector, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o el virión, según la reivindicación 9, en el que el vector o virión comprende un transgén expresable.
14. Animal transgénico mamífero no humano producido mediante un procedimiento que comprende administrar una cantidad eficaz del vector, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o el virión, según la reivindicación 9, al

animal, en el que el vector o virión comprende un transgén expresable, en el que, después de la administración, el animal comprende una célula que contiene el vector, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o el virión, según la reivindicación 9, y en el que el vector o virión comprende un transgén expresable.

5

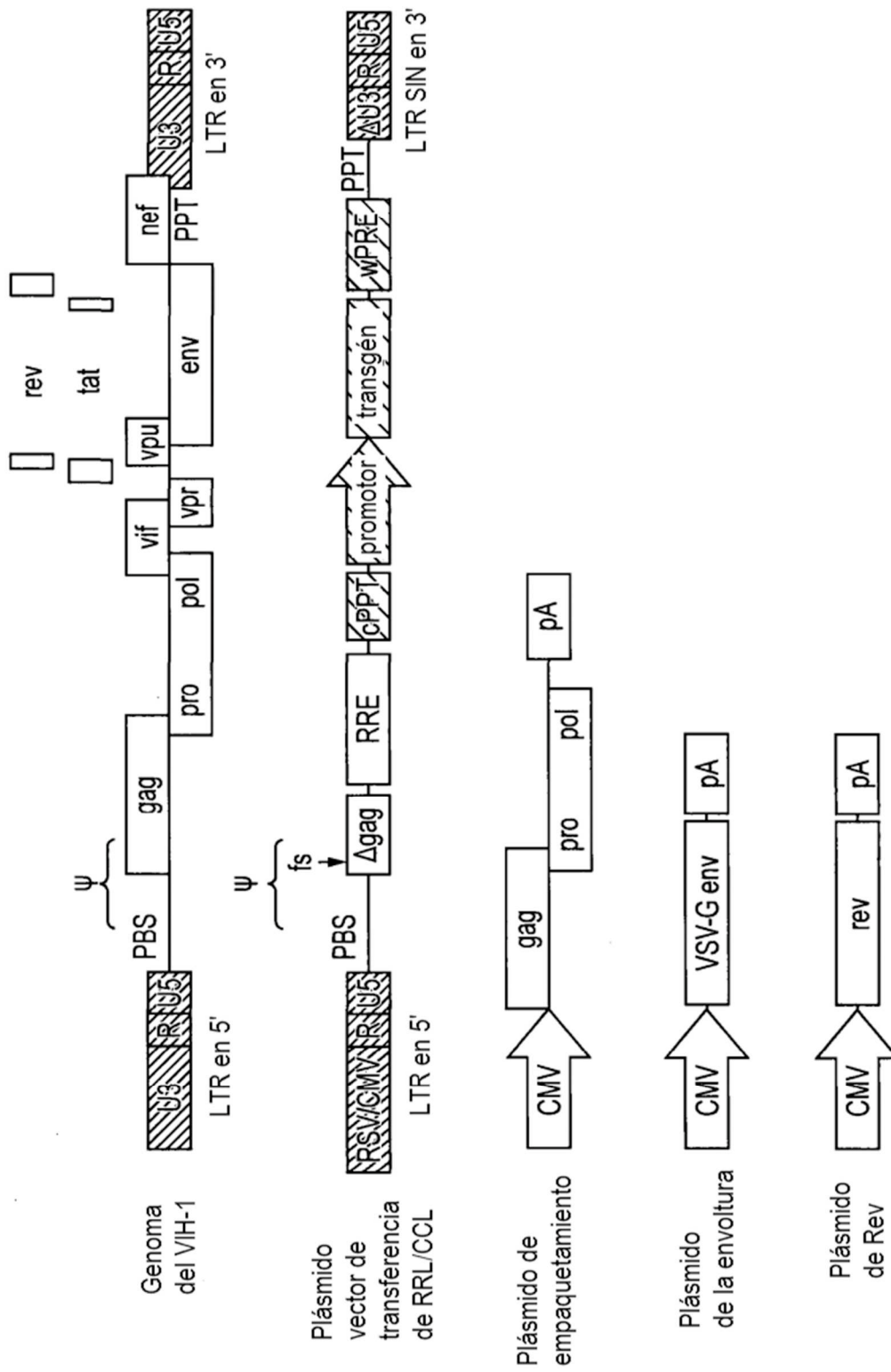


FIG. 1

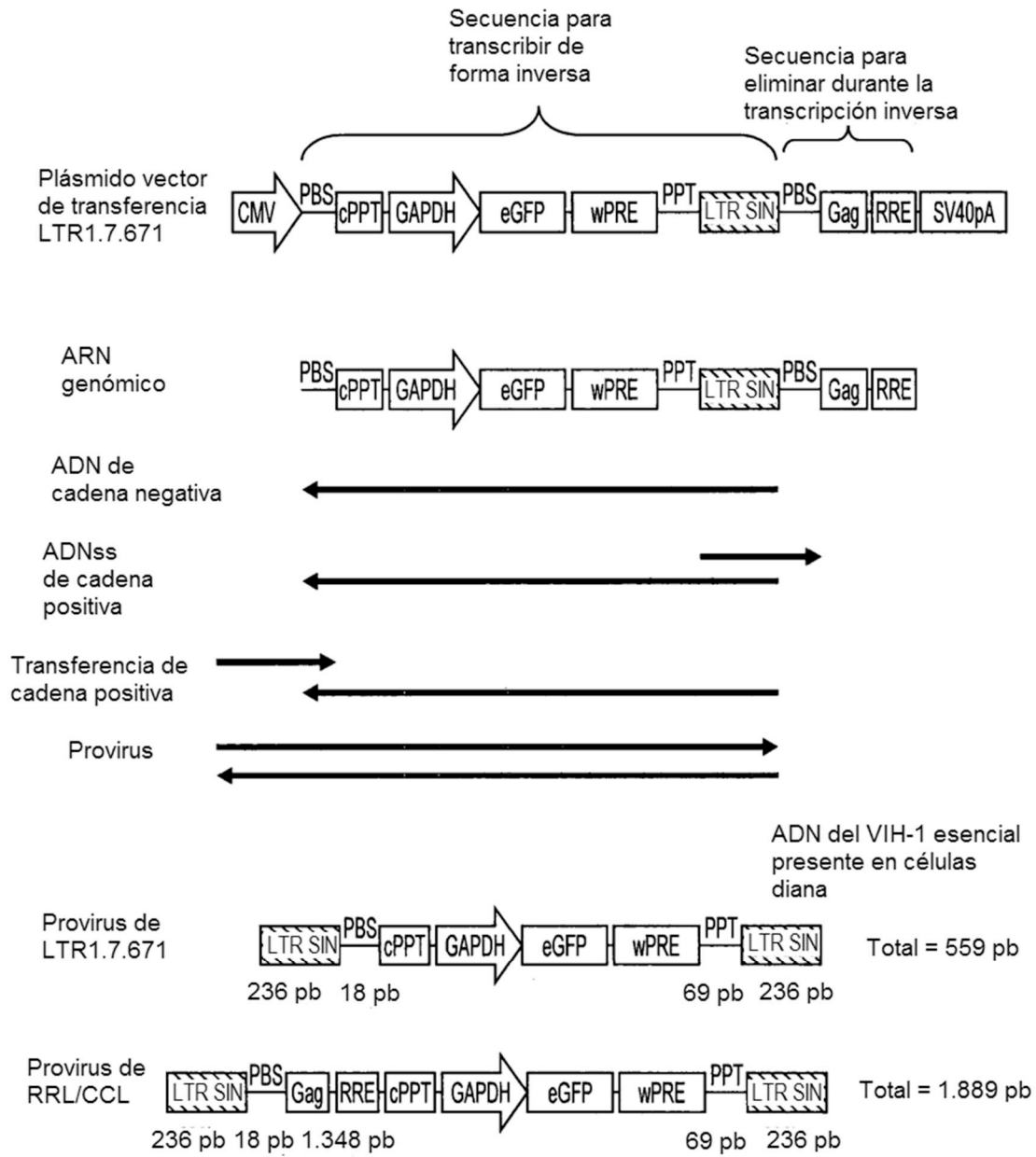


FIG. 2

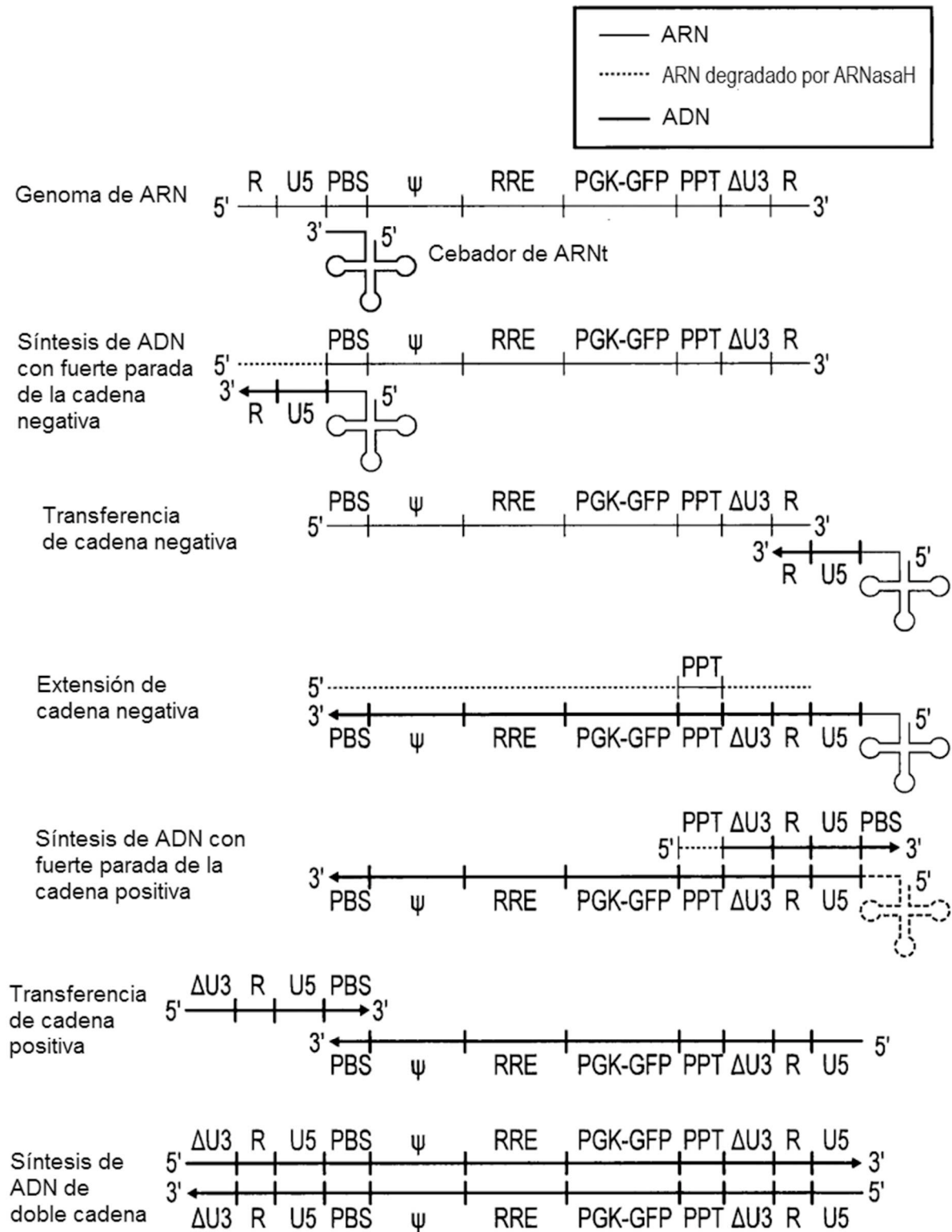


FIG. 3

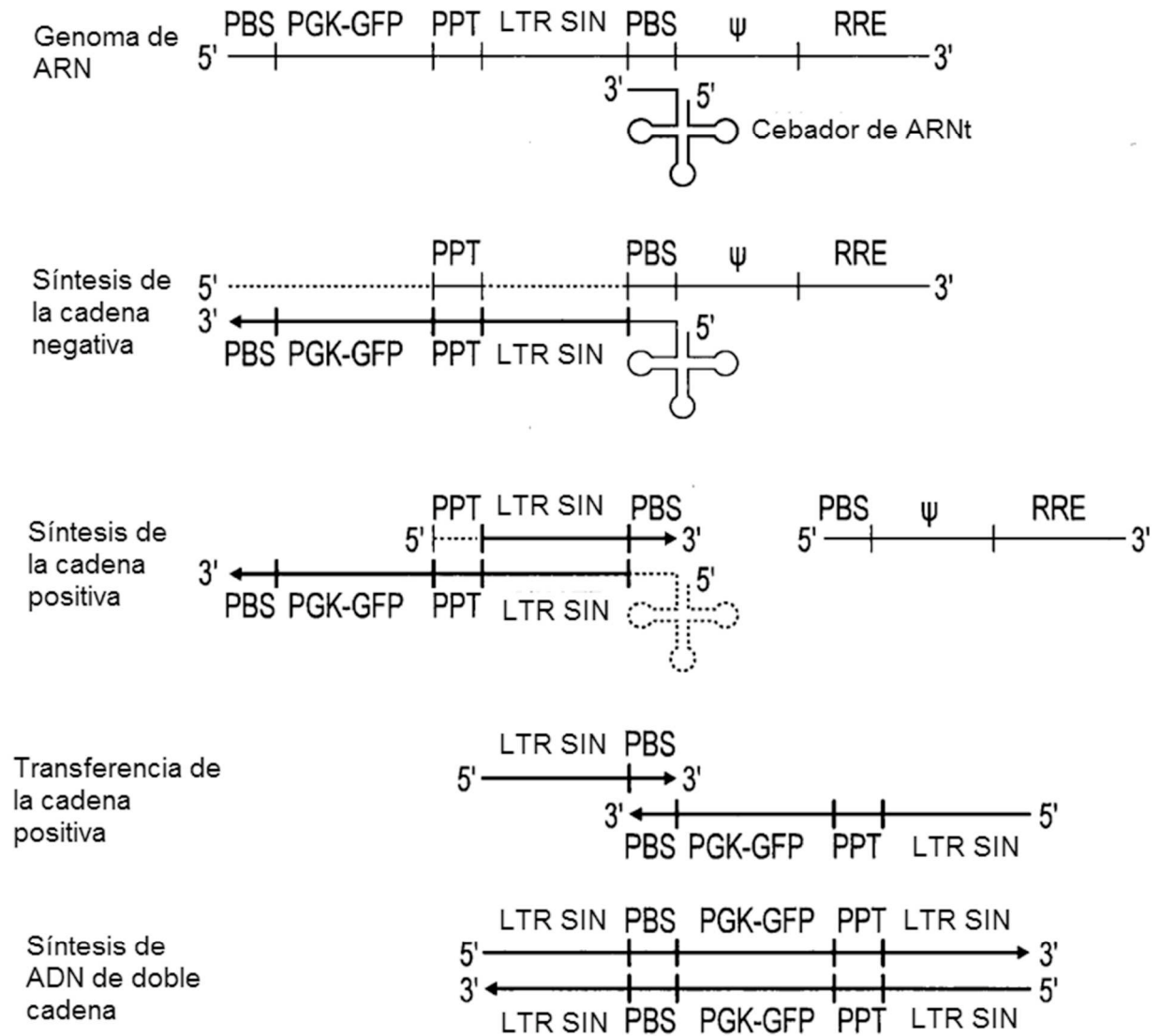


FIG. 4

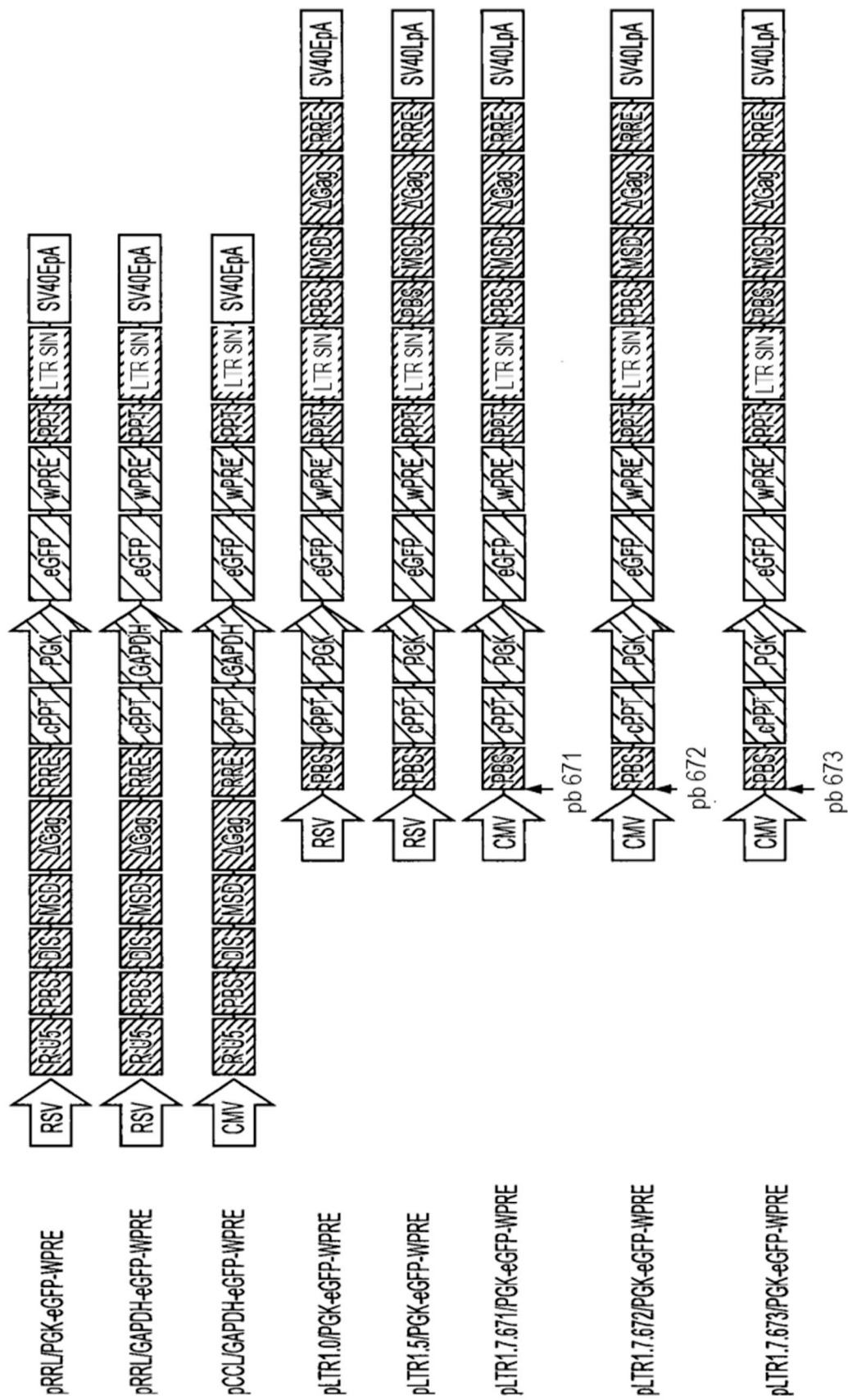


FIG. 5

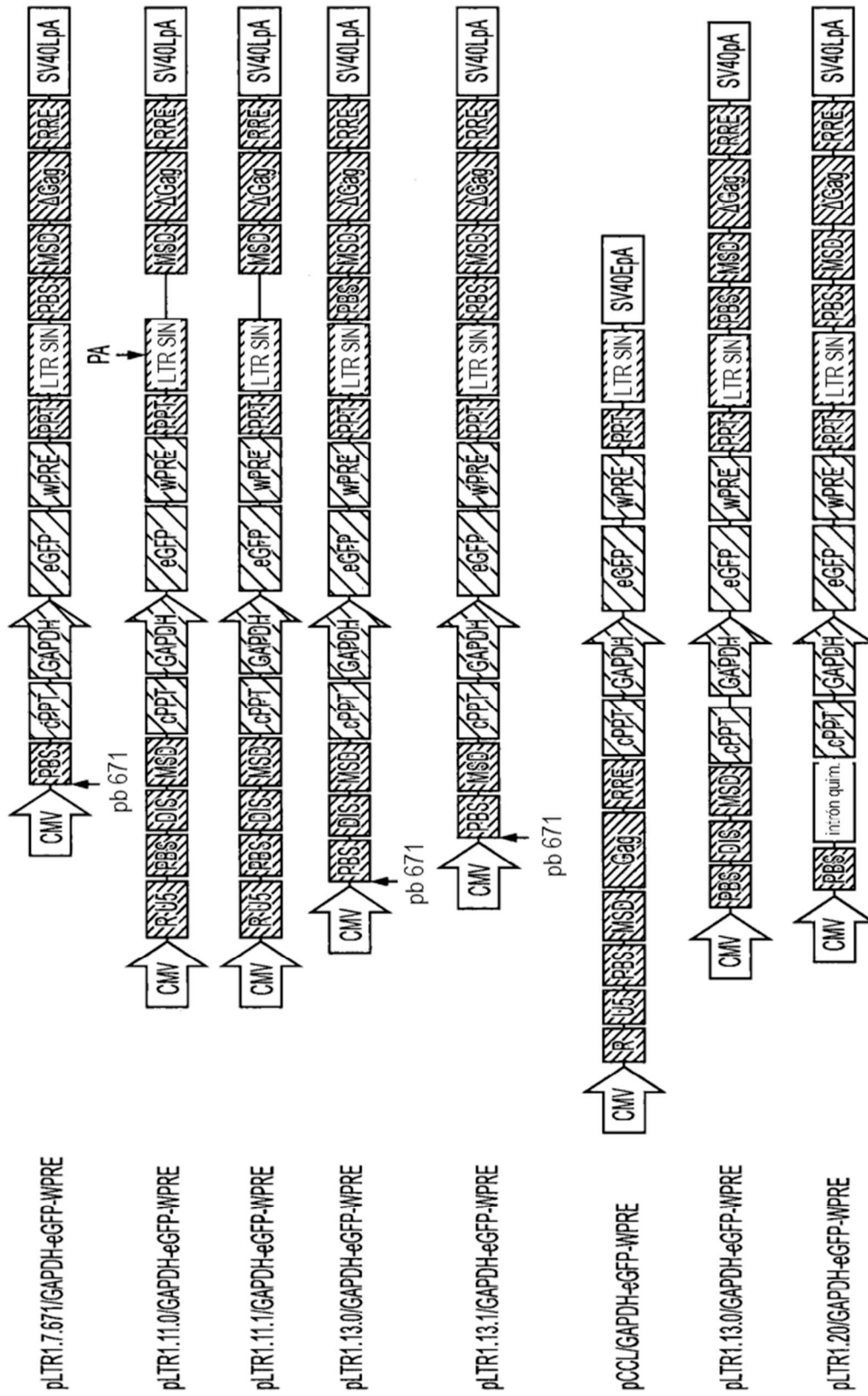


FIG. 5 (continuación)

REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

Esta lista de referencias citada por el solicitante es únicamente para mayor comodidad del lector. No forman parte del documento de la Patente Europea. Incluso teniendo en cuenta que la compilación de las referencias se ha efectuado con gran cuidado, los errores u omisiones no pueden descartarse; la EPO se exime de toda responsabilidad al respecto.

Documentos de patentes citados en la descripción

- US 5741486 A
- US 5714353 A
- WO 95032298 A
- GB 1318347 A

Literatura no patente citada en la descripción

- Retroviruses. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1997
- SAMBROOK et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor, 1989
- SUERTH JD ; MAETZIG T ; GALLA M ; BAUM C ; SCHAMBACH A. *Journal of Virology*, 01 July 2010, vol. 84 (13), 6626-35
- HILDINGER M ; ABEL KL ; OSTERTAG W ; BAUM C. *Journal of Virology*, 01 May 1999, vol. 73 (5), 4083-9
- ZUFFEREY R ; DULL T ; MANDEL RJ ; BUKOVSKY A ; QUIROZ D ; NALDINI L et al. *Journal of Virology*, 01 December 1998, vol. 72 (12), 9873-80
- JARRAYA B+ ; BOULET S ; SCOTT RALPH G ; JAN C ; BONVENTO G ; AZZOUZ M et al. *Science Translational Medicine*, 14 October 2009, vol. 1 (2), 2ra4
- HEINKELEIN M ; DRESSLER M ; JÍRMY G ; RAMMLING M ; IMRICH H ; THUROW J et al. *Journal of Virology*, 15 April 2002, vol. 76 (8), 3774-83
- BURNS JC ; FRIEDMANN T ; DRIEVER W ; BURRASCANO M ; YEE JK. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 01 September 1993, vol. 90 (17), 8033-7 [0101]
- MALIM MH ; HAUBER J ; LE SY ; MAIZEL JV ; CULLEN BR. *Nature*, 16 March 1989, vol. 338 (6212), 254-7
- COCKRELL A ; VAN PRAAG H ; SANTISTEVAN N ; MA H ; KAFRI T. *Retrovirology*, 2011, vol. 8 (1), 51
- SIRVEN A ; PFLUMIO F ; ZENNOU V ; TITEUX M ; VAINCHENKER W ; COULOMBEL L et al. *Blood*, 15 December 2000, vol. 96 (13), 4103-10
- HIGASHIMOTO T ; URBINATI F ; PERUMBETI A ; JIANG G ; ZARZUELA A ; CHANG LJ et al. *Gene Ther*, 28 June 2007, vol. 14 (17), 1298-304
- CESANA D ; SGUALDINO J ; RUDILOSIO L ; MERELLA S ; NALDINI L ; MONTINI E. *J Clin Invest*, 01 May 2012, vol. 122 (5), 1667-76
- MOIANIA ; PALEARI Y ; SARTORID ; MEZZADRA R ; MICCIO A ; CATTOGLIO C et al. *J Clin Invest*, 01 May 2012, vol. 122 (5), 1653-66
- ALMARZA D ; BUSSADORI G ; NAVARRO M ; MAVILIO F ; LARCHER F ; MURILLAS R. *Gene Ther*, July 2011, vol. 18 (7), 674-81
- CAVAZZANA-CALVO M ; PAYEN E ; NEGRE O ; WANG G ; HEHIR K ; FUSIL F et al. *Nature*, 16 September 2010, vol. 467 (7313), 318-22
- HANAWA H ; PERSONS DA ; NIENHUIS AW. *Journal of Virology*, 01 July 2005, vol. 79 (13), 8410-21
- HE J ; YANG Q ; CHANG LJ. *Journal of Virology*, 01 November 2005, vol. 79 (21), 13497-508
- LU J ; ZHANG F ; XU S ; FIRE AZ ; KAY MA. *Mol Ther*, November 2012, vol. 20 (11), 2111-9
- KUMAR M ; KELLER B ; MAKALOU N ; SUTTON RE. *Hum Gene Ther*, 10 October 2001, vol. 12 (15), 1893-905
- DESCOURS B ; CRIBIER A ; CHABLE-BESSIA C ; AYINDE D ; RICE G ; CROW Y et al. *Retrovirology*, 23 October 2012, vol. 9, 87
- CUI Y ; IWAKUMA T ; CHANG LJ. Contributions of Viral Splice Sites and cis-Regulatory Elements to Lentivirus Vector Function. *Journal of Virology*, 01 July 1999, vol. 73 (7), 6171-6
- KOTSOPOULOU E ; KIM VN ; KINGSMAN AJ ; KINGSMAN SM ; MITROPHANOUS KA. *Journal of Virology*, 15 May 2000, vol. 74 (10), 4839-52
- KOLDEJ R ; ANSON D. *BMC Biotechnology*, 2009, vol. 9 (1), 86
- DELVIKS KA ; PATHAK VK. *Journal of Virology*, 01 October 1999, vol. 73 (10), 7923-32
- SRINIVASAKUMAR N. *Peer J*, 04 June 2013, vol. 1, e84
- TORNE-CELER C ; MOREAU K ; FAURE C ; VERDIER G ; RONFORT C. *Intervirology*, 2008, vol. 51 (6), 447-52
- TORNE-CELER C ; MOREAU K ; FAURE C ; VERDIER G+ ; RONFORT C. *Arch Virol*, 2008, vol. 153 (12), 2233-43
- UCHE RM ; ENSSLE J ; KIEM HP. *Sci Rep*, 01 June 2012, vol. 2

- **FANG Y ; GONG X ; XU M ; ZENG F ; ZHANG J.** *J Gene Med*, 01 February 2013, vol. 15 (2), 102-12
- **VORONIN YA ; PATHAK VK.** *Journal of Virology*, 15 May 2004, vol. 78 (10), 5402-13
- **AKI T ; YANAGISAWA S ; AKANUMA H.** *Journal of Biochemistry*, 01 August 1997, vol. 122 (2), 271-8
- **FULLER M ; ANSON DS.** *Hum Gene Ther*, November 2001, vol. 20;12 (17), 2081-93
- **CARSWELL S ; ALWINE JC.** *Molecular and Cellular Biology*, 01 October 1989, vol. 9 (10), 4248-58
- **ISOMURA H ; STINSKI MF ; KUDOH A ; NAKAYAMA S ; MURATA T ; SATO Y et al.** *Journal of Virology*, 15 January 2008, vol. 82 (2), 849-58
- **PERKINS KJ ; LUSIC M ; MITAR I ; GIACCA M ; PROUDFOOT NJ.** *Molecular Cell*, 18 January 2008, vol. 29 (1), 56-68
- **ASHE MP ; PEARSON LH ; PROUDFOOT NJ.** *EMBO J*, 15 September 1997, vol. 16 (18), 5752-63
- **FURGERA ; BINNIE JMO ; LEE BA ; PROUDFOOT NJ.** *Genes & Development*, 01 November 2002, vol. 16 (21), 2792-9