

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 554 703**

51 Int. Cl.:

**C12N 15/82** (2006.01)  
**A61K 39/145** (2006.01)  
**A61P 31/16** (2006.01)  
**A61P 37/04** (2006.01)  
**C07K 14/11** (2006.01)  
**C12N 15/44** (2006.01)  
**C12N 7/01** (2006.01)  
**C12N 7/02** (2006.01)  
**C12N 15/29** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.01.2009 E 12183854 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.08.2015 EP 2610345**

54 Título: **Partículas recombinantes semejantes al virus de la influenza (VLP) producidas en plantas transgénicas que expresan hemaglutinina**

30 Prioridad:

**22.01.2008 US 22775 P**  
**21.01.2008 CA 2615372**  
**11.07.2008 WO PCT/CA2008/001281**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**22.12.2015**

73 Titular/es:

**MEDICAGO INC. (100.0%)**  
**1020 route de l'Eglise Suite 600**  
**Québec, Québec G1V 3V9, CA**

72 Inventor/es:

**D'Aoust, Marc-André;**  
**Couture, Manon;**  
**Ors, Frédéric;**  
**Trépanier, Sonia;**  
**Lavoie, Pierre-Olivier;**  
**Dargis, Michèle;**  
**Vézina, Louis-Philippe y**  
**Landry, Nathalie**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

ES 2 554 703 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

Partículas recombinantes semejantes al virus de la influenza (VLP) producidas en plantas transgénicas que expresan hemaglutinina.

## Campo de la invención

- 5 La presente invención se relaciona con la producción de partículas semejantes a virus. Más específicamente, la presente invención se dirige a la producción de partículas semejantes a virus que comprenden antígenos de influenza.

## Antecedentes de la invención

- 10 La influenza es la causa que conduce a muerte en humanos debido a un virus respiratorio. Los síntomas comunes incluyen fiebre, dolor de garganta, dificultad para respirar, y dolor muscular, entre otros. Durante temporada de gripe, el virus de la influenza infecta 10-20% de la población alrededor del mundo, que conduce a 250-500,000 muertes anualmente.

- 15 Los virus de la influenza son virus envueltos que brotan de la membrana de plasma de mamíferos infectados y células aviares. Se clasifican en los tipos A, B, o C, con base en las nucleoproteínas y antígenos de proteína de matriz presentes. Los virus de influenza tipo A se pueden dividir adicionalmente en subtipos de acuerdo con la combinación de glucoproteínas de superficie de hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA) presentes. El HA domina la capacidad del virus para unirse a y penetrar la célula anfitriona. El NA retira los residuos terminales de ácido siálico de cadena de glucano en la célula anfitriona y las proteínas de superficie vírica, que evitan la agregación vírica y facilitan la movilidad del virus. Actualmente, se reconocen 16 subtipos HA (H1-H16) y 9 subtipos NA (N1-N9).
- 20 Cada virus de la influenza tipo A presenta un tipo de glucoproteína HA y un tipo de glucoproteína NA. De manera general, cada subtipo exhibe especificidad de las especies; por ejemplo, se sabe que todos los subtipos HA y NA infectan aves, mientras que solo se ha mostrado que los subtipos H1, H2, H3, H5, H7, H9, H10, N1, N2, N3 y N7 infectan humanos (Horimoto 2006; Suzuki 2005). El virus de la influenza que comprende H5, H7 y H9 se considera las formas más altamente patogénicas de los virus de la influenza A, y más probablemente provocarán pandemias futuras.
- 25

- Las pandemias de influenza son provocadas usualmente mediante el virus de la influenza altamente transmisible y virulento, y pueden conducir a niveles elevados de enfermedad y muerte globalmente. La emergencia de los nuevos subtipos de influenza A resulta en 4 pandemias principales en el siglo 20. La gripe española, provocada por un virus H1N1, en 1918-1919 llevo a la muerte a más de 50 millones de personas alrededor del mundo entre 1917 y 1920.
- 30 En la actualidad, siempre está presente el riesgo de emergencia de un nuevo subtipo, o de la transmisión a humanos de un subtipo endémico en animales. Es de interés particular una forma altamente virulenta de influenza aviar (así llamada "gripe aviar"), cuyos brotes se han reportado en diversos países alrededor del mundo. En muchos casos, esta gripe aviar puede resultar en tasa de mortalidad que se aproxima a 100% dentro de 48 horas. La propagación del virus de influenza aviar (H5N1), primero identificado en Hong Kong en 1997, a otros países Asiáticos y Europa ha sido propuesta para ser vinculada a los patrones migratorios de aves silvestres.
- 35

- El método actual para combatir la influenza en humanos es mediante vacunación anual. La vacuna es usualmente una combinación de varias cepas que se predice son las cepas dominantes para la llegada de la "temporada de gripe". La predicción se coordina por la Organización Mundial de la Salud. De manera general, el número de dosis de vacuna producidas cada año no es suficiente para vacunar la población alrededor del mundo. Por ejemplo,
- 40 Canadá y Estados Unidos obtienen suficientes dosis de vacunas para inmunizar alrededor de un tercio de su población, mientras que solo se puede vacunar 17% de la población de la Unión Europea. Es evidente que la producción actual alrededor del mundo de la vacuna de influenza sería insuficiente frente a una pandemia de gripe a nivel mundial. Incluso si la producción anual necesaria de alguna forma puede ser atendida en un año dado, las cepas dominantes cambian de año a año, por lo tanto no es práctico el almacenamiento en momentos de baja necesidad en el año. La producción económica, a gran escala de una vacuna de influenza efectiva es de interés significativo para el gobierno y la industria privada.
- 45

- Las existencias víricas para uso en vacuna se producen en huevos fertilizados. Las partículas de virus se cosechan, y para una vacuna vírica inactiva, se interrumpen mediante detergente para inactivarlas. Las vacunas atenuadas vivas se hacen de los virus de la influenza que se adaptan para crecimiento a baja temperatura lo que significa que a una temperatura corporal normal, la vacuna se atenúa. Dicha vacuna está licenciada en Estados Unidos para uso en individuos de 5 a 49 años de edad. Las vacunas del virus completo inactivo se neutralizan mediante inactivación con agentes químicos y se han producido en huevos embrionarios o cultivo celular de mamífero. Todos estos tipos de vacunas muestran algunas ventajas y desventajas específicas. Una ventaja de las vacunas derivadas de virus completos es el tipo de inmunidad inducida por dichas vacunas. En general, las vacunas divididas inducen una
- 50 respuesta de anticuerpo fuerte mientras que las vacunas hechas de virus completo inducen una respuesta de
- 55

anticuerpo (humoral) y celular. Aunque una respuesta de anticuerpo funcional es un criterio para obtener la licencia que se correlaciona con la protección inducida por vacuna, existe aumento de evidencia que también es importante una respuesta de células T en inmunidad de influenza, esto también puede proporcionar mejor protección en ancianos.

5 Con el propósito de inducir una respuesta celular inmunitaria, se desarrollan vacunas hechas de virus completos. Debido a la alta patogenicidad de la cepa de influenza (por ejemplo H5N1), estas vacunas se producen en instalaciones BL3+. Para cepas de influenza altamente patogénicas tales como H5N1, algunos fabricantes han modificado la secuencia de genes de hemaglutinina con el propósito de reducir la patogenicidad de la cepa de influenza y para hacerla no virulenta y producida más fácilmente en huevos embrionarios o cultivo celular de mamífero. Otros también utilizan cepas de influenza reagrupadas en las que las secuencias genéticas para las proteínas hemaglutinina y neuraminidasa se clonan en una cepa donante de influenza de baja patogenicidad de alto rendimiento (A/PR/8/34; Quan F-S et al, 2007). Mientras que estos métodos pueden producir vacunas útiles, no proporcionan una solución a la necesidad para producción de alto volumen, bajo coste y producción rápida de vacunas a escala necesaria para cumplir la necesidad global en un año normal, y es casi seguro que será insuficiente frente a una pandemia.

Al utilizar esta tecnología genética inversa, también se podría necesitar mutar la secuencia genética de la proteína HA para hacerla no virulenta. Para cepas de influenza altamente patogénicas, la producción de vacunas de virus completos requiere procedimientos de confinamiento o las vacunas resultantes no emparejan exactamente la secuencia genética del virus circulante. En el caso de vacunas atenuadas vivas, aún subsiste un riesgo de que la vacuna administrada pueda recombinar con un virus de influenza del anfitrión, lo que conduce a un nuevo virus de influenza.

Aunque este método mantiene el epítipo antigénico y las modificaciones postraduccionales, se presenta una serie de inconvenientes para este método, que incluyen el riesgo de contaminación debido al uso del virus completo y rendimientos variables dependiendo de la cepa del virus. Los niveles subóptimos de protección pueden resultar de heterogeneidad genética en el virus debido a su introducción en huevos. Otras desventajas incluyen planeación extensa para obtener los huevos, riesgos de contaminación debido a los agentes químicos utilizados en la purificación, y largos periodos de producción. También, las personas hipersensibles a las proteínas de los huevos no pueden ser candidatos elegibles para recibir la vacuna.

En el caso de una producción de vacuna dividida pandémica, se limita por la necesidad de adaptar la cepa para que crezca en los huevos y lograr rendimientos de producción variables. Aunque esta tecnología se ha utilizado durante años para la producción de vacunas de estación, puede responder fuertemente en un lapso de tiempo deseable a una pandemia y se limita la capacidad de fabricación alrededor del mundo.

Para evitar el uso de huevos, los virus de la influenza también se han producido en cultivos celulares de mamíferos, por ejemplo en células MDCK o PERC.6, o similares. Otro método es la genética inversa, en la que los virus se producen para transformación de células con genes víricos. Sin embargo, estos métodos también requieren el uso del virus completo así como también métodos elaborados y ambientes de cultivo específicos.

Se han desarrollado diversos productos recombinantes como candidatos de vacuna de influenza recombinante. Estos métodos se han enfocado en la expresión, producción, y purificación de las proteínas HA y NA de influenza tipo A, que incluyen la expresión de estas proteínas utilizando células de insectos infectadas con baculovirus (Crawford et al, 1999; Johansson, 1999), vectores víricos, y construcciones de vacuna de ADN (Olsen et al., 1997).

Se conocen bien los detalles específicos de infección por virus de influenza. En resumen, el ciclo infeccioso se inicia por la unión de la proteína HA de superficie de viriones a un receptor que contiene ácido siálico (glucoproteínas y glucolípidos). La proteína NA media el procesamiento del receptor de ácido siálico, y la penetración del virus en la célula depende de endocitosis mediada por el receptor dependiente de HA. En las fronteras ácidas de endosomas internalizadas que contienen un virión de influenza, la proteína HA experimenta cambios conformacionales que conducen a fusión de membranas víricas y celulares y liberación mediada por M2 y no recubrimiento de virus de las proteínas M1 de – ribonucleoproteínas asociadas con nucleocápsido (RNP), que migran en el núcleo celular para síntesis de ARN vírico. Los anticuerpos para proteínas HA evitan la infección del virus al neutralizar la capacidad de infección del virus, mientras que los anticuerpos en las proteínas NA median su efecto en las etapas tempranas de replicación vírica.

Crawford et al. (1999) describe la expresión de influenza HA en células de insecto infectadas con baculovirus. Se describen proteínas expresadas como capaces de evitar la enfermedad de influenza letal provocada por los subtipos de influenza H5 y H7 aviar. Johansson et al. (1999) enseña que las proteínas que expresan influenza HA y NA de baculovirus inducen respuestas inmunitarias en animales superiores a aquellas inducidas por una vacuna convencional. La inmunogenicidad y eficacia de hemaglutinina expresada en baculovirus de virus de influenza equino se compara con un candidato de vacuna de ADN homólogo (Olsen et al., 1997). Colectivamente, estos datos

demuestran que un alto grado de protección contra exposición al virus de influenza se puede inducir con proteínas recombinantes HA o NA, utilizando diversos métodos experimentales y en diferentes modelos de animal.

En razón a que la investigación previa ha mostrado que las glucoproteínas de influenza de superficie, HA y NA, son los objetivos principales para la provocación de inmunidad protectora contra virus de influenza y que M1 proporciona un objetivo conservado para inmunidad celular a influenza, un nuevo candidato de vacuna puede incluir estos antígenos víricos como una partícula de proteína macromolecular, tal como partículas semejantes a virus (VLP). Como productos de vacuna, los VLP ofrecen la ventaja de ser más inmunogénicos que los antígenos recombinantes o la subunidad y son capaces de estimular la respuesta inmune celular y humoral (Grgacic and Anderson, 2006). Adicionalmente, la partícula con estos antígenos de influenza puede exhibir epítomos conformacionales que provocan neutralización de anticuerpos para múltiples cepas del virus de la influenza.

La producción de una cepa no infecciosa del virus de influenza para propósitos de vacuna es una forma de evitar la infección inadvertida. Alternativamente, se han investigado partículas semejantes a virus (VLP) como sustitutos para el virus cultivado. Los VLP imitan la estructura del cápsido vírico, pero carecen de un genoma, y no pueden replicar de esta forma o proporcionar un medio para una infección secundaria.

Diversos estudios han demostrado que las proteínas de influenza recombinantes se autoensamblan en los VLP en cultivo celular utilizando plásmidos de expresión de mamífero o vectores de baculovirus (Gomez-Puertas et al., 1999; Neumann et al., 2000; Latham and Galarza, 2001). Gomez-Puertas et al. (1999) describe que la formación eficiente de la influenza VLP depende de los niveles de expresión de diversas proteínas víricas. Neumann et al. (2000) establece un sistema con base en la expresión de plásmido de mamífero para generar partículas de influenza infecciosas semejantes a virus completamente a partir de cADN clonados. Latham and Galarza (2001) reportan la formación de los VLP de influenza en células de insecto infectadas con genes que coexpresan baculovirus recombinante HA, NA, M1, y M2. Estos estudios demuestran que las proteínas de virión de influenza se pueden autoensamblar luego de coexpresión en células eucarióticas.

Gomez-Puertas et al. (2000) enseña que, además de la hemaglutinina (HA), la proteína de matriz (M1) de los virus de influenza es esencial para brotes VLP de células de insectos. Sin embargo, Chen et al. (2007) enseña que M1 no se puede requerir para formación de VLP, y observa que la liberación eficiente de M1 y los VLP requeridos en la presencia de HA y la actividad de sialidasa se proporciona por NA. El NA divide los ácidos siálicos de las glucoproteínas en la superficie de las células que producen los VLP, y liberan los VLP en el medio.

Quan et al 2007 enseña que una vacuna VLP producida en un sistema de expresión de baculovirus (célula de insecto) induce una inmunidad protectora contra algunas cepas de virus de influenza (A/PR8/34 (H1N1)). Se observa que los VLP estudiados por Quan brotan de la membrana de plasma, y se considera que son del tamaño y morfología correcta, semejante a aquellos obtenidos en un sistema de mamífero (células MDCK).

Las Publicaciones PCT WO 2004/098530 y WO 2004/098533 enseñan la expresión de HN de Virus de Enfermedad de Newcastle o Influenza aviar A/pavo/Wisconsin/68 (H5N9) en células NT-1 transformadas (tabaco) en el cultivo. Las composiciones que comprenden los polipéptidos expresados en el cultivo celular de planta provocan diversas respuestas inmunitarias en conejos y pollos.

Los virus envueltos pueden obtener su envoltura de lípidos cuando 'brotan' fuera de la célula infectada y obtienen la membrana de la membrana de plasma, o de aquella de un organelo interno. Las partículas del virus de influenza y los VLP brotan de la membrana de plasma de la célula anfitriona. En sistemas de células de mamífero o baculovirus, por ejemplo, la influenza brota de la membrana de plasma (Quan et al 2007). Solo se conocen unas pocas envolturas del virus para infectar plantas (por ejemplo, miembros de los Topovirus y Rhabdovirus). Los virus envueltos de plantas conocidos, se caracterizan por brotar de membranas internas de la célula anfitriona, y no de la membrana de plasma. Aunque se ha producido un número pequeño de VLP recombinantes en anfitriones de planta, ninguno se deriva de la membrana de plasma, que plantea la pregunta de si los VLP derivados de la membrana de plasma, que incluyen los VLP de influenza se pueden producir en plantas.

Las tecnologías actuales de producción de VLP de influenza se basan en la coexpresión de múltiples proteínas víricas, y esta dependencia representa un inconveniente en estas tecnologías debido al caso de una pandemia y de epidemias anuales, el tiempo de respuesta es crucial para la vacunación. Es deseable un sistema de producción VLP más simple, por ejemplo, uno que se base en la expresión de solo una o unas pocas proteínas víricas sin requerir la expresión de proteínas víricas no estructurales para acelerar el desarrollo de las vacunas.

Con el propósito de proteger la población mundial de influenza y para evitar pandemias futuras, los fabricantes de vacunas necesitarán desarrollar métodos rápidos, efectivos que produzcan dosis de vacuna. El uso actual de huevos fertilizados para producir vacunas es insuficiente e implica un proceso largo.

Resumen de la invención



Es un objeto de la invención proporcionar partículas mejoradas semejantes al virus de la influenza (VLP).

De acuerdo con la presente invención se proporciona un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un antígeno de un virus envuelto ligado operativamente a una región reguladora activa en una planta. El antígeno puede ser una hemaglutinina de influenza (HA).

- 5 El HA puede comprender un péptido de señal natural, o no natural; el péptido de señal no natural puede ser un péptido de señal de isomerasa de disulfuro de proteína.

- 10 El HA codificado por el ácido nucleico puede ser una influenza tipo A, una influenza tipo B, o es un subtipo de influenza tipo A, seleccionado del grupo que comprende H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, y H16. En algunos aspectos de la invención, el HA codificado por el ácido nucleico puede ser de una influenza tipo A, y se selecciona del grupo que comprende H1, H2, H3, H5, H6, H7 y H9.

La presente invención también proporciona un método para producir partículas semejantes al virus de la influenza (VLP) en una planta que comprende:

- 15 a) introducir un ácido nucleico que codifica un antígeno de un virus envuelto, por ejemplo una hemaglutinina de influenza (HA), ligada operativamente a una región reguladora activa en la planta, dentro de la planta, o parte de la misma, y

b) incubar la planta o una parte de la misma bajo condiciones que permitan la expresión del ácido nucleico, produciendo por lo tanto los VLP.

El método puede comprender adicionalmente las etapas de cosechar la planta y purificar o separar los VLP del tejido de planta.

- 20 El método puede comprender adicionalmente, en la etapa de introducir (etapa a), un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una o más de una proteína chaperona.

Una o más de una de las proteínas chaperonas se puede seleccionar del grupo que comprende Hsp40 y Hsp70.

- 25 La presente invención incluye el método anterior en donde, en la etapa de introducir (etapa a), el ácido nucleico puede ser cualquiera que se exprese transitoriamente en la planta, o se exprese establemente en la planta. Adicionalmente, los VLP se pueden purificar utilizando cromatografía de exclusión de tamaño.

- 30 De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona un método para producir partículas semejantes al virus de la influenza (VLP) en una planta que comprende proporcionar una planta, o una parte de una planta, que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un antígeno de un virus envuelto ligado operativamente a una región reguladora activa en una planta, e incubar la planta o parte de la planta bajo condiciones que permitan la expresión del ácido nucleico, produciendo por lo tanto los VLP.

El método puede comprender adicionalmente las etapas de cosechar la planta y purificar o separar los VLP del tejido de planta.

- 35 La presente invención incluye el método anterior, en donde luego la etapa de proporcionar, se introduce un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una o más de una de las proteínas chaperonas ligadas operativamente a una región reguladora activa en una planta, y la planta o parte de la planta se incuba bajo condiciones que permitan la expresión del ácido nucleico, produciendo por lo tanto los VLP.

Una o más de una de las proteínas chaperonas se puede seleccionar del grupo que comprende Hsp40 y Hsp70.

- 40 La presente invención incluye el método anterior en donde, en la etapa de introducir (etapa a), el ácido nucleico que codifica el HA se expresa establemente en la planta. Adicionalmente, los VLP se pueden purificar utilizando cromatografía de exclusión de tamaño.

La presente invención también proporciona una partícula semejante a virus (VLP) que comprende una proteína HA de virus de influenza y uno o más de un lípido derivado de una planta.

- 45 La proteína HA del VLP puede ser de una influenza tipo A, una influenza tipo B, o es un subtipo de influenza tipo A HA seleccionado del grupo que consiste de H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, y H16. En algunos aspectos de la invención, el HA es de una influenza tipo A, seleccionado del grupo que comprende H1, H2, H3, H5, H6, H7 y H9.

También se incluye en la presente invención una composición que comprende una dosis efectiva de un VLP, el VLP que comprende una proteína HA de virus de influenza, uno o más de un lípido de vegetal, y un portador farmacéuticamente aceptable.

La presente invención también contempla fragmentos o partes de proteínas HA que forman los VLP en una planta.

- 5 La presente invención también pertenece a un VLP que comprende un virus de influenza HA que lleva N-glucanos específicos de planta, o N-glucanos modificados. La proteína HA del VLP puede ser de una influenza tipo A, una influenza tipo B, o es un subtipo de influenza tipo A HA seleccionado del grupo que consiste de H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, y H16. En algunos aspectos de la invención, el HA es de una influenza tipo A, seleccionado del grupo que comprende H1, H2, H3, H5, H6, H7 y H9.
- 10 El VLP puede comprender una proteína HA de uno, o más de un de subtipo, que incluye H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 o H16 o fragmento o parte de la misma. Ejemplos de los subtipos que comprenden dichos proteínas HA incluyen A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1), A/Indonesia/5/2006 (H5N1), A/pollo/Nueva York/1995, A/guía de arenque/DE/677/88 (H2N8), A/Texas/32/2003, A/pato real/MN/33/00, A/pato/Shanghai/1/2000, A/ánabe rabudo/ TX/828189/02, A/Pavo/Ontario/6118/68(H8N4), A/pato
- 15 cuchara/Iran/G54/03, A/pollo/Alemania/N/1949(H10N7), A/pato/Inglaterra/56(H11N6), A/pato/Alberta/60/76(H12N5), A/Gaviota/Maryland/704/77(H13N6), A/Pato real/Gurjev/263/82, A/pato/Australia/341/83 (H15N8), A/gaviota de cabeza negra/Suecia/5/99(H16N3), B/Lee/40, C/Johannesburgo/66, A/Puerto Rico/ 8/34 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Islands Salomón 3/2006 (H1N1), A/Brisbane 10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/ 67/2005 (H3N2), B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006, A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Trullo/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Equino/Praga/56 (H7N7), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2)).
- 20

- En un aspecto de la invención, la proteína HA puede ser un subtipo H1, H2, H3, H5, H6, H7 o H9. En otro aspecto, la proteína H1 puede ser de la cepa A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1), A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), o A/Islands Salomón 3/2006 (H1N1). La proteína H3 también puede ser de la cepa A/Brisbane 10/2007 (H3N2) o A/Wisconsin/67/2005 (H3N2). En un aspecto adicional de la invención, la proteína H2 puede ser de la cepa
- 25 A/Singapur/ 1/57 (H2N2). La proteína H5 puede ser de la cepa A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), o A/Indonesia/5/2005. En un aspecto de la invención, la proteína H6 puede ser de la cepa A/Trullo/Hong Kong/W312/97 (H6N1). La proteína H7 puede ser de la cepa A/Equino/Praga/56 (H7N7). En un aspecto de la invención, la proteína H9 es de la cepa A/Hong Kong/1073/99 (H9N2). En un aspecto adicional de la invención, la proteína HA puede ser de un virus de influenza que puede ser un virus tipo B, que incluye B/Malasia/2506/2004 o
- 30 B/Florida/4/2006. Ejemplos de secuencias de aminoácidos de las proteínas HA de los subtipos H1, H2, H3, H5, H6, H7, H9 o B incluyen SEQ ID NOS: 48-59.

La proteína HA de virus de influenza puede ser H5 Indonesia.

- La presente invención también proporciona moléculas de ácido nucleico que comprende las secuencias que codifican una proteína HA. Las moléculas de ácido nucleico pueden comprender adicionalmente una o más regiones
- 35 reguladoras ligadas operativamente a la secuencia que codifica una proteína HA. Las moléculas de ácido nucleico pueden comprender una secuencia que codifica un H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, H16, B o C. En otro aspecto de la invención, la proteína HA codificada por la molécula de ácido nucleico puede ser un subtipo H1, H2, H3, H5, H6, H7, H9, o B. La proteína H1 codificada por la molécula de ácido nucleico es de la cepa A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1), A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), o A/Islands Salomón
- 40 3/2006 (H1N1). En un aspecto de la invención, la proteína H3 codificada por la molécula de ácido nucleico puede ser de la cepa A/Brisbane 10/2007 (H3N2), o A/Wisconsin/67/2005 (H3N2). En un aspecto adicional de la invención, la proteína H2 codificada por la molécula de ácido nucleico puede ser de la cepa A/Singapur/1/57 (H2N2). La proteína H5 codificada por la molécula de ácido nucleico también puede ser de la cepa A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), o A/Indonesia/5/2005. En un aspecto de la invención, la proteína H6 codificada por la
- 45 molécula de ácido nucleico puede ser de la cepa A/Trullo/Hong Kong/W312/97 (H6N1). La proteína H7 codificada por la molécula de ácido nucleico también puede ser de la cepa A/Equino/Praga/56 (H7N7). Adicionalmente, la proteína H9 codificada por la molécula de ácido nucleico puede ser de la cepa A/Hong Kong/1073/99 (H9N2). La proteína HA del subtipo B codificado por el ácido nucleico puede ser de la cepa B/Florida/4/2006, o B/Malasia/2506/2004. Ejemplos de las secuencias de moléculas de ácido nucleico que codifican dichas proteínas HA
- 50 de los subtipos H1, H2, H3, H5, H6, H7, H9 o B incluyen SEQ ID NOS: 36-47 y 60-73.

La secuencia de ácidos nucleicos puede codificar la proteína HA de virus de influenza H5 Indonesia.

- Las regiones reguladoras que se pueden ligar operativamente a una secuencia que codifica una proteína HA incluyen aquellas que son operativas en una célula de planta, una célula de insecto o una célula de levadura. Dichas
- 55 regiones reguladoras pueden incluir una región reguladora de plastocianina, una región reguladora de Ribulosa 1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (RuBisCO), proteína de unión a/b de clorofila (CAB), ST-LS1, una región reguladora de polihedrina, o una región reguladora gp64. Otras regiones reguladoras incluyen las secuencias 5' UTR, 3' UTR o las secuencias terminadoras. La región reguladora de plastocianina puede ser una región reguladora

de plastocianina de alfalfa; las secuencias 5' UTR, 3'UTR o las secuencias terminadoras también pueden ser las secuencias de alfalfa.

También se proporciona un método para inducir inmunidad a una infección por virus de influenza en un sujeto, el método comprende administrar la partícula semejante a virus que comprende una proteína HA de virus de influenza, uno o más de un lípido de vegetal, y un portador farmacéuticamente aceptable. La partícula semejante a virus se puede administrar a un sujeto oralmente, intradérmicamente, intranasalmente, intramuscularmente, intraperitonealmente, intravenosamente, o subcutáneamente.

La presente invención también pertenece a una partícula semejante a virus (VLP) que comprende una o más de una proteína derivada de un virus seleccionado del grupo que consiste de influenza, Sarampión, Ébola, Virus de Marburgo, y VIH, y uno o más de un lípido derivado de una célula de producción anfitriona no sialilada. La proteína de VIH puede ser p24, gp120 o gp41; la proteínas del virus Ébola puede ser VP30 o VP35; la proteína del virus de Marburgo puede ser Gp/SGP; la proteína del virus de Sarampión puede ser la proteína H o proteína F.

Adicionalmente la presente invención se relaciona con una partícula semejante a virus (VLP) que comprende una proteína HA de virus de influenza y uno o más de un lípido anfitrión. Por ejemplo si el anfitrión es insecto, entonces la partícula semejante a virus (VLP) puede comprender una proteína HA de virus de influenza y uno o más de un lípido de insecto, o si el anfitrión es una levadura, entonces la partícula semejante a virus (VLP) puede comprender una proteína HA de virus de influenza y uno o más de un lípido de levadura.

La presente invención también se relaciona con composiciones que comprenden los VLP de dos o más cepas o subtipos de influenza. Los dos o más subtipos o cepas se pueden seleccionar del grupo que comprende: A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1)/A/Indonesia/5/2006 (H5N1), A/pollo/Nueva York/1995, A/gaviota de arenque/DE/677/88 (H2N8), A/Texas/32/2003, A/pato real/MN/33/00, A/pato/Shanghái/1/2000, A/ánabe rabudo/TX/828189/02, A/Pavo/Ontario/6118/68(H8N4), A/pato cuchara/Irán/G54/03, A/pollo/Alemania/N/1949(H10N7), A/pato/Inglaterra/56(H11N6), A/pato/Alberta/ 60/76(H12N5), A/Gaviota/Maryland/704/77(H13N6), A/Pato real/Gurjev/263/82, A/pato/Australia/341/83 (H15N8), A/gaviota de cabeza negra/Suecia/5/99(H16N3), B/Lee/40, C/Johannesburgo/66, A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), A/Brisbane/ 59/2007 (H1N1), A/Islas Salomón 3/2006 (H1N1), A/Brisbane 10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006, A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Trullo/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Equino/Praga/56 (H7N7) o A/Hong Kong/1073/99 (H9N2)). Los dos o más subtipos o cepas de los VLP pueden estar presentes en aproximadamente cantidades equivalentes; alternativamente uno o más de los subtipos o cepas pueden ser la mayor parte de las cepas o los subtipos representados.

La presente invención pertenece a un método para inducir inmunidad a infección por virus de influenza en un animal u organismo objetivo que comprende administrar una dosis efectiva de una vacuna que comprende uno o más de un VLP, el VLP se produce utilizando un anfitrión no sililante, por ejemplo un anfitrión de planta, un anfitrión de insecto, o un anfitrión de levadura. La vacuna se puede administrar oralmente, intradérmicamente, intranasalmente, intramuscularmente, intraperitonealmente, intravenosamente, o subcutáneamente. El organismo objetivo se puede seleccionar del grupo que comprende humanos, primates, caballos, cerdos, aves (aviar), aves acuáticas, aves migratorias, codorniz, pato, gansos, aves de corral, pollo, camello, caninos, perros, felinos, gatos, tigre, leopardo, civeta, visón, marta, hurones, animales domésticos, ganado, ratones, ratas, focas, ballenas y similares.

La presente invención proporciona un método para producir los VLP que contienen hemaglutinina (HA) de diferentes cepas de influenza en un anfitrión adecuado capaz de producir un VLP, por ejemplo, una planta, insecto, o levadura. Los VLP que se producen en plantas contienen lípidos de origen vegetal, los VLP producidos en células de insecto comprenden lípidos de la membrana de plasma de células de insecto (de manera general denominado como "lípidos de insecto"), y los VLP producidos en levadura comprenden lípidos de la membrana de plasma de células de levadura (de manera general denominado como "lípidos de levadura").

La presente invención también pertenece a una planta, tejido de planta o célula de planta que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un antígeno de un virus envuelto ligado operativamente a una región reguladora activa en una planta. El antígeno puede ser una hemaglutinina de influenza (HA).

La planta puede comprender adicionalmente un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una o más de una de las proteínas chaperonas ligadas operativamente a una región reguladora activa en una planta. Se puede seleccionar una o más de una proteína chaperonas del grupo que comprende Hsp40 y Hsp70.

La producción de los VLP en plantas presenta diversas desventajas sobre la producción de estas partículas en cultivo celular de insectos. Los lípidos de plantas pueden estimular las células inmunitarias específicas y mejorar la respuesta inmunitaria inducida. Las membranas de planta se hacen de lípidos, fosfatidilcolina (PC) y fosfatidiletanolamina (PE), y también contienen glucoesfingolípidos que son únicos para las plantas y algunas

bacterias y protozoarios. Los Esfingolípidos no son usuales en que no son ésteres de glicerol como PC o PE pero a diferencia consisten de un alcohol amino de cadena larga que forma un enlace de amida a una cadena de ácido graso que contiene más de 18 carbonos. PC y PE así como también glucoesfingolípidos se pueden unir a moléculas CD1 expresadas por células inmunitarias de mamífero tales como células que presentan antígeno (APC) como células dendríticas y macrófagos y otras células que incluyen linfocitos B y T en el timo e hígado (Tsuji M., 2006). Adicionalmente, además del efecto adyuvante potencial de la presencia de lípidos de planta, la capacidad de los N-glucanos de planta para facilitar la captura de los antígenos de glucoproteína mediante células que presentan antígeno (Saint-Jore-Dupas, 2007), puede ser ventajosa de la producción de los VLP en plantas.

Sin limitarse a ninguna teoría, se prevé que los VLP hechos de plantas inducirán una reacción inmunitaria más fuerte que los VLP hechos en otros sistemas de fabricación y que la reacción inmunitaria inducida por estos VLP hechos de plantas será más fuerte cuando se compara con la reacción inmunitaria inducida por vacunas de virus completos vivos o atenuados.

Contrario a las vacunas hechas de virus completos, los VLP proporcionan la ventaja que no son infecciosos, sin embargo la contención biológica restrictiva no es un problema tan importante ya que funcionaría con un virus infeccioso completo, y no se requiere para producción. Los VLP hechos de plantas proporcionan una ventaja adicional al permitir que el sistema de expresión crezca en un invernadero o campo, siendo por lo tanto significativamente más económico y adecuado para crecimiento.

Adicionalmente, las plantas no comprenden las enzimas involucradas en sintetizar y agregar residuos de ácido siálico a las proteínas. Los VLP se pueden producir en la ausencia de neuraminidasa (NA), y no hay necesidad de coexpresar NA, o tratar la producción de células o extraer la sialidasa (neuraminidasa), para asegurar la producción de VLP en plantas.

Los VLP producidos de acuerdo con la presente invención no comprenden la proteína M1 que se sabe se une a ARN. El ARN es un contaminante de la preparación de VLP y no se desea cuando se obtiene la aprobación normativa para el producto VLP.

Este resumen de la invención no describe necesariamente todas las características de la invención.

Breve descripción de los dibujos

Estas y otra características de la invención serán más evidentes a partir de la siguiente descripción en la que se hace referencia a los dibujos que acompañan en donde:

La FIGURA 1A muestra una secuencia de un casete de expresión con base en plastocianina de alfalfa utilizado para la expresión de H1 de la cepa A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1) de acuerdo con una realización de la presente invención (SEQ ID NO: 8). Se subraya el péptido de señal de isomerasa de disulfuro de proteína. Los sitios de restricción BglII (AGATCT) y SacI (GAGCTC) utilizados para clonación se muestran en negrilla. La Figura 1B muestra un diagrama esquemático de los dominios funcionales de hemaglutinina de influenza. Después de la división de los fragmentos HA0, HA1 y HA2 permanecen unidos mediante un puente de disulfuro.

La FIGURA 2A muestra una representación del plásmido 540 ensamblado para la expresión de HA subtipo H1 de la cepa A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1). La FIGURA 2B muestra una representación del plásmido 660 ensamblado para la expresión de HA subtipo H5 de la cepa A/Indonesia/5/2005 (H5N1).

La FIGURA 3 muestra una cromatografía de exclusión de tamaño de extractos de proteína de hojas que producen hemaglutinina H1 o H5. La FIGURA 3A muestra el perfil de elución de Blue Dextran 2000 (triángulos) y proteínas (diamantes). La FIGURA 3B muestra inmunodetección (transferencia Western; anti H1) de fracciones de elución H1 (A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1)) luego de cromatografía de exclusión de tamaño (glóbulos S500HR). La FIGURA 3C muestra el perfil de elución de H5; Blue Dextran 2000 (triángulos) y proteínas (diamantes). La FIGURA 3D muestra inmunodetección (transferencia Western; anti H5) de fracciones de elución H5 (A/Indonesia/ 5/2005 (H5N1)) luego de cromatografía de exclusión de tamaño (glóbulos S500HR).

La FIGURA 4A muestra la secuencia que codifica el fragmento de terminal N de H1 (A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1)) (SEQ ID NO: 1). La FIGURA 4B muestra la secuencia que codifica el fragmento de terminal C de H1 (A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1)) (SEQ ID NO: 2).

La FIGURA 5 muestra la secuencia completa que codifica HA0 de H1 (A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1)) (SEQ ID NO: 28).

La FIGURA 6 muestra la secuencia que codifica H5 (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)) flanqueada por un sitio HindIII inmediatamente en la dirección 5' del ATG inicial, y un sitio SacI inmediatamente en la dirección 3' del codón de parada (TAA) (SEQ ID NO: 3).

La FIGURA 7A muestra la secuencia del cebador Plasto-443c (SEQ ID NO: 4). La FIGURA 7B muestra la secuencia de cebador SpHA(Ind)-Plasto.r (SEQ ID NO: 5). La FIGURA 7C muestra la secuencia de cebador Plasto-SpHA(Ind).c (SEQ ID NO: 6). La FIGURA 7D muestra la secuencia de cebador HA(Ind)-Sac.r (SEQ ID NO: 7).

La FIGURA 8A muestra la secuencia de aminoácidos de la secuencia de péptidos H1 (A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1)) (SEQ ID NO: 9). La FIGURA 8B muestra la secuencia de aminoácidos de la secuencia de péptidos H5 (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)) (SEQ ID NO: 10). El péptido de señal natural se indica en negrilla.

La FIGURA 9 muestra la secuencia de nucleótidos de HA de influenza A subtipo H7 (SEQ ID NO: 11).

La FIGURA 10A muestra la secuencia de nucleótidos de HA de influenza A, subtipo H2 (SEQ ID NO: 12). La FIGURA 10B muestra la secuencia de nucleótidos de HA de influenza A subtipo H3 (SEQ ID NO: 13). La FIGURA 10C muestra la secuencia de nucleótidos de HA de influenza A subtipo H4 (SEQ ID NO: 14). La FIGURA 10D muestra la secuencia de nucleótidos de HA de influenza A subtipo H5 (SEQ ID NO: 15). La FIGURA 10E muestra la secuencia de nucleótidos de HA de influenza A subtipo H6 (SEQ ID NO: 16). La FIGURA 10F muestra la secuencia de nucleótidos de HA de influenza A subtipo H8 (SEQ ID NO: 17). La FIGURA 10G muestra la secuencia de nucleótidos de HA de influenza A subtipo H9 (SEQ ID NO: 18). La FIGURA 10H muestra la secuencia de nucleótidos de HA de influenza A subtipo H10 (SEQ ID NO: 19). La FIGURA 10I muestra la secuencia de nucleótidos de HA de influenza A subtipo H11 (SEQ ID NO: 20). La FIGURA 10J muestra la secuencia de nucleótidos de HA de influenza A subtipo H12 (SEQ ID NO: 21). La FIGURA 10K muestra la secuencia de nucleótidos de HA de influenza A subtipo H13 (SEQ ID NO: 22). La FIGURA 10L muestra la secuencia de nucleótidos de HA de influenza A subtipo H14 (SEQ ID NO: 23). La FIGURA 10M muestra la secuencia de nucleótidos de HA de influenza A subtipo H15 (SEQ ID NO: 24). La FIGURA 10N muestra la secuencia de nucleótidos de HA de influenza A subtipo H16 (SEQ ID NO: 25). La FIGURA 10O muestra la secuencia de nucleótidos de influenza B HA (SEQ ID NO: 26). La FIGURA 10P muestra la secuencia de nucleótidos de influenza C HA (SEQ ID NO: 27). La FIGURA 10Q muestra la secuencia de nucleótidos de cebador XmaI-pPlas.c (SEQ ID NO: 29). La FIGURA 10R muestra la secuencia de nucleótidos de cebador SacI-ATG-pPlas.r (SEQ ID NO: 30). La FIGURA 10S muestra la secuencia de nucleótidos de cebador SacI-PlasTer.c (SEQ ID NO: 31). La FIGURA 10T muestra la secuencia de nucleótidos de cebador EcoRIPlasTer. r (SEQ ID NO: 32).

La FIGURA 11 muestra una representación esquemática de diversas construcciones como se utiliza aquí. La construcción 660 comprende la secuencia de nucleótidos para codificar el HA subtipo H5 (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)) ligado operativamente al promotor (plasto) y terminador de plastocianina (Pter); la construcción 540 comprende la secuencia de nucleótidos para codificar el HA subtipo H1 (A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1)) en combinación con un péptido de señal de isomerasa de alfalfa de disulfuro de proteína (SP PDI), y se liga operativamente a un promotor plastocianina (Plasto) y terminador (Pter); la construcción 544 ensamblada para la expresión de HA subtipo H1 (A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1)), la secuencia de nucleótidos que codifica H1 se combina con un péptido de señal de isomerasa de alfalfa de disulfuro de proteína (SP PDI) y un cremallera de leucina GCN4pII (en lugar del dominio de transmembrana y la cola citoplásmica de HI) y se liga operativamente al promotor (plasto) y terminador de plastocianina (Pter); y la construcción 750 para la expresión de la región codificante M1 de influenza A/PR/8/34 se combina con virus del grabado del tabaco (TEV) 5'UTR, y se liga operativamente con el promotor 35S doble y el terminador Nos.

La FIGURA 12 muestra inmunodetección de H5 (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)), utilizando anticuerpos anti-H5 (Vietnam), en extractos de proteína de hojas de *N. benthamiana* transformadas con la construcción 660 (columna 3). El H5 comercial de influenza A/Vietnam/1203/2004 se utiliza como control de detección positivo (columna 1), y un extracto de proteína de hojas transformadas con un vector vacío se utiliza como control negativo (columna 2).

La FIGURA 13 muestra la caracterización de estructuras de hemaglutinina mediante cromatografía de exclusión de tamaño. El extracto de proteína de biomasa separada que producen H5 (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)), H1 (A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1)), H1 soluble, o H1 y M1 se separan mediante filtración de gel en S-500 HR. También se fracciona el H1 comercial (A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1)) en la forma de rosetas (roseta H1). La FIGURA 13A muestra fracciones de elución analizadas para el contenido de proteína relativo (se muestra el Nivel de Proteína Relativo -un perfil de elución de proteína estándar de un fraccionamiento de biomasa). Se indica el pico de elución Blue Dextran 2000 (estándar de referencia 2 MDa). La FIGURA 13B muestra fracciones de elución analizadas para detectar la presencia de hemaglutinina mediante inmunotransferencia con anticuerpos anti-H5 (Vietnam) (para H5). La FIGURA 13C muestra fracciones de elución analizadas para detectar anticuerpos de anti-influenza A para H1. La FIGURA 13D muestra fracciones de elución analizadas para detectar anticuerpos de anti-influenza A para H1 soluble. La FIGURA 13E muestra fracciones de elución analizadas para detectar anticuerpos anti-influenza A para Roseta H1. La FIGURA 13F muestra fracciones de elución analizadas para detectar anticuerpos de anti-influenza A para H1+M1.

La FIGURA 14 muestra la concentración de estructuras de influenza H5 (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)) mediante centrifugación de gradiente de sacarosa y examen de microscopio de electrones de fracciones concentradas de hemaglutinina. La FIGURA 14A muestra la caracterización de fracciones de centrifugación de gradiente de densidad de sacarosa. Cada fracción se analiza para detectar la presencia de H5 mediante inmunotransferencia utilizando anticuerpos anti-H5 (Vietnam) (panel superior), y por su contenido de proteína relativo y capacidad de hemaglutinación (gráfica). La FIGURA 14B muestra examen de microscopio de electrones de transmisión de tinción negativa de fracciones agrupadas 17, 18 y 19 de centrifugación del gradiente de sacarosa. La barra representa 100 nm.

La FIGURA 15 muestra purificación los VLP de influenza H5. La FIGURA 15A muestra análisis SDS-PAGE de tinción con Coomassie Blue del contenido de proteína en las etapas de clarificación - columna 1, extracto crudo; columna 2, extracto ajustado a pH 6; columna 3, extracto tratado con calor; columna 4, extracto filtrado con DE; etapas de purificación de afinidad con fetuina: columna 5, carga; columna 6, flujo interno; columna 7, elución (concentrado 10X). La FIGURA 15B muestra examen de microscopio de electrones de transmisión de tinción negativa de la muestra VLP H5 purificada. La barra representa 100 nm. La FIGURA 15C muestra el VLP H5 aislado alargado para mostrar detalles de la estructura. La FIGURA 15D muestra el producto VLP H5 en un SDS-PAGE que reduce la tinción con Coomassie (columna A) y Transferencia western (columna B) utilizando anticuerpo policlonal de conejo elevado contra HA de la cepa A/Vietnam/ 1203/2004 (H5N1).

La FIGURA 16 muestra una secuencia de nucleótidos para el gen de hemaglutinina del virus de la Influenza A (A/Nueva Caledonia/20/99(H1N1)) (HA), cds completo. Número de Acceso GenBank AY289929 (SEQ ID NO: 33).

La FIGURA 17 muestra una secuencia de nucleótidos para mRNA de *Medicago sativa* para isomerasa de disulfuro de proteína. Número de Acceso GenBank Z11499 (SEQ ID NO: 34).

La FIGURA 18 muestra una secuencia de nucleótidos para la secuencia completa, segmento 7, del virus de la Influenza A (A/Puerto Rico/8/34(H1N1)). Número de Acceso GenBank NC\_002016.1 (SEQ ID NO: 35).

La FIGURA 19 muestra la localización de acumulación de VLP mediante observación de microscopio de electrones de transmisión de tinción positiva de tejido que produce H5. CW: pared celular, ch: cloroplasto, pm: membrana de plasma, VLP: partícula semejante a virus. La barra representa 100 nm.

La FIGURA 20 muestra la inducción de las respuestas de anticuerpo en suero 14 días después de refuerzo en ratones Balb/c vacunados con VLP de influenza H5 hecha de vegetales (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)) o el H5 soluble recombinante (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)). La FIGURA 20(A) muestra las respuestas de anticuerpo de ratones inmunizados a través de inyección intramuscular. La FIGURA 20(B) muestra las respuestas de anticuerpo de ratones inmunizados a través de administración intranasal. Las respuestas de anticuerpo se miden contra virus H5N1 completos inactivos (A/Indonesia/5/05). GMT: título de media geométrica. Los valores son el GMT (ln) de títulos de criterios de valoración recíprocos de cinco ratones por grupo. Las barras representan la desviación media. \*  $p < 0.05$  se comparan con el H5 soluble recombinante.

La FIGURA 21 muestra la respuesta de anticuerpo de inhibición de hemaglutinación (HAI) 14 días después de refuerzo en ratones Balb/c vacunados con VLP de influenza H5 hecho de planta (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)) o el H5 soluble recombinante (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)). La FIGURA 21(A) muestra las respuestas de anticuerpo de ratones inmunizados a través de inyección intramuscular. La FIGURA 21(B) muestra las respuestas de anticuerpo de ratones inmunizados a través de administración intranasal. Las respuestas de anticuerpo HAI se miden utilizando virus H5N1 completos inactivos (A/Indonesia/5/05). GMT: título de media geométrica. Los valores son el GMT (ln) de títulos de criterios de valoración recíprocos de cinco ratones por grupo. Las barras representan la desviación media. \*  $p < 0.05$  y \*\*  $p < 0.01$  que se compara con el H5 soluble recombinante.

La FIGURA 22 muestra el efecto del adyuvante en inmunogenicidad de los VLP en ratones Balb/c. La FIGURA 22(A) muestra el efecto de alumbre en ratones inmunizados a través de inyección intramuscular. La FIGURA 22(B) muestra el efecto de quitosano en ratones inmunizados a través de administración intranasal. Las respuestas de anticuerpo HAI se miden utilizando virus H5N1 completos inactivos (A/Indonesia/5/05). GMT: título de media geométrica. Los valores son GMT (ln) de títulos de criterios de valoración recíprocos de cinco ratones por grupo. Las barras representan la desviación media. \*  $p < 0.05$  se compara con el H5 soluble recombinante correspondiente.

La FIGURA 23 muestra la respuesta de anticuerpo para la administración de VLP H5 (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)). La FIGURA 23(A) muestra el isotipo de inmunoglobulina antiindonesia/5/05 en ratones inmunizados a través de administración intramuscular, 30 días después de refuerzo. Los valores son el GMT (log2) de títulos de criterios de valoración recíprocos de cinco ratones por grupo. Se realiza ELISA utilizando virus H5N1 completamente inactivo (A/Indonesia/5/2005) como el agente de recubrimiento. Las barras que representan la desviación media. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.001$  se compara con el H5 soluble recombinante correspondiente (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)). La FIGURA

23(B) muestra Títulos de anticuerpo contra virus inactivos completos (A/Indonesia/5/2005 (H5N1) y (A/Vietnam/1194/04 (H5N1))). Todos los grupos son estadísticamente diferentes para control negativo.

La FIGURA 24 muestra títulos de anticuerpo contra virus inactivos completos homólogos (A/Indonesia/5/05), 14 días semanas después de la primera dosis (semana 2), 14 días después de refuerzo (semana 5) o 30 días después de refuerzo (semana 7) de ratones Balb/c inmunizados con VLP H5 (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)). GMT: título de media geométrica. Los valores son el GMT (ln) de títulos de criterios de valoración recíprocos de cinco ratones por grupo. \*  $p < 0.05$  se compara con el H5 soluble recombinante.

La FIGURA 25 muestra la reactividad cruzada in vitro de anticuerpos de suero de ratones Balb/c inmunizados con VLP H5 (A/Indonesia/ 5/2005 (H5N1)) 30 días después de refuerzo. (A) Títulos de anticuerpo de virus inactivos completos. (B) Títulos de inhibición de hemaglutinación contra diversos virus inactivos completos. Los valores son el GMT (ln) de títulos de criterios de valoración recíprocos de cinco ratones por grupo. Las barras representan la desviación media. Todos los grupos son estadísticamente diferentes al control negativo. \*  $p < 0.05$  se compara con el H5 soluble recombinante correspondiente. Todos los valores de menos de 10 dan un valor arbitrario de 5 (1.6 para ln) y se consideran negativos.

La FIGURA 26 muestra la eficacia del VLP H5 hecho de la planta (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)). (A) Índice de supervivencia de ratones después de exposición con 1000 LD<sub>50</sub> (4.09x10<sup>6</sup> CCID<sub>50</sub>) de la cepa de influenza A/Pavo/582/06 (H5N1) (B) Peso corporal de ratones inmunizados después de exposición. Los valores son el peso corporal promedio de los ratones que sobreviven.

La FIGURA 27 muestra el origen de los VLP de influenza derivada de planta. (A) Composición de lípidos polares de los VLP de influenza purificada. Se extraen los lípidos contenidos en un equivalente de 40 mg de proteínas, de VLP como se describe, separado por HPTLC, y se compara con el perfil de migración de lípidos aislados de la membrana de plasma de tabaco altamente purificada (PM). Las abreviaturas de lípido son como sigue: DGDG, Digalactosildiacilglicerol; gluCER, glucosil-ceramida; PA, ácido fosfático; PC, fosfatidilcolina; PE, fosfatidiletanolamina; PG, fosfatidilglicerol; PI, fosfatidilinositol; PS, fosfatidilserina; SG, Esteril-glucosida. (B) Composición neutra de lípidos de los VLP de influenza purificada. Los lípidos contenidos en un equivalente de 20 µg de proteínas se extraen de VLP como se describe, separado por HP-TLC y se compara con la migración de sitosterol. (C) Inmunodetección de ATPasa de bomba de protones del marcador de membrana de plasma (PMA) en los VLP purificados y PM altamente purificados de hojas de tabaco (PM<sub>L</sub>) y células de tabaco BY2 (PM<sub>BY2</sub>). Se cargan dieciocho microgramos de proteína en cada columna.

La FIGURA 28 muestra la secuencia que abarca desde los sitios DraIII hasta los sitios SacI de clon 774 - secuencia de nucleótidos de A/Brisbane/ 59/2007 (H1N1) (SEQ ID NO: 36). La secuencia codificante se flanquea por una región reguladora de plastocianina, partiendo con un sitio de restricción DraIII en el extremo 5' y mediante un codón de parada y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción se subrayan; ATG está en negrilla y se subraya.

La FIGURA 29 muestra la secuencia que abarca desde el sitio DraIII hasta el sitio SacI del clon 775 - secuencia de nucleótidos de A/Islas Salomón 3/2006 (H1N1) (SEQ ID NO: 37). La secuencia codificante se flanquea por una región reguladora de plastocianina, partiendo con un sitio de restricción DraIII en el extremo 5' y mediante un codón de parada y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción se subrayan; ATG está en negrilla y se subraya.

La FIGURA 30 muestra la secuencia que abarca desde el sitio DraIII hasta el sitio SacI del clon 776 - secuencia de nucleótidos de A/Brisbane 10/2007 (H3N2) (SEQ ID NO: 38). La secuencia codificante se flanquea por una región reguladora de plastocianina, partiendo con un sitio de restricción DraIII en el extremo 5' y mediante un codón de parada y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción se subrayan; ATG está en negrilla y se subraya.

La FIGURA 31 muestra la secuencia que abarca desde el sitio DraIII hasta el sitio SacI del clon 777 - secuencia de nucleótidos de A/Wisconsin/ 67/2005 (H3N2) (SEQ ID NO: 39). La secuencia codificante se flanquea por una región reguladora de plastocianina, partiendo con un sitio de restricción DraIII en el extremo 5' y mediante un codón de parada y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción se subrayan; ATG está en negrilla y se subraya.

La FIGURA 32 muestra la secuencia que abarca desde el sitio DraIII hasta el sitio SacI del clon 778 - secuencia de nucleótidos de B/Malasia/ 2506/2004 (SEQ ID NO: 40). La secuencia codificante se flanquea por una región reguladora de plastocianina, partiendo con un sitio de restricción DraIII en el extremo 5' y mediante un codón de parada y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción se subrayan; ATG está en negrilla y se subraya.

La FIGURA 33 muestra la secuencia que abarca desde el sitio DraIII hasta el sitio SacI del clon 779 - secuencia de nucleótidos de B/Florida/ 4/2006 (SEQ ID NO: 41). La secuencia codificante se flanquea por una región reguladora de plastocianina, partiendo con un sitio de restricción DraIII en el extremo 5' y mediante un codón de parada y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción se subrayan; ATG está en negrilla y se subraya.

La FIGURA 34 muestra la secuencia que abarca desde el sitio DraIII hasta el sitio SacI del clon 780 - secuencia de nucleótidos de A/Singapur/ 1/57 (H2N2) (SEQ ID NO: 42). La secuencia codificante se flanquea por una región reguladora de plastocianina, partiendo con un sitio de restricción DraIII en el extremo 5' y mediante un codón de parada y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción se subrayan; ATG está en negrilla y se subraya.

- 5 La FIGURA 35 muestra la secuencia que abarca desde el sitio DraIII hasta el sitio SacI del clon 781 - secuencia de nucleótidos de A/Anhui/ 1/2005 (H5N1) (SEQ ID NO: 43). La secuencia codificante se flanquea por una región reguladora de plastocianina, partiendo con un sitio de restricción DraIII en el extremo 5' y mediante un codón de parada y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción se subrayan; ATG está en negrilla y se subraya.

- 10 La FIGURA 36 muestra la secuencia que abarca desde el sitio DraIII hasta el sitio SacI del clon 782 - secuencia de nucleótidos de A/Vietnam/ 1194/2004 (H5N1) (SEQ ID NO: 44). La secuencia codificante se flanquea por una región reguladora de plastocianina, partiendo con un sitio de restricción DraIII en el extremo 5' y mediante un codón de parada y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción se subrayan; ATG está en negrilla y se subraya.

- 15 La FIGURA 37 muestra la secuencia que abarca desde el sitio DraIII hasta el sitio SacI del clon 783 - secuencia de nucleótidos de A/Trullo/Hong Kong/W312/97 (H6N1) (SEQ ID NO: 45). La secuencia codificante se flanquea por una región reguladora de plastocianina, partiendo con un sitio de restricción DraIII en el extremo 5' y mediante un codón de parada y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción se subrayan; ATG está en negrilla y se subraya.

- 20 La FIGURA 38 muestra la secuencia que abarca desde el sitio DraIII hasta el sitio SacI del clon 784 - secuencia de nucleótidos de A/Equino/Praga/56 (H7N7) (SEQ ID NO: 46). La secuencia codificante se flanquea por una región reguladora de plastocianina, partiendo con un sitio de restricción DraIII en el extremo 5' y mediante un codón de parada y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción se subrayan; ATG está en negrilla y se subraya.

La FIGURA 39 muestra la secuencia que abarca desde el sitio DraIII hasta el sitio SacI del clon 785 - secuencia de nucleótidos de A/Hong- Kong/1073/99 (H9N2) (SEQ ID NO: 47). La secuencia codificante se flanquea por una región reguladora de plastocianina, partiendo con un sitio de restricción DraIII en el extremo 5' y mediante un codón de parada y un sitio SacI en el extremo 3'. Los sitios de restricción se subrayan; ATG está en negrilla y se subraya.

- 25 La FIGURA 40A muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 48) del polipéptido traducida del clon 774 (A/Brisbane/59/2007 (H1N1)). El marco abierto de lectura del clon 774 inicia con el ATN indicado en la Figura 28. La Figura 40B muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 49) del polipéptido traducido del clon 775 (A/Islands Salomón 3/2006 (H1N1)). El marco abierto de lectura del clon 775 inicia con el ATN indicado en la Figura 29.

- 30 La FIGURA 41A muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 50) del polipéptido traducido del clon 776 (A/Brisbane/10/2007 (H3N2)). El marco abierto de lectura del clon 776 inicia con el ATN indicado en la Figura 30. La Figura 41B muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 51) del polipéptido traducido del clon 777 (A/Wisconsin/ 67/2005 (H3N2)). El marco abierto de lectura del clon 777 inicia con el ATN indicado en la Figura 31.

- 35 La FIGURA 42A muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 52) del polipéptido traducido del clon 778 (B/Malasia/2506/2004). El marco abierto de lectura del clon 778 inicia con el ATN indicado en la Figura 32. La Figura 42B muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 53) del polipéptido traducido del clon 779 (B/Florida/4/2006). El marco abierto de lectura del clon 779 inicia con el ATN indicado en la Figura 33.

- 40 La FIGURA 43A muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 54) del polipéptido traducido del clon 780 (A/Singapur/1/57 (H2N2)). El marco abierto de lectura del clon 780 inicia con el ATN indicado en la Figura 34. La Figura 43B muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 55) del polipéptido traducido del clon 781 (A/Anhui/1/2005 (H5N1)). El marco abierto de lectura del clon 781 inicia con el ATN indicado en la Figura 35.

- 45 La FIGURA 44A muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 56) del polipéptido traducido del clon 782 (A/Vietnam/1194/2004 (H5N1)). El marco abierto de lectura del clon 782 inicia con el ATN indicado en la Figura 36. La Figura 44B muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 57) del polipéptido traducido del clon 783 (A/Trullo/Hong Kong/W312/97 (H6N1)). El marco abierto de lectura del clon 783 inicia con el ATN indicado en la Figura 37.

La FIGURA 45A muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 58) del polipéptido traducido del clon 784 (A/Equino/Praga/56 (H7N7)). El marco abierto de lectura del clon 784 inicia con el ATN indicado en la Figura 38. La Figura 45B muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 59) del polipéptido traducido del clon 785 (A/Hong-Kong/1073/99 (H9N2)). El marco abierto de lectura del clon 785 inicia con el ATN indicado en la Figura 39.

- 50 La FIGURA 46 muestra inmunodetección (transferencia western) de fracciones de elución 7-17 de los VLP producidos por planta, luego de cromatografía de exclusión de tamaño. El pico de elución (fracción 10) de



BlueDextran se indica por la flecha. Se muestran los subtipos H1, H2, H3, H5, H6 y H9 de Hemaglutinina. La hemaglutinina se detecta en fracciones 7-14, que corresponden a la elución de los VLP.

La FIGURA 47 muestra un análisis de inmunotransferencia de la expresión de una serie de hemaglutinina de cepas epidémicas anuales. Se cargan diez y veinte microgramos de extractos de hoja de proteína en las columnas 1 y 2, respectivamente, para plantas que expresan HA de diversas cepas de influenza (indicado en la parte superior de la inmunotransferencia).

La FIGURA 48A muestra un análisis de inmunotransferencia de la expresión de una serie de hemaglutininas H5 de cepas pandémicas potenciales. Se cargan diez y veinte microgramos de extractos de proteína en las columnas 1 y 2, respectivamente. La FIGURA 48B muestra un análisis de inmunotransferencia de la expresión de hemaglutinina H2, H7 y H9 de las cepas de influenza seleccionadas. Se cargan diez y veinte microgramos de extractos de proteína en las columnas 1 y 2, respectivamente.

La FIGURA 49 muestra una inmunotransferencia de H5 de la cepa A/Indonesia/5/2005 en extractos de proteína de hojas de tabaco *Nicotiana*, se agroinfiltran con AGL1/660. Se infiltran dos plantas (planta 1 y planta 2) y 10 y 20 mg de soluble extracto de proteína de cada planta se cargan en las columnas 1 y 2, respectivamente.

La FIGURA 50 muestra la reactividad cruzada in vitro de anticuerpos de suero. Los títulos de inhibición de hemaglutinación (HI) en suero de hurón, 14 días (A) después de la primera inmunización y (B) después del segundo refuerzo con VLP de influenza H5 hecho de planta (A/Indonesia/ 5/2005 (H5N1)). Las respuestas de anticuerpo HAI se miden utilizando luego los virus H5N1 completos inactivos: A/pavo/Turquía/1/05, A/Vietnam/1194/04, A/Anhui/5/05 y la cepa homóloga A/Indonesia/5/05. Los valores son el GMT ( $\log_2$ ) de títulos de criterios de valoración recíprocos de cinco hurones por grupo. Franja diagonal - A/Indonesia/6/06 (subtipo 2.1.3); comprobado - A/pavo/Turquía/1/05 (subtipo 2.2); barra blanca - A/Vietnam/1194/04 (subtipo 1); barra negra A/Anhui/5/05. Se indican pacientes que dan respuesta. Las barras representan la desviación media.

La FIGURA 51 muestra la secuencia de ácidos nucleicos (SEQ ID NO: 60) de un casete de expresión HA que comprende el promotor plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia codificante de hemaglutinina de H5 de A/Indonesia/5/2005 (construcción # 660), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y las secuencias terminadoras.

La FIGURA 52 muestra la secuencia de ácidos nucleicos (SEQ ID NO: 61) de un casete de expresión HA que comprende el promotor plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia codificante de hemaglutinina de H1 de A/Nueva Caledonia/20/1999 (construcción # 540), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y las secuencias terminadoras.

La FIGURA 53 muestra la secuencia de ácidos nucleicos (SEQ ID NO: 62) de un casete de expresión HA que comprende el promotor plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia codificante de hemaglutinina de H1 de A/Brisbane/59/2007 (construcción #774), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y las secuencias terminadoras.

La FIGURA 54 muestra la secuencia de ácidos nucleicos (SEQ ID NO: 63) de un casete de expresión HA que comprende el promotor plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia codificante de hemaglutinina de H1 de A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1) (construcción #775), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y las secuencias terminadoras.

La FIGURA 55 muestra la secuencia de ácidos nucleicos (SEQ ID NO: 64) de un casete de expresión HA que comprende el promotor plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia codificante de hemaglutinina de H2 de A/Singapur/1/57 (H2N2) (construcción # 780), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y las secuencias terminadoras.

La FIGURA 56 muestra la secuencia de ácidos nucleicos (SEQ ID NO: 65) de un casete de expresión HA que comprende el promotor plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia codificante de hemaglutinina de H5 de A/Anhui/1/2005 (H5N1) (construcción# 781), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y las secuencias terminadoras.

La FIGURA 57 muestra la secuencia de ácidos nucleicos (SEQ ID NO: 66) de un casete de expresión HA que comprende el promotor plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia codificante de hemaglutinina de H5 de A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) (construcción # 782), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y las secuencias terminadoras.

La FIGURA 58 muestra la secuencia de ácidos nucleicos (SEQ ID NO: 67) de un casete de expresión HA que comprende el promotor plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia codificante de hemaglutinina de H6 de A/Trullo/Hong Kong/W312/97 (H6N1) (construcción # 783), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y las secuencias terminadoras.

La FIGURA 59 muestra la secuencia de ácidos nucleicos (SEQ ID NO: 68) de un casete de expresión HA que comprende la plastocianina del promotor de alfalfa y 5' UTR, la secuencia codificante de hemaglutinina de H9 de

A/Hong Kong/1073/99 (H9N2) (construcción # 785), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y las secuencias terminadoras.

La FIGURA 60 muestra la secuencia de ácidos nucleicos (SEQ ID NO: 69) de un casete de expresión HA que comprende el promotor plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia codificante de hemaglutinina de H3 de A/Brisbane/10/2007 (H3N2), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y las secuencias terminadoras.

La FIGURA 61 muestra la secuencia de ácidos nucleicos (SEQ ID NO: 70) de un casete de expresión HA que comprende el promotor plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia codificante de hemaglutinina de H3 de A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y las secuencias terminadoras.

La FIGURA 62 muestra la secuencia de ácidos nucleicos (SEQ ID NO: 71) de un casete de expresión HA que comprende el promotor plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia codificante de hemaglutinina de H7 de A/Equino/Praga/56 (H7N7), 3' UTR de plastocianina de alfalfa y las secuencias terminadoras.

La FIGURA 63 muestra la secuencia de ácidos nucleicos (SEQ ID NO: 72) de un casete de expresión HA que comprende el promotor plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia codificante de hemaglutinina de HA de B/Malasia/2506/2004, 3' UTR de plastocianina de alfalfa y las secuencias terminadoras.

La FIGURA 64 muestra la secuencia de ácidos nucleicos (SEQ ID NO: 73) de un casete de expresión HA que comprende el promotor plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia codificante de hemaglutinina de HA de B/Florida/4/2006, 3' UTR de plastocianina de alfalfa y las secuencias terminadoras.

La FIGURA 65 muestra una secuencia de aminoácidos consenso (SEQ ID NO: 74) para HA de A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1) (codificado por SEQ ID NO: 33), A/Brisbane/59/2007 (H1N1) (SEQ ID NO: 48), A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1) (SEQ ID NO: 49) y SEQ ID NO: 9. X1 (posición 3) es A o V; X2 (posición 52) es D o N; X3 (posición 90) es K o R; X4 (posición 99) es K o T; X5 (posición 111) es Y o H; X6 (posición 145) es V o T; X7 (posición 154) es E o K; X8 (posición 161) es R o K; X9 (posición 181) es V o A; X10 (posición 203) es D o N; X11 (posición 205) es R o K; X12 (posición 210) es T o K; X13 (posición 225) es R o K; X14 (posición 268) es W o R; X15 (posición 283) es T o N; X16 (posición 290) es E o K; X17 (posición 432) es I o L; X18 (posición 489) es N o D.

La FIGURA 66 muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 75) de H1 Nueva Caledonia (AAP34324.1) codificado por SEQ ID NO: 33.

La FIGURA 67 muestra la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 76) de H1 Puerto Rico (NC\_0409878.1) codificado por SEQ ID NO: 35.

La FIGURA 68 muestra la secuencia de ácidos nucleicos de una parte del número del casete de expresión 828, de PacI (promotor en la dirección 5') a AscI (inmediatamente en el terminador Nos en la dirección 3'). La secuencia CPMV HT 5'UTR se subraya con el ATG mutado. El sitio de restricción Apal (inmediatamente en la dirección 5' del ATG de la secuencia codificante de proteína que se va a expresar, en este caso la cadena ligera kappa C5-1.)

La FIGURA 69 muestra la secuencia de ácidos nucleicos de una parte del número de construcción 663, desde HindIII (en los múltiples sitios de clonación, en la dirección 5' del promotor plastocianina) hasta EcoRI (inmediatamente en la dirección 3' del terminador de plastocianina). Se subraya la secuencia codificante H5 (de A/Indonesia/5/2005) en fusión con PDI SP.

La FIGURA 70 muestra la secuencia de ácidos nucleicos de una parte del número de construcción 787, desde HindIII (en los múltiples sitios de clonación, en la dirección 5' del promotor plastocianina) hasta EcoRI (inmediatamente en la dirección 3' del terminador de plastocianina). Se subraya la secuencia codificante H1 (de A/Brisbane/59/2007) en fusión con PDI SP.

La FIGURA 71 muestra la secuencia de ácidos nucleicos de una parte del número de construcción 790, desde HindIII (en los múltiples sitios de clonación, en la dirección 5' del promotor plastocianina) hasta EcoRI (inmediatamente en la dirección 3' del terminador de plastocianina). Se subraya la secuencia codificante H3 (de A/Brisbane/10/2007) en fusión con PDI SP.

La FIGURA 72 muestra la secuencia de ácidos nucleicos de una parte del número de construcción 798, desde HindIII (en los múltiples sitios de clonación, en la dirección 5' del promotor plastocianina) hasta EcoRI (inmediatamente en la dirección 3' del terminador de plastocianina). Se subraya HA de la secuencia codificante B/Florida/4/2006 en fusión con PDI SP.

La FIGURA 73 muestra la secuencia de ácidos nucleicos de una parte del número de construcción 580, desde PacI (en la dirección 5' del promotor 35S) hasta Ascl (inmediatamente en la dirección 3' del terminador Nos). Se subraya la secuencia codificante de H1 (de A/Nueva Caledonia/ 20/1999) en fusión con PDI SP.

5 La FIGURA 74 muestra la secuencia de ácidos nucleicos de una parte del número de construcción 685, desde PacI (en la dirección 5' del promotor 35S) hasta Ascl (inmediatamente en la dirección 3' del terminador Nos). Se subraya la secuencia codificante de H5 de A/Indonesia/5/2005.

La FIGURA 75 muestra la secuencia de ácidos nucleicos de una parte del número de construcción 686, desde PacI (en la dirección 5' del promotor 35S) hasta Ascl (inmediatamente en la dirección 3' del terminador Nos). Se subraya la secuencia codificante de H5 de A/Indonesia/5/2005 en fusión con PDI SP.

10 La FIGURA 76 muestra la secuencia de ácidos nucleicos de una parte del número de construcción 732, desde PacI (en la dirección 5' del promotor 35S) hasta Ascl (inmediatamente en la dirección 3' del terminador NOS). Se subraya la secuencia codificante de H1 de A/Brisbane/59/2007.

15 La FIGURA 77 muestra la secuencia de ácidos nucleicos de una parte del número de construcción 733, desde PacI (en la dirección 5' del promotor 35S) hasta Ascl (inmediatamente en la dirección 3' del terminador NOS). Se subraya la secuencia codificante de H1 de A/Brisbane/59/2007 en fusión con PDI SP.

La FIGURA 78 muestra la secuencia de ácidos nucleicos de una parte del número de construcción 735, desde PacI (en la dirección 5' del promotor 35S) hasta Ascl (inmediatamente en la dirección 3' del terminador Nos). Se subraya la secuencia codificante de H3 de A/Brisbane/10/2007.

20 La FIGURA 79 muestra la secuencia de ácidos nucleicos de una parte del número de construcción 736, desde PacI (en la dirección 5' del promotor 35S) hasta Ascl (inmediatamente en la dirección 3' del terminador NOS). Se subraya la secuencia codificante de H3 de A/Brisbane/10/2007 en fusión con PDI SP.

La FIGURA 80 muestra la secuencia de ácidos nucleicos de una parte del número de construcción 738, desde PacI (en la dirección 5' del promotor 35S) hasta Ascl (inmediatamente en la dirección 3' del terminador NOS). Se subraya la secuencia codificante de HA de B/Florida/4/2006.

25 La FIGURA 81 muestra la secuencia de ácidos nucleicos de una parte del número de construcción 739, desde PacI (en la dirección 5' del promotor 35S) hasta Ascl (inmediatamente en la dirección 3' del terminador NOS). Se subraya la secuencia codificante de HA de B/Florida/4/2006 en fusión con PDI SP.

La FIGURA 82 muestra una secuencia de ácidos nucleicos que codifica Msj 1 (SEQ ID NO: 114).

30 La FIGURA 83 muestra la secuencia de ácidos nucleicos de una parte del número de construcción R850, desde HindIII (en los múltiples sitios de clonación, en la dirección 5' del promotor) hasta EcoRI (inmediatamente en la dirección 3' del terminador NOS). Se subraya la secuencia codificante HSP40.

La FIGURA 84 muestra la secuencia de ácidos nucleicos de una parte del número de construcción R860, desde HindIII (en los múltiples sitios de clonación, en la dirección 5' del promotor) hasta EcoRI (inmediatamente en la dirección 3' del terminador NOS). Se subraya la secuencia codificante HSP70.

35 La FIGURA 85 muestra la secuencia de ácidos nucleicos de una parte del número de construcción R870, desde HindIII (en los múltiples sitios de clonación, en la dirección 5' del promotor) hasta EcoRI (inmediatamente en la dirección 3' del terminador NOS). La secuencia codificante HSP40 está en cursiva subrayada y se subraya la secuencia codificante HSP70. A) nucleótidos 1-5003; B) nucleótidos 5004-9493.

La FIGURA 86 muestra una representación esquemática de la construcción R472.

40 La FIGURA 87 muestra un análisis de inmunotransferencia de la expresión de HA utilizando un péptido de señal de Isomerasa de disulfuro de alfalfa de proteína. Se cargan veinte microgramos de extracto de hoja de proteína obtenida de 3 plantas separadas en el SDS-PAGE excepto para el H1 (A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1)) en donde se utilizan cinco microgramos. Los controles indicados (virus inactivo completo (WIV) de la cepa homóloga) se añaden en cinco o veinte microgramos de plantas pseudoinfiltradas. a) expresión de H1 de A/Nueva Caledonia/20/99), b) expresión de H1 de A/Brisbane/59/2007, c) expresión de H3 de A/Brisbane/10/2007, d) expresión de H5 de A/Indonesia/5/2005, e) la expresión de HA de B/Florida/ 4/2006. La flecha indica la inmunobanda que corresponde a HA0. SP WT: péptido de señal natural, PS PDI: péptido de señal de PDI de alfalfa.

45

La FIGURA 88 muestra una comparación de las estrategias de expresión HA mediante de análisis de inmunotransferencia de extractos de hoja de proteína. Se produce HA utilizando casetes con base en CPMV-HT o plastocianina. Para CPMV-HT, el péptido de señal HA tipo natural y el péptido de señal de Alfalfa PDI también se comparan. Se cargan veinte microgramos de extracto de proteína en el SDS-PAGE para HA subtipo analizado excepto para la Nueva Caledonia H1 para lo cual se cargan cinco microgramos de proteínas. a) expresión de H1 de A/Nueva Caledonia/20/1999, b) expresión de H1 de A/Brisbane/59/2007, c) expresión de H3 de A/Brisbane/10/2007, d) expresión de H5 de A/Indonesia/5/2005, y e) expresión de B de B/Florida/4/2006. La flecha indica la inmunobanda que corresponde a HA0; las cepas de *Agrobacterium* específicas que comprenden los vectores específicos utilizados para expresión HA se indican en la parte superior de las columnas.

La FIGURA 89 muestra una inmunotransferencia de acumulación de HA cuando se coexpresa con Hsp 40 y Hsp70. Se expresan H1 Nueva Caledonia (AGL1/540) y H3 Brisbane (AGL1/790) solos o se coexpresan con AGL1/R870. Se evalúa el nivel de acumulación de HA mediante de análisis de inmunotransferencia de extractos de proteína de hojas infiltradas. El virus inactivo completo (WIV) de la cepa A/Nueva Caledonia/20/99 o Brisbane/10/2007 se utilizan como controles.

#### Descripción detallada

La presente invención se relaciona con la producción de partículas semejantes a virus. Más específicamente, la presente invención se dirige a la producción de partículas semejantes a virus que comprenden antígenos de influenza.

La siguiente descripción es de una realización preferida.

La presente invención proporciona un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un antígeno de un virus envuelto, por ejemplo, la influenza hemaglutinina (HA), ligada operativamente a una región reguladora activa en una planta.

Adicionalmente, la presente invención proporciona un método para producir partículas semejantes a virus (VLP) en una planta. El método implica introducir un ácido nucleico que codifica un antígeno ligado operativamente a una región reguladora activa en la planta, dentro de la planta, o parte de la planta, e incubar la planta o una parte de la planta bajo condiciones que permitan la expresión del ácido nucleico, produciendo por lo tanto los VLP.

Los VLP se pueden producir de virus de influenza, sin embargo, los VLP también se pueden producir de otra membrana de plasma derivada del virus que incluye pero no se limita a Sarampión, Ébola, Marburg, y VIH.

La invención incluye los VLP de todos los tipos de virus de influenza que pueden infectar humanos, que incluye por ejemplo, pero no se limita al subtipo muy prevalente A (H1N1) (por ejemplo A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1)), el subtipo A/Indonesia/5/05 (H5N1) (SEQ ID NO: 60) y el tipo B menos común (por ejemplo SEQ ID NO: 26, Figura 100), y el tipo C (SEQ ID NO: 27, Figura 10P), y con los HA obtenidos de otros subtipos de influenza. Los VLP de otros subtipos de influenza también se incluyen en la presente invención, por ejemplo, A/Brisbane/59/2007 (H1N1; SEQ ID NO: 48), A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1; SEQ ID NO: 49), A/Singapur/1/57 (H2N2; SEQ ID NO: 54), A/Anhui/1/2005 (H5N1; SEQ ID NO: 55), A/Vietnam/ 1194/2004 (H5N1; SEQ ID NO: 56), A/Trullo/Hong Kong/W312/97 (H6N1; SEQ ID NO: 57), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2; SEQ ID NO: 59), A/Brisbane/10/2007 (H3N2; SEQ ID NO: 50), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2; SEQ ID NO: 51), A/Equino/Praga/56 (H7N7; SEQ ID NO: 58), B/Malasia/2506/2004 (SEQ ID NO: 52), o B/Florida/4/2006 (SEQ ID NO: 53).

La presente invención también pertenece al virus de la influenza que infecta otros mamíferos o animales anfitriones, por ejemplo humanos, primates, caballos, cerdos, aves, aves acuáticas, aves migratorias, codornices, patos, gansos, aves de corral, pollos, camellos, caninos, perros, felinos, gatos, tigres, leopardos, civetas, visones, martas, hurones, animales domésticos, ganado, ratones, ratas, focas, ballenas y similares.

Ejemplos no limitantes de otros antígenos que se pueden expresar en los virus derivados de la membrana de plasma incluyen, la proteína de Cápsido de VIH - p24; gp120, gp41 - proteínas de envoltura, las proteínas estructurales VP30 y VP35; Gp/SGP (una proteína de membrana integral glucosilada) de Filovirus, por ejemplo Ébola o Marburg, o la proteína H, y proteína F de Paramixovirus, por ejemplo, Sarampión.

La invención también incluye, pero no se limita a, los VLP derivados de influenza que obtienen una envoltura de lípido de la membrana de plasma de la célula en la que se expresan las proteínas VLP. Por ejemplo, si el VLP se expresa en un sistema con base en planta, el VLP puede obtener una envoltura de lípido de la membrana de plasma de la célula.

De manera general, el término "lípido" se refiere a moléculas que se presentan en forma natural, solubles en grasa (lipófilas). El término también se utiliza más específicamente para referirse a ácidos grasos y sus derivados (que

incluyen tri, di, y monoglicéridos y fosfolípidos), así como también otros metabolitos que contienen esteroles solubles en grasa o esteroides. Los fosfolípidos son un componente principal de todas las membranas biológicas, junto con glucolípidos, esteroides y proteínas. Ejemplos de fosfolípidos incluyen fosfatidiletanolamina, fosfatidilcolina, fosfatidilinositol, fosfatidilserina, fosfatidilglicerol y similares. Ejemplos de esteroides incluyen zoosteroides (por ejemplo, colesterol) y fitoesteroides (por ejemplo, sitosterol) y esteril-glucosida. Se han identificado alrededor de 200 fitoesteroides en diversas especies de planta, la más común es campesterol, estigmasterol, ergosterol, brassicasterol, delta-7-estigmasterol, delta-7-avenasterol, daunoesterol, sitosterol, 24-metilcolesterol, colesterol o betasitosterol. Como un experto en la técnica comprenderá, la composición de lípido de la membrana de plasma de una célula puede variar con las condiciones de crecimiento o cultivo de la célula u organismo del que se obtiene la célula.

Las membranas celulares de manera general comprenden bicapas de lípido, así como también proteínas para diversas funciones. Las concentraciones localizadas de lípidos particulares se pueden encontrar en la bicapa de lípido, denominado como 'balsas lipídicas'. Sin limitarse por la teoría, las balsas lipídicas pueden tener funciones significativas en endo y exocitosis, entrada o egreso de virus u otros agentes infecciosos, transducción de señal de intercélula, interacción con otros componentes estructurales de la célula u organismo, tal como matrices intracelulares y extracelulares.

Con referencia a virus de influenza, el término "hemaglutinina" o "HA" como se utiliza aquí se refiere a una glucoproteína encontrada en la parte externa de las partículas víricas de influenza. El HA es una glucoproteína tipo I de membrana homotrimérica, que comprende de manera general un péptido de señal, un dominio HA1, y un dominio HA2 que comprende un sitio de anclaje que abarca la membrana en el terminal C y una pequeña cola citoplásmica (Figura 1B). Las secuencias de nucleótidos que codifican HA son bien conocidas y están disponibles - véase, por ejemplo, la base de Salud Pública BioDefence (Virus de influenza; véase URL: [biohealthbase.org](http://biohealthbase.org)) o Centro Nacional para Información Biotecnológica (véase URL: [ncbi.nlm.nih.gov](http://ncbi.nlm.nih.gov)), las cuales se incorporan aquí mediante referencia.

El término "homotrimérico" o "homotrimérico" indica que se forma un oligómero por tres moléculas de proteína HA. Sin limitarse por la teoría, la proteína HA se sintetiza como la proteína precursora monomérica (HA0) de aproximadamente 75 kDa, que se ensambla en la superficie en una proteína trimérica alargada. Antes que ocurra trimerización, la proteína precursora se divide en un sitio de división de activación conservado (también denominado como péptido de fusión) en 2 cadenas de polipéptidos, HA1 y HA2 (que comprende la región de transmembrana), ligada por un enlace de disulfuro. El segmento HA1 puede tener 328 aminoácidos de longitud, y el segmento HA2 puede tener 221 aminoácidos de longitud. Aunque esta división puede ser importante para infectividad de virus, no puede ser esencial para la trimerización de la proteína. La inserción de HA dentro de la membrana de retículo endoplasmático (ER) de la célula anfitriona, la división del péptido de señal y glucosilación de proteína son eventos cotraduccionales. El plegamiento correcto de HA requiere glucosilación de la proteína y formación de 6 enlaces de disulfuro intracadena. El trimero HA se ensambla dentro del complejo de Golgi cis- y trans, el dominio de transmembrana cumple una función en el proceso de trimerización. Las estructuras de cristal de las proteínas HA tratadas con bromelaína, que carecen del dominio de transmembrana, han mostrado una estructura altamente conservada contra las cepas de influenza. También se ha establecido que HA experimenta cambios conformacionales principales durante el proceso de infección, que requiere que el precursor HA0 se divida en las 2 cadenas de polipéptidos HA1 y HA2. La proteína HA se puede procesar (es decir, comprende el dominio HA1 y el dominio HA2), o no se puede procesar (es decir comprende el dominio HA0).

La presente invención pertenece al uso de una proteína HA que comprende el dominio de transmembrana e incluye el dominio HA1 y el dominio HA2, por ejemplo la proteína HA puede ser HA0, o HA procesado que comprende HA1 y HA2. La proteína HA se puede utilizar en la producción o formación de los VLP utilizando un sistema de expresión de célula de planta o planta.

El HA de la presente invención se puede obtener de cualquier subtipo. Por ejemplo, el HA puede ser del subtipo H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, H16 o de influenza tipo B. El HA recombinante de la presente invención también puede comprender una secuencia de aminoácidos con base en la secuencia cualquier hemaglutinina conocida en la técnica- véase, por ejemplo, la base de Salud Pública BioDefence (Virus de influenza; véase URL: [biohealthbase.org](http://biohealthbase.org)) o Centro Nacional para Información Biotecnológica (véase URL: [ncbi.nlm.nih.gov](http://ncbi.nlm.nih.gov)). Adicionalmente, el HA se puede basar en la secuencia de una hemaglutinina que está aislada de uno o más virus de la influenza que emergen o nuevamente identificados.

La presente invención también incluye los VLP que comprenden los HA obtenidos de uno o más de un subtipo de influenza. Por ejemplo, los VLP pueden comprender uno o más de un HA del subtipo H1 (codificado por la SEQ ID NO: 28), H2 (codificado por la SEQ ID NO: 12), H3 (codificado por la SEQ ID NO: 13), H4 (codificado por la SEQ ID NO: 14), H5 (codificado por la SEQ ID NO: 15), H6 (codificado por la SEQ ID NO: 16), H7 (codificado por la SEQ ID NO: 11), H8 (codificado por la SEQ ID NO: 17), H9 (codificado por la SEQ ID NO: 18), H10 (codificado por la SEQ ID NO: 19), H11 (codificado por la SEQ ID NO: 20), H12 (codificado por la SEQ ID NO: 21), H13 (codificado por la SEQ ID NO: 27), H14 (codificado por la SEQ ID NO: 23), H15 (codificado por la SEQ ID NO: 24), H16 (codificado por la SEQ ID NO: 25), o influenza tipo B (codificado por la SEQ ID NO: 26), o una combinación de los mismos. Uno o más de un HA de uno o más de uno de los subtipos de influenza se puede coexpresar dentro de una planta o célula de

insecto para asegurar que la síntesis de uno o más de un HA resulta en la formación de los VLP que comprende una combinación de los HA obtenidos de uno o más de un subtipo de influenza. La selección de la combinación de los HA se puede determinar mediante el uso pretendido de la vacuna preparada del VLP. Por ejemplo una vacuna para uso en la inoculación de aves puede comprender cualquier combinación de los subtipos HA, mientras que los VLP útiles para la inoculación de humanos pueden comprender los subtipos de uno o más de uno de los subtipos H1, H2, H3, H5, H7, H9, H10, N1, N2, N3 y N7. Sin embargo, otras combinaciones del subtipo HA se pueden preparar dependiendo del uso del inóculo.

Por lo tanto, la presente invención se dirige a un VLP que comprende uno o más de un subtipo HA, por ejemplo dos, tres, cuatro, cinco, seis, o más subtipos HA.

La presente invención también proporciona ácidos nucleicos que codifican hemaglutininas que forman los VLP cuando se expresan en plantas.

Los ácidos nucleicos de ejemplo pueden comprender las secuencias de nucleótidos de hemaglutinina de los subtipos de las cepas de influenza seleccionados. Por ejemplo, un subtipo A (H1N1) tal como A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1; SEQ ID NO: 33), el subtipo A/Indonesia/ 5/05 (H5N1) (que comprende la construcción #660; SEQ ID NO: 60) y el tipo B menos común (por ejemplo SEQ ID NO: 26, Figura 100), y el tipo C (SEQ ID NO: 27, Figura 10P), y para los HA obtenidos de otros subtipos de influenza. Los VLP de otros subtipos de influenza también se incluyen en la presente invención, por ejemplo, A/Brisbane/59/2007 (H1N1; SEQ ID NO: 36), A/Islas Salomón/3/2006 (H1N1; SEQ ID NO: 37), A/Singapur/1/57 (H2N2; SEQ ID NO: 42), A/Anhui/ 1/2005 (H5N1; SEQ ID NO: 43) A/Vietnam/1194/2004 (H5N1; SEQ ID NO: 44), A/Trullo/Hong Kong/W312/97 (H6N1; SEQ ID NO: 45), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2; SEQ ID NO: 47), A/Brisbane/10/2007 (H3N2; SEQ ID NO: 38), A/Wisconsin/ 67/2005 (H3N2; SEQ ID NO: 39), A/Equino/Praga/56 (H7N7; SEQ ID NO: 46), B/Malasia/2506/2004 (SEQ ID NO: 40), o B/Florida/4/2006 (SEQ ID NO: 41).

El plegado correcto de las hemaglutininas pueden ser importante para estabilidad de la proteína, formación de multímeros, formación de los VLP y función del HA (capacidad de hemaglutinar), entre otras características de hemaglutininas de influenza. El plegado de una proteína está influenciado por uno o más factores, que incluyen, pero no se limitan a, la secuencia de la proteína, la abundancia relativa de la proteína, el grado de aglomeración intracelular, la disponibilidad de cofactores que se pueden unir o asociar transitoriamente con la proteína plegada, parcialmente plegada o no plegada, la presencia de una o más las proteínas chaperonas, o similares.

Las proteínas de choque térmico (Hsp) o proteínas de tensión son ejemplos de las proteínas chaperonas, que pueden participar en diversos procesos celulares que incluyen síntesis de proteína, tráfico intracelular, prevención de plegado incorrecto, prevención de agregación de proteína, ensamble y disensamble de complejos de proteína, plegado de proteína, y desagregación de proteína. Ejemplos de dichas proteínas chaperonas incluyen, pero no se limitan a, Hsp60, Hsp65, Hsp 70, Hsp90, Hsp100, Hsp20-30, Hsp10, Hsp100-200, Hsp100, Hsp90, Lon, TF55, FKBP, ciclofilinas, ClpP, GrpE, ubiquitina, calnexina, e isomerasa de disulfuro de proteínas. Véase, por ejemplo, Macario, A.J.L., Cold Spring Harbor Laboratory Res. 25:59-70. 1995; Parsell, D.A. & Lindquist, S. Ann. Rev. Genet. 27:437-496 (1993); Patente Estadounidense No. 5,232,833. En algunos ejemplos, un grupo particular de proteínas chaperonas incluye Hsp40 y Hsp70.

Ejemplos de Hsp70 incluyen Hsp72 y Hsc73 de células de mamífero, DnaK de Bacteria, particularmente micobacterias tales como *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium tuberculosis*, y *Mycobacterium bovis* (tal como Bacille-Calmette Guérin: denominado aquí como Hsp71). DnaK de *Escherichia coli*, levadura y otros procariotes, y BiP y Grp78 de eucariotes, tal como *A. thaliana* (Lin et al. 2001 (Cell Stress and Chaperones 6:201-208). Un ejemplo particular de un Hsp70 es *A. thaliana* Hsp70 (codificado por la SEQ ID NO: 122, o SEQ ID NO: 123). Hsp70 es capaz de unir específicamente ATP así como también los péptidos y polipéptidos no plegados, participando por lo tanto en el plegado y no plegado de proteínas así como también en el ensamble y desensamble de los complejos de proteína.

Ejemplos de Hsp40 incluyen DnaJ de procariotes tales como *E. coli* y micobacterias y HSJ1, HDJ1 y Hsp40 de eucariotes, tales como alfalfa (Frugis et al., 1999. Plant Molecular Biology 40:397-408). Un ejemplo particular de un Hsp40 es *M. sativa* MsJ1 (codificado por la SEQ ID NO: 121, 123 o 114). Hsp40 cumple una función como una chaperona molecular en el plegado de la proteína, termotolerancia y replicación de ADN, entre otras actividades celulares.

Entre los Hsp, el Hsp70 y su co-chaperona, Hsp40, están implicados en la estabilización de traducción y los polipéptidos nuevamente sintetizados antes que se completa la síntesis. Sin limitarse por la teoría, el Hsp40 se une a los parches hidrófobos de los polipéptidos no plegados (emergentes o nuevamente transferidos), facilitando de esta forma la interacción del complejo Hsp70- ATP con el polipéptido. La hidrólisis de ATP conduce a la formación de un complejo estable entre el polipéptido, Hsp70 y ADP, y la liberación de Hsp40. La asociación del complejo Hsp70-ADP con los parches hidrófobos del polipéptido evita su interacción con otros parches hidrófobos, evitando el

plegado incorrecto y la formación de agregados con otras proteínas (revisado en Hartl, FU. 1996. Nature 381:571-579).

De nuevo, sin limitarse por la teoría, cuando aumenta la producción de la proteína en un sistema de expresión de proteína recombinante, los efectos de aglomeración en la expresión de la proteína recombinante pueden resultar en agregación y/o acumulación reducida de la proteína recombinante que resulta de la degradación del polipéptido de plegado incorrecto. Las proteínas chaperonas naturales pueden ser capaces de facilitar el plegado correcto de bajos niveles de la proteína recombinante, pero cuando aumentan los niveles de expresión, las chaperonas naturales pueden un factor limitante. Los altos niveles de la expresión de hemaglutinina en las hojas se agroinfiltran lo que puede conducir a la acumulación de polipéptidos de hemaglutinina en el citosol, y la coexpresión de una o más de una de las proteínas chaperonas tal como Hsp70, Hsp40 o ambos Hsp70 y Hsp40 puede aumentar la estabilidad en el citosol de la células que expresan las células de polipéptidos, reduciendo de esta forma el nivel de polipéptidos de hemaglutinina agregados o plegados en forma incorrecta, y aumenta el número de polipéptidos que se acumulan como hemaglutinina estable, exhibiendo características estructurales terciaria y cuaternarias que permiten la hemaglutinación y/o formación de partículas semejantes a virus.

Por lo tanto, la presente invención también proporciona un método para producir los VLP de influenza en una planta, en donde un primer ácido nucleico que codifica un HA de influenza se coexpresa con un segundo ácido nucleico que codifica una chaperona. El primer y segundo ácidos nucleicos se pueden introducir a la planta en la misma etapa, o se pueden introducir a la planta secuencialmente. La presente invención también proporciona un método para producir los VLP de influenza en una planta, en donde se introduce secuencialmente la planta que comprende el primer ácido nucleico, y el segundo ácido nucleico.

La presente invención también proporciona una planta que comprende un ácido nucleico que codifica una o más de una hemaglutinina de influenza y un ácido nucleico que codifica una o más de una chaperona.

El procesamiento de una secuencia de péptido de señal (SP) de terminal N durante expresión y/o secreción de hemaglutinina de influenza se ha propuesto que cumple una función en el proceso de plegado. El término "péptido de señal" se refiere de manera general a una secuencia de aminoácidos corta (aproximadamente 5-30 aminoácidos), encontrada de manera general en el terminal N de un polipéptido de hemaglutinina que puede dirigir la translocación del polipéptido nuevamente traducido a un organelo particular, o ayudar a posicionar los dominios específicos del polipéptido. El péptido de señal de hemaglutinina dirige la translocación de la proteína en el retículo endoplasmático y se ha propuesto para ayudar a posicionar el dominio próximo del terminal N con relación a un dominio de anclaje de membrana del polipéptido de hemaglutinina emergente para ayudar en la división y el plegado de la hemaglutinina madura. El retiro de un péptido de señal (por ejemplo, mediante una peptidasa de señal), puede requerir división precisa y retiro del péptido de señal para proporcionar la hemaglutinina madura – esta división precisa puede ser dependiente de cualquiera de los diversos factores, que incluyen una parte o todo el péptido de señal, la secuencia de aminoácidos que flanquea el sitio de división, la longitud del péptido de señal, o una combinación de estos, y no todos los factores pueden aplicar a cualquier secuencia dada.

Un péptido de señal puede ser natural en la hemaglutinina que se expresa, o una hemaglutinina recombinante que comprende un péptido de señal de un primer tipo de influenza, subtipo o la cepa con el balance de la hemaglutinina de un segundo tipo, subtipo o cepa de influenza. Por ejemplo se puede utilizar el SP natural de HA de los subtipos H1, H2, H3, H5, H6, H7, H9 o influenza tipo B para expresar el HA en un sistema de planta.

Un péptido de señal también puede ser no natural, por ejemplo, de una proteína estructural o hemaglutinina de un virus diferente a influenza, o de un polipéptido de planta, animal o bacteria. Un péptido de señal de ejemplo es aquel de isomerasa de disulfuro de alfalfa de proteína (PDISP) (nucleótidos 32-103 de Número de Acceso Z11499; SEQ ID NO: 34; Figura 17; la secuencia de aminoácidos MAKNVAI FGLLSLLLLVPSQIFAE).

La presente invención también proporciona una hemaglutinina de influenza que comprende un péptido de señal natural, o no natural, y ácidos nucleicos que codifican dichas hemaglutininas.

Las proteínas HA de influenza exhiben un rango de similitudes y diferencias con respecto al peso molecular, punto isoelectrico, tamaño, complemento de glucano y similares. Las propiedades fisicoquímicas de las diversas hemaglutininas pueden ser útiles para permitir la diferenciación entre los HA que se expresan en una planta, célula de insecto o sistema de levadura, y puede ser de uso particular cuando más de un HA se coexpresa en un sistema único. Ejemplos de dichas propiedades fisicoquímicas se proporcionan en la Tabla 1.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de hemaglutininas de influenza

| Clon |      | Cepas de influenza         | AA  |     |     | Glucanos |     |     | Peso Molecular (kDa) |                  |     |                  |     |                  |     | Punto isoelectrico |     |  |
|------|------|----------------------------|-----|-----|-----|----------|-----|-----|----------------------|------------------|-----|------------------|-----|------------------|-----|--------------------|-----|--|
| No.  | Tipo |                            | HA0 | HA1 | HA2 | HA0      | HA1 | HA2 | HA0                  | HA0 <sup>1</sup> | HA1 | HA1 <sup>1</sup> | HA2 | HA2 <sup>1</sup> | HA0 | HA1                | HA2 |  |
| 774  | H1   | A/Brisbane/59/2007         | 548 | 326 | 222 | 9        | 7   | 2   | 61                   | 75               | 36  | 47               | 25  | 28               | 6.4 | 7.5                | 5.3 |  |
| 775  | H1   | A/Isias Salomón/3/2006     | 548 | 326 | 222 | 9        | 7   | 2   | 61                   | 75               | 36  | 47               | 25  | 28               | 6.1 | 6.7                | 5.3 |  |
| 776  | H3   | A/Brisbane/10/2007         | 550 | 329 | 221 | 12       | 11  | 1   | 62                   | 80               | 37  | 54               | 25  | 27               | 8.5 | 9.6                | 5.2 |  |
| 777  | H3   | A/Wisconsin/67/2005        | 550 | 329 | 221 | 11       | 10  | 1   | 62                   | 79               | 37  | 52               | 25  | 27               | 8.8 | 9.6                | 5.3 |  |
| 778  | B    | B/Malasia/2506/2004        | 570 | 347 | 223 | 12       | 8   | 4   | 62                   | 80               | 38  | 50               | 24  | 30               | 8.0 | 9.7                | 4.5 |  |
| 779  | B    | B/Florida/4/2006           | 569 | 346 | 223 | 10       | 7   | 3   | 62                   | 77               | 38  | 48               | 24  | 29               | 8.0 | 9.7                | 4.5 |  |
| 780  | H2   | A/Singapur/1/57            | 547 | 325 | 222 | 6        | 4   | 2   | 62                   | 71               | 36  | 42               | 25  | 28               | 6.0 | 7.5                | 4.9 |  |
| 781  | H5   | A/Anhui/1/2005             | 551 | 329 | 222 | 7        | 5   | 2   | 62                   | 73               | 37  | 45               | 25  | 28               | 6.2 | 8.9                | 4.7 |  |
| 782  | H5   | A/Vietnam/1194/2004        | 552 | 330 | 222 | 7        | 5   | 2   | 63                   | 74               | 38  | 45               | 25  | 28               | 6.4 | 9.1                | 4.8 |  |
| 783  | H6   | A/Trullo/Hong Kong/W312/97 | 550 | 328 | 222 | 8        | 5   | 3   | 62                   | 75               | 37  | 45               | 25  | 30               | 5.7 | 5.9                | 5.6 |  |
| 784  | H7   | A/Equino/Praga/56          | 552 | 331 | 221 | 6        | 4   | 2   | 62                   | 71               | 37  | 43               | 25  | 28               | 8.9 | 9.7                | 4.9 |  |
| 785  | H9   | A/Hong Kong/1073/99        | 542 | 320 | 199 | 9        | 7   | 2   | 61                   | 75               | 36  | 46               | 23  | 26               | 8.4 | 9.5                | 5.3 |  |



La presente invención también incluye las secuencias de nucleótidos SEQ ID NO: 28; SEQ ID NO: 3; SEQ ID NO: 11, que codifica HA de H1, H5 o H7, respectivamente. La presente invención también incluye una secuencia de nucleótidos que hibrida bajo condiciones de hibridación exigentes a la SEQ ID NO: 28; SEQ ID NO: 3; SEQ ID NO: 11. La presente invención también incluye una secuencia de nucleótidos que hibrida bajo condiciones de hibridación exigentes a un complemento de la SEQ ID NO: 28; SEQ ID NO: 3; SEQ ID NO: 1. Estas secuencias de nucleótidos que hibridan a la SEQ ID o un complemento de la SEQ ID codifica una proteína de hemaglutinina que, cuando se expresa forma un VLP, y el VLP induce la producción de un anticuerpo cuando se administra a un sujeto. Por ejemplo, la expresión de la secuencia de nucleótidos dentro de una célula de planta que forma un VLP, y el VLP se puede utilizar para producir un anticuerpo que es capaz de unirse a HA, que incluye HA maduro, HA0, HA1, o HA2 de uno o más tipos o subtipos de influenza. Los VLP, cuando se administran a un sujeto, inducen una respuesta inmunitaria.

La presente invención también incluye las secuencias de nucleótidos de la SEQ ID NO: 12 SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46 o SEQ ID NO: 47. La presente invención también incluye una secuencia de nucleótidos que hibrida bajo condiciones de hibridación exigentes a la SEQ ID NO: 12 SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46 o SEQ ID NO: 47. La presente invención también incluye una secuencia de nucleótidos que hibrida bajo condiciones de hibridación exigentes a un complemento de la SEQ ID NO: 12 SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46 o SEQ ID NO: 47. Estas secuencias de nucleótidos que hibridan a la SEQ ID NO: 12 SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46 o SEQ ID NO: 47 o un complemento de la SEQ ID NO: 12 SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46 o SEQ ID NO: 47 codifica una proteína de hemaglutinina que, cuando se expresa forma un VLP, y el VLP induce la producción de un anticuerpo cuando se administra a un sujeto. Por ejemplo, la expresión de la secuencia de nucleótidos dentro de una célula de planta forma un VLP, y el VLP se puede utilizar para producir un anticuerpo que es capaz de unirse a HA, que incluye HA maduro, HA0, HA1, o HA2 de uno o más tipos o subtipos de influenza. El VLP, cuando se administra a un sujeto, induce una respuesta inmunitaria.

En algunas realizaciones, la presente invención también incluye las secuencias de nucleótidos de la SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46 o SEQ ID NO: 47, que codifica el HA de los subtipos H1, H2, H3, H5, H7 o H9 de influenza A, o HA de influenza tipo B. La presente invención también incluye una secuencia de nucleótidos que hibrida bajo condiciones de hibridación exigentes a la SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46 o SEQ ID NO: 47. La presente invención también incluye una secuencia de nucleótidos que hibrida bajo condiciones de hibridación exigentes a un complemento de la SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46 o SEQ ID NO: 47. Estas secuencias de nucleótidos que hibridan a la SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46 o SEQ ID NO: 47 o un complemento de la SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46 o SEQ ID NO: 47 codifica una proteína de hemaglutinina que, cuando se expresa forma un VLP, y el VLP induce la producción de un anticuerpo cuando se administra a un sujeto. Por ejemplo, la expresión de la secuencia de nucleótidos dentro de una célula de planta forma un VLP, y el VLP se puede utilizar para producir un anticuerpo que es capaz de unirse a HA, que incluye HA maduro, HA0, HA1, o HA2 de uno o más tipos o subtipos de influenza. El VLP, cuando se administra a un sujeto, induce una respuesta inmunitaria.

Se conoce en la técnica la hibridación bajo condiciones de hibridación exigentes (véase por ejemplo Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel et al., eds. 1995 and supplements; Maniatis et al., in Molecular Cloning (A Laboratory Manual), Cold Spring Harbor Laboratory, 1982; Sambrook and Russell, in Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3ra edición 2001; cada uno de los cuales se incorpora aquí mediante referencia). Un ejemplo de una de dichas condiciones de hibridación exigentes puede ser aproximadamente 16-20 horas de la hibridación en 4 X SSC a 65°C, seguido por lavado en 0.1 X SSC a 65°C durante una hora, o 2 lavados en 0.1 X SSC a 65°C cada uno durante 20 o 30 minutos. Alternativamente, una condición de hibridación exigente de ejemplo puede ser durante la noche (16-20 horas) en 50% de formamida, 4 X SSC a 42°C, seguido por lavado en 0.1 X SSC a 65°C durante una hora, o 2 lavados en 0.1 X SSC a 65°C cada uno durante 20 o 30 minutos, o durante la noche (16-20 horas), o la hibridación en regulador de fosfato acuoso Church (7% de SDS; regulador 0.5M NaPO<sub>4</sub> pH 7.2; 10 mM EDTA) a 65°C, con 2 lavados ya sea a 50°C en 0.1 X SSC, 0.1% de SDS durante 20 o 30 minutos cada uno, o 2 lavados a 65°C en 2 X SSC, 0.1% de SDS durante 20 o 30 minutos cada uno.

Adicionalmente, la presente invención incluye las secuencias de nucleótidos que se caracterizan por tener aproximadamente 70, 75, 80, 85, 87, 90, 91, 92, 93 94; 95, 96, 97, 98, 99, 100% o cualquier cantidad entre estos, identidad de secuencia, o similitud de secuencia, con la secuencia de nucleótidos que codifica HA de H1 (SEQ ID NO: 28), H5 (SEQ ID NO: 3) o H7 (SEQ ID NO: 11), en donde la secuencia de nucleótidos codifica una proteína de hemaglutinina que cuando se expresa forma un VLP, y que el VLP induce la producción de un anticuerpo. Por ejemplo, la expresión de la secuencia de nucleótidos dentro de una célula de planta forma un VLP, y el VLP se puede utilizar para producir un anticuerpo que es capaz de unirse a HA, que incluye HA maduro, HA0, HA1, o HA2. El VLP, cuando se administra a un sujeto, induce una respuesta inmunitaria.

Adicionalmente, la presente invención incluye las secuencias de nucleótidos que se caracterizan por tener aproximadamente 70, 75, 80, 85, 87, 90, 91, 92, 93 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100% o cualquier cantidad entre estos, identidad de secuencia, o similitud de secuencia, con la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 12 SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46 o SEQ ID NO: 47, en donde la secuencia de nucleótidos codifica una proteína de hemaglutinina que cuando se expresa forma un VLP, y que el VLP induce la producción de un anticuerpo. Por ejemplo, la expresión de la secuencia de nucleótidos dentro de una célula de planta forma un VLP, y el VLP se puede utilizar para producir un anticuerpo que es capaz de unirse a HA, que incluye HA maduro, HA0, HA1, o HA2. El VLP, cuando se administra a un sujeto, induce una respuesta inmunitaria.

Adicionalmente, la presente invención incluye las secuencias de nucleótidos que se caracterizan por tener aproximadamente 70, 75, 80, 85, 87, 90, 91, 92, 93 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100% o cualquier cantidad entre estos, identidad de secuencia, o similitud de secuencia, con la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39; SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46 o SEQ ID NO: 47, en donde la secuencia de nucleótidos codifica una proteína de hemaglutinina que cuando se expresa forma un VLP, y que el VLP induce la producción de un anticuerpo. Por ejemplo, la expresión de la secuencia de nucleótidos dentro de una célula de planta forma un VLP, y el VLP se puede utilizar para producir un anticuerpo que es capaz de unirse a HA, que incluye HA maduro, HA0, HA1, o HA2. El VLP, cuando se administra a un sujeto, induce una respuesta inmunitaria.

De forma similar, la presente invención incluye Los HA asociados con los subtipos H1 (codificado por la SEQ ID NO: 28), H2 (codificado por la SEQ ID NO: 12), H3 (codificado por la SEQ ID NO: 13), H4 (codificado por la SEQ ID NO: 14), H5 (codificado por la SEQ ID NO: 15); H6 (codificado por la SEQ ID NO: 16), H7 (codificado por la SEQ ID NO: 11), H8 (codificado por la SEQ ID NO: 17), H9 (codificado por la SEQ ID NO: 18), H10 (codificado por la SEQ ID NO: 19), H11 (codificado por la SEQ ID NO: 20), H12 (codificado por la SEQ ID NO: 21), H13 (codificado por la SEQ ID NO: 27), H14 (codificado por la SEQ ID NO: 23), H15 (codificado por la SEQ ID NO: 24), H16 (codificado por la SEQ ID NO: 25), o influenza tipo B (codificado por la SEQ ID NO: 26); véase las Figuras 10A a 10O), y las secuencias de nucleótidos que se caracterizan por tener de aproximadamente 70 a 100% o cualquier cantidad entre estos, 80 a 100% o cualquier cantidad entre estos, 90-100% o cualquier cantidad entre estos, o 95-100% o cualquier cantidad entre estos, identidad de secuencia con H1 (SEQ ID NO: 28), H2 (SEQ ID NO: 12), H3 (SEQ ID NO: 13), H4 (SEQ ID NO: 14), H5 (SEQ ID NO: 15), H6 (SEQ ID NO: 16), H7 (SEQ ID NO: 11), H8 (SEQ ID NO: 17), H9 (SEQ ID NO: 18), H10 (SEQ ID NO: 19), H11 (SEQ ID NO: 20), H12 (SEQ ID NO: 21), H13 (SEQ ID NO: 27), H14 (SEQ ID NO: 23), H15 (SEQ ID NO: 24), H16 (SEQ ID NO: 25), en donde la secuencia de nucleótidos codifica una proteína de hemaglutinina que cuando se expresa forma un VLP, y que el VLP induce la producción de un anticuerpo. Por ejemplo, la expresión de la secuencia de nucleótidos dentro de una célula de planta forma un VLP, y el VLP se puede utilizar para producir un anticuerpo que es capaz de unirse a HA, que incluye HA maduro, HA0, HA1, o HA2. El VLP, cuando se administra a un sujeto, induce una respuesta inmunitaria.

Una "respuesta inmunitaria" de manera general se refiere a una respuesta del sistema inmunitario adaptativo. El sistema inmunitario adaptativo de manera general comprende una respuesta humoral, y una respuesta mediada por

célula. La respuesta humoral es el aspecto de inmunidad que está mediada por anticuerpos secretados, producidos en las células del linaje de linfocitos B (célula B). Los anticuerpos secretados se unen a los antígenos sobre las superficies de los microbios que invaden (tal como virus o bacterias), que los marca para destrucción. Se utiliza inmunidad humoral de manera general para referirse a la producción de anticuerpos y los procesos que los acompaña, así como también las funciones efectoras de anticuerpos, que incluyen activación de célula Th2 y producción de citoquina, generación de célula de memoria, promoción de opsonina de fagocitosis, eliminación de patógenos y similares. Los términos "modula" o "modulación" o similares se refiere a un aumento o reducción en un parámetro o respuesta particular, como se determina por cualquiera de diversos ensayos conocidos o utilizados de manera general, algunos de los cuales se ejemplifican aquí.

Una respuesta mediada por célula es una respuesta inmunitaria que no implica anticuerpos pero a diferencia implica la activación de macrófagos, células asesinas naturales (NK), linfocitos T citotóxicos específicos de antígeno, y la liberación de diversas citoquinas en respuesta a un antígeno. Se utiliza inmunidad mediada por célula de manera general para referirse a alguna activación de célula Th, activación de célula Tc y respuestas mediadas por célula T. La inmunidad mediada por células es de particular importancia en responder a las infecciones víricas.

Por ejemplo, la inducción de linfocitos T positivos CD8 específicos de antígeno se puede medir utilizando un ensayo ELISPOT; se puede medir la estimulación de linfocitos T positivos CD4 utilizando un ensayo de proliferación. Los títulos de anticuerpo de anti-influenza se pueden cuantificar utilizando un ensayo ELISA; los isotipos de anticuerpos de reactividad cruzada o específicos de antígeno también se pueden medir utilizando los anticuerpos antiisotipo (por ejemplo anti-IgG, IgA, IgE o IgM). Se conocen bien en la técnica métodos y técnicas para realizar dichos ensayos.

También se puede utilizar un ensayo de inhibición de hemaglutinación (HI, o HAI) para demostrar la eficacia de los anticuerpos inducida por una vacuna, o composición de vacuna puede inhibir la aglutinación de glóbulos rojos (RBC) mediante HA recombinante. Los títulos inhibidores de hemaglutinación de anticuerpo de muestras de suero se pueden evaluar mediante HAI de microtítulo (Aymard et al 1973). Se pueden utilizar los eritrocitos de cualquiera de varias especies, por ejemplo caballo, pavo, pollo o similares. Este ensayo da información indirecta en ensamble del HA trímico sobre la superficie de VLP, que confirma la presentación apropiada de sitios antigénicos en los HA.

Los títulos HAI de reactividad cruzada también se pueden utilizar para demostrar la eficacia de una respuesta inmunitaria a otras cepas de virus que se relacionan con el subtipo de vacuna. Por ejemplo, el suero de un sujeto inmunizado con una composición de vacuna de una primera cepa (por ejemplo los VLP de A/Indonesia 5/05) se puede utilizar en un ensayo HAI con una segunda cepa del virus completo o partículas de virus (por ejemplo A/Vietnam/1194/2004), y se determina el título HAI.

También se pueden cuantificar los niveles o presencia de citoquina. Por ejemplo una respuesta de célula auxiliar T (Th1/Th2) se caracterizará por la medición de IFN- $\gamma$  y células que secretan IL-4 utilizando ELISA (por ejemplo BD Biosciences OptEIA kits). Las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) o esplenocitos obtenidos de un sujeto se pueden cultivar, y el sobrenadante se analiza. También se pueden cuantificar los linfocitos T mediante clasificación de células activada por fluorescencia (FACS), utilizando marcas fluorescentes específicas de marcador y métodos como se conocen en la técnica.

También se puede realizar un ensayo de microneutralización para caracterizar una respuesta inmunitaria en un sujeto, véase por ejemplo los métodos de Rowe et al., 1973. Se pueden obtener títulos de neutralización de virus en diversas formas, que incluyen: 1) enumeración de placas de lisis (ensayo de placas) luego de fijación/coloración de células violeta de cristal; 2) observación microscópica de lisis celular en el cultivo; 3) ELISA y detección espectrofotométrica de proteína de virus NP (se correlaciona con infección vírica de células anfitrionas)

La identidad de secuencia o similitud de secuencia se puede determinar utilizando un programa de comparación de secuencia de nucleótidos, tal como aquel proporcionado dentro de DNASIS (por ejemplo, utilizando, pero no limitado a, los siguientes parámetros: penalidad GAP 5, # de diagonales 5 superiores, penalidad fija GAP 10, k-tuple 2, espacio de flotación 10, y tamaño de ventana 5). Sin embargo, se conocen bien en la técnica otros métodos de alineación de las secuencias para comparación por ejemplo de los algoritmos de Smith & Waterman (1981, Adv. Appl. Math. 2:482), Needleman & Wunsch (J. Mol. Biol. 48:443, 1970), Pearson & Lipman (1988, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444), y mediante implementaciones computarizadas de estos algoritmos (por ejemplo GAP, BESTFIT, FASTA, y BLAST), o mediante alineación manual e inspección visual.

El término "dominio de hemaglutinina" se refiere a un péptido que comprende el dominio HA0, o el dominio HA1 y el dominio HA2 (alternativamente denominado como fragmentos HA1 y HA2). El HA0 es un precursor de los fragmentos HA1 y HA2. El monómero HA de manera general se puede subdividir en 2 dominios funcionales: dominio de tallo y cabeza globular, o dominio superior. El dominio de tallo está involucrado en la infectividad y patogenicidad del virus por medio del cambio conformacional que puede experimentar cuando se expone a pH ácido. El dominio de tallo se puede subdividir adicionalmente en 4 subdominios o fragmentos, subdominio de fusión o péptido (resistencia hidrófoba de aminoácidos involucrados en fusión con la membrana anfitriona en el estado conformacional de pH ácido); el subdominio de tallo (puede acomodar las dos o más conformaciones), el dominio de transmembrana o

sub-dominio (TmD) (implicado en la afinidad del HA para balsas lipídicas), y la cola citoplásmica (el sub-dominio de la cola citoplásmica) (cola C) (implicada en secreción de HA). La cabeza globular se divide en 2 subdominios, el subdominio RB y el dominio de esterasa vestigial (E). El subdominio E se puede enterrar parcial o completamente y no se expone a la superficie de la cabeza globular, de esta forma algunos anticuerpos elevados contra HA se unen al subdominio RB.

El término "partícula semejante a virus" (VLP), o "partículas semejantes a virus" o "VLP" se refiere a estructuras que se autoensamblan y comprenden proteínas estructurales tales como proteína HA de influenza. Los VLP son de manera general morfológicamente y antigénicamente semejantes a viriones producidos en una infección, pero carecen de información genética suficiente para replicar y de esta forma no son infecciosos. En algunos ejemplos, los VLP pueden comprender una única especie de proteína, o más de una especie de proteína. Para los VLP que comprenden más de una de las especies de proteína, la especie de proteína puede ser la misma especie de virus, o puede comprender una proteína de una especie diferente, género, subfamilia o familia de virus (como se designa por la nomenclatura ICTV). En otros ejemplos, una o más de las especies de proteína que comprende un VLP se puede modificar de la secuencia que se presenta en forma natural. Los VLP se pueden producir en células anfitrionas adecuadas que incluyen células anfitrionas de planta e insecto. Luego de la extracción de la célula anfitriona y luego de aislamiento y purificación adicional bajo condiciones adecuadas, los VLP se pueden purificar como estructuras intactas.

Los VLP producidos de proteínas derivadas de influenza, de acuerdo con la presente invención no comprenden la proteína M1. Se sabe que la proteína M1 se une al ARN (Wakecampo and Brownlee, 1989) que es un contaminante de la preparación de VLP. La presencia de ARN es indeseada cuando se obtiene aprobación reguladora para el producto VLP, por lo tanto puede ser ventajosa una preparación de VLP que carece de ARN.

Los VLP de la presente invención se pueden producir en una célula anfitriona que se caracteriza por la falta de capacidad de proteínas sialiladas, por ejemplo una célula de planta, una célula de insecto, hongo, y otros organismos que incluyen esponjas, celentéridos, anélidos, artrópodos, moluscos, nematelmintos, troquelemintos, platelmintos, quetognados, tentaculados, clamidia, espiroquetas, bacterias gram-positivas, cianobacterias, arqueobacterias, o similares. Véase, por ejemplo Glucoforum (URL: [glucoforum.gr.jp/science/word/evolution/ES-A03E.html](http://glucoforum.gr.jp/science/word/evolution/ES-A03E.html)) o Gupta et al., 1999. Nucleic acids Research 27:370-372; o Toukach et al., 2007. Nucleic acids Research 35:D280-D286; o URL: [glycostructurs.jp](http://glycostructurs.jp) (Nakahara et al., 2008. Nucleic acids Research 36:D368-D371; publicado en línea en Octubre 11, 2007 doi:10.1093/NAR/gkm833). Los VLP producidos como se describe aquí no comprenden normalmente neuramindasa (NA). Sin embargo, el NA se puede coexpresar con HA debido a que los VLP comprenden el HA y NA que se desee.

Un VLP producido en un vegetal de acuerdo con algunos aspectos de la invención puede formar complejos con lípidos derivados de vegetales. El VLP puede comprender un péptido HA0, HA1 o HA2. Los lípidos derivados de vegetales pueden estar en la forma de una bicapa de lípido, y pueden comprender adicionalmente una envoltura que rodea el VLP. Los lípidos derivados de vegetales pueden comprender componentes de lípido de la membrana de plasma de la planta en donde se produce el VLP, que incluye, pero no se limita a, fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE), glucoesfingolípidos, fitoesteros o una combinación de los mismos. Un lípido derivado de vegetal se puede denominar alternativamente como un "lípido de vegetal". Ejemplos de fitoesteros se conocen en la técnica, e incluyen, por ejemplo, estigmasterol, sitosterol, 24-metilcolesterol y colesterol, véase, por ejemplo, Mongrand et al., 2004.

Los VLP se pueden evaluar para detectar estructura y tamaño mediante, por ejemplo, ensayo de hemaglutinación, microscopio de electrones, o mediante cromatografía de exclusión de tamaño.

Para cromatografía de exclusión de tamaño, se pueden extraer proteínas solubles totales de tejido de planta al homogenizar la muestra (Polytron) del material de planta triturado congelado en regulador de extracción, y material insoluble retirado mediante centrifugación. La precipitación con PEG también puede ser beneficiosa. La proteína soluble se cuantifica, y el extracto pasa a través de una columna Sephacryl™. Se puede utilizar Blue Dextran 2000 como un estándar de calibración. Luego de cromatografía, las fracciones se pueden analizar adicionalmente mediante inmunotransferencia para determinar el complemento de proteína de la fracción.

Sin limitarse por la teoría, la capacidad de HA para unirse a RBC de diferentes animales se realiza mediante la afinidad de HA para ácidos siálicos  $\alpha 2,3$  o  $\alpha 2,6$  y la presencia de estos ácidos siálicos sobre la superficie de RBC. El HA equino y aviar del virus de la influenza aglutina los eritrocitos de todas las diversas especies, que incluyen pavos, pollos, patos, conejillos de indias, humanos, ovejas, caballos y vacas; mientras que los HA humanos se unirán a los eritrocitos de pavo, pollos, patos, conejillos de indias, humanos y ovejas (véase también Ito T. et al, 1997, Virology, vol 227, p493-499; y Medeiros R et al, 2001, Virology, vol 289 p.74-85). Ejemplos de reactividad de especies de los HA de diferentes cepas de influenza se muestran en las Tablas 2A y 2B.

Tabla 2A: Especies de RBC unido por HA de cepas seleccionadas de influenza de estación.

| Estación | Cepa                            | No. | Origen | caballo | Pavo |
|----------|---------------------------------|-----|--------|---------|------|
| H1       | A/Brisbane/59/2007 (H1N1)       | 774 | Humano | +       | ++   |
|          | A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1) | 775 | Humano | +       | ++   |
| H3       | A/Brisbane/10/2007 (H3N2)       | 776 | Humano | +       | ++   |
|          | A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)      | 777 | Humano | +       | ++   |
| B        | B/Malasia/2506/2004             | 778 | Humano | +       | ++   |
|          | B/Florida/4/2006                | 779 | Humano | +       | ++   |

Tabla 2B: Especies de RBC unidos por HA de cepas de influenza pandémicas seleccionadas

| Pandémico | Cepa                              | No. | Origen | caballo | Pavo |
|-----------|-----------------------------------|-----|--------|---------|------|
| H2        | A/Singapur/1/57 (H2N2)            | 780 | Humano | +       | ++   |
| H5        | A/Anhui/1/2005 (H5N1)             | 781 | Hu-Av  | ++      | +    |
|           | A/Vietnam/1194/2004 (H5N1)        | 782 | Hu-Av  | ++      | +    |
| H6        | A/Trullo/Hong Kong/W312/97 (H6N1) | 783 | Aviar  | ++      | +    |
| H7        | A/Equino/Praga/56 (H7N7)          | 784 | Equino | ++      | ++   |
| H9        | A/Hong Kong/1073/99 (H9N2)        | 785 | Humano | ++      | +    |

5 Un fragmento o parte de una proteína, proteína de fusión o polipéptido incluye un péptido o polipéptido que comprende un subconjunto del complemento de aminoácido de una proteína o polipéptido particular, dado que el fragmento puede formar un VLP cuando se expresa. El fragmento, por ejemplo, puede comprender una región antigénica, una región que induce respuesta a tensión, o una región que comprende un dominio funcional de la proteína o polipéptido. El fragmento también puede comprender una región o dominio común para las proteínas de la misma familia general, o el fragmento puede incluir suficiente secuencia de aminoácidos para identificar específicamente la proteína de longitud completa de la que se deriva.

10 Por ejemplo, un fragmento o parte puede comprender de aproximadamente 60% a aproximadamente 100%, de la longitud de la longitud completa de la proteína, o cualquier cantidad entre estos, dado que el fragmento puede formar un VLP cuando se expresa. Por ejemplo, de aproximadamente 60% a aproximadamente 100%, de aproximadamente 70% a aproximadamente 100%, de aproximadamente 80% a aproximadamente 100%, de aproximadamente 90% a aproximadamente 100%, de aproximadamente 95% a aproximadamente 100%, de la longitud de la longitud completa de la proteína, o cualquier cantidad entre estos. Alternativamente, un fragmento o parte puede ser de aproximadamente 150 a aproximadamente 500 aminoácidos, o cualquier cantidad entre estos, dependiendo del HA, y dado que el fragmento puede formar un VLP cuando se expresa. Por ejemplo, un fragmento puede ser de 150 a aproximadamente 500 aminoácidos, o cualquier cantidad entre estos, de aproximadamente 200 a aproximadamente 500 aminoácidos, o cualquier cantidad entre estos, de aproximadamente 250 a aproximadamente 500 aminoácidos, o cualquier cantidad entre estos, de aproximadamente 300 a aproximadamente 500 o cualquier cantidad entre estos, de aproximadamente 350 a aproximadamente 500 aminoácidos, o cualquier cantidad entre estos, de aproximadamente 400 a aproximadamente 500 o cualquier cantidad entre estos, de aproximadamente 450 a aproximadamente 500 o cualquier cantidad entre estos, dependiendo del HA, y dado que el fragmento puede formar un VLP cuando se expresa. Por ejemplo, aproximadamente 5, 10, 20, 30, 40 o 50 aminoácidos, o cualquier cantidad entre estos se puede retirar del terminal C, el terminal N o el terminal N y C de una proteína HA, dado que el fragmento puede formar un VLP cuando se expresa.

La numeración de los aminoácidos en cualquier secuencia dada es con relación a la secuencia particular, sin embargo un experto puede determinar fácilmente la "equivalencia" de un aminoácido particular en una secuencia con base en estructura y/o secuencia. Por ejemplo, si se retiran 6 aminoácidos de terminal N cuando se construye un clon para cristalografía, esto cambiará la identidad numérica específica del aminoácido (por ejemplo con relación a la longitud completa de la proteína), pero no alteraría la posición relativa del aminoácido en la estructura.

Las comparaciones de una secuencia o las secuencias se pueden hacer utilizando un algoritmo BLAST (Altschul et al., 1990. J. Mol Biol 215:403-410). Una búsqueda BLAST permite la comparación de una secuencia de consulta con una secuencia específica o grupo de secuencias, o con una colección más grande o base de datos (por ejemplo GenBank o GenPept) de las secuencias, y se identifican no solo las secuencias que exhiben 100% de identidad, sino también aquellas con menores grados de identidad. Las secuencias de ácidos nucleicos o secuencias de aminoácidos se pueden comparar utilizando un algoritmo BLAST. Adicionalmente la identidad entre dos o más secuencias se puede determinar al alinear las secuencias y determinar el % de identidad entre las secuencias. La alineación se puede llevar a cabo utilizando el algoritmo BLAST (por ejemplo cuando está disponible a través de GenBank; URL: [ncbi.nlm.nih.gov/cgi-bin/BLAST/](http://ncbi.nlm.nih.gov/cgi-bin/BLAST/) utilizando parámetros predeterminados: Programa: blastn; Base de datos: nr; Expect 10; filtro: defecto; Alineación: par base; Consulta de códigos genéticos: Estándar (1)), o BLAST2 a través de EMBL URL: [embl-heidelberg.de/Services/index.html](http://embl-heidelberg.de/Services/index.html) utilizando parámetros predeterminados: Matriz BLOSUM62; Filtro: predeterminado, ecofiltro: en Expect: 10, corte: predeterminado; Hebra: ambos; Descripciones: 50, Alineaciones: 50; o FASTA, utilizando parámetros predeterminados), o al comparar manualmente las secuencias y calcular el % de identidad.

La presente invención describe, pero no se limita a, la clonación de un ácido nucleico que codifica HA en un vector de expresión de planta, y la producción de los VLP de influenza de la planta, adecuado para la producción de la vacuna. Ejemplos de dichos ácidos nucleicos incluyen, por ejemplo, pero no se limitan a, una virus HA de influenza A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1) (por ejemplo SEQ ID NO: 61), un sub-tipo HA de A/Indonesia/5/05 (H5N1) (por ejemplo SEQ ID NO: 60), A/Brisbane/59/2007 (H1N1) (por ejemplo SEQ ID NO: 36, 48, 62), A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1) (por ejemplo SEQ ID NO: 37, 49, 63), A/Singapur/1/57 (H2N2) (por ejemplo SEQ ID NO: 42, 54, 64), A/Anhui/1/2005 (H5N1) (por ejemplo SEQ ID NO: 43, 55, 65), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) (por ejemplo SEQ ID NO: 44, 56, 66), A/Trullo/Hong Kong/W312/97 (H6N1) (por ejemplo SEQ ID NO: 45, 57, 67), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2) (por ejemplo SEQ ID NO: 47, 59, 68), A/Brisbane/10/2007 (H3N2) (por ejemplo SEQ ID NO: 38, 50, 69), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2) (por ejemplo SEQ ID NO: 39, 51, 70), A/Equino/Praga/56 (H7N7) (por ejemplo SEQ ID NO: 46, 58, 71), B/Malasia/2506/2004 (por ejemplo SEQ ID NO: 40, 52, 72), B/Florida/4/2006 (por ejemplo SEQ ID NO: 41, 53, 73). El clon correspondiente o el número de construcciones para estas cepas se proporciona en la Tabla 1. Las secuencias de ácidos nucleicos que corresponden a la SEQ ID NOS: 36-47 comprenden una plastocianina en la dirección 5' y ligadas operativamente a la secuencia codificante del HA para cada uno de los tipos o los subtipos, como se ilustra las Figuras 28-39. Las secuencias de ácidos nucleicos que corresponden a la SEQ ID NO: 60-73 comprenden un casete de expresión HA que comprende el promotor plastocianina de alfalfa y 5' UTR, la secuencia codificante de hemaglutinina de un HA, 3' UTR de plastocianina de alfalfa y las secuencias terminadoras, como se ilustra en las Figuras 51-64.

Los VLP también se pueden utilizar para producir reactivos comprendidos de proteínas estructurales de influenza recombinante que se autoensamblan en estructuras de proteína macromolecular funcional y homotípica inmunogénica, que incluyen partículas de influenza subvíticas y VLP de influenza, en células anfitrionas transformadas, por ejemplo células de plantas o células de insectos.

Por lo tanto, la invención proporciona para los VLP, y un método para producir los VLP víricos en un sistema de expresión de planta, de la expresión de una proteína de envoltura única. Los VLP pueden ser los VLP de influenza, o los VLP producidos de otros virus derivados de membrana de plasma que incluyen, pero no se limitan a, Sarampión, Ébola, Marburg, y VIH.

También se pueden utilizar las proteínas de otras envolturas del virus, por ejemplo pero no se limitan a Filoviridae (por ejemplo virus de Ébola, virus de Marburg, o similares), Paramixoviridae (por ejemplo virus de Sarampión, virus de las paperas, virus sincitial respiratorio, neumovirus, o similares), Retroviridae (por ejemplo Virus de Inmunodeficiencia Humana -1, Virus de Inmunodeficiencia Humana -2, Virus de Leucemia de Célula T Humana -1, o similares), Flaviviridae (por ejemplo Encefalitis del Nilo Occidental, virus de Dengue, virus de Hepatitis C, virus de fiebre amarilla, o similares), Bunyaviridae (por ejemplo Hantavirus o similares), Coronaviridae (por ejemplo coronavirus, SARS, o similares), como lo conocerán aquellos expertos en la técnica. Ejemplos no limitantes de antígenos que se pueden expresar en los virus derivados de la membrana de plasma incluyen, la proteína de Cápsido de VIH - p24; glucoproteínas de VIH gp120 o gp41, proteínas de Filovirus que incluyen VP30 o VP35 de virus de Ébola o Gp/SGP de virus Marburg o proteína H o proteína F del paramixovirus de Sarampión. Por ejemplo, P24 de VIH (por ejemplo referencia GenBank gi:19172948) es la proteína obtenida mediante traducción y división de la secuencia gag del genoma de virus VIH (por ejemplo referencia GenBank gi:9629357); gp 120 y gp41 de VIH son glucoproteínas obtenidas mediante traducción y división de la proteína gp160 (por ejemplo referencia GenBank gi:9629363), codificado por env del genoma de virus VIH. El VP30 del virus de Ébola (Referencia GenPept gi: 55770813) es la proteína obtenida mediante traducción de la secuencia vp30 del genoma de virus de Ébola (por

ejemplo referencia GenBank gi:55770807); VP35 de virus Ébola (Referencia GenPept gi:55770809) es la proteína obtenida mediante traducción de la secuencia vp35 del genoma de virus Ébola. El Gp/SGP de virus Marburg (Referencia GenPept gi:296965) es la proteína obtenida mediante traducción de la (secuencia) del genoma de virus Marburg (Referencia GenBank gi:158539108). H proteína (Referencia GenPept gi: 9626951) es la proteína de la secuencia H del genoma de virus de Sarampión (Referencia GenBank gi: 9626945); proteína F (Referencia GenPept gi: 9626950) es la proteína de la secuencia F del genoma de virus de Sarampión.

Sin embargo, se pueden utilizar otras proteínas de envoltura dentro de los métodos de la presente invención como lo conocerá un experto en la técnica.

La invención, por lo tanto, proporciona una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica VIH-p24, VIHgp120, VIH-gp41, virus de Ébola-VP30, virus de Ébola-VP35, virus de Marburg Gp/SGP, virus de Sarampión - proteína H o proteína -F. La molécula de ácido nucleico se puede ligar operativamente a una región reguladora activa en una célula de insecto, levadura o célula de planta, o en un tejido de planta particular.

La presente invención proporciona adicionalmente la clonación de un ácido nucleico que codifica un HA, por ejemplo pero no se limita a, virus HA de influenza humana A/Indonesia/5/05 (H5N1) en una planta o vector de expresión de insecto (por ejemplo vector de expresión de baculovirus) y la producción de los candidatos de vacuna de influenza o reactivos comprendidos de proteínas estructurales de influenza recombinante que se autoensamblan en estructuras de proteína macromolecular homotípica funcional e inmunogénica, que incluye partículas de influenza subvéricas e influenza VLP, en células de plantas transformadas o células de insectos transformadas.

El ácido nucleico codifica los subtipos de HA de influenza, por ejemplo pero no limitado a, A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1), sub-tipo A/Indonesia/5/05 (H5N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Islas Salomón/3/2006 (H1N1), A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Trullo/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2), A/Brisbane/10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), A/Equino/Praga/56 (H7N7), B/Malasia/ 2506/2004, B/Florida/4/2006 se puede expresar, por ejemplo, utilizando un sistema de expresión de baculovirus en una estirpe celular apropiada, por ejemplo, células de *Spodoptera frugiperda* (por ejemplo, estirpe celular Sf-9; ATCC PTA-4047). También se pueden utilizar otras estirpes celulares de insectos.

El ácido nucleico que codifica el HA, alternativamente, se puede expresar en una célula de planta, o en un vegetal. El ácido nucleico que codifica HA se puede sintetizar mediante transcripción inversa y reacción de la cadena de polimerasa (PCR) utilizando ARN de HA. Como un ejemplo, el ARN se puede aislar del virus de influenza humana A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1) o virus de influenza humana A/Indonesia/5/05 (H5N1), u otro virus de la influenza por ejemplo A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Islas Salomón/3/2006 (H1N1), A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Trullo/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2), A/Brisbane/10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), A/Equino/Praga/56 (H7N7), B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006, o de células infectadas con un virus de influenza. Para transcripción inversa y PCR, los cebadores de oligonucleótidos específicos para ARN HA, por ejemplo pero no limitados a, las secuencias HA de virus de influenza humana A/Nueva Caledonia/ 20/99 (H1N1) o las secuencias HA0 de virus de influenza humana A/Indonesia/5/05 (H5N1), o se pueden utilizar las secuencias HA de influenza de los subtipos A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Islas Salomón/3/2006 (H1N1), A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Trullo/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2), A/Brisbane/10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), A/Equino/Praga/56 (H7N7), B/Malasia/ 2506/2004, B/Florida/4/2006. Adicionalmente, un ácido nucleico que codifica HA se puede sintetizar químicamente utilizando los métodos como lo conocería un experto en la técnica.

Las copias de cADN resultantes de estos genes se pueden clonar en un vector de expresión adecuado según se requiera por el sistema de expresión del anfitrión. Alternativamente, ejemplos de vectores de expresión apropiados para plantas se describen adelante, los vectores de expresión de baculovirus, por ejemplo, se pueden utilizar pFastBacl (Invitrogen), que resulta de los plásmidos con base en pFastBacl, utilizando métodos conocidos, e información proporcionada mediante las instrucciones del fabricante.

La presente invención se dirige adicionalmente a una construcción génica que comprende un ácido nucleico que codifica HA, como se describió anteriormente, ligada operativamente a un elemento regulador que es operativo en un vegetal. Ejemplos de elementos reguladores operativos en una célula de planta y que se pueden utilizar de acuerdo con la presente invención incluyen pero no se limitan a una región reguladora de plastocianina (documento US 7,125,978; que se incorpora aquí mediante referencia), o una región reguladora de Ribulosa 1,5- bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (RuBisCO; documento US 4,962,028; que se incorpora aquí mediante referencia), proteína de unión a/b de clorofila (CAB; Leutwiler et al; 1986; que se incorpora aquí mediante referencia), ST-LS1 (asociado con el complejo que involucra oxígeno del fotosistema II y se describe por Stockhaus et al. 1987, 1989; que se incorpora aquí mediante referencia). Un ejemplo de una región reguladora de plastocianina es una secuencia que comprende nucleótidos 10-85 de la SEQ ID NO: 36, o una región similar de una cualquiera de la SEQ ID NOS: 37-47. Un elemento regulador o región reguladora puede mejorar la traducción de una secuencia de nucleótidos a la que se liga operativamente la secuencia de nucleótidos que puede codificar una proteína o polipéptido. Otro ejemplo de una

región reguladora es aquella derivada de las regiones no traducidas del Virus del Mosaico del Cauquí (CPMV), que se puede utilizar para traducir preferiblemente la secuencia de nucleótidos a la que se liga operativamente. Esta región reguladora CPMV comprende un sistema CMPV-HT - véase, por ejemplo, Sainsbury et al, 2008, *Plant Physiology* 148: 1212-1218.

- 5 Si la construcción se expresa en una célula de insecto, ejemplos de elementos reguladores operativos en una célula de insecto incluyen pero no se limitan al promotor polihedrina (Posse and Howard 1987. *Nucleic acids Research* 15:10233-10248), el promotor gp64 (Kogan et al, 1995. *J Virology* 69:1452-1461) y similares.

Por lo tanto, un aspecto de la invención proporciona un ácido nucleico que comprende una región reguladora y una secuencia que codifica una influenza HA. La región reguladora puede ser un elemento regulador de plastocianina, y la influenza HA se puede seleccionar de un grupo de cepas de influenza o los subtipos, que comprenden A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1), A/Indonesia/5/05 sub-tipo (H5N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1), A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/ 1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Trullo/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2), A/Brisbane/10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), A/Equino/Praga/56 (H7N7), B/Malasia/2506/2004, B/Florida/ 4/2006. Las secuencias de ácidos nucleicos que comprenden un elemento regulador de plastocianina y una influenza HA se ejemplifican aquí mediante la SEQ ID NOS: 36-47.

Se sabe que se pueden presentar diferencias de secuencia en la secuencia de hemaglutinina de las secuencias de aminoácidos de influenza, o los ácidos nucleicos que los codifican, cuando se cultiva el virus de influenza en huevos, o células de mamífero, (por ejemplo células MDCK) o cuando se aísla de un sujeto infectado. Ejemplos no limitantes de dichas diferencias se ilustran aquí, que incluyen el Ejemplo 18. Adicionalmente, como un experto en la técnica lo haría, se puede observar variación adicional dentro de hemaglutinina de influenza obtenida de nuevas cepas cuando continúan ocurriendo mutaciones adicionales. Debido a la variabilidad de la secuencia conocida entre diferentes hemaglutininas de influenza, la presente invención incluye los VLP que se puede hacer utilizando cualquier hemaglutinina de influenza dado que cuando se expresa en un anfitrión como se describe aquí, la hemaglutinina de influenza forma un VLP.

Las alineaciones de secuencia y las secuencias consenso se pueden determinar utilizando cualquiera de diversos paquetes de software conocidos en la técnica, por ejemplo MULTALIN (F. CORPET, 1988, *Nucl. Acids Res.*, 16 (22), 10881-10890), o las secuencias se pueden alinear manualmente y similitudes y diferencias entre las secuencias determinadas.

30 Las estructuras de hemaglutinina son bien estudiadas y se sabe que las estructuras están altamente conservadas. Cuando las estructuras de hemaglutinina se superponen, se observa un alto grado de conservación estructural (rmsd <2Å). Esta conservación estructural se observa aunque la secuencia de aminoácidos pueda variar en algunas posiciones (véase, por ejemplo, Skehel and Wiley, 2000 *Ann Rev Biochem* 69:531-69; Vaccaro et al 2005). También están bien conservadas las regiones de hemaglutinina, por ejemplo:

35 • Dominios estructurales: La poliproteína HA0 se divide para proporcionar HA maduro. El HA es un homotrímero con cada monómero que comprende un dominio de unión al receptor (HA1) y un dominio de anclaje de membrana (HA2) ligado por un único enlace de disulfuro; los 20 residuos de terminal N de la subunidad HA2 también se puede denominar como el dominio de fusión HA o secuencia. También está presente una región de "cola" (interna a la envoltura de membrana). Cada hemaglutinina comprende estas regiones o dominios. Las regiones o dominios individuales conservan normalmente la longitud.

45 • Todas las hemaglutininas contienen el mismo número y posición de puentes de disulfuro intra e intermolecular. La cantidad y posición en la secuencia de aminoácidos de las cisteínas que participan en la red de puente de disulfuro se conservan entre los HA. Ejemplos de estructuras que ilustran las características de los puentes de disulfuro intra e intermolecular y otros aminoácidos conservados y sus posiciones relativas se describen en, por ejemplo, Gamblin et al 2004 (*Science* 303:1838-1842). Las estructuras y las secuencias de ejemplo incluyen 1RVZ, 1RVX, 1RVT, 1RV0, 1RUY, 1RU7, disponibles del Banco de Datos de Proteína (Berman et al. 2003. *Nature Structural Biology* 10:980; URL: rcsb.org)

• Cola citoplásmica – la mayor parte de las hemaglutininas comprenden 3 cisteínas en posiciones conservadas. Una o más de estas cisteínas se pueden palmitoilatar como una modificación postraducciona.

50 La variación de aminoácido se tolera en las hemaglutininas del virus de la influenza. Esta variación proporciona nuevas cepas que se identifican continuamente. La infectividad entre las nuevas cepas puede variar. Sin embargo, se mantiene la formación de trímeros de hemaglutinina, que forman posteriormente los VLP. La presente invención, por lo tanto, proporciona una secuencia de aminoácidos de hemaglutinina, o un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos de hemaglutinina, que forma los VLP en una planta, e incluye las secuencias conocidas y las secuencias variantes que se pueden desarrollar.



La Figura 65 ilustra un ejemplo de dicha variación conocida. Esta Figura muestra una secuencia de aminoácidos consenso (SEQ ID NO: 74) para HA de las cepas H1N1:

A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1) (codificado por la SEQ ID NO: 33),

A/Brisbane/59/2007 (H1N1) (SEQ ID NO: 48),

5 A/Islas Salomón/3/2006 (H1N1) (SEQ ID NO: 49) y

SEQ ID NO: 9. X1 (posición 3) es A o V; X2 (posición 52) es D o N; X3 (posición 90) es K o R; X4 (posición 99) es K o T; X5 (posición 111) es Y o H; X6 (posición 145) es V o T; X7 (posición 154) es E o K; X8 (posición 161) es R o K; X9 (posición 181) es V o A; X10 (posición 203) es D o N; X11 (posición 205) es R o K; X12 (posición 210) es T o K; X13 (posición 225) es R o K; X14 (posición 268) es W o R; X15 (posición 283) es T o N; X16 (posición 290) es E o K; X17 (posición 432) es I o L; X18 (posición 489) es N o D.

Como otro ejemplo de dicha variación, una alineación de secuencia y la secuencia consenso para HA de A/Nueva Caledonia/ 20/99 (H1N1) (codificado por la SEQ ID NO: 33), A/Brisbane/59/2007 (H1N1) (SEQ ID NO: 48), A/Islas Salomón/ 3/2006 (H1N1) (SEQ ID NO: 49), A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) y SEQ ID NO: 9 se muestra adelante en la Tabla 3.

15 Tabla 3: Alineación de secuencia y secuencia consenso para HA de cepas H1N1 seleccionadas

| SEQ ID NO. | Secuencia  |            |            |            |            |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
|            | 1          |            |            |            | 50         |
| 75         | MKAKLLVLLC | TFTATYADTI | CIGYHANNST | DTVDTVLEKN | VTVTHSVNLL |
| 9          | MKAKLLVLLC | TFTATYADTI | CIGYHANNST | DTVDTVLEKN | VTVTHSVNLL |
| 48         | MKVLLVLLC  | TFTATYADTI | CIGYHANNST | DTVDTVLEKN | VTVTHSVNLL |
| 49         | MKVLLVLLC  | TFTATYADTI | CIGYHANNST | DTVDTVLEKN | VTVTHSVNLL |
| 76         | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Consenso   | mkxkllvllc | tftatyadti | cigyhannst | dtvdtvlekn | vtvthsvnll |
|            | 51         |            |            |            | 100        |
| 75         | EDSHNGKLC  | LKGIAPLQLG | NCSVAGWILG | NPECELLISK | ESWSYIVETP |
| 9          | EDSHNGKLC  | LKGIAPLQLG | NCSVAGWILG | NPECELLISK | ESWSYIVETP |
| 48         | EDSHNGKLC  | LKGIAPLQLG | NCSVAGWILG | NPECELLISK | ESWSYIVEKP |
| 49         | EDSHNGKLC  | LKGIAPLQLG | NCSVAGWILG | NPECELLISK | ESWSYIVEKP |
| 76         | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Consenso   | exshngkicl | lkgiaplqlg | ncsvagwilg | npecellis  | eswsyive.p |
|            | 101        |            |            |            | 150        |
| 75         | NPENGTCYPG | YFADYEELRE | QLSSVSSFER | FEIFPKESSW | PNHTVTGVSA |
| 9          | NPENGTCYPG | YFADYEELRE | QLSSVSSFER | FEIFPKESSW | PNHTVTGVSA |
| 48         | NPENGTCYPG | YFADYEELRE | QLSSVSSFER | FEIFPKESSW | PNHTVTGVSA |
| 49         | NPENGTCYPG | YFADYEELRE | QLSSVSSFER | FEIFPKESSW | PNHTVTGVSA |
| 76         | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Consenso   | npengtcypg | xfadyeelre | qlssvssfer | feifpkessw | pnhtxtgvsa |
|            | 151        |            |            |            | 200        |
| 75         | SCSHNGKSSF | YRNLLWLTGK | NGLYPNLSKS | YVNNKEKEVL | VLWGVHHPN  |
| 9          | SCSHNGKSSF | YRNLLWLTGK | NGLYPNLSKS | YVNNKEKEVL | VLWGVHHPN  |
| 48         | SCSHNGESSF | YRNLLWLTGK | NGLYPNLSKS | YANNKEKEVL | VLWGVHHPN  |
| 49         | SCSHNGESSF | YRNLLWLTGK | NGLYPNLSKS | YANNKEKEVL | VLWGVHHPN  |
| 76         | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Consenso   | scshngxssf | yxnlwltgk  | nglypnlsks | yxnnkekevl | vlwgvhhppn |
|            | 201        |            |            |            | 250        |
| 75         | IGNQRALYHT | ENAYVSVVSS | HYSRRFTPEI | AKRPKVRDQE | GRINYWTLL  |
| 9          | IGNQRALYHT | ENAYVSVVSS | HYSRRFTPEI | AKRPKVRDQE | GRINYWTLL  |
| 48         | IGDQKALYHT | ENAYVSVVSS | HYSRKFTPEI | AKRPKVRDQE | GRINYWTLL  |
| 49         | IGDQKALYHT | ENAYVSVVSS | HYSRKFTPEI | AKRPKVRDQE | GRINYWTLL  |
| 76         | .....      | .....MSLLT | EVETVLSII  | PSGPLKAEIA | QRLEDVFAGK |
| Consenso   | igxqxalyhx | enayvsvvss | hysrxftpei | akrpkvr#qe | gri#yywtll |
|            | 251        |            |            |            | 300        |
| 75         | EPGDTIIFEA | NGNLIAPWYA | FALSRGFGSG | IITSNAPMDE | CDAKCQTPQG |
| 9          | EPGDTIIFEA | NGNLIAPWYA | FALSRGFGSG | IITSNAPMDE | CDAKCQTPQG |
| 48         | EPGDTIIFEA | NGNLIAPRYA | FALSRGFGSG | IINSNAPMDK | CDAKCQTPQG |
| 49         | EPGDTIIFEA | NGNLIAPRYA | FALSRGFGSG | IINSNAPMDE | CDAKCQTPQG |
| 76         | NTDLEVLMEW | ...LKTRPIL | SPLTKGILGF | VFTLTVPSE  | GLQRRRFVQN |
| Consenso   | #pgdt!ifEa | ngnliapxya | faLsrGfgsg | !itsnaPm#x | cdakcqtPQg |

```

301                                     350
75 AINSSLPFQON VHPVTIGECF KYVRSACLRLM VT.GLRNIPS IQSRGLFGAI
9  AINSSLPFQON VHPVTIGECF KYVRSACLRLM VT.GLRNIPS IQSRGLFGAI
48 AINSSLPFQON VHPVTIGECF KYVRSACLRLM VT.GLRNIPS IQSRGLFGAI
49 AINSSLPFQON VHPVTIGECF KYVRSACLRLM VT.GLRNIPS IQSRGLFGAI
76 ALNG.....N GDPNNMDKAV KLYRKLKREI TFHGAKEISL SYSAGALASC
Consenso AiNsslpfqN vhPvtigecp KyvRsaKlrm vtxGlr#Ips iqSrGlfgai

351                                     400
75 AGFIEGGWTG MVDGWYGYHH QNEQSGGYAA DQKSTQNAIN GITNKNVNSVI
9  AGFIEGGWTG MVDGWYGYHH QNEQSGGYAA DQKSTQNAIN GITNKNVNSVI
48 AGFIEGGWTG MVDGWYGYHH QNEQSGGYAA DQKSTQNAIN GITNKNVNSVI
49 AGFIEGGWTG MVDGWYGYHH QNEQSGGYAA DQKSTQNAIN GITNKNVNSVI
76 MGLIYNRM.G AVTTEVAFGL VCATCEQIAD SQHRSHRQMV TTTNPLIRHE
Consenso aGfIeggwtG mVdGwyg%hh qneqsggyAa dQkstqnain gitNknvnsvi

401                                     450
75 EKMNTQFTAV GKEFNKLERR MENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLLENER
9  EKMNTQFTAV GKEFNKLERR MENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLLENER
48 EKMNTQFTAV GKEFNKLERR MENLNKKVDD GFIDIWTYNA ELLVLLENER
49 EKMNTQFTAV GKEFNKLERR MENLNKKVDD GFIDIWTYNA ELLVLLENER
76 NRMVLASTTA .KAMEQMAGS SEQAAEAMEV A.....S QARQMVAQMR
Consenso #kMntqftav gKef#k$err mE#lnkkv#d gfxdiwtyna #llv$l#neR

451                                     500
75 TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ L KNNAKEIGNG CFEFYHKCNN ECMESVKNGT
9  TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ L KNNAKEIGNG CFEFYHKCNN ECMESVKNGT
48 TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ L KNNAKEIGNG CFEFYHKCNN ECMESVKNGT
49 TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ L KNNAKEIGNG CFEFYHKCNN ECMESVKNGT
76 TIGTHPSSSA GLKNDLLENL QAYQKRMGVQ MQRFK.....
Consenso TldfHdSnvk nLy#kvks#L kannaKeiGng cfeFyhkcncx ecmesvkngt

501                                     550
75 YDYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMDGVYQI LAIYSTVASS LVLLVSLGAI
9  YDYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMDGVYQI LAIYSTVASS LVLLVSLGAI
48 YDYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMDGVYQI LAIYSTVASS LVLLVSLGAI
49 YDYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMDGVYQI LAIYSTVASS LVLLVSLGAI
76 .....
Consenso ydyppysees klnrekidgv klesmgvyqi laiystvass lvllvslgai

551                                     566
75 SFWMCSNGSL QCRICI
9  SFWMCSNGSL QCRICI
48 SFWMCSNGSL QCRICI
49 SFWMCSNGSL QCRICI
76 .....
Consenso sfwmcsgsl qcrici

```

La secuencia consenso indica en letras mayúsculas aminoácidos comunes todas las secuencias en una posición designada; las letras minúsculas indican aminoácidos comunes a por lo menos la mitad, o la mayoría de las secuencias; el símbolo ! es uno cualquiera de I o V; el símbolo \$ es uno cualquiera de L o M; el símbolo % es uno cualquiera de F o Y; el símbolo # es uno cualquiera de N, D, Q, E, B o Z; el símbolo "." no es aminoácido (por ejemplo una eliminación); X en la posición 3 es uno cualquiera de A o V; X en la posición 52 es uno cualquiera de E o N; X en la posición 90 es K o R; X en la posición 99 es T o K; X en la posición 111 es uno cualquiera de Y o H; X en la posición 145 es uno cualquiera de V o T; X en la posición 157 es K o E; X en la posición 162 es R o K; X en la posición 182 es V o A; X en la posición 203 es N o D; X en la posición 205 es R o K; X en la posición 210 es T o K; X en la posición 225 es K o Y; X en la posición 333 es H o una eliminación; X en la posición 433 es I o L; X en la posición 49 es N o D.

Como otro ejemplo de dicha variación, una alineación de secuencia y la secuencia consenso para HA de A/Anhui/1/2005 (H5N1) (SEQ ID NO: 55), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) y A/Indonesia/5/2006 (H5N1) (SEQ ID NO: 10) se muestra adelante en la Tabla 4.

Tabla 4: Alineación de secuencia y secuencia consenso para HA de cepas H1N1 seleccionadas

| SEQ ID NO. | Secuencia |              |             |               |             |              |
|------------|-----------|--------------|-------------|---------------|-------------|--------------|
|            | 1         |              |             |               |             | 50           |
| 10         | MEKIVLLLA | I VSLVKS     | DQIC        | IGYHANN       | STE QVDTIME | KNV TVTHAQD  |
| 56         | MEKIVLLFA | I VSLVKS     | DQIC        | IGYHANN       | STE QVDTIME | KNV TVTHAQD  |
| 55         | MEKIVLLLA | I VSLVKS     | DQIC        | IGYHANN       | STE QVDTIME | KNV TVTHAQD  |
| Consenso   | MEKIVLLLA | I VSLVKS     | DQIC        | IGYHANN       | STE QVDTIME | KNV TVTHAQD  |
|            | 51        |              |             |               |             | 100          |
| 10         | KTHNGKLC  | DL DGVKPL    | LILRD       | CSVAGWL       | LGN PMCDEF  | INVP EWSYIVE |
| 56         | KTHNGKLC  | DL DGVKPL    | LILRD       | CSVAGWL       | LGN PMCDEF  | INVP EWSYIVE |
| 55         | KTHNGKLC  | DL DGVKPL    | LILRD       | CSVAGWL       | LGN PMCDEF  | INVP EWSYIVE |
| Consenso   | KTHNGKLC  | DL DGVKPL    | LILRD       | CSVAGWL       | LGN PMCDEF  | INVP EWSYIVE |
|            | 101       |              |             |               |             | 150          |
| 10         | PTNDLCYP  | GS FNDYEEL   | KHL LSRINH  | FEKI QIIPKSS  | WSD HEASSG  | VSSA         |
| 56         | PVNDLCYP  | GD FNDYEEL   | KHL LSRINH  | FEKI QIIPKSS  | WSS HEASLG  | VSSA         |
| 55         | PANDLCYP  | GN FNDYEEL   | KHL LSRINH  | FEKI QIIPKSS  | WSD HEASSG  | VSSA         |
| Consenso   | PxNDLCYP  | Gx FNDYEEL   | KHL LSRINH  | FEKI QIIPKSS  | Wsd HEASsG  | VSSA         |
|            | 151       |              |             |               |             | 200          |
| 10         | CPYLGSP   | SFF RNVVWL   | IKKN STYPTI | KSY NNTNQED   | LLV LWGIHHP | NDA          |
| 56         | CPYQGK    | SFF RNVVWL   | IKKN STYPTI | KSY NNTNQED   | LLV LWGIHHP | NDA          |
| 55         | CPYQGTP   | SFF RNVVWL   | IKKN NTYPTI | KSY NNTNQED   | LLI LWGIHHS | NDA          |
| Consenso   | CPYqGxp   | SFF RNVVWL   | IKKN sTYPTI | KsY NNTNQED   | LL! LWGIHHP | NDA          |
|            | 201       |              |             |               |             | 250          |
| 10         | AEQTRLY   | QNP TTYISIG  | TST LNQRLV  | PKIA TRSKVNG  | QSG RMEFFWT | ILK          |
| 56         | AEQTKLY   | QNP TTYISVG  | TST LNQRLV  | PRIA TRSKVNG  | QSG RMEFFWT | ILK          |
| 55         | AEQTKLY   | QNP TTYISVG  | TST LNQRLV  | PKIA TRSKVNG  | QSG RMDFFWT | ILK          |
| Consenso   | AEQTKLY   | QNP TTYIS!GT | TST LNQRLV  | PKIA TRSKVNG  | QSG RM#FFWT | ILK          |
|            | 251       |              |             |               |             | 300          |
| 10         | PNDAINF   | ESN GNFIAP   | EYAY KIVKKG | DSAI MKSELEY  | GNC NTKCQT  | PMGA         |
| 56         | PNDAINF   | ESN GNFIAP   | EYAY KIVKKG | DSTI MKSELEY  | GNC NTKCQT  | PMGA         |
| 55         | PNDAINF   | ESN GNFIAP   | EYAY KIVKKG | DSAI VKSEVEY  | GNC NTKCQT  | PIGA         |
| Consenso   | PNDAINF   | ESN GNFIAP   | EYAY KIVKKG | DsAI mKSELEY  | GNC NTKCQT  | PmGA         |
|            | 301       |              |             |               |             | 350          |
| 10         | INSSMPF   | HNI HPLTIGE  | CPK YVKS    | NRLVLA TGLRNS | PQRE SRRKKR | GLFG         |
| 56         | INSSMPF   | HNI HPLTIGE  | CPK YVKS    | NRLVLA TGLRNS | PQRE RRRKKR | GLFG         |
| 55         | INSSMPF   | HNI HPLTIGE  | CPK YVKS    | NKLVLA TGLRNS | PfRE RRRK.  | GLFG         |

|                 |            |            |            |            |            |            |
|-----------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <b>Consenso</b> | INSSMPFHNI | HPLTIGECPK | YVKSNI     | LVLA       | TGLRNSPQRE | rRRKkRGLFG |
|                 | 351        |            |            |            |            | 400        |
| 10              | AIAGFIEGGW | QGMVDGWYGY | HHSNEQGSY  | AADKESTQKA | IDGVTNKVNS |            |
| 56              | AIAGFIEGGW | QGMVDGWYGY | HHSNEQGSY  | AADKESTQKA | IDGVTNKVNS |            |
| 55              | AIAGFIEGGW | QGMVDGWYGY | HHSNEQGSY  | AADKESTQKA | IDGVTNKVNS |            |
| <b>Consenso</b> | AIAGFIEGGW | QGMVDGWYGY | HHSNEQGSY  | AADKESTQKA | IDGVTNKVNS |            |
|                 | 401        |            |            |            |            | 450        |
| 10              | IIDKMNTQFE | AVGREFNNLE | RRLENLNKKM | EDGFLDVWTY | NAELLVLMEN |            |
| 56              | IIDKMNTQFE | AVGREFNNLE | RRLENLNKKM | EDGFLDVWTY | NAELLVLMEN |            |
| 55              | IIDKMNTQFE | AVGREFNNLE | RRLENLNKKM | EDGFLDVWTY | NAELLVLMEN |            |
| <b>Consenso</b> | IIDKMNTQFE | AVGREFNNLE | RRLENLNKKM | EDGFLDVWTY | NAELLVLMEN |            |
|                 | 451        |            |            |            |            | 500        |
| 10              | ERTLDFHDSN | VKNLYDKVRL | QLRDNAKELG | NGCFEFYHKC | DNECMESVRN |            |
| 56              | ERTLDFHDSN | VKNLYDKVRL | QLRDNAKELG | NGCFEFYHKC | DNECMESVRN |            |
| 55              | ERTLDFHDSN | VKNLYDKVRL | QLRDNAKELG | NGCFEFYHKC | DNECMESVRN |            |
| <b>Consenso</b> | ERTLDFHDSN | VKNLYDKVRL | QLRDNAKELG | NGCFEFYHKC | DNECMESVRN |            |
|                 | 501        |            |            |            |            | 550        |
| 10              | GTYNYPQYSE | EARLKREEIS | GVKLESIGTY | QILSIYSTVA | SSLALAIMMA |            |
| 56              | GTYNYPQYSE | EARLKREEIS | GVKLESIGTY | QILSIYSTVA | SSLALAIMVA |            |
| 55              | GTYNYPQYSE | EARLKREEIS | GVKLESIGTY | QILSIYSTVA | SSLALAIMVA |            |
| <b>Consenso</b> | GTYNYPQYSE | EARLKREEIS | GVKLESIGTY | QILSIYSTVA | SSLALAIMVA |            |
|                 | 551        |            |            |            |            | 568        |
| 10              | GLSLWMCNSG | SLQCRICI   |            |            |            |            |
| 56              | GLSLWMCNSG | SLQCRICI   |            |            |            |            |
| 55              | GLSLWMCNSG | SLQCRICI   |            |            |            |            |
| <b>Consenso</b> | GLSLWMCNSG | SLQCRICI   |            |            |            |            |

La secuencia consenso indica en letras mayúsculas aminoácidos comunes a todas las secuencias en una posición designada; las letras minúsculas indican aminoácidos comunes en por lo menos la mitad, o la mayor parte de las secuencias; el símbolo ! es uno cualquiera de I o V; el símbolo \$ es uno cualquiera de L o M; el símbolo % es uno cualquiera de F o Y; el símbolo # es uno cualquiera de N, D, Q, E, B o Z; X en la posición 102 es cualquiera de T, V o A; X en la posición 110 es cualquiera de S, D o N; X en la posición 156 es cualquiera de S, K o T.

Las alineaciones descritas e ilustradas anteriormente y las secuencias consenso son ejemplos no limitantes de variantes en secuencias de aminoácidos de hemaglutinina que se pueden utilizar en diversas realizaciones de la invención para la producción de los VLP en una planta.

Un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos se puede determinar fácilmente, cuando se conocen los codones para cada aminoácido en la técnica. La provisión de una secuencia de aminoácidos, por lo tanto, enseña las secuencias de ácidos nucleicos degeneradas que las codifica. La presente invención, por lo tanto, proporciona una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la hemaglutinina de aquellas cepas de influenza y los subtipos descritos aquí (por ejemplo A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1), A/Indonesia/5/2006 (H5N1), A/pollo/Nueva York/1995, A/gaviota de arenque/DE/677/88 (H2N8), A/Texas/32/2003, A/pato real/MN/33/00, A/pato/Shanghái/1/2000, A/ánabe rabudo/TX/828189/02, A/Pavo/Ontario/6118/68(H8N4), A/pato cuchara/Irán/G54/03, A/pollo/Alemania/ N/1949(H10N7), A/pato/Inglaterra/56(H11N6), A/pato/Alberta/60/76(H12N5), A/Gaviota/Maryland/704/77(H13N6), A/Pato real/Gurjev/263/82, A/pato/Australia/341/83 (H15N8), A/gaviota de cabeza negra/Suecia/5/99(H16N3), B/Lee/40, C/Johannesburgo/ 66, A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Isas Salomón 3/2006 (H1N1), A/Brisbane 10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006, A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Trullo/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Equino/Praga/56 (H7N7), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2)), así como también las secuencias degeneradas que codifican las hemaglutininas anteriores.

Adicionalmente, se conoce una secuencia de aminoácidos codificada por un ácido nucleico que se puede determinar fácilmente, como el codón o codones para cada aminoácido. La provisión de un ácido nucleico, por lo tanto, enseña una secuencia de aminoácidos codificada por este. La invención, por lo tanto, proporciona secuencias de aminoácidos de la hemaglutinina de aquellas cepas de influenza y los subtipos descritos aquí (por ejemplo A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1), A/Indonesia/5/2006 (H5N1), A/pollo/Nueva York/1995, A/gaviota de arenque/DE/677/88 (H2N8), A/Texas/32/2003, A/pato real/MN/33/00, A/pato/Shanghái/1/2000, A/ánabe rabudo/TX/828189/02,

A/Pavo/Ontario/6118/68(H8N4), A/pato cuchara/Irán/G54/03, A/pollo/Alemania/ N/1949(H10N7), A/pato/Inglaterra/56(H11N6), A/pato/Alberta/60/76(H12N5), A/Gaviota/Maryland/704/77(H13N6), A/Pato real/Gurjev/263/82, A/pato/Australia/341/83 (H15N8), A/gaviota de cabeza negra/Suecia/5/99(H16N3), B/Lee/40, C/Johannesburgo/66, A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Islas Salomón 3/2006 (H1N1), 5 A/Brisbane 10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006, A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Trullo/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Equino/Praga/56 (H7N7), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2)).

En plantas, los VLP de influenza brotan de la membrana de plasma (véase Ejemplo 5, y Figura 19) por lo tanto la composición del lípido de los VLP refleja su origen. Los VLP producidos de acuerdo con la presente invención comprenden HA de uno o más de un tipo o subtipo de influenza, que forman complejos con lípidos derivados de 10 vegetales. Los lípidos de planta pueden estimular las células inmunitarias específicas y mejorar la respuesta inmunitaria inducida. Las membranas de planta se hacen de lípidos, fosfatidilcolina (PC) y fosfatidiletanolamina (PE), y también contienen glucoesfingolípidos, saponinas, y fitoesteres. Adicionalmente, también se encuentran balsas lipídicas en membranas de plasma de planta, estos microdominios se enriquecen en esfingolípidos y esteroides. En 15 plantas, se sabe que ocurre una variedad de fitoesteres, que incluyen estigmasterol, sitosterol, 24-metilcolesterol y colesterol (Mongrand et al., 2004).

El PC y PE, así como también los glucoesfingolípidos se pueden unir a moléculas CD1 que se expresan mediante células inmunitarias de mamífero tales como células que presentan antígeno (APC) como células dendríticas y 20 macrófagos y otras células que incluyen linfocitos B y T en el timo y el hígado (Tsuiji M., 2006). Las moléculas de CD1 son estructuralmente semejantes a moléculas de complejo de histocompatibilidad principal (MHC) clase I y su función se presenta en antígenos de glucolípidos para células de NKT (Linfocitos T Citotóxicos). Luego de activación, las células NKT activan las células inmunitarias innatas tales como células NK y células dendríticas y también células inmunitarias adaptativas activas semejantes a células T y células B que producen el anticuerpo.

Una variedad de fitoesteres se puede encontrar en una membrana de plasma, el complemento específico puede 25 variar dependiendo de la especie, las condiciones de crecimiento, fuentes de nutrientes o estado de patógeno, por nombrar unos pocos factores. De manera general, el betasitosterol es el fitosterol más abundante.

Los fitoesteres presentes en un VLP de influenza que forma complejos con una bicapa de lípidos, tal como una envoltura derivada de membrana de plasma puede proporcionar una composición de vacuna ventajosa. Sin limitarse 30 por la teoría, los VLP hechos de plantas que forman complejos con una bicapa de lípido, tal como una envoltura derivada de membrana de plasma, pueden inducir una reacción inmunitaria más fuerte que los VLP hechos en otros sistemas de expresión, y puede ser similar a reacción inmunitaria inducida por vacunas de virus completos vivos o atenuados.

Por lo tanto, en algunas realizaciones, la invención proporciona un VLP que forma complejos con una bicapa de lípidos derivada de vegetales. En algunas realizaciones la bicapa de lípidos derivada de vegetales puede 35 comprender la envoltura del VLP.

El VLP producido dentro de una planta pueden incluir un HA que comprende N-glucanos específicos de planta. Por lo tanto, esta invención también proporciona un VLP que comprende HA que tiene N-glucanos específicos de planta.

Adicionalmente, se conoce la modificación de N-glucano en plantas (véase por ejemplo documento U.S. 60/944,344; que se incorpora aquí mediante referencia) y se puede producir HA que tiene N-glucanos modificados. Se puede 40 obtener HA que comprende un patrón modificado de glucosilación, por ejemplo con N-glucanos fucosilados, xilosilados, o ambos, fucosilados y xilosilados reducidos, o se puede obtener HA teniendo un patrón de glucosilación modificado, en donde la proteína que carece de fucosilación, xilosilación, o ambos, y comprende aumento de galatosilación. Adicionalmente, la modulación de la modificación postraduccional, por ejemplo, la adición de terminal galactosa puede resultar en una reducción de fucosilación y xilosilación del HA expresado cuando se compara con 45 una planta tipo natural que expresa HA.

Por ejemplo, que no se considera limitante, la síntesis de HA que tiene un patrón de glucosilación modificado se puede lograr mediante la coexpresión de la proteína de interés junto con una secuencia de nucleótidos que codifica beta- 1.4-galactosiltransferasa (GalT), por ejemplo, pero no se limita a GalT de mamífero, o GalT de humano sin embargo también se puede utilizar GalT de otras fuentes. El dominio catalítico de GalT también se puede fusionar a 50 un dominio CTS (es decir la cola citoplásmica, dominio de transmembrana, región de tallo) de N-acetilglucosaminil transferasa (GNT1), para producir una enzima híbrida GNT1-GalT, y la enzima híbrida se puede coexpresar con HA. El HA también se puede coexpresar junto con una secuencia de nucleótidos que codifica N-acetilglucosaminil transferasa III (GnT-III), por ejemplo pero no se limita a GnT-III de mamífero o GnT-III humano, también se puede utilizar GnT-III de otras fuentes. Adicionalmente, también se puede utilizar una enzima híbrida GNT1-GnT-III, que 55 comprende el CTS de GNT1 fusionado a GnT-III.

Por lo tanto la presente invención también incluye los VLP que comprenden HA que tiene N-glucanos modificados.

Sin limitarse por la teoría, la presencia de N-glucanos de planta en HA puede estimular la respuesta inmunitaria al promover la unión de HA mediante células que presentan antígeno. La estimulación de la respuesta inmunitaria utilizando N glucano de planta se ha propuesto por Saint-Jore-Dupas et al. (2007). Adicionalmente, la conformación del VLP puede ser ventajosa para la presentación del antígeno, y mejorar el efecto de adyuvante de VLP cuando se compleja con una capa de lípido derivada de vegetal.

"Región reguladora", "elemento regulador" o "promotor" significa una parte de ácido nucleico normalmente, pero no siempre, en la dirección 5' de la región codificante de proteína de un gen, que puede estar comprendido de ADN o ARN, o ADN y ARN. Cuando una región reguladora es activa, y en asociación operativa, o se liga operativamente, con un gen de interés, esto puede resultar en la expresión del gen de interés. Un elemento regulador puede ser capaz de mediar la especificidad del órgano, o controlar la actividad del gen temporal o de desarrollo. Una "región reguladora" incluye elementos promotores, los elementos de promotor núcleo exhiben una actividad de promotor basal, los elementos que son inducibles en respuesta a un estímulo externo, elementos que median la actividad promotora tal como elementos reguladores negativos o mejoradores transcripcionales. "Región reguladora", como se utiliza aquí, también incluye elementos que son activos luego de transcripción, por ejemplo, elementos reguladores que modulan la expresión génica tal como mejoradores traduccionales y transcripcionales, represores traduccionales y transcripcionales, en secuencias de activación en la dirección 5', y determinantes de inestabilidad de mRNA. Varios de estos últimos elementos se pueden ubicar próximos a la región codificante.

En el contexto de esta descripción, el término "elemento regulador" o "región reguladora" normalmente se refiere a una secuencia de ADN, usualmente, pero no siempre, en la dirección 5' (5') en la secuencia codificante de un gen estructural, que controla la expresión de la región codificante al proporcionar el reconocimiento para la polimerasa de ARN y/o otros factores requeridos para transcripción para inicio en un sitio particular. Sin embargo, se entiende que otras secuencias de nucleótidos, ubicadas dentro de los intrones, o 3' de la secuencia también pueden contribuir a la regulación de la expresión de una región codificante de interés. Un ejemplo de un elemento regulador que proporciona el reconocimiento la polimerasa de ARN u otros factores transcripcionales para asegurar el inicio en un sitio particular es un elemento promotor. La mayor parte, pero no todos, los elementos del promotor eucariótico contienen una caja TATA, una secuencia de ácidos nucleicos conservada comprendida de pares base de nucleótido timidina y adenosina usualmente situados aproximadamente 25 pares base en la dirección 5' de un sitio de inicio transcripcional. Un elemento promotor comprende un elemento de promotor basal, responsable del inicio de transcripción, así como también otros elementos reguladores (como se indicó anteriormente) que modifica la expresión génica.

Existen diversos tipos de regiones reguladoras, que incluyen aquellas que se regulan en forma desarrollada, inducible o constitutiva. Una región reguladora que se regula en forma desarrollada, o controla la expresión diferencial de un gen bajo su control, se activa dentro de determinados órganos o tejidos de un órgano en tiempos específicos durante el desarrollo de ese órgano o tejido. Sin embargo, algunas regiones reguladoras que se regulan en forma desarrollada se pueden activar preferiblemente dentro de determinados órganos o tejidos en estados de desarrollo específicos, también se pueden activar en una forma regulada en forma desarrollada, o a un nivel basal en otros órganos o tejidos también dentro de la planta. Ejemplos de regiones reguladoras específicas de tejido, por ejemplo véase una región reguladora específica, incluyen el promotor napin, y el promotor cruciferina (Rask et al., 1998, J. Plant Physiol. 152: 595-599; Bilodeau et al., 1994, Plant Cell 14: 125-130). Un ejemplo de un promotor específico de hoja incluye el promotor plastocianina (Figura 1b o SEQ ID NO: 23); documento US 7,125,978, que se incorpora aquí mediante referencia).

Una región reguladora inducible es aquella que es capaz de activar directa o indirectamente la transcripción de una o más secuencias de ADN o genes en respuesta a un inductor. En la ausencia de un inductor no se transcribirán las secuencias de ADN o genes. Normalmente el factor de proteína que se une específicamente a una región reguladora inducible para activar la transcripción puede estar presente en una forma inactiva, que luego se convierte directa o indirectamente a la forma activa mediante el inductor. Sin embargo, también puede estar ausente el factor de proteína. El inductor puede ser un agente químico tal como una proteína, metabolito, regulador de crecimiento, herbicida o compuesto fenólico o una tensión fisiológica impuesta directamente por elementos de calor, frío, sal, o tóxico o indirectamente a través de la acción de un patógeno o agente de enfermedad tal como un virus. Una célula de planta que contiene una región reguladora inducible se puede exponer a un inductor al aplicar externamente el inductor a la célula o planta tal como mediante rociado, riego, calentamiento o métodos semejantes. Los elementos reguladores inducibles se pueden derivar de genes de planta o genes diferentes a plantas (por ejemplo Gatz, C. y Lenk, I.R.P., 1998, Trends Plant Sci. 3, 352-358; que se incorpora mediante referencia). Ejemplos de promotores inducibles potenciales incluyen, pero no se limitan a, promotor inducible por tetraciclina (Gatz, C., 1997, Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 48, 89-108; que se incorpora mediante referencia), promotor inducible por esteroides (Aoyama, T. and Chua, N.H., 1997, Plant J. 2, 397-404; que se incorpora mediante referencia) y promotor inducible por etanol (Salter, M.G., et al, 1998, Plant Journal 16, 127-132; Caddick, M.X., et al, 1998, Nature Biotech. 16, 177-180, que se incorporan mediante referencia) genes IB6 y CK11 inducibles por citoquinina (Brandstatter, I. and Kieber, J.J., 1998, Plant cell 10, 1009-1019; Kakimoto, T., 1996, Science 274, 982-985; que se incorporan mediante

referencia) y el elemento inducible de auxina, DR5 (Ulmasov, T., et al., 1997, Plant cell 9, 1963-1971; que se incorpora mediante referencia).

Una región reguladora constitutiva dirige la expresión de un gen a través de las diversas partes de una planta y continuamente a través del desarrollo de la planta. Ejemplos de elementos reguladores constitutivos conocidos incluyen promotores asociados con el transcripto CaMV 35S. (Odell et al., 1985, Nature, 313: 810-812), actina 1 de arroz (Zhang et al, 1991, Plant cell, 3: 1155-1165), actina 2 (An et al., 1996, Plant J., 10: 107-121), o tms 2 (U.S. 5,428,147, que se incorpora aquí mediante referencia), y genes de isomerasa 1 triosefosfato (Xu et. al., 1994, Plant Physiol. 106: 459-467), el gen de ubiquitina 1 de maíz (Cornejo et al, 1993, Plant Mol. Biol. 29: 637-646), los genes de ubiquitina 1 y 6 de Arabidopsis (Holtorf et al, 1995, Plant Mol. Biol. 29: 637-646), y el gen del factor 4A de inicio traduccional de tabaco (Mandel et al, 1995 Plant Mol. Biol. 29: 995-1004). El término "constitutivo" como se utiliza aquí no indica necesariamente que un gen bajo el control de la región reguladora constitutiva se expresa al mismo nivel en todos los tipos de célula, pero que el gen se expresa en un amplio rango de tipos de células aunque se observa frecuentemente variación en abundancia. Los elementos reguladores constitutivos se pueden acoplar con otras secuencias para mejorar adicionalmente la transcripción y/o traducción de la secuencia de nucleótidos a la que se ligan operativamente. Por ejemplo, el sistema CMPV-HT (Sainsbury et al, 2008, Plant Physiology 148: 1212-1218) se deriva de las regiones no traducidas del Virus del Mosaico del Cauquí (COMV) y demuestra traducción mejorada de la secuencia codificante asociada.

"Natural" significa que el ácido nucleico o la secuencia de aminoácidos se presenta en forma natural, o "tipo natural".

"Se liga operativamente" significa que las secuencias particulares, por ejemplo un elemento regulador y una región codificante de interés, interactúa directa o indirectamente para llevar a cabo una función pretendida, tal como mediación o modulación de la expresión génica. La interacción de las secuencias operativamente ligadas, por ejemplo, se puede mediar por las proteínas que interactúan con las secuencias operativamente ligadas.

Una o más de una de las secuencias de nucleótidos de la presente invención se pueden expresar en cualquier anfitrión de planta adecuado que se transforma por la secuencia de nucleótidos, o las construcciones, o vectores de la presente invención. Ejemplos de anfitriones adecuados incluyen, pero no se limitan a, cultivos agrícolas que incluyen alfalfa, canola, Brassica spp., maíz, Nicotiana spp., alfalfa, papa, ginseng, guisante, avena, arroz, soja, trigo, cebada, alazor, algodón y similares.

Una o más construcciones genéticas quiméricas de las construcciones de la presente invención pueden comprender adicionalmente una región no traducida 3'. Una región no traducida 3' se refiere a que la parte de un gen comprende un segmento de ADN que contiene una señal de poliadenilación y cualesquiera otras señales reguladoras capaces de afectar el procesamiento de mRNA o la expresión génica. La señal de poliadenilación se caracteriza usualmente al efectuar la adición de rastros de ácido poliadenílico al extremo 3' del precursor de mRNA. Las señales de poliadenilación se reconocen comúnmente por la presencia de homología a la forma canónica 5' AATAAA-3' aunque no son comunes variaciones. Una o más de las construcciones genéticas quiméricas de la presente invención también pueden incluir mejoradores adicionales, mejoradores de traducción o transcripción, según se requiera. Estas regiones mejoradoras son bien conocidas por los expertos en la técnica, y pueden incluir el codón de inicio ATG y las secuencias adyacentes. El codón de inicio puede estar en fase con el marco de lectura de la secuencia codificante para asegurar la traducción de la secuencia completa.

Ejemplos no limitantes de regiones 3' adecuadas son las regiones no traducidas transcritas 3' que contienen una señal de poliadenilación de genes de plásmido que inducen tumor de Agrobacterium (Ti), tal como la sintasa de nopalina (gen Nos) y genes de planta tales como los genes de proteína de almacenamiento de soja, la subunidad pequeña del gen ribulosa -1,5- bisfosfato carboxilasa (ssRUBISCO; US 4,962,028; que se incorpora aquí mediante referencia), el promotor utilizado en la regulación de la expresión plastocianina (Pwee and Gray 1993; que se incorpora aquí mediante referencia). Un ejemplo de un promotor de plastocianina se describe en el documento US 7,125,978 (que se incorpora aquí mediante referencia).

Como se describe aquí, los promotores que comprenden las secuencias mejoradas con eficacia demostrada en la expresión de hoja, se ha encontrado que son efectivos en expresión transitoria. Sin limitarse por la teoría, la unión en los elementos reguladores de la dirección 5' de un gen fotosintético mediante unión la matriz nuclear puede mediar la expresión fuerte. Por ejemplo hasta -784 del sitio de inicio de traducción del gen de plastocianina de guisante se puede utilizar la expresión génica del indicador fuerte.

Para ayudar en la identificación de células de plantas transformadas, las construcciones de esta invención se pueden manipular adicionalmente para que incluyan marcadores seleccionables de planta. Los marcadores seleccionables útiles incluyen enzimas que proporcionan resistencia a los agentes químicos tales como un antibiótico por ejemplo, gentamicina, higromicina, canamicina, o herbicidas tales como fosfinotricina, glifosato, clorosulfurón, y similares. De forma similar, se pueden utilizar las enzimas que proporcionan la producción de un compuesto identificable mediante cambio de color tal como GUS (beta-glucuronidasa), o luminiscencia, tal como luciferasa o GFP.

También se consideran parte de la invención plantas transgénicas, células de plantas o semillas que contienen la construcción génica quimérica de la presente invención. Los métodos para regenerar las plantas completas de la célula de plantas también se conocen en la técnica. En general, las células de plantas transformadas se cultivan en un medio apropiado, que puede contener agentes selectivos tales como antibióticos, en donde se utilizan marcadores seleccionables para facilitar la identificación de células de plantas transformadas. Después que se forma el callo, se puede fomentar la formación de brote al emplear las hormonas de planta apropiadas de acuerdo con métodos conocidos y los brotes transferidos al medio de enraizamiento para regeneración de plantas. Las plantas luego se pueden utilizar para establecer generaciones repetitivas, de semillas o utilizando técnicas de propagación vegetativas. Las plantas transgénicas también se pueden generar sin utilizar cultivos de tejido.

También se consideran parte de la invención las plantas transgénicas, árboles, levadura, bacterias, hongos, célula de insectos y animales que contienen la construcción de gen quimérico que comprende un ácido nucleico que codifica HA recombinante para la producción VLP, de acuerdo con la presente invención.

Los elementos reguladores de la presente invención también se pueden combinar con la región codificante de interés para expresión dentro de un rango de organismos anfitriones que son susceptibles a transformación, o expresión transitoria. Dichos organismos incluyen, pero no se limitan a plantas, monocotiledóneas y dicotiledóneas, por ejemplo pero no se limitan a maíz, plantas de cereal, trigo, cebada, avena, *Nicotiana* spp, *Brassica* spp, soja, frijol, guisantes, alfalfa, papa, tomate, ginseng, y *Arabidopsis*.

Los métodos para transformación estable, y regeneración de estos organismos se establecen en la técnica y se conocen por aquellos expertos en la técnica. El método para obtener plantas transformadas y regeneradas no es crítico para la presente invención.

"Transformación" significa la transferencia interespecífica estable de información genética (secuencia de nucleótidos) que se manifiesta genotípicamente, fenotípicamente o ambos. La transferencia interespecífica de información genética de la construcción quimérica a un anfitrión puede ser heredable y la transferencia de información genética se considera estable, o la transferencia puede ser transitoria y la transferencia de información genética no es heredable.

El término "materia vegetal", significa cualquier material derivado de una planta. La materia vegetal puede comprender una planta completa, tejido, células, o cualquier fracción de los mismos. Adicionalmente, la materia vegetal puede comprender componentes de planta intracelulares, componentes de planta extracelulares, extractos de líquido o sólido de plantas, o una combinación de los mismos. Adicionalmente, la materia vegetal puede comprender plantas, células de plantas, tejido, un extracto líquido, o una combinación de los mismos, de hojas de plantas, tallos, frutos, raíces o una combinación de los mismos. La materia vegetal puede comprender una planta o parte de la misma que no se ha sometido a las etapas de procesamiento. Una parte de una planta puede comprender la materia vegetal. Sin embargo, también se contempla que el material de planta se puede someter a etapas de procesamiento mínimas como se define adelante, o el procesamiento más riguroso, que incluye purificación de proteína parcial o sustancial utilizando técnicas comúnmente conocidas dentro de la técnica que incluye, pero no se limita a cromatografía, electroforesis y similares.

El término "procesamiento mínimo" significa la materia vegetal, por ejemplo, una planta o parte de la misma que comprende una proteína de interés que se purifica parcialmente para producir un extracto de planta, homogenato, homogenato de fracción de planta o similares (es decir mínimamente procesado). La purificación parcial puede comprender, pero no se limita a la interrupción de la estructuras de célula de planta creando por lo tanto una composición que comprende los componentes de planta soluble, y componentes de planta insolubles que se pueden separar por ejemplo, pero no se limitan a, mediante centrifugación, filtración o una combinación de los mismos. A este respecto, las proteínas se secretan dentro del espacio extracelular de la hoja u otros tejidos se pueden obtener fácilmente utilizando extracción centrífuga o vacío, o los tejidos se pueden extraer bajo presión mediante pasaje a través de rodillos o molido o similares para exprimir o liberar la proteína libre dentro del espacio extracelular. El procesamiento mínimo también puede involucrar la preparación de extractos crudos de proteínas solubles, debido a que estas preparaciones tendrían contaminación perjudicial de productos secundarios de planta. Adicionalmente, el procesamiento mínimo puede involucrar extracción acuosa de proteínas de hojas solubles, seguido por precipitación con cualquier sal adecuada. Otros métodos pueden incluir maceración a gran escala y extracción de jugo con el propósito de permitir el uso directo del extracto.

La materia vegetal, en la forma de material o tejido de planta se puede suministrar oralmente a un sujeto. La materia vegetal se puede administrar como parte de un complemento dietario, junto con otros alimentos, o se encapsula. La materia vegetal o tejido también se puede concentrar para mejorar o aumentar la palatabilidad, o se proporciona junto con otros materiales, ingredientes, o excipientes farmacéuticos, según se requiera.

Ejemplos de un sujeto u organismo objetivo al que se le puede administrar los VLP de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, humanos, primates, aves, aves acuáticas, aves migratorias, codornices, patos, gansos, aves de corral, pollos, cerdos, ovejas, equinos, caballos, camellos, caninos, perros, felinos, gatos, tigres,



leopardos, civetas, visones, martas, hurones, animales domésticos, ganado, conejos, ratones, ratas, conejillos de indias u otros roedores, focas, ballenas y similares. Dichos organismos objetivo son de ejemplo, y no se consideran limitantes para las aplicaciones y usos de la presente invención.

Se contempla que una planta que comprende la proteína de interés, o que expresa el VLP que comprende la proteína de interés se puede administrar a un sujeto u organismo objetivo, en una variedad de formas dependiendo de la necesidad y la situación. Por ejemplo, la proteína de interés obtenida de la planta se puede extraer antes de su uso en forma cruda, parcialmente purificada, o purificada. Si la proteína se purifica, entonces se puede producir en plantas comestibles o no comestibles. Adicionalmente, si la proteína se administra oralmente, el tejido de planta se puede cosechar y dar directamente al sujeto, o el tejido cosechado se puede secar antes de consumo, o a un animal se le puede permitir pastorear sobre la planta sin que tenga lugar una cosecha previa. También se considera dentro del alcance de la invención que las cosechas de tejidos de plantas se proporcionan como un complemento alimenticio dentro del alimento del animal. Si la planta tejido se le da a un animal con poco o sin procesamiento adicional se prefiere que el tejido de planta que se administra sea comestible.

La inactivación del gen post transcripcional (PTGS) puede estar involucrada en la limitación de la expresión de transgenes en plantas, y la coexpresión de un supresor de inactivación de virus Y de papa (HcPro) se puede utilizar para contrarrestar la degradación específica de los mRNA de transgen (Brigneti et al, 1998). Los supresores alternos de inactivación son bien conocidos en la técnica y se pueden utilizar como se describe aquí (Chiba et al., 2006, Virology 346:7-14; que se incorpora aquí mediante referencia), por ejemplo pero no se limita a, TEV-p1/Hc-Pro (Virus de grabado de tabaco-p1/Hc-Pro), BYV-p21, p19 de virus del enanismo arbustivo del Tomate (TBSV p 19), proteína cápsida de virus del rizado del Tomate (TCV-CP), 2b de virus mosaico de pepino; CMV-2b), p25 de virus X de papa (PVX-p25), p11 de virus M de papa (PVM-p11), p11 de virus S de papa (PVS-p11), p16 de virus de quemadura de Arándanos, (BScV -p16), p23 de virus de la tristeza de los Cítricos (CTV-p23), p24 de virus 2 asociado con enrollamiento de la Vid, (GLRaV-2 p24), p10 de virus A de la Vid, (GVA-p10), p14 de virus B de la Vid (GVB-p14), p10 de virus latente del Heracleum (HLV-p10), o p16 de virus latente común del Ajo (GCLV-p16). Por lo tanto, un supresor de inactivación, por ejemplo, pero no se limita a, HcPro, TEV -p1/Hc-Pro, BYV-p21, TBSV p19, TCV-CP, CMV-2b, PVX-p25, PVM-p11, PVS-p11, BScV-p16, CTV-p23, GLRaV- 2 p24, GBV-p14, HLV-p10, GCLV-p16 o GVA-p10, se puede coexpresar junto con la secuencia de ácidos nucleicos que codifica la proteína de interés para asegurar adicionalmente altos niveles de la producción de proteína dentro de una planta.

Adicionalmente, se pueden producir los VLP que comprenden una combinación de los subtipos HA. Por ejemplo, los VLP pueden comprender uno o más de un HA del subtipo H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, H16, tipo B, o una combinación de los mismos. La selección de la combinación de los HA se puede determinar mediante el uso pretendido de la vacuna preparada del VLP. Por ejemplo una vacuna para uso en la inoculación de aves puede comprender cualquier combinación de los subtipos HA, mientras que los VLP útiles para la inoculación de humanos pueden comprender los subtipos uno o más de uno de los subtipos H1, H2, H3, H5, H6, H7, H9 o B. Sin embargo, otras combinaciones de subtipo HA se pueden preparar dependiendo del uso del VLP. Con el propósito de producir los VLP que comprenden combinaciones de los subtipos HA, el subtipo HA deseado se puede coexpresar dentro de la misma célula, por ejemplo una célula de planta.

Adicionalmente, los VLP producidos como se describe aquí no comprenden neuraminidasa (NA). Sin embargo, el NA se puede coexpresar con HA de los VLP que comprenden el HA y NA que se desee.

Por lo tanto, la presente invención incluye adicionalmente un vector adecuado que comprende la construcción química adecuada para uso con cualesquiera sistemas de expresión estables o transitorios. La información genética también se puede proporcionar dentro de una o más de una construcción. Por ejemplo, una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de interés se puede introducir en una construcción, y una segunda secuencia de nucleótidos que codifica una proteína que modifica la glucosilación de la proteína de interés se puede introducir utilizando una construcción separada. Estas secuencias de nucleótidos luego se pueden coexpresar dentro de una planta. Sin embargo, también se puede utilizar una construcción que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica la proteína de interés y la proteína que modifica el perfil de glucosilación de la proteína de interés. En este caso la secuencia de nucleótidos comprendería una primera secuencia que comprende una primera secuencia de ácidos nucleicos que codifica la proteína de interés ligada operativamente a un promotor o región reguladora, y una segunda secuencia que comprende una segunda secuencia de ácidos nucleicos que codifica la proteína que modifica el perfil de glucosilación de la proteína de interés, la segunda secuencia ligada operativamente a un promotor o región reguladora.

"Coexpresar" significa que dos, o más de dos, secuencias de nucleótidos se expresan a aproximadamente el mismo tiempo dentro de la planta, y dentro de el mismo tejido de la planta. Sin embargo, la secuencia de nucleótidos no necesita ser expresado exactamente en el mismo tiempo. A diferencia, dos o más de las secuencias de nucleótidos se expresan en una forma de tal manera que los productos codificados tienen una oportunidad de interactuar. Por ejemplo, la proteína que modifica la glucosilación de la proteína de interés se puede expresar antes o durante el periodo cuando la proteína de interés se expresa ya que tiene lugar la modificación de la glucosilación de la proteína de interés. Las dos o más de dos secuencias de nucleótidos se pueden expresar utilizando un sistema de expresión

transitorio, en donde dos o más secuencias se introducen dentro de la planta a aproximadamente el mismo tiempo bajo condiciones que las secuencias se expresan. Alternativamente, una planta de plataforma que comprende una secuencia de nucleótidos, por ejemplo la secuencia que codifica la proteína que modifica el perfil de glucosilación de la proteína de interés, se puede transformar, transitoriamente o en una forma estable, con una secuencia adicional que codifica la proteína de interés. En este caso, la secuencia que codifica la proteína que modifica el perfil de glucosilación de la proteína de interés se puede expresar dentro de un tejido deseado, durante una etapa deseada de desarrollo, o su expresión se puede inducir utilizando un promotor inducible, y la secuencia adicional que codifica la proteína de interés se puede expresar bajo condiciones semejantes y en el mismo tejido, para asegurar que se coexpresen la secuencia de nucleótidos.

Las construcciones de la presente invención se pueden introducir en células de plantas utilizando los plásmidos Ti, los plásmidos Ri, vectores de virus de planta, transformación de ADN directo, micro-inyección, electroporación, infiltración, y similares. Para revisiones de dichas técnicas véase por ejemplo Weissbach and Weissbach, *Methods for Plant Molecular Biology*, Academy Press, Nueva York VIII, pp. 421-463 (1988); Geierman and Corey, *Plant Molecular Biology*, 2d Ed. (1988); y Miki and Iyer, *Fundamentals of Gene Transfer in Plants*. In *Plant Metabolism*, 2d Ed. DT. Dennis, DH Turpin, DD Lefebvre, DB Layzell (eds), Addison-Wesley, Langmans Ltd. London, pp. 561-579 (1997). Otros métodos incluyen absorción de ADN directa, uso de liposomas, electroporación, por ejemplo utilizando protoplastos, microinyección, microproyectiles o "whiskers", e infiltración por vacío. Véase, por ejemplo, Bilang, et al. (*Gene* 100: 247-250 (1991), Scheid et al. (*Mol. Gen. Genet.* 228: 104-112, 1991), Guerche et al. (*Plant Science* 52: 111-116, 1987), Neuhauser et al. (*Theor. Appl. Genet.* 75: 30-36, 1987), Klein et al., *Nature* 327: 70-73 (1987); Howell et al. (*Science* 208: 1265, 1980), Horsch et al. (*Science* 227: 1229-1231, 1985), DeBlock et al., *Plant Physiology* 91: 694-701, 1989), *Methods for Plant Molecular Biology* (Weissbach and Weissbach, eds., Academic Press Inc., 1988), *Methods in Plant Molecular Biology* (Schuler and Zielinski, eds., Academic Press Inc., 1989), Liu and Lomonosoff (*J. Virol. Meth.* 105:343-348, 2002.), Patente Estadounidense Nos. 4,945,050; 5,036,006; 5,100,792; 6,403,865; 5,625,136, (todas las cuales se incorporan aquí mediante referencia).

Se pueden utilizar métodos de expresión transitoria para expresar las construcciones de la presente invención (véase Liu and Lomonosoff, 2002, *Journal of Virological Methods*, 105:343-348, que se incorpora aquí mediante referencia). Alternativamente, se puede utilizar un método de expresión transitoria con base en vacío, como se describe en Kapila et al. 1997 (incorporado aquí mediante referencia). Estos métodos pueden incluir, por ejemplo, pero no se limitan a, un método de Agroinoculación o Agroinfiltración, sin embargo, también se pueden utilizar otros métodos transitorios como se observó anteriormente. Con Agroinoculación o Agroinfiltración, una mezcla de *Agrobacterium* que comprende el ácido nucleico deseado ingresa a los espacios intercelulares de un tejido, por ejemplo las hojas, la parte aérea de la planta (que incluye tallo, hojas y flores), otra parte de la planta (tallo, raíz, flor), o la planta completa. Después de cruzar la epidermis de *Agrobacterium* infecta y transfiere copias de t-ADN en las células. El t-ADN se transcribe episómicamente y se traduce el mRNA, que conduce a la producción de la proteína de interés en células infectadas, sin embargo, es transitorio el pasaje de t-ADN dentro del núcleo.

Si la secuencia de nucleótidos de interés codifica un producto que es directa o indirectamente tóxico para la planta, entonces al utilizar el método de la presente invención, dicha toxicidad se puede reducir a través de la planta al expresar selectivamente la secuencia de nucleótidos de interés dentro de un tejido deseado o en una etapa deseada de desarrollo de planta. Adicionalmente, el periodo limitado de expresión que resulta de la expresión transitoria puede reducir el efecto cuando se produce un producto tóxico en la planta. Un promotor inducible, un promotor específico de tejido, o un promotor específico de célula, se puede utilizar para dirigir selectivamente la expresión de la secuencia de interés.

Los VLP de HA recombinante de la presente invención se pueden utilizar en conjunto con las vacunas de influenza existentes, para complementar las vacunas, haciéndolas más eficaces, y para reducir la administración de las dosis necesarias. Como lo conocerá un experto en la técnica, la vacuna se puede dirigir contra uno o más de un virus de influenza. Ejemplos de vacunas adecuadas incluyen, pero no se limitan a, aquellas disponibles comercialmente de Sanofi-Pasteur, ID Biomedical, Merial, Sinovac, Chiron, Roche, MedImmune, GlaxoSmithKline, Novartis, Sanofi-Aventis, Serono, Shire Pharmaceuticals y similares.

Si se desea, los VLP de la presente invención se pueden mezclar con un adyuvante adecuado como lo conocerá un experto en la técnica. Adicionalmente, el VLP se puede utilizar en una composición de vacuna que comprende una dosis efectiva del VLP para el tratamiento de un organismo objetivo, como se definió anteriormente. Adicionalmente, el VLP producido de acuerdo con la presente invención se puede combinar con los VLP obtenidos utilizando diferentes proteínas de influenza, por ejemplo, neuraminidasa (NA).

Por lo tanto, la presente invención proporciona un método para inducir inmunidad a infección por virus de influenza en un animal u organismo objetivo que comprende administrar una dosis efectiva de una vacuna que comprende uno o más de un VLP. La vacuna se puede administrar oralmente, intradérmicamente, intranasalmente, intramuscularmente, intraperitonealmente, intravenosamente, o subcutáneamente.

La administración de los VLP producidos de acuerdo con la presente invención se describe en el Ejemplo 6. La administración del H5 de VLP hecho de planta resulta en una respuesta significativamente mayor cuando se compara con la administración del HA soluble (véase Figuras 21A y 21B).

Como se muestra en las Figuras 26A y 26B a un sujeto administrado con los VLP de H5 A/Indonesia/5/05 se le proporciona protección cruzada a una exposición con influenza A/Pavo/582/06 (H5N1; "Pavo H5N1"). La administración de los VLP de Indonesia H5 antes exposición no resultó en ninguna pérdida de masa corporal. Sin embargo a los sujetos a los que no se les administró los VLP H5, pero que se expusieron a Pavo H5N1, exhibieron pérdidas significativas de masa corporal, y varios sujetos murieron.

Estos datos, por lo tanto, demuestran que los VLP de influenza hechos de plantas que comprende la proteína vírica de hemaglutinina H5 inducen una respuesta inmunitaria específica para cepas de influenza patogénicas, y que las partículas semejantes a virus pueden brotar de una membrana de plasma de planta.

Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición que comprende una dosis efectiva de un VLP que comprende una proteína HA de virus de influenza, uno o más de un lípido de vegetal, y un portador farmacéuticamente aceptable. La proteína HA de virus de influenza puede ser H5 Indonesia/5/2006, A/Brisbane/50/2007, A/Islands Salomón 3/2006, A/Brisbane/10/2007, A/Wisconsin/67/2005, B/Malasia/2506/2005, B/Florida/4/2006, A/Singapur/1/57, A/Anhui/1/2005, A/Vietnam/ 1194/2004, A/Trullo/Hong Kong/W312/97, A/Equino/Praga/56 o A/ Hong Kong/1073/99. También se proporciona un método para inducir inmunidad a una infección por virus de influenza en un sujeto. El método comprende administrar la partícula semejante a virus que comprende una proteína HA de virus de influenza, uno o más de un lípido de vegetal, y un portador farmacéuticamente aceptable. La partícula semejante a virus se puede administrar a un sujeto oralmente, intradérmicamente, intranasalmente, intramuscularmente, intraperitonealmente, intravenosamente, o subcutáneamente.

Las composiciones de acuerdo con diversas realizaciones de la invención pueden comprender los VLP de dos o más cepas o subtipos de influenza. "Dos o más" se refiere a dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, 10 o más cepas o subtipos. Las cepas o subtipos representados pueden ser de un único subtipo (por ejemplo todos H1N1, o todos H5N1), o puede ser una combinación de subtipos. El subtipo y cepas de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, aquellos descritos aquí (por ejemplo A/Nueva Caledonia/ 20/99 (H1N1), A/Indonesia/5/2006 (H5N1), A/pollo/Nueva York/1995, A/gaviota de arenque/DE/677/88 (H2N8), A/Texas/ 32/2003, A/pato real/MN/33/00, A/pato/Shanghái/1/2000, A/ánabe rabudo/TX/828189/02, A/Pavo/Ontario/ 6118/68(H8N4), A/pato cuchara/Irán/G54/03, A/pollo/Alemania/N/1949(H10N7), A/pato/Inglaterra/56(H11N6), A/pato/Alberta/60/76(H12N5), A/Gaviota/Maryland/704/77(H13N6), A/Pato real/Gurjev/263/82, A/pato/Australia/341/83 (H15N8), A/gaviota de cabeza negra/Suecia/5/99(H16N3), B/Lee/40, C/Johannesburgo/66, A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), A/Brisbane/ 59/2007 (H1N1), A/Islands Salomón 3/2006 (H1N1), A/Brisbane 10/2007 (H3N2), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006, A/Singapur/1/57 (H2N2), A/Anhui/1/2005 (H5N1), A/Vietnam/1194/2004 (H5N1), A/Trullo/Hong Kong/W312/97 (H6N1), A/Equino/Praga/56 (H7N7), A/Hong Kong/1073/99 (H9N2)).

La elección de la combinación de cepas y subtipos puede depender del área geográfica de los sujetos que probablemente se exponen a influenza, la proximidad de las especies de animal a una población humana que se inmuniza (por ejemplo especies de aves acuáticas, animales agrícolas tales como cerdos, etc.) y las cepas que llevan, se exponen a o se exponen probablemente a, predicciones de desviación antigénica dentro de subtipos o cepas, o combinaciones de estos factores. Ejemplos de las combinaciones utilizadas en años pasados están disponibles (véase URL: [who.int/csr/disease/influenza/vaccine\\_recommendations1/en](http://who.int/csr/disease/influenza/vaccine_recommendations1/en)). Algunas o todas estas cepas se pueden emplear en las combinaciones mostradas, o en otras combinaciones, en la producción de una composición de vacuna.

Más particularmente, las combinaciones de ejemplo pueden incluir los VLP de dos o más cepas o los subtipos seleccionados del grupo que comprende: A/Brisbane/59/2007 (H1N1), un virus semejante a A/Brisbane/59/2007 (H1N1), A/Brisbane/10/2007 (H3N2), un virus semejante a A/Brisbane/10/2007 (H3N2), B/Florida/4/2006 o un virus semejante a B/Florida/4/2006.

Otra combinación de ejemplo puede incluir los VLP de dos o más cepas o subtipos seleccionados del grupo que comprende A/Indonesia/5/2005, un virus semejante a A/Indonesia/5/2005, A/Vietnam/1194/2004, un virus semejante a A/Vietnam/ 1194/2004, A/Anhui/1/05, un virus semejante a A/Anhui/1/05, A/ganso/Guiyang/337/2006, un virus semejante a A/ganso/Guiyang/ 337/2006, A/pollo/Shanxi/2/2006, o un virus semejante a A/pollo/Shanxi/2/2006.

Otra combinación de ejemplo puede incluir los VLP de las cepas de influenza A/Pollo/Italia/13474/99 (tipo H7) o A/Pollo/ Columbia Británica/04 (H7N3).

Otra combinación de ejemplo puede incluir los VLP de A/Pollo/Hong Kong/G9/97 o A/Hong Kong/1073/99. Otra combinación de ejemplo puede comprender los VLP de A/Islands Salomón/3/2006. Otra combinación de ejemplo

puede comprender los VLP de A/Brisbane/10/2007. Otra combinación de ejemplo puede comprender los VLP de A/Wisconsin/67/2005. Otra combinación de ejemplo puede comprender los VLP de las cepas o los subtipos B/Malasia/2506/2004, B/Florida/4/2006 o B/Brisbane/ 3/2007.

- 5 Los dos o más VLP se pueden expresar individualmente, y posteriormente se combinan los VLP purificados o semipurificados. Alternativamente, los VLP se pueden coexpresar en el mismo anfitrión, por ejemplo una planta. Los VLP se pueden combinar o producir en una relación deseada, por ejemplo aproximadamente relaciones equivalentes, o se puede combinar en dicha forma que un subtipo o cepa comprende la mayor parte de los VLP en la composición.

Por lo tanto, la invención proporciona composiciones que comprenden los VLP de dos o más cepas o subtipos.

- 10 Los VLP de envoltura de virus de manera general adquieren su envoltura a través de la membrana que brotan. Las membranas de plasma de plantas tienen un complemento de fitoesterol que puede tener efectos inmunoestimuladores. Para investigar esta posibilidad, los VLP H5 hechos de plantas se administran a animales en la presencia o ausencia de un adyuvante, y se determina el HAI (la respuesta del anticuerpo a inhibición de hemaglutinación) (Figuras 22A, 22B). En la ausencia de los VLP H5 hechos de plantas de un adyuvante agregado
- 15 demuestra un HAI significativo, indicador de una respuesta inmunitaria sistémica para la administración del antígeno. Adicionalmente, los perfiles de isotipo de anticuerpo de los VLP que se administran en la presencia o ausencia de adyuvante son semejantes (Figura 23A).

La Tabla 5 enumera las secuencias proporcionadas en diversas realizaciones de la invención.

Tabla 5: Descripción de secuencia para identificadores de secuencia.

| SEQ ID No | Descripción de secuencia                                                                               | En divulgación |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| 1         | fragmento H1 terminal N                                                                                | Figura 4a      |
| 2         | fragmento H1 terminal C                                                                                | Figura 4b      |
| 3         | secuencia de codificación H5                                                                           | Figura 6       |
| 4         | cebador Plato-443c                                                                                     | Figura 7a      |
| 5         | Cebador SpHA(Ind)-Plasto.r                                                                             | Figura 7b      |
| 6         | cebador Plasto-SpHA(Ind).c                                                                             | Figura 7c      |
| 7         | cebador HA(Ind)-Sac.r                                                                                  | Figura 7d      |
| 8         | Secuencia del casete de expresión basado en plastocianina de alfalfa utilizada para la expresión de H1 | Figura 1       |
| 9         | secuencia de péptido HA1 (A/Nueva Caledonia/20/99)                                                     | Figura 8a      |
| 10        | secuencia de péptido HA5 (A/Indonesia/5/2006)                                                          | Figura 8b      |
| 11        | Secuencia de codificación subtipo H7 Influenza A (A/pollo/Nueva York/1995)                             | Figura 9       |
| 12        | Secuencia de codificación subtipo H2 Influenza A (A/gaviota de arenque/DE/677/88 (H2N8))               | Figura 10a     |
| 13        | Secuencia de codificación subtipo H3 Influenza A (A/Texas/32/2003)                                     | Figura 10b     |
| 14        | Secuencia de codificación subtipo H4 Influenza A (A/pato real/MN/33/00)                                | Figura 10c     |

## ES 2 554 703 T3

| SEQ ID No | Descripción de secuencia                                                                         | En divulgación |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| 15        | Secuencia de codificación subtipo H5 Influenza A (A/pato/Shanghái/1/2000)                        | Figura 10d     |
| 16        | Secuencia de codificación subtipo H6 Influenza A (A/ánade rabudo/TX/828189/02)                   | Figura 10e     |
| 17        | Secuencia de codificación subtipo H8 Influenza A (A/Pavo/Ontario/6118/68(H8N4))                  | Figura 10f     |
| 18        | Secuencia de codificación subtipo H9 Influenza A (A/pato cuchara/Irán/G54/03)                    | Figura 10g     |
| 19        | Secuencia de codificación subtipo H10 Influenza A (A/pollo/Alemania/N/1949(H10N 7))              | Figura 10h     |
| 20        | Secuencia de codificación subtipo H11 Influenza A (A/pato/Inglaterra/56(H11N6))                  | Figura 10i     |
| 21        | Secuencia de codificación subtipo H12 Influenza A (A/pato/Alberta/60/76(H12N5))                  | Figura 10j     |
| 22        | Secuencia de codificación subtipo H13 Influenza A (A/Gaviota/Maryland/704/77 (H13N6) )           | Figura 10k     |
| 23        | Secuencia de codificación subtipo H14 Influenza A (A/Pato real/Gurjev/263/82)                    | Figura 10l     |
| 24        | Secuencia de codificación subtipo H15 Influenza A (A/pato/Australia/341/83 (H15N8))              | Figura 10m     |
| 25        | Secuencia de codificación subtipo H16 Influenza A (A/gaviota de cabeza negra/Suecia/5/99(H16N3)) | Figura 10n     |
| 26        | secuencia de codificación Influenza B HA (B/Lee/40)                                              | Figura 10o     |
| 27        | secuencia de codificación Influenza C HA (C/Johannesburgo/66)                                    | Figura 10p     |
| 28        | Secuencia H1 HAO Completa                                                                        | Figura 5       |
| 29        | CebadorXmal-pPlas.c                                                                              | Figura 10q     |
| 30        | CebadorSacI-ATG-pPlas.r                                                                          | Figura 10r     |
| 31        | CebadorSacI-PlasTer.c                                                                            | Figura 10s     |
| 32        | CebadorEcoRI-PlasTer.r                                                                           | Figura 10t     |
| 33        | A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1) No. de Acceso GenBankAY289929                                     | Figura 16      |
| 34        | Isomerasa de disulfuro de proteína M. Sativa No. de Acceso GenBankZ11499                         | Figura 17      |
| 35        | A/.Puerto Rico/8/34 (H1N1) No. de Acceso GenBankNC 002016.1                                      | Figura 18      |

| SEQ ID No | Descripción de secuencia                                                                                                                                                     | En divulgación |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| 36        | Clon 774: ADN de DralII para Sac1 que comprende región reguladora de plastocianina ligada operativamente a la secuencia que codifica HA de A/Brisbane/59/2007 (H1N1)         | Figura 28      |
| 37        | Clon 775: ADN de DralII para Sac1 que comprende región reguladora de plastocianina ligada operativamente a la secuencia que codifica HA de A/Islas Salomón 3/2006 (H1N1)     | Figura 29      |
| 38        | Clon 776: ADN de DralII para Sac1 que comprende región reguladora de plastocianina ligada operativamente a la secuencia que codifica HA de A/Brisbane 10/2007 (H3N2)         | Figura 30      |
| 39        | Clon 777: ADN de DralII para Sac1 que comprende región reguladora de plastocianina ligada operativamente a la secuencia que codifica HA de A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)        | Figura 31      |
| 40        | Clon 778: ADN de DralII para Sac1 que comprende región reguladora de plastocianina ligada operativamente a la secuencia que codifica HA de B/Malasia/2506/2004               | Figura 32      |
| 41        | Clon 779: ADN de DralII para Sac1 que comprende región reguladora de plastocianina ligada operativamente a la secuencia que codifica HA de B/Florida/4/2006                  | Figura 33      |
| 42        | Clon 780: ADN de DralII para Sac1 que comprende región reguladora de plastocianina ligada operativamente a la secuencia que codifica HA de A/Singapur/1/57 (H2N2)            | Figura 34      |
| 43        | Clon 781: DNA de DralII para Sac1 que comprende región reguladora de plastocianina ligada operativamente a la secuencia que codifica HA de A/Anhui/1/2005 (H5N1)             | Figura 35      |
| 44        | Clon 782: ADN de DralII para Sac1 que comprende región reguladora de plastocianina ligada operativamente a la secuencia que codifica HA de A/Vietnam/1194/2004 (H5N1)        | Figura 36      |
| 45        | Clon 783: ADN de DralII para Sac1 que comprende región reguladora de plastocianina ligada operativamente a la secuencia que codifica HA de A/Trullo/Hong Kong/W312/97 (H6N1) | Figura 37      |
| 46        | Clon 784: ADN de DralII para Sac1 que comprende región reguladora de plastocianina ligada operativamente a la secuencia que codifica HA de A/Equino/Praga/56 (H7N7)          | Figura 38      |
| 47        | Clon 785: ADN de DralII para Sac1 que comprende región reguladora de plastocianina ligada operativamente a la secuencia que codifica HA de A/Hong Kong/1073/99 (H9N2)        | Figura 39      |
| 48        | secuencia A de aminoácido HA Clon 774 /Brisbane/59/2007 (H1N1)                                                                                                               | Figura 40A     |
| 49        | secuencia A de aminoácido HA Clon 775 /Islas Salomón 3/2006 (H1N1)                                                                                                           | Figura 40B     |
| 50        | secuencia A de aminoácido HA Clon 776 /Brisbane 10/2007 (H3N2)                                                                                                               | Figura 41A     |
| 51        | secuencia A de aminoácido HA Clon 777 /Wisconsin/67/2005 (H3N2)                                                                                                              | Figura 41B     |

## ES 2 554 703 T3

| SEQ ID No | Descripción de secuencia                                                                                                                                                                                                                         | En divulgación |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| 52        | secuencia B de aminoácido HA Clon 778 /Malasia/2506/2004                                                                                                                                                                                         | Figura 42A     |
| 53        | secuencia B de aminoácido HA Clon 779 /Florida/4/2006                                                                                                                                                                                            | Figura 42B     |
| 54        | secuencia A de aminoácido HA Clon 780 /Singapur/1/57 (H2N2)                                                                                                                                                                                      | Figura 43A     |
| 55        | secuencia A de aminoácido HA Clon 781 /Anhui/1/2005 (H5N1)                                                                                                                                                                                       | Figura 43B     |
| 56        | secuencia A de aminoácido HA Clon 782 /Vietnam/1194/2004 (H5N1)                                                                                                                                                                                  | Figura 44A     |
| 57        | secuencia A de aminoácido HA Clon 783 /Trullo/Hong Kong/W312/97 (H6N1)                                                                                                                                                                           | Figura 44B     |
| 58        | secuencia A de aminoácido HA Clon 784 /Equino/Praga/56 (H7N7)                                                                                                                                                                                    | Figura 45A     |
| 59        | secuencia A de aminoácido HA Clon 785 /Hong Kong/1073/99 (H9N2)                                                                                                                                                                                  | Figura 45B     |
| 60        | Casete de expresión HA que comprende promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H5 de A/Indonesia/5/2005 (Construcción # 660), alfalfa plastocianina 3' UTRy secuencias terminadoras           | Figura 51      |
| 61        | Casete de expresión HA que comprende promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H1 de A/Nueva Caledonia/20/1999 (Construcción # 540), alfalfa plastocianina 3' UTRy secuencias terminadoras    | Figura 52      |
| 62        | Casete de expresión HA que comprende promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H1 de A/Brisbane/59/2007 (Construcción #774), alfalfa plastocianina 3' UTRy secuencias terminadoras            | Figura 53      |
| 63        | Casete de expresión HA que comprende promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H1 de A/Islas Salomón/3/2006 (H1N1) (Construcción #775), alfalfa plastocianina 3' UTRy secuencias terminadoras | Figura 54      |
| 64        | Casete de expresión HA que comprende promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H2 de A/Singapur/1/57 (H2N2) (Construcción # 780), alfalfa plastocianina 3' UTRy secuencias terminadoras       | Figura 55      |
| 65        | Casete de expresión HA que comprende promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H5 de A/Anhui/1/2005 (H5N1) (Constructo # 781), alfalfa plastocianina 3' UTRy secuencias terminadoras          | Figura 56      |
| 66        | Casete de expresión HA que comprende promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H5 de A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) (Construcción # 782), alfalfa plastocianina 3' UTRy secuencias terminadoras   | Figura 57      |

| SEQ ID No | Descripción de secuencia                                                                                                                                                                                                                               | En divulgación                                                       |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| 67        | Casete de expresión HA que comprende promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H6 de A/Trullo/Hong Kong/W312/97 (H6N1) (Construcción # 783), alfalfa plastocianina 3' UTR y secuencias terminadoras | Figura 58                                                            |
| 68        | Casete de expresión HA que comprende promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H9 de A/Hong Kong/1073/99 (H9N2) (Construcción # 785), alfalfa plastocianina 3' UTR y secuencias terminadoras        | Figura 59                                                            |
| 69        | Casete de expresión HA que comprende promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H3 de A/Brisbane/10/2007 (H3N2), alfalfa plastocianina 3' UTR y secuencias terminadoras                              | Figura 60                                                            |
| 70        | Casete de expresión HA que comprende promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H3 de A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), alfalfa plastocianina 3' UTR y secuencias terminadoras                             | Figura 61                                                            |
| 71        | Casete de expresión HA que comprende promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de H7 de A/Equino/Praga/56 (H7N7), alfalfa plastocianina 3' UTR y secuencias terminadoras                               | Figura 62                                                            |
| 72        | Casete de expresión HA que comprende promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de HA de B/Malasia/2506/2004, alfalfa plastocianina 3' UTR y secuencias terminadoras                                    | Figura 63                                                            |
| 73        | Casete de expresión HA que comprende promotor de plastocianina de alfalfa y 5' UTR, secuencia de codificación de hemaglutinina de HA de B/Florida/4/2006, alfalfa plastocianina 3' UTR y secuencias terminadoras                                       | Figura 64                                                            |
| 74        | Secuencia de aminoácidos consenso de SEQ ID NO: 49, 48, 33 and 9                                                                                                                                                                                       | Figura 65                                                            |
| 75        | Secuencia de aminoácidos de H1 Nueva Caledonia (AAP34324.1) codificada por SEQ ID NO: 33                                                                                                                                                               | Figura 66                                                            |
| 76<br>77  | Secuencia de aminoácidos de H1 Puerto Rico (NC_0409878.1) codificada por SEQ ID NO: 35<br>pBinPlus.2613c                                                                                                                                               | Figura 67<br>AGGAAGGGAAGAAA<br>GCGAAAGGAG                            |
| 78        | Mut-ATG115.r                                                                                                                                                                                                                                           | GTGCCGAAGCACGAT<br>CTGACAACGTTGAAG<br>ATCGCTCACGCAAGA<br>AAGACAAGAGA |
| 79        | Mut-ATG161.c                                                                                                                                                                                                                                           | GTTGTCAGATCGTGC<br>TTCGGCACCAGTACA<br>ACGTTTTCTTTCACTG<br>AAGCGA     |
| 80        | LC-C5-1.110r                                                                                                                                                                                                                                           | TCTCCTGGAGTCACA<br>GACAGGGTGG                                        |



| SEQ ID No | Descripción de secuencia                                                                                                                                                                    | En divulgación                                                               |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| 81        | Número de casete de expresión 828, de PacI (promotor en dirección 5') para AscI (terminador de NOS en dirección 3' inmediato).                                                              | Figura 68                                                                    |
| 82        | SpPDI-HA(Ind).c                                                                                                                                                                             | <u>GTTCTTCTCAGATCT</u><br>TCGCTGATCAGATT<br>GCATTGGTTACCATG<br>CA            |
| 83        | Número de construcción 663, de HindIII (en sitio de clonación múltiple, promotor de Plastocianina en dirección 5') para EcoRI (terminador de plastocianina inmediatamente en dirección 3'). | Figura 69                                                                    |
| 84        | SpPDI-H1B.c                                                                                                                                                                                 | <u>TTCTCAGATCTTCG</u><br>CTGACACAATATGT<br>ATAGGCTACCATGC<br>TAACAAC         |
| 85        | SacI-H1B.r                                                                                                                                                                                  | <u>CTTAGAGCTCTTAG</u><br>ATGCATATTCTACA<br>CTGTAAAGACCCAT<br>TGGA            |
| 86        | Número de construcción 787, de HindIII (en sitio de clonación múltiple, promotor de Plastocianina en dirección 5') para EcoRI (terminador de plastocianina inmediatamente en dirección 3'). | Figura 70                                                                    |
| 87        | H3B-SpPDI.r                                                                                                                                                                                 | TGTCATTTCGGGA<br>AGTTTTT <u>GAGCGAA</u><br><u>GATCTGAGAAGGA</u><br>ACCA      |
| 88        | SpPDI-H3B.c                                                                                                                                                                                 | <u>TCTCAGATCTTCG</u><br>CTCAAAACTTCCC<br>GGAAATGACAACA<br>GCACG              |
| 89        | H3(A-Bri).982r                                                                                                                                                                              | TTGCTTAACATATC<br>TGGGACAGG                                                  |
| 90        | Número de construcción 790, de HindIII (en sitio de clonación múltiple, promotor de Plastocianina en dirección 5') para EcoRI (terminador de plastocianina inmediatamente en dirección 3'). | Figura 7                                                                     |
| 91        | HBf-SpPDI.r                                                                                                                                                                                 | GTTATTCAGTGCA<br>GATTCGATC <u>AGCGA</u><br><u>AGATCTGAGAAGG</u><br>AACCAACAC |
| 92        | SpPDI-HBf.c                                                                                                                                                                                 | <u>CAGATCTTCGCTGA</u><br>TCGAATCTGCACTG<br>GAATAACATCTTCA<br>AACTCACC        |
| 93        | Plaster80r                                                                                                                                                                                  | CAAATAGTATTTC<br>TAACAACAACGATT                                              |
| 94        | Número de construcción 798, de HindIII (en sitio de clonación múltiple, promotor de Plastocianina en dirección 5') para EcoRI (terminador de plastocianina inmediatamente en dirección 3'). | Figura 72                                                                    |

# ES 2 554 703 T3

| SEQ ID No | Descripción de secuencia                                                                                                   | En divulgación                                                |
|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| 95        | Apal-SpPDI.c                                                                                                               | TTGTCGGGCCCCAT<br>GGCGAAAAACGTT<br>GCGATTTTCGGCTT<br>ATTGT    |
| 96        | Stul-H1(A-NC).r                                                                                                            | AAAATAGGCCTTT<br>AGATGCATATTCTA<br>CACTGCAAAGACCC<br>A        |
| 97        | Número de construcción 580, de PacI(promotor 35S en dirección 5') para Ascl (terminador de NOS en dirección 3' inmediato). | Figura 73                                                     |
| 98        | Apal-H5 (A-Indo).1c                                                                                                        | TGTCGGGCCCCATG<br>GAGAAAATAGTGCT<br>TCTTCTTGCAAT              |
| 99        | H5 (A-Indo)-Stul.1707r                                                                                                     | AAATAGGCCTTTA<br>AATGCAAATTCTGC<br>ATTGTAACGA                 |
| 100       | Número de construcción 685, de PacI(promotor 35S en dirección 5') para Ascl (terminador de NOS en dirección 3' inmediato). | Figura 74                                                     |
| 101       | Número de construcción 686, de PacI(promotor 35S en dirección 5') para Ascl (terminador de NOS en dirección 3' inmediato)  | Figura 75                                                     |
| 102       | Apal-H1B.c                                                                                                                 | TGTCGGGCCCCATG<br>AAAGTAAACTACT<br>GGTCCTGTTATGCA<br>CATT     |
| 103       | Stul-H2B.r                                                                                                                 | AAATAGGCCTTTA<br>GATGCATATTCTAC<br>ACTGTAAAGACCCA<br>TTGGA    |
| 104       | Construcción 732, de PacI(promotor 35S en dirección 5') para Ascl (terminador de NOS en dirección 3' inmediato).           | Figura 76                                                     |
| 105       | Número de construcción 733, de PacI(promotor 35S en dirección 5') para Ascl (terminador de NOS en dirección 3' inmediato). | Figura 77                                                     |
| 106       | Apal-H3B.c                                                                                                                 | TTGTCGGGCCCCAT<br>GAAGACTATCATTG<br>CTTTGAGCTACATT<br>CTATGTC |
| 107       | Stul-H3B.r                                                                                                                 | AAAATAGGCCTTC<br>AAATGCAAATGTTG<br>CACCTAATGTTGCC<br>TTT      |
| 108       | Número de construcción 735, de PacI(promotor 35S en dirección 5') para Ascl (terminador de NOS en dirección 3' inmediato). | Figura 78                                                     |

# ES 2 554 703 T3

| SEQ ID No | Descripción de secuencia                                                                                                                                    | En divulgación                                             |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| 109       | Número de construcción 736, de PacI(promotor 35S en dirección 5') para Ascl (terminador de NOS en dirección 3' inmediato).                                  | Figura 79                                                  |
| 110       | Apl-HBF.c                                                                                                                                                   | TTGTCGGGCCCAT<br>GAAGGCAATAATTG<br>TACTACTCATGGTA<br>GTAAC |
| 111       | Stul-HBF.r                                                                                                                                                  | AAAATAGGCCTTT<br>ATAGACAGATGGA<br>GCATGAAACGTTGT<br>CTCTGG |
| 112       | Número de construcción 738, de PacI(promotor 35S en dirección 5') para Ascl (terminador de NOS en dirección 3' inmediato).                                  | Figura 80                                                  |
| 113       | Número de construcción 739, de PacI(promotor 35S en dirección 5') para Ascl (terminador de NOS en dirección 3' inmediato).                                  | Figura 81                                                  |
| 114       | M. sativa Msj1 secuencia de codificación                                                                                                                    | Figura 82                                                  |
| 115       | Hsp-40Luz.1c                                                                                                                                                | ATGTTTGGGCGCGG<br>ACCAAC                                   |
| 116       | Hsp40Luz-Sacl.1272r                                                                                                                                         | AGCTGAGCTCCTAC<br>TGTTGAGCGCATTG<br>CAC                    |
| 117       | Hsp40Luz-Plasto.r                                                                                                                                           | GTTGGTCCGCGCCC<br>AAACATTTTCTCTC<br>AAGATGAT               |
| 118       | Hsp70Ara.1c                                                                                                                                                 | ATGTCGGGTAAAGG<br>AGAAGGA                                  |
| 119       | Hsp70Ara-Sacl.1956r                                                                                                                                         | AGCTGAGCTCTTAG<br>TCGACCTCCTCGAT<br>CTTAG                  |
| 120       | Hsp70Ara-Plasto.r                                                                                                                                           | TCCTTCTCCTTTACC<br>CGACATTTTCTCTC<br>AAGATGAT              |
| 121       | Número de construcción R850, de HindIII (en sitio de clonación múltiple, promotor en dirección 5') para EcoRI(terminador de NOS en dirección 3' inmediato). | Figura 83                                                  |
| 122       | Número de construcción R860, de HindIII (en sitio de clonación múltiple, promotor en dirección 5') para EcoRI(terminador de NOS en dirección 3' inmediato)  | Figura 84                                                  |
| 123       | Número de construcción R870, de HindIII (en sitio de clonación múltiple, promotor en dirección 5') para EcoRI(terminador de NOS en dirección 3' inmediato). | Figura 85                                                  |

| SEQ ID No | Descripción de secuencia | En divulgación                             |
|-----------|--------------------------|--------------------------------------------|
| 124       | supP19-plasto.r          | CCTTGTATAGCTCG<br>TTCCATTTTCTCTCA<br>AGATG |
| 125       | supP19-1c                | ATGGAACGAGCTAT<br>ACAAGG                   |
| 126       | SupP19-Sacl.r            | AGTCGAGCTCTTAC<br>TCGCTTTCTTTTTCG<br>AAG   |

La invención ahora se describirá en detalle por vía de referencia solo a los siguientes ejemplos no limitantes.

#### Métodos y Materiales

##### 1. Ensamble de casetes de expresión con base en plastocianina para HA natural

5 Todas las manipulaciones se hacen utilizando los protocolos de biología molecular general de Sambrook and Russell (2001; que se incorpora aquí mediante referencia). La primera etapa de clonación consiste de ensamblar un plásmido receptor que contiene en la dirección 5' y en la dirección 3' elementos reguladores del gen plastocianina de alfalfa. El promotor plastocianina y las secuencias 5'UTR se amplifican de ADN genómico de alfalfa utilizando cebadores de oligonucleótido XmaI-pPlas.c (SEQ ID NO: 29; Figura 10Q) y SacI-ATG-pPlas.r (SEQ ID NO: 30; 10 Figura 10R). El producto de amplificación resultante se digiere con XmaI y SacI y se liga en pCAMBIA2300 (Cambia, Canberra, Australia), previamente digerido con las mismas enzimas, para crear pCAMBIAPromo Plasto. De forma similar, las secuencias 3'UTR y el terminador del gen de plastocianina se amplifican de ADN genómico de alfalfa utilizando los siguientes cebadores: SacI-PlasTer.c (SEQ ID NO: 31; Figura 10S) y EcoRI-PlasTer.r (SEQ ID NO: 32; Figura 10T), y el producto se digiere con SacI y EcoRI antes de ser insertado en los mismos sitios de 15 pCAMBIAPromoPlasto para crear pCAMBIAPlasto.

Un fragmento que codifica hemaglutinina de la cepa de influenza A/Indonesia/5/05 (H5N1; Acc. No. LANL ISDN125873) se sintetiza por Epoch Biolabs (Sugar Land, TX, USA). El fragmento producido, que contiene la región codificante H5 completa que incluye el péptido de señal natural flanqueada por un sitio HindIII inmediatamente en la 20 dirección 5' del ATG inicial, y un sitio SacI inmediatamente en la dirección 3' del codón de parada (TAA), se presenta en la SEQ ID NO: 3 (Figura 6). La región codificante H5 se clona en un casete de expresión con base en plastocianina mediante el método de ligación con base en PCR presentado en Darveau et al. (1995). En resumen, se obtiene una primera amplificación PCR utilizando cebadores Plato-443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y SpHA(Ind)-Plastor (SEQ ID NO: 5; Figura 7B) y promoPlasto pCAMBIA como plantilla. En paralelo, se realiza una segunda 25 amplificación con cebadores Plasto-SpHA(Ind).c (SEQ ID NO: 6; Figura 7C) y HA(Ind)-Sac.r (SEQ ID NO: 7; Figura 7D) con el fragmento de codificación H5 como plantilla. La amplificación obtenida de ambas reacciones se mezcla y la mezcla sirve como plantilla para una tercera reacción (reacción de ensamble) utilizando Plato-443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y HA(Ind)-Sac.r (SEQ ID NO: 7; Figura 7D) como cebadores. El fragmento resultante se digiere con BamHI (en el promotor plastocianina) y SacI (en el extremo 3' del fragmento) y se clona en pCAMBIAPlasto previamente digerido con las mismas enzimas. El plásmido resultado, llamado 660, se presenta en la Figura 2B 30 (también véase Figura 11).

Se ensamblan los casetes de expresión de hemaglutinina números 774 a 785 como sigue. Se sintetiza un fragmento sintético que comprende la secuencia codificante completa de hemaglutinina (de ATG para parada) flanqueada en 3' 35 mediante las secuencias de gen de plastocianina de alfalfa que corresponden a los primeros 84 nucleótidos en la dirección 5' del ATG de plastocianina y que finaliza con un sitio de restricción DraIII. Los fragmentos sintéticos también comprenden un sitio SacI inmediatamente después del codón de parada.

Se sintetizan los fragmentos de hemaglutinina sintéticos mediante Top Gene Technologies (Montreal, QC, Canadá) y Epoch Biolabs (Sugar Land, TX, USA). El fragmento sintetizado se presenta en la Figuras 28 a 39 y corresponde a la SEQ ID NO: 36 a la SEQ ID NO: 47. Para el ensamble de los casetes de expresión completos, los fragmentos 40 sintéticos se digieren con DraIII y SacI y se clonan en pCAMBIAPlasto previamente digeridos con las mismas enzimas. La Tabla 6 presenta los casetes producidos con el HA correspondiente y otras referencias en el texto.

Tabla 6: Casetes de expresión de hemaglutinina ensamblados de los fragmentos sintéticos DralII-SacI

| Número de casete | HA correspondiente                      | Fragmento sintético |                               | Casete completo |                        |
|------------------|-----------------------------------------|---------------------|-------------------------------|-----------------|------------------------|
|                  |                                         | Figura              | Fragmento Sintético SEQ ID NO | Figura          | Casete final SEQ ID NO |
| 774              | HA de A/Brisbane/59/2007 (H1N1)         | 28                  | 36                            | 53              | 62                     |
| 775              | HA de A/Islas Salomón 3/2006 (H1N1)     | 29                  | 37                            | 54              | 63                     |
| 776              | HA de A/Brisbane 10/2007 (H3N2)         | 30                  | 38                            | 60              | 69                     |
| 777              | HA de A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)        | 31                  | 39                            | 61              | 70                     |
| 778              | HA de B/Malasia/2506/2004               | 32                  | 40                            | 63              | 72                     |
| 779              | HA de B/Florida/4/2006                  | 33                  | 41                            | 64              | 73                     |
| 780              | HA de A/Singapur/1/57 (H2N2)            | 34                  | 42                            | 55              | 64                     |
| 781              | HA de A/Anhui/1/2005 (H5N1)             | 35                  | 43                            | 56              | 65                     |
| 782              | HA de A/Vietnam/1194/2004 (H5N1)        | 36                  | 44                            | 57              | 66                     |
| 783              | HA de A/Trullo/Hong Kong/W312/97 (H6N1) | 37                  | 45                            | 58              | 67                     |
| 784              | HA de A/Equino/Praga/56 (H7N7)          | 38                  | 46                            | 62              | 71                     |
| 785              | HA de A/Hong Kong/1073/99 (H9N2)        | 39                  | 47                            | 59              | 68                     |

Ensamble de casetes de expresión de fusión PDISP/HA con base en plastocianina

H1 A/Nueva Caledonia/20/99 (construcción número 540)

- 5 El marco abierto de lectura de la cepa del gen de influenza H1 A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1) se sintetiza en dos fragmentos (Plant Biotechnology Institute, National Research Council, Saskatoon, Canadá). Un primer fragmento sintetizado corresponde a la secuencia codificante H1 tipo natural (Número de acceso GenBank AY289929; SEQ ID NO: 33; Figura 16) que carece la secuencia codificante del péptido de señal en el extremo 5' y la secuencia codificante del dominio de transmembrana en el extremo 3'. Se agrega un sitio de restricción BglII en el extremo 5' de la secuencia codificante y se agrega un sitio SacI/StuI dual inmediatamente en la dirección 3' del codón de parada en el extremo de 3' terminal del fragmento, para producir la SEQ ID NO: 1 (Figura 5A). También se sintetiza un segundo fragmento que codifica el extremo de terminal C de la proteína H1 (que comprende un dominio de transmembrana y la cola citoplásmica) del sitio KpnI al codón de parada, y se flanquea en 3' mediante los sitios de restricción SacI y StuI (SEQ ID NO. 2; Figura 5B).
- 10
- 15 El primer fragmento H1 se digiere con BglII y SacI y se clona en los mismos sitios de un vector binario (pCAMBIAPlasto) que contiene el promotor plastocianina y 5'UTR se fusiona al péptido de señal de isomerasa del gen de disulfuro de alfalfa de proteína (PDI) (nucleótidos 32-103; Número de Acceso Z11499; SEQ ID NO: 34; Figura 17) que resultan en un gen quimérico PDI-H1 en la dirección 3' de los elementos reguladores plastocianina. La secuencia del casete de base plastocianina que contiene el péptido de señal PDI se presenta en la Figura 1 (SEQ

ID NO: 8). El plásmido resultante que contiene la región codificante H1 se fusiona al péptido de señal PDI y se flanquea por elementos reguladores de plastocianina. La adición de la región codificante del extremo de terminal C (que codifica el dominio de transmembrana y la cola citoplásmica) se obtiene al insertar el fragmento sintetizado (SEQ ID NO: 2; Figura 5B) previamente digerido con KpnI y SacI, en el expresión el plásmido H1. El plásmido resultante, denominado 540, se presenta en la Figura 11 (también véase Figura 2A).

H5 A/Indonesia/5/2005 (número de construcción 663)

El péptido de señal de isomerasa de disulfuro de alfalfa de proteína (PDISP) (nucleótidos 32-103; Número de Acceso Z11499; SEQ ID NO: 34; Figura 17) se enlaza a la secuencia codificante HA0 de H5 de A/Indonesia/5/2005 como sigue. La secuencia codificante H5 se amplifica con cebadores SpPDI-HA(Ind).c (SEQ ID NO: 82) y HA(Ind)-SacI.r (SEQ ID NO: 7; Figura 7D) utilizando el número de construcción 660 (SEQ ID NO: 60; Figura 51) como plantilla. El fragmento resultante en la secuencia codificante H5 flanqueada, en 5', mediante los últimos nucleótidos que codifican PDISP (que incluye un sitio de restricción BglII) y, en 3', mediante un sitio de restricción SacI. El fragmento se digiere con BglII y SacI y se clona con el número de construcción 540 (SEQ ID NO: 61; Figura 52) previamente digerido con las mismas enzimas de restricción. El casete final, denominado el número de construcción 663 (SEQ ID NO: 83), se presenta en la Figura 69.

H1 A/Brisbane/59/2007 (construcción 787)

El péptido de señal de isomerasa de disulfuro de alfalfa de proteína (PDISP) (nucleótidos 32-103; Número de Acceso Z11499; SEQ ID NO: 34; Figura 17) se enlaza a la secuencia codificante de HA0 H1 de A/Brisbane/59/2007 como sigue. La secuencia codificante H1 se amplifica con cebadores SpPDI-H1B.c (SEQ ID NO: 84) y SacI-H1B.r (SEQ ID NO: 85) utilizando la construcción 774 (SEQ ID NO: 62; Figura 53) como plantilla. El fragmento resultante consiste de la secuencia codificante H1 flanqueado, en 5', mediante los últimos nucleótidos que codifica PDISP (que incluye un sitio de restricción BglII) y, en 3', mediante un sitio de restricción SacI. El fragmento se digiere con BglII y SacI y se clona con el número de construcción 540 (SEQ ID NO: 61; Figura 52) previamente digerido con las mismas enzimas de restricción. El casete final, denominado el número de construcción 787 (SEQ ID NO: 86), se presenta en la Figura 70.

H3 A/Brisbane/10/2007 (número de construcción 790)

El péptido de señal de isomerasa de disulfuro de alfalfa de proteína (PDISP) (nucleótidos 32-103; Número de Acceso Z11499; SEQ ID NO: 34; Figura 17) se enlaza a la secuencia codificante HA0 de H3 de A/Brisbane/10/2007 como sigue. Se enlaza PDISP a la secuencia codificante H3 mediante el método de ligación con base en PCR presentado en Darveau et al. (Methods in Neuroscience 26: 77-85(1995)). En una primera ronda de PCR, un segmento del promotor de plastocianina fusionado a PDISP se amplifica utilizando los cebadores Plasto-443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y H3B-SpPDI.r (SEQ ID NO: 87) con la construcción 540 (SEQ ID NO: 61; Figura 52) como plantilla. En paralelo, otro fragmento que contiene una parte de la secuencia codificante de H3 A/Brisbane/10/2007 (del codón 17 al sitio de restricción SpeI) se amplifica con los cebadores SpPDI-H3B.c (SEQ ID NO: 88) y H3(A-Bri).982r (SEQ ID NO: 89) utilizando la construcción 776 (SEQ ID NO: 69; Figura 60) como plantilla. Los productos de amplificación luego se mezclan y se utilizan como plantilla para una segunda ronda de amplificación (reacción de ensamble) con los cebadores Plasto- 443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y H3(A-Bri).982r (SEQ ID NO: 89). El fragmento resultante se digiere con BamHI (en el promotor plastocianina) y SpeI (en la secuencia codificante H3) y se clona con el número de construcción 776 (SEQ ID NO: 69; Figura 60), previamente digerido con las mismas enzimas de restricción para dar el número de construcción 790 (SEQ ID NO: 90). La construcción se presenta en la Figura 71.

HA B/Florida/4/2006 (número de construcción 798)

El péptido de señal de isomerasa de disulfuro de alfalfa de proteína (PDISP) (nucleótidos 32-103; Número de Acceso Z11499; SEQ ID NO: 34; Figura 17) se enlaza a la secuencia codificante HA0 de HA de HA B/Florida/4/2006 mediante el método de ligación con base en PCR presentado en Darveau et al. (Methods in Neuroscience 26: 77-85(1995)). En una primera ronda de amplificación, una parte del promotor plastocianina fusionado al PDISP se amplifica utilizando los cebadores Plasto-443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y HBF-SpPDI.r (SEQ ID NO: 91) con el número de construcción 540 (SEQ ID NO: 61; Figura 52) como plantilla. En paralelo, otro fragmento que contiene una parte de la secuencia codificante de HB B/Flo fusionado al terminador de plastocianina se amplifica con los cebadores SpPDI-HBF.c (SEQ ID NO: 92) y Plaster80r (SEQ ID NO: 93) utilizando el número de construcción 779 (SEQ ID NO: 73; Figura 64) como plantilla. Los productos PCR luego se mezclan y se utilizan como plantilla para una segunda ronda de amplificación (reacción de ensamble) con los cebadores Plasto-443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y Plaster80r (SEQ ID NO: 93). El fragmento resultante se digiere con BamHI (en el promotor plastocianina) y AflIII (en el HA de la secuencia codificante B/Florida/4/2006) y se clona con el número de construcción 779 (SEQ ID NO: 73; Figura 64), previamente digerido con las mismas enzimas de restricción para dar el número de construcción 798 (SEQ ID NO: 94). El casete de expresión resultante se presenta en la Figura 72.

## Ensamble de casetes de expresión con base en CPMV-HT

Los casetes de expresión de CPMV-HT utilizan el promotor 35S para controlar la expresión de un mRNA que comprende una secuencia codificante de interés flanqueada, en 5' mediante nucleótidos 1-512 de RNA2 del Virus del Mosaico del Caucho (CPMV) con el ATG mutado en las posiciones 115 y 161 y en 3', mediante los nucleótidos 3330-3481 del RNA2 CPMV (que corresponden al 3' UTR) seguido por el terminador Nos. El plásmido pBD-C5-1LC, (Sainsbury et al. 2008; Plant Biotechnology Journal 6: 82-92 y Publicación PCT WO 2007/135480), se utiliza para el ensamble de los casetes de expresión de hemaglutinina con base en CPMV-HT. La mutación de los ATG en la posición 115 y 161 del RNA2 CPMV se hace utilizando un método de ligación con base en PCR presentado en Darveau et al. (Methods in Neuroscience 26: 77-85 (1995)). Se realizan dos PCR separados utilizando pBD-C5-1LC como plantilla. Los cebadores para la primera amplificación son pBinPlus.2613c (SEQ ID NO: 77) y Mut-**ATG115.r** (SEQ ID NO: 78). Los cebadores para la segunda amplificación son Mut-**ATG161.c** (SEQ ID NO: 79) y LC-C5-1.110r (SEQ ID NO: 80). Los dos fragmentos obtenidos luego se mezclan y se utilizan como plantilla para una tercera amplificación utilizando pBinPlus.2613c (SEQ ID NO: 77) y LC-C5-1.110r (SEQ ID NO: 80) como los cebadores. El fragmento resultante se digiere con PacI y Apal y se clona en pBD-C5-1LC digerido con la misma enzima. La secuencia del casete de expresión generada, llamada 828, se presenta en la Figura 68 (SEQ ID NO: 81).

Ensamble de SpPDI-H1 A/Nueva Caledonia/20/99 en el casete de expresión CPMV-HT (número de construcción 580).

Una secuencia que codifica el péptido de señal de PDI de alfalfa fusionado a HA0 de H1 A/Nueva Caledonia/20/99 se clona en CPMV-HT como sigue. Los sitios de restricción Apal (inmediatamente en la dirección 5' del ATG inicial) y Stul (inmediatamente en el codón de parada en la dirección 3') se agregan a la secuencia codificante de hemaglutinina al realizar una amplificación PCR con los cebadores **Apal**-SpPDI.c (SEQ ID NO: 95) y **Stul**-H1(A-NC).r (SEQ ID NO: 96) utilizando el número de construcción 540 (SEQ ID NO: 61; Figura 52) como plantilla. El fragmento resultante se digiere con las enzimas de restricción Apal y Stul y se clona con el número de construcción 828 (SEQ ID NO: 81) digerido con la misma enzima. El casete resultante se denomina con el número de construcción 580 (SEQ ID NO: 97).

Ensamble de H5 A/Indonesia/5/2005 en el casete de expresión CPMV-HT (número de construcción 685).

La secuencia codificante de H5 de A/Indonesia/5/2005 se clona en CPMV-HT como sigue. Los sitios de restricción Apal (inmediatamente en la dirección 5' ATG) y Stul (inmediatamente el codón de parada en la dirección 3') se agregan a la secuencia codificante de hemaglutinina al realizar una amplificación PCR con los cebadores **Apal**-H5 (A-Indo).1c (SEQ ID NO: 98) y H5 (A-Indo)- **Stul**.1707r (SEQ ID NO: 99) utilizando el número de construcción 660 (SEQ ID NO: 60; Figura 51) como plantilla. El fragmento resultante se digiere con las enzimas de restricción Apal y **Stul** y se clona con el número de construcción 828 (SEQ ID NO: 81) digerido con la misma enzima. El casete resultante se nombra con el número de construcción 685 (SEQ ID NO: 100).

Ensamble de SpPDI-H5 A/Indonesia/5/2005 en el casete de expresión CPMV-HT (número de construcción 686).

Una secuencia que codifica el péptido de señal de PDI de alfalfa fusionado a HA0 de H5 A/Indonesia/5/2005 se clona en CPMV-HT como sigue. Los sitios de restricción Apal (inmediatamente en la dirección 5' ATG) y Stul (inmediatamente el codón de parada en la dirección 3') se agregan a la secuencia codificante de hemaglutinina al realizar una amplificación PCR con los cebadores **Apal**-SpPDI.c (SEQ ID NO: 95) y H5 (A-Indo)-**Stul**.1707r (SEQ ID NO: 99) utilizando el número de construcción 663 (SEQ ID NO: 83) como plantilla. El fragmento resultante se digiere con las enzimas de restricción Apal y Stul y se clona con el número de construcción 828 (SEQ ID NO: 81) digerido con la misma enzima. El casete resultante se denomina con el número de construcción 686 (SEQ ID NO: 101).

Ensamble de H1 A/Brisbane/59/2007 en el casete de expresión CPMV-HT (número de construcción 732).

La secuencia codificante de HA de H1 A/Brisbane/59/2007 se clona en CPMV-HT como sigue. Los sitios de restricción Apal (inmediatamente en la dirección 5' ATG) y Stul (inmediatamente el codón de parada en la dirección 3') se agregan a la secuencia codificante de hemaglutinina al realizar una amplificación PCR con los cebadores **Apal**-H1B.c (SEQ ID NO: 102) y **Stul**-H1B.r (SEQ ID NO: 103) utilizando el número de construcción 774 (SEQ ID NO: 62; Figura 53) como plantilla. El fragmento resultante se digiere con las enzimas de restricción Apal y Stul y se clona con el número de construcción 828 (SEQ ID NO: 81) digerido con la misma enzima. El casete resultante se denomina con el número de construcción 732 (SEQ ID NO: 104).

Ensamble de SpPDI-H1 A/Brisbane/59/2007 en el casete de expresión CPMV-HT (número de construcción 733).

Una secuencia que codifica el péptido de señal de PDI de alfalfa fusionado a HA0 de H1 A/Brisbane/59/2007 se clona en CPMV-HT como sigue. Los sitios de restricción Apal (inmediatamente en la dirección 5' ATG) y Stul (inmediatamente el codón de parada en la dirección 3') se agregan a la secuencia codificante de hemaglutinina al

realizar una amplificación PCR con los cebadores **Apal**-SpPDI.c (SEQ ID NO: 95) y **Stul**-H1B.r (SEQ ID NO: 103) utilizando el número de construcción 787 (SEQ ID NO: 86) como plantilla. El fragmento resultante se digiere con las enzimas de restricción Apal y Stul y se clona con el número de construcción 828 (SEQ ID NO: 81) digerido con la misma enzima. El casete resultante se denomina con el número de construcción 733 (SEQ ID NO: 105).

- 5 Ensamble de H3 A/Brisbane/10/2007 en el casete de expresión CPMV-HT (número de construcción 735).

La secuencia codificante de HA de H3 A/Brisbane/10/2007 se clona en CPMV-HT como sigue. Los sitios de restricción Apal (inmediatamente en la dirección 5' ATG) y Stul (inmediatamente el codón de parada en la dirección 3') se agregan a la secuencia codificante de hemaglutinina al realizar una amplificación PCR con los cebadores **Apal**-H3B.c (SEQ ID NO: 106) y **Stul**-H3B.r (SEQ ID NO: 107) utilizando el número de construcción 776 (SEQ ID NO: 69) como plantilla. El fragmento resultante se digiere con las enzimas de restricción Apal y Stul y se clona con el número de construcción 828 (SEQ ID NO: 81) digerido con la misma enzima. El casete resultante se denomina con el número de construcción 735 (SEQ ID NO: 108).

Ensamble de SpPDI-H3 A/Brisbane/10/2007 en el casete de expresión CPMV-HT (número de construcción 736).

15 Una secuencia que codifica el péptido de señal de PDI de alfalfa fusionado a HA0 de H3 A/Brisbane/10/2007 se clona en CPMV-HT como sigue. Los sitios de restricción Apal (inmediatamente en la dirección 5' ATG) y Stul (inmediatamente el codón de parada en la dirección 3') se agregan a la secuencia codificante de hemaglutinina al realizar una amplificación PCR con los cebadores **Apal**-SpPDI.c (SEQ ID NO: 95) y **Stul**-H3B.r (SEQ ID NO: 107) utilizando el número de construcción 790 (SEQ ID NO: 90) como plantilla. El fragmento resultante se digiere con las enzimas de restricción Apal y Stul y se clona con el número de construcción 828 (SEQ ID NO: 81) digerido con la misma enzima. El casete resultante se denomina con el número de construcción 736 (SEQ ID NO: 109).

Ensamble de HA B/Florida/4/2006 en el casete de expresión CPMV-HT (número de construcción 738).

25 La secuencia codificante de HA de B/Florida/4/2006 se clona en CPMV-HT como sigue. Los sitios de restricción Apal (inmediatamente en la dirección 5' ATG) y Stul (inmediatamente el codón de parada en la dirección 3') se agregan a la secuencia codificante de hemaglutinina al realizar una amplificación PCR con los cebadores **Apal**-HBF.c (SEQ ID NO: 110) y **Stul**-HBF.r (SEQ ID NO: 111) utilizando el número de construcción 779 (SEQ ID NO: 73; Figura 64) como plantilla. El fragmento resultante se digiere con las enzimas de restricción Apal y Stul y se clona con el número de construcción 828 (SEQ ID NO: 81) digerido con la misma enzima. El casete resultante se denomina con el número de construcción 738 (SEQ ID NO: 112).

Ensamble de SpPDI-HA B/Florida/4/2006 en el casete de expresión CPMV-HT (número de construcción 739).

30 Una secuencia que codifica péptido de señal de PDI de alfalfa fusionado a HA0 de B/Florida/4/2006 se clona en CPMVHT como sigue. Los sitios de restricción Apal (inmediatamente en la dirección 5' ATG) y Stul (inmediatamente el codón de parada en la dirección 3') se agregan a la secuencia codificante de hemaglutinina al realizar una amplificación PCR con los cebadores **Apal**-SpPDI.c (SEQ ID NO: 95) y **Stul**-HBF.r (SEQ ID NO: 111) utilizando el número de construcción 798 (SEQ ID NO: 94) como plantilla. El fragmento resultante se digiere con las enzimas de restricción Apal y Stul y se clona con el número de construcción 828 (SEQ ID NO: 81) digerido con la misma enzima. El casete resultante se denomina con el número de construcción 739 (SEQ ID NO: 113).

Ensamble de casetes de expresión chaperones

40 Se ensamblan dos casetes de expresión de proteína de choque térmico (Hsp). En un primer casete, la expresión de HSP70 citosólico de Arabidopsis thaliana (ecotipo Columbia) (Athsp70-1 en Lin et al. (2001) Cell Stress and Chaperones 6: 201-208) se controla mediante un promotor quimérico que combina elementos de la reductasa de Nitrito de alfalfa (Nir) y el promotor plastocianina de alfalfa (Nir/Plasto). También se ensambla un segundo casete que comprende la región codificante del HSP40 citosólico de alfalfa (MsJ1; Frugis et al. (1999) Plant Molecular Biology 40: 397-408) bajo el control del promotor Nir/Plasto quimérico.

45 Primero se ensambla un plásmido aceptor que contiene el promotor de reductasa de Nitrito de alfalfa (Nir), el gen indicador GUS y el terminador Nos en vector binario de planta. El plásmido pNir3K51 (previamente descrito en la Patente Estadounidense No. 6,420,548) se digiere con HindIII y EcoRI. El fragmento resultante se clona en pCAMBIA2300 (Cambia, Canberra, Australia) digerido mediante la misma enzima de restricción para dar pCAMBIA-Nir3K51.

50 Las secuencias codificantes para Hsp70 y Hsp40 se clonan en forma separada en el plásmido pCAMBIA-Nir3K51 receptor mediante el método de ligación con base en PCR presentado en Darveau et al. (Methods in Neuroscience 26:77-85 (1995)).



Para Hsp40, la secuencia codificante Msj1 (SEQ ID NO: 114) se amplifica mediante RT-PCR de ARN total de hoja de alfalfa (ecotipo Rangelander) utilizando los cebadores Hsp40Luz.1c (SEQ ID NO: 115) y Hsp40Luz-Sacl.1272r (SEQ ID NO: 116). Se realiza una segunda amplificación con los cebadores Plasto-443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y Hsp40Luz-Plasto.r (SEQ ID NO: 117) con la construcción 660 (SEQ ID NO: 60; Figura 51) como plantilla. Los productos PCR luego se mezclan y se utilizan como plantilla para una tercera amplificación (reacción de ensamble) con los cebadores Plasto-443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y Hsp40Luz-Sacl.1272r (SEQ ID NO: 116). El fragmento resultante se digiere con HpaI (en el promotor plastocianina) y se clona en pCAMBIANir3K51, previamente digerido con HpaI (en el promotor Nir) y SacI, y se presenta con polimerasa de ADN T4 para generar extremos romos. Los clones obtenidos se detectan para orientación correcta y se secuencian para integridad de secuencia. El plásmido resultante, llamado R850, se presenta en la Figura 83 (SEQ ID NO: 121). La región codificante del Athsp70-1 se amplifica mediante ARN de hoja de RT-PCR de Arabidopsis utilizando los cebadores Hsp70Ara.1c (SEQ ID NO: 118) y Hsp70Ara-Sacl.1956r (SEQ ID NO: 119). Se realiza una segunda amplificación con los cebadores Plasto-443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y Hsp70Ara-Plasto.r (SEQ ID NO: 120) con la construcción 660 (SEQ ID NO: 60; Figura 51) como plantilla. Los productos PCR luego se mezclan y se utilizan como plantilla para una tercera amplificación (reacción de ensamble) con los cebadores Plasto- 443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y Hsp70ARA-Sacl.1956r (SEQ ID NO: 119). El fragmento resultante se digiere con HpaI (en el promotor plastocianina) y se clona en pCAMBIANir3K51 digerido con HpaI (en el promotor Nir) y SacI y se presenta con polimerasa de ADN T4 para generar extremos romos. Los clones obtenidos se detectan para orientación correcta y se secuencian para integridad de secuencia. El plásmido resultante, llamado R860, se presenta en la Figura 84 (SEQ ID NO: 122).

Un plásmido de expresión Hsp dual se ensambla como sigue. Se digiere R860 con BsrBI (en el terminador Nos de la dirección 3'), tratado con polimerasa de ADN T4 para generar un extremo romo, y se digiere con SbfI (en el promotor NIR/Plasto quimérico en la dirección 5'). El fragmento resultante (Promotor quimérico Nir/Plasto -Secuencia codificante HSP70- Terminador Nos) se clona en R850 previamente digerido con SbfI y SmaI (ambos ubicados en los múltiples sitios de clonación en el promotor Nir/Plasto quimérico en la dirección 5'). El plásmido resultante, llamado R870, se presenta en la Figura 85 (SEQ ID NO: 123).

#### Ensamble de otros casetes de expresión

##### Casete de expresión H1 soluble

El casete que codifica la forma soluble de H1 se prepara al reemplazar la región codificante par el dominio de transmembrana y la cola citoplásmica en 540 mediante un fragmento que codifica la cremallera de leucina GCN4 pII variante (Harbury et al, 1993, Science 1993; 262: 1401-1407). Este fragmento se sintetiza con los sitios KpnI y SacI de flanqueo para facilitar clonación. El plásmido que resulta de este reemplazo se denomina 544 y el casete de expresión se ilustra en la Figura 11.

##### M1 A/Puerto Rico/8/34 casete de expresión

Una fusión entre el virus del grabado del tabaco (TEV) 5'UTR y el marco abierto de lectura del gen de influenza A/PR/8/34 M1 (Acc. # NC\_002016) se sintetiza con un sitio de flanqueo SacI agregado en la dirección 3' del codón de parada. El fragmento se digiere con SmaI (en el TEV 5'UTR) y SacI, y se clona en un casete de expresión con base en 2X35S/TEV en un plásmido binario pCAMBIA. El plásmido resultante perfora la región codificante M1 bajo el control de un promotor 2X35S/TEV y 5'UTR y el terminador Nos (construcción 750; Figura 11).

##### Casete de expresión HcPro

Una construcción HcPro (35HcPro) se prepara como se describe en Hamilton et al. (2002). Todos los clones se secuencian para confirmar la integridad de las construcciones. Los plásmidos se utilizan para transformar *Agrobacterium tumefaciens* (AGL1; ATCC, Manassas, VA 20108, USA) mediante electroporación (Mattanovich et al., 1989). La integridad de todas las cepas *A. tumefaciens* se conforma mediante mapeo de restricción.

##### Casete de expresión P 19

La secuencia codificante de la proteína p19 de virus del enanismo arbustivo del Tomate (TBSV) se enlaza al casete de expresión de plastocianina de alfalfa mediante el método de ligación con base en PCR presentado en Darveau et al. (Methods in Neuroscience 26: 77-85(1995)). En una primera ronda de PCR, un segmento del promotor plastocianina se amplifica utilizando los cebadores Plasto-443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y supP19-plasto.r (SEQ ID NO: 124) con la construcción 660 (SEQ ID NO: 60; Figura 51) como plantilla. En paralelo, otro fragmento que contiene la secuencia codificante de p19 se amplifica con los cebadores supP19-1c (SEQ ID NO: 125) y SupP19-Sacl.r (SEQ ID NO: 126) utilizando la construcción 35S:p19 como se describe en Voinnet et al. (Plant Journal 33: 949-956 (2003)) como plantilla. Los productos de amplificación luego se mezclan y se utilizan como plantilla para una segunda ronda de amplificación (reacción de ensamble) con los cebadores Plasto-443c (SEQ ID NO: 4; Figura 7A) y SupP19- SacI.r (SEQ ID NO: 126). El fragmento resultante se digiere con BamHI (en el promotor plastocianina)

y Sacl (en el extremo de la secuencia codificante p19) y se clona con el número de construcción 660 (SEQ ID NO: 60; Figura 51), previamente digerido con las mismas enzimas de restricción para dar el número de construcción R472. El plásmido R472 se presenta en la Figura 86.

### 3. Preparación de biomasa de planta, inóculo, agroinfiltración, y cosecha

- 5 Se cultivan plantas de *Nicotiana benthamiana* o *Nicotiana tabacum* de semillas en suelos llenos con un sustrato de musgo comercial. Se hacen crecer plantas en invernadero bajo un fotoperiodo 16/8 y un régimen de temperatura de 25°C día/20°C noche. Tres semanas después de siembra, se seleccionaron plántulas individuales, se trasplantan en macetas y se dejan crecer en invernadero durante tres semanas adicionales bajo las mismas condiciones ambientales. Antes de la transformación, se retiran los brotes apicales y axilares en diversos momentos como se indica adelante, al apretar los brotes de la planta, o al tratar químicamente la planta

La *Agrobacteria* transfectada con cada construcción se hace crecer en un medio YEB complementado con 10 mM de ácido 2-[Nmorfolino] etanosulfónico (MES), 20 µM de acetosiringona, 50 µg/ml de canamicina y 25 mg/ml de carbenicilina pH5.6 hasta que alcanzan un OD<sub>600</sub> entre 0.6 y 1.6. Se centrifugan suspensiones de *Agrobacterium* antes de uso y se resuspenden en medio de infiltración (10 mM MgCl<sub>2</sub> y 10 mM MES pH 5.6). Se realiza infiltración por jeringa como se describe mediante Liu and Lomonosoff (2002, Journal of Virological Methods, 105:343-348). Para infiltración por vacío, se centrifugan suspensiones *A. tumefaciens*, se resuspenden en el medio de infiltración y se almacenan durante la noche a 4°C. En el día de infiltración, se diluyen tandas de cultivo en 2.5 volúmenes de cultivo y se dejan calentar antes de uso. Las plantas completas de *N. benthamiana* o *N. tabacum* se ponen boca abajo en la suspensión bacteriana en un tanque en acero inoxidable hermético al aire bajo vacío de 20-40 Torr durante 2-min. Luego de infiltración por jeringa o vacío, las plantas se regresan al invernadero durante un periodo de incubación de 4-5 días hasta que se cosecha. A menos que se especifique otra cosa, toda las infiltraciones se realizan como coinfiltración con AGL1/35S-HcPro en una relación 1:1, excepto para las cepas que llevan el casete CPMV-HT que se coinfiltran con la cepa AGL1/R472 en una relación 1:1.

### 4. Muestra de hoja y extracción de proteína total

- 25 Luego de incubación, la parte aérea de las plantas se cosecha, se congela a -80°C, se tritura en piezas. Las proteínas solubles totales se extraen al homogenizar (Polytron) cada muestra de material de planta triturado congelado en 3 volúmenes de 50 mM de Tris frío pH 7.4, 0.15 M de NaCl, y 1 mM de fluoruro de fenilmetanosulfonilo. Después de homogenización, las suspensiones se centrifugan a 20,000 g durante 20 min a 4°C y se clarifican extractos crudos (sobrenadante) mantenidos para análisis. El contenido de proteína total de los extractos crudos clarificados se determina mediante el ensayo Bradford (Bio-Rad, Hercules, CA) utilizando albúmina de suero bovino como el estándar de referencia.

### 5. Cromatografía de exclusión de tamaño de extracto de proteína

- Las columnas de cromatografía de exclusión de tamaño (SEC) de 32 ml de gránulos de alta resolución Sephacryl™ S-500 (S-500 HR: GE Healthcare, Uppsala, Suecia, Cat. No. 17-0613-10) se empacan y equilibran con regulador de equilibrio/elución (50 mM Tris pH8, 150 mM NaCl). Se carga milímetro y medio de extracto crudo de proteína en la columna seguido por una etapa de elución con 45 mL de regulador de equilibrio/elución. La elución que se recolecta en fracciones de 1.5 mL de contenido de proteína relativo de las fracciones eluidas se supervisa al mezclar 10 µL de la fracción con 200 µL de reactivo de tinte de proteína diluida Bio-Rad (Bio-Rad, Hercules, CA). La columna se lava con 2 volúmenes de columna NaOH 0.2N seguido por 10 volúmenes de columna Tris pH8 50 mM, 150 mM de NaCl, 20% de etanol. Cada separación esta seguida por una calibración de la columna con Blue Dextran 2000 (GE Healthcare Bio-Science Corp., Piscataway, NJ, USA). Los perfiles de elución e Blue Dextran 2000 y las proteínas solubles anfitrionas se comparan entre cada separación para asegurar la uniformidad de los perfiles de elución entre las columnas utilizadas.

### 6. Análisis de Proteína e Inmunotransferencia

- 45 Se determinan las concentraciones de proteína mediante en ensayo de proteína BCA (Pierce Biochemicals, Rockport IL). Las proteínas se separan mediante SDS-PAGE bajo condiciones de reducción y se tiñen con Coomassie Blue. Los geles teñidos se detectan y se realiza análisis de densitometría utilizando Software ImageJ (NIH).

- Las proteínas de la fracción de elución de SEC se precipitan con acetona (Bollag et al., 1996), se resuspenden en volumen 1/5 en regulador de equilibrio/elución y se separan por SDS-PAGE bajo condiciones de reducción y se electrotransfieren en membranas de difluoruro polivinileno (PVDF) (Roche Diagnostics Corporation, Indianapolis, IN) para inmunodetección. Antes de inmunotransferencia, las membranas se bloquean con 5% de leche descremada y 0.1% de Tween-20 en solución salina regulada con Tris (TBS-T) durante 16-18h a 4°C.

5

Se realiza inmunotransferencia se realiza mediante incubación con un anticuerpo adecuado (Tabla 6), en 2 µg/ml de 2% de leche descremada en 0.1 % de TBS-Tween 20. Los anticuerpos secundarios utilizados para detección de quimioluminiscencia son como se indica en la Tabla 4, se diluye como se indica en 2% de leche descremada en 0.1 % de TBS-Tween 20. Los complejos inmunoreactivos se detectan mediante quimioluminiscencia utilizando luminol como el sustrato (Roche Diagnostics Corporation). Se lleva a cabo conjugación de la enzima de peroxidasa de rábano de caballo del anticuerpo IgG humano al utilizar el equipo de conjugación de Peroxidasa Activada EZ-Link Plus® (Pierce, Rockford, IL). Los virus inactivos, completos (WIV), utilizados como controles de detección para los subtipos H1, H3 y B, se compran del Instituto Nacional para Control y Estándares Biológicos (NIBSC).

Tabla 6: Condiciones de electrofóresis, anticuerpos y diluciones para inmunotransferencia de proteínas expresadas.

| subtipo HA | Cepa de influenza                 | Condición de electrofóresis | Anticuerpo Primario | Dilución | Anticuerpo Secundario                | Dilución |
|------------|-----------------------------------|-----------------------------|---------------------|----------|--------------------------------------|----------|
| H1         | A/Brisbane/59/2007 (H1N1)         | Reducción                   | FII 10-150          | 4 µg/ml  | Antirratón de cabra(JIR 115-035-146) | 1:10 000 |
| H1         | A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1)   | Reducción                   | NIBSC 07/104        | 1:2000   | Antioveja de conejo(JIR 313-035-045) | 1:10 000 |
| H1         | A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1)    | Reducción                   | FII 10-150          | 4 µg/ml  | Antirratón de cabra(JIR 115-035-146) | 1:10 000 |
| H2         | A/Singapur/1/57 (H2N2)            | Sin reducción               | NIBSC 00/440        | 1:1000   | Antioveja de conejo(JIR 313-035-045) | 1:10 000 |
| H3         | A/Brisbane/10/2007 (H3N2)         | Sin reducción               | TGA AS393           | 1:4000   | Antioveja de conejo(JIR 313-035-045) | 1:10 000 |
| H3         | A/Brisbane/10/2007 (H3N2)         | Sin reducción               | NIBSC 08/136        | 1:1000   | Antioveja de conejo(JIR 313-035-045) | 1:10 000 |
| H3         | A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)        | Sin reducción               | NIBSC 05/236        | 1:1000   | Antioveja de conejo(JIR 313-035-045) | 1:10 000 |
| H5         | A/Indonesia/5/2005 (H5N1)         | Reducción                   | ITC IT-003-005V     | 1:4000   | Antoconejo de cabra(JIR 111-035-144) | 1:10 000 |
| H5         | A/Anhui/1/2005 (H5N1)             | Reducción                   | NIBSC 07/338        | 1:750    | Antioveja de conejo(JIR 313-035-045) | 1:10 000 |
| H5         | A/Vietnam/1194/2004 (H5N1)        | Sin reducción               | ITC IT-003-005      | 1:2000   | Antoconejo de cabra(JIR 111-035-144) | 1:10 000 |
| H6         | A/Trullo/Hong Kong/W312/97 (H6N1) | Sin reducción               | BEINR 663           | 1:500    | Antioveja de conejo(JIR 313-035-045) | 1:10 000 |
| H7         | A/Equino/Praga/56 (H7N7)          | Sin reducción               | NIBSC 02/294        | 1:1000   | Antioveja de conejo(JIR 313-035-045) | 1:10 000 |

| subtipo HA | Cepa de influenza          | Condición de electrofóresis | Anticuerpo Primario | Dilución | Anticuerpo Secundario                 | Dilución |
|------------|----------------------------|-----------------------------|---------------------|----------|---------------------------------------|----------|
| H9         | A/Hong Kong/1073/99 (H9N2) | Reducción                   | NIBSC 07/146        | 1:1000   | Antioveja de conejo(JIR 313-035-045)  | 1:10 000 |
| B          | B/Malasia/25 06/2004       | Sin reducción               | NIBSC 07/184        | 1:2000   | Antioveja de conejo(JIR 313-035-045)  | 1:10 000 |
| B          | B/Florida/4/20 06          | Sin reducción               | NIBSC 07/356        | 1:2000   | Antioveja de conejo (JIR 313-035-045) | 1:10 000 |

FII: Fitzgerald Industries International, Concord, MA, USA;  
 NIBSC: National Institute for Biological Standards and Control;  
 JIR: Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA, USA;  
 BEINR: Biodefense and emerging infections research resources repository;  
 ITC: ImmuneTechnology Corporation, Woodside, NY, USA;  
 TGA: Therapeutic Goods Administration, Australia.

El ensayo de hemaglutinación para H5 se basa en un método descrito por Nayak and Reichl (2004). En resumen, se hacen diluciones seriales dobles de las muestras de prueba (100 µL) en placas de microtítulo de 96 pozos con fondo en forma de V que contienen 100 µL de PBS, que deja 100 µL de la muestra diluida por pozo. Se agregan a cada pozo cien microlitros de 0.25% de suspensión de glóbulos rojos de pavo (Bio Link Inc., Syracuse, NY), y las placas se incuban durante 2h a temperatura ambiente. El recíproco de mayor dilución que muestra hemaglutinación completa se registra como actividad HA. En paralelo, un estándar recombinante HA (A/Vietnam/1203/2004 H5N1) (Protein Science Corporation, Meriden, CT) se diluye en PBS y corre como un control en cada placa.

#### 7. Ultracentrifugación de gradiente de sacarosa

- 10 Se agrupa un mililitro de las fracciones 9, 10 y 11 eluidas de filtración cromatográfica de gel en biomasa que contiene H5, se carga en 20-60% (p/v) de gradiente de densidad de sacarosa discontinuo, y se centrifuga 17,5 h a 125 000 g (4°C). El gradiente se fracciona en 19 3-mL de fracciones partiendo de la parte superior, y se dializa para retirar la sacarosa antes de análisis inmunológico y ensayos de hemaglutinación.

#### 8. Microscopio de electrones

- 15 Se ponen cien microlitros de las muestras que se examinan en un tubo de ultracentrifugación Airfuge (Beckman Instruments, Palo Alto, CA, USA). Se pone una rejilla en la parte inferior del tubo que luego se centrifuga 5 min a 120 000 g. la rejilla se retira, se seca gentilmente, y se pone en una gota de 3% de ácido fosfotúngstico a pH 6 para tinción. Las rejillas se examinan en un microscopio de electrones de transmisión Hitachi 7100 (TEM) (para las imágenes en las Figuras 14B, 15B y 15C).
- 20 Para las imágenes en la Figura 19, se fijan bloques de hoja de aproximadamente 1 mm<sup>3</sup> en PBS que contienen 2.5% de glutaraldehído y se lavan en PBS que contienen 3% de sacarosa antes de una etapa de postfijación en 1.33% de tetróxido de osmio. Se incorporan muestras fijas en resina Spurr y las capas ultradelgadas se ponen en una rejilla. Las muestras se tiñen positivamente con 5% de acetato de uranilo y 0,2% de citrato de plomo antes de observación. Se examinan las rejillas en un microscopio de electrones de transmisión Hitachi 7100 (TEM).

- 25 9. Análisis de lípido de membrana de plasma

Se obtienen membranas de plasma (PM) de hojas de tabaco y se cultivan células BY2 después de fraccionamiento de la célula de acuerdo con Mongrand et al. al particionar en un sistema de dos fases de polímero acuoso con polietilenglicol 3350/dextrano T-500 (6.6% cada una). Todas las etapas se realizan a 4 °C.

Los lípidos se extraen y se purifican de las diferentes fracciones de acuerdo con Bligh and Dyer. Se separan los lípidos polares y neutros mediante HP-TLC monodimensional utilizando los sistemas de solvente descritos en Lefebvre et al. Se detectan lípidos de fracciones PM después de tinción con acetato de cobre como se describe por Macala et al. Se identifican los lípidos mediante comparación de su tiempo de migración con aquellos estándares (todos los estándares se obtienen de Sigma-Aldrich, St-Louis, MO, USA, excepto para SG que se obtiene de Matreya, Pleasant Gap, PA, USA).

#### 10. Purificación de VLP H5 (A/Indonesia/5/2005)

Las 660 hojas infiltradas congeladas de *N. benthamiana* se homogenizan en 1.5 volúmenes de 50 mM Tris pH 8, NaCl 150 mM y 0.04% de metabisulfito de sodio utilizando un mezclador comercial. El extracto resultante se complementa con 1 mM PMSF y se ajusta a pH 6 con 1 M ácido acético antes de ser calentado a 42°C durante 5 min. Se agrega tierra diatomácea (DE) al extracto tratado con calor para adsorber los contaminantes precipitados por el cambio de pH y tratamiento térmico, y la suspensión se filtra a través de un papel de filtro Whatman. El extracto clarificado resultante se centrifuga a 10,000 x g durante 10 minutos a temperatura ambiente para retirar el DE residual, que pasa a través de 0.8/0.2 µm de filtros Acropack 20 y se carga en una columna de afinidad de fetuina-agarosa (Sigma-Aldrich, St-Louis, MO, USA). Luego de una etapa de lavado en 400 mM NaCl, 25 mM Tris pH 6, las proteínas unidas se eluyen con 1.5 M NaCl, 50 mM MES pH 6. Se complementan los VLP eluidos con Tween-80 a una concentración final de 0.0005% (v/v). Se concentran los VLP en una membrana de 100 kDa MWCO Amicon, se centrifugan a 10,000 x g durante 30 minutos a 4°C y se resuspenden en PBS pH 7.4 con 0.01% de Tween-80 y 0.01% de timerosal. Los VLP suspendidos se filtran estériles antes de uso.

#### 11. Estudios en animal

##### Ratones

Se realizan estudios sobre la respuesta inmunitaria para administración de VLP de influenza con ratones Balb/c hembra de 6-8 semanas de edad (Charles River Laboratories). Se dividen aleatoriamente setenta ratones en catorce grupos de cinco animales. Se utilizan ocho grupos para inmunización intramuscular y se utilizan seis grupos para probar la administración de la ruta intranasal. Todos los grupos se inmunizan en un régimen de dos dosis, la inmunización de refuerzo se hace 3 semanas luego de la primera inmunización.

Para administración intramuscular en las patas traseras, se inmunizan ratones no anestesiados con vacuna H5 de VLP hecho de planta (A/Indonesia/5/2005 (H5N1) (0.1, 1, 5 o 12 µg), o un antígeno de hemaglutinina de control (H5). El H5 de control comprendido de hemaglutinina soluble recombinante se produce con base en la cepa A/Indonesia/5/05 H5N1 y se purifica del cultivo celular 293 (Immune Technology Corp., Nueva York, USA) (se utiliza 5 µg por inyección a menos que se indique otra cosa). El regulador de control es PBS. Este antígeno consiste de 18-530 aminoácidos de la proteína HA, y tiene un sitio de división modificado y etiqueta His. La microscopia de electrones confirma que este producto comercial no está en la forma de los VLP.

Para medir el efecto de adyuvante, se inmunizan dos grupos de animales con 5 µg de vacuna H5 de VLP hecho de planta más un volumen de Alhydrogel 2% (alumbre, Accurate Chemical & Scientific Corporation, Westbury, NY, US) o con 5 µg de hemaglutinina recombinante purificado de cultivo celular 293 más 1 volumen de alumbre. Se dividen aleatoriamente setenta ratones en catorce grupos de cinco animales. Se utilizan ocho grupos para inmunización intramuscular y se utilizan seis grupos para probar la administración de la ruta intranasal. Todos los grupos se inmunizan de acuerdo con un régimen de refuerzo principal, la inmunización de refuerzo se realiza 3 semanas luego de la primera inmunización.

Para administración intramuscular en las patas traseras, se inmunizan ratones no anestesiados con el H5 de VLP hecho de planta (0.1, 1, 5 o 12 µg), o el antígeno de hemaglutinina de control (HA) (5 µg) o PBS. Se mezclan todas las preparaciones de antígeno con Alhydrogel 1% (alumbre, Accurate Chemical & Scientific Corporation, Westbury, NY, US) en una relación en volumen de 1:1 antes de inmunización. Para medir el efecto de adyuvante, se inmunizan dos grupos de animales con 5 mg de vacuna H5 de VLP hecho de planta o con 5 µg del antígeno de control HA sin ningún adyuvante.

Para administración intranasal, los ratones se anestesian brevemente mediante inhalación de isoflurano utilizando una cámara de inducción automática. Luego se inmunizan mediante la adición de 4 µl de gotas por fosa nasal con la vacuna VLP hecha de vegetales (0.1 o 1 µg), o con el antígeno de control HA (1 µg) o con PBS. Se mezclan todas las preparaciones de antígeno con glutamato de quitosano 1% (Protosan, Novamatrix/ FMC BioPolymer, Noruega) antes de inmunización. Los ratones luego inhalan las soluciones. Para verificar el efecto de adyuvante con la

administración de ruta intranasal, se inmunizan dos grupos de animales con 1 µg de vacuna H5 de VLP hecho de planta o con 1 µg del antígeno de control HA.

#### Hurones

- 5 Se utilizan diez grupos de 5 hurones (macho, 18-24 semanas de edad, masa de aproximadamente 1 kg). El tratamiento para cada grupo es como se describe en la Tabla 7. El adyuvante utilizado es Alhydrogel (alumbre) (Superfos Biosector, Dinamarca) 2% (final=1%). La composición de vacuna asociada con los VLP de membrana A/Indonesia/5/05 (H5N1) se produce como se describe. El control de vacuna (control positivo) es un H5 recombinante unido a membrana completamente glucosilado de la cepa Indonesia producida utilizando adenovirus en cultivo celular 293 por Immune Technology Corporation (ITC).

10 Tabla 7. Grupos de tratamiento

| Grupo                | n | Producto inyectado a animales | Ruta de administración | Adyuvante |
|----------------------|---|-------------------------------|------------------------|-----------|
| 1                    | 5 | PBS (control negativo)        | i.m*                   | -         |
| 2                    | 5 | Planta vacuna, 1 µg           | i.m.                   | -         |
| 3                    | 5 | Planta vacuna, 1 µg           | i.m.                   | Alumbre   |
| 4                    | 5 | Planta vacuna, 5 µg           | i.m.                   | -         |
| 5                    | 5 | Planta vacuna, 5 µg           | i.m.                   | Alumbre   |
| 6                    | 5 | Planta vacuna, 7.5 µg         | i.m.                   | -         |
| 7                    | 5 | Planta vacuna, 15 µg          | i.m.                   | -         |
| 8                    | 5 | Planta vacuna, 15 µg          | i.m.                   | Alumbre   |
| 9                    | 5 | Planta vacuna, 30 µg          | i.m.                   | -         |
| 10                   | 5 | Planta control,, 5 µg         | i.m.                   | -         |
| *i.m.: Intramuscular |   |                               |                        |           |

- 15 Se evalúan hurones para determinar la salud y apariencia general (peso corporal, temperatura rectal, postura, pelaje, patrones de movimiento, respiración, excremento) regularmente durante el estudio. Los animales se inmunizan mediante inyección intramuscular (0.5-1.0 de volumen total) en cuádriceps en el día 0,14 y 28; para protocolos que incorporan el adyuvante, la composición de vacuna se combina con Alhydrogel inmediatamente antes de inmunización en una relación de volumen 1:1). Se obtienen muestras de suero en el día 0 antes de inmunización, y en el día 21 y 35. Los animales se sacrifican (desangramiento/punción cardiaca) en los días 40-45, y se recolectan los bazo y se realiza necropsia.

- 20 Los títulos de anticuerpo de anti-influenza se pueden cuantificar en ensayos ELISA utilizando virus H5N1 inactivos homólogos o heterólogos.

- 25 Los títulos de anticuerpo inhibidores de hemaglutinación de muestras de suero (preinmunitarias, día 21 y día 35) se evalúan mediante HAI de microtítulo como se describe (Aymard et al 1973). En resumen, se pretrata suero con la enzima que destruye el receptor, se activa por calor y se mezcla con una suspensión de eritrocitos (glóbulos rojos RBC lavados). Se recomiendan RBC lavados de caballo (10%) de Lampire y se considera que el ensayo puede variar dependiendo de la fuente de RBC (dependientes de caballo), se han probado los RBC lavados de 10 caballos para seleccionar la tanda más sensible. Alternativamente, se puede utilizar RBC de pavo. Los títulos de anticuerpo se expresan como el recíproco de mayor dilución que inhibe completamente hemaglutinación.

Títulos HAI de reacción cruzada: los títulos HAI de hurones inmunizados con una vacuna para A/Indonesia/5/05 (subtipo 2.1) se miden utilizando cepas de influenza H5N1 inactivas de otro subsubtipo o subtipo tal como las cepas

Vietnam subtipo 1 A/Vietnam/1203/2004 y A/Vietnam/1194/2004 o A/Anhui/01/2005 (subsubtipo 2.3) o A/pavo/Turquía/ 1/05 (subsubtipo 2.2). Todos los análisis se realizan en muestras individuales.

Análisis de datos: Se realiza análisis estadístico (ANOVA) en todos los datos para establecer si son estadísticamente significativas las diferencias entre los grupos.

## 5 Diseño experimental para exposición letal (ratones)

Se dividen aleatoriamente ciento veintiocho ratones en dieciséis grupos de ocho animales, un grupo no se inmuniza y no se expone (control negativo). Todos los grupos se inmunizan por medio de administración intramuscular en un régimen de dos dosis, la segunda inmunización se hace 2 semanas luego de la primera inmunización.

10 Para administración intramuscular en las patas traseras, se inmunizan los ratones no anestesiados con H5 de VLP hechos de plantas (1, 5 o 15 µg), o 15 µg del antígeno de control HA o PBS. Se mezclan todas las preparaciones de antígeno con un volumen de Alhydrogel 1% antes de inmunización (alumbre, Accurate Chemical & Scientific Corporation, Westbury, NY, US).

Durante el periodo de inmunización, se pesan los ratones una vez a la semana y se observan y supervisan para reacciones locales en el sitio de inyección.

15 Veintidós días luego de la segunda inmunización, se exponen ratones anestesiados intranasalmente (i.n.) en un laboratorio de contención BL4 (P4-Jean Mérieux-INSERM, Lyon, Francia) con  $4.09 \times 10^6$  de 50% de dosis infectiva de cultivo celular (CCID50) de virus de influenza A/Pavo/582/06 (amablemente proporcionado por el Dr. Bruno Lina, Lyon University, Lyon, Francia). Luego de exposición, se observan los ratones para síntomas de enfermedad clínica y se pesan diariamente, durante un periodo de catorce días. Los ratones con síntomas severos de infección y  
20 pérdida de peso de  $\geq 25\%$  se someten a eutanasia después de anestesia.

Recolección de sangre, lavados nasales y de pulmón y recolección de bazo

Se realiza recolección de sangre de la vena safena lateral catorce días después de la primera inmunización y catorce días después de la segunda inmunización en el animal no anestesiado. Se recolecta suero mediante centrifugación a 8000 g durante 10 min.

25 Cuatro semanas después de la segunda inmunización, los ratones se anestesian con gas de CO<sub>2</sub> e inmediatamente luego de terminación, se utiliza punción cardiaca para recolectar sangre.

Después de hemorragia final, se inserta un catéter en la tráquea hacia los pulmones y se pone un ml de solución de cóctel de inhibidor de proteasa PBS fría en una jeringa fría unida al catéter y se inyecta en los pulmones y luego se retira para análisis. Este procedimiento de lavado se realiza dos veces. Los lavados de pulmón se centrifugan para  
30 retirar los residuos celulares. Para lavados nasales, se inserta un catéter hacia la zona de área nasal con 0.5 ml de la solución de cóctel de inhibidor de proteasa PBS que se empuja a través del catéter en los pasajes nasales y luego se recolecta. Los lavados nasales se centrifugan para retirar los residuos celulares. Se realiza recolección de bazo en ratones inmunizados intramuscularmente con 5 µg de vacuna hecha de vegetales con adyuvante o 5 µg de antígeno H5 recombinante con adyuvante así como también en ratones inmunizados intranasalmente con 1 µg de  
35 vacuna hecha de vegetales con adyuvante o 1 µg del antígeno H5 recombinante con adyuvante. Los bazos recolectados se ponen en RPMI complementado con gentamicina y se tritura en un tubo cónico de 50 ml con tapón de una jeringa de 10 ml. Los bazos triturado se enjuagan 2 veces y se centrifugan a 2000 rpm durante 5 min y se resuspenden en regulador de lisado ACK durante 5 min a temperatura ambiente. Los esplenocitos se lavan en PBS-gentamicina, se resuspenden en 5% de RPMI y se contabilizan. Se utilizan esplenocitos para ensayo de  
40 proliferación.

Títulos de anticuerpo

Los títulos de anticuerpo de anti-influenza de suero se miden 14 días después de la primera inmunización así como también 14 y 28 días después de la segunda inmunización. Los títulos se determinan mediante ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima (ELISA) utilizando el virus inactivo A/Indonesia/5/05 como el antígeno de  
45 recubrimiento. Los títulos de criterios iniciales se expresan como el valor recíproco de mayor dilución que alcanza un valor OD de por lo menos 0.1 mayor que las muestras de control negativo.

Para la determinación de la clase de anticuerpo (IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3, IgM), los títulos se evalúan mediante ELISA como se describió previamente.

Títulos de Inhibición de hemaglutinación (HI)

Los títulos de inhibición de hemaglutinación (HI) de suero se miden 14 y 28 días después de la segunda inmunización como se describió previamente (WHO 2002; Kendal 1982). Las preparaciones de virus inactiva de las cepas A/Indonesia/5/05 o A/Vietnam/1203/2004 se utilizan para probar muestras de suero de ratones para actividad HI. El suero se pretrata con la enzima II que destruye el receptor (RDE II) (Denka Seiken Co., Tokyo, Japón) preparada de *Vibrio cholerae* (Kendal 1982). Los ensayos HI se realizan con 0.5% de glóbulos rojos de pavo. Se definen los títulos de anticuerpo HI como el recíproco de la dilución mayor provocando inhibición completa de aglutinación.

## Ejemplos

### **Ejemplo 1: Expresión transitoria de hemaglutinina de virus de influenza A/Indonesia/5/05 (H5N1) mediante agroinfiltración en plantas *N. benthamiana***

La capacidad del sistema de expresión transitoria para producir hemaglutinina de influenza se determina a través de la expresión del subtipo H5 de la cepa A/Indonesia/5/05 (H5N1). Como se presenta en la Figura 11, la secuencia codificante de gen de hemaglutinina (Número de Acceso GenBank EF541394), con su péptido de señal natural y dominio de transmembrana, primero se ensambla en el casete de expresión de plastocianina - promotor, 5'UTR, 3'UTR y las secuencias de terminación de transcripción del gen plastocianina de alfalfa y el casete ensamblado (660) se inserta en un plásmido binario pCambia. Este plásmido luego se transfecta en *Agrobacterium* (AGL1), creando la cepa recombinante AGL1/660, que se utiliza para expresión transitoria.

Las plantas de *N. benthamiana* se infiltran con AGL1/660, y las hojas se cosechan después de un periodo de incubación de seis días. Para determinar si H5 se acumula en las hojas agroinfiltradas, primero se extraen las proteínas de tejido de hoja infiltrado y se analizan mediante transferencia Western utilizando anticuerpos policlonales anti-H5 (Vietnam). Se detecta en los extractos una única banda de aproximadamente 72 kDa (Figura 12), que corresponde al tamaño de la forma HA0 no dividida de hemaglutinina de influenza. El H5 comercial se utiliza como control positivo.

Se detecta (A/Vietnam/1203/2004; Protein Science Corp., Meriden, CT, USA) como dos bandas de aproximadamente 48 y 28 kDa, que corresponden al peso molecular de los fragmentos HA1 y HA2, respectivamente. Esto demuestra que la expresión de H5 en hojas infiltradas resulta en la acumulación del producto de traducción no dividido.

La formación de los trómeros HA activos se demuestra por la capacidad de los extractos crudos de proteína de hojas transformadas con AGL1/660 para aglutinar los glóbulos rojos de pavo (datos no mostrados).

### **Ejemplo 2: Caracterización de estructuras que contienen hemaglutinina en extractos de plantas utilizando cromatografía de exclusión de tamaño**

La hemaglutinina de influenza producida por el ensamble de planta en estructura de alto peso molecular se evalúa mediante filtración de gel. Los extractos crudos de proteína de plantas infiltradas AGL1/660 (1.5 mL) se fraccionan mediante cromatografía de exclusión de tamaño (SEC) en columnas Sephacryl™ S-500 HR (GE Healthcare Bio-Science Corp., Piscataway, NJ, USA). Se evalúan fracciones de elución para su contenido de proteína total y para abundancia de HA utilizando inmunodetección con anticuerpos antiHA (Figura 13A). Como se muestra en la Figura 13A, el pico de elución de Blue Dextran (2 MDa) temprano en la fracción 10 mientras que el volumen de las proteínas anfitrionas se retiene en la columna y se eluye entre fracciones 14 y 22. Cuando las proteínas de 200 µL de cada fracción de elución SEC se concentran (5 veces) mediante precipitación de acetona y se analizan mediante transferencia Western (Figura 15A, H5), la hemaglutinina (H5) se encuentra principalmente en fracciones 9 a 14 (Figura 13B). Sin limitarse por la teoría, esto sugiere que la proteína HA se ha ensamblado en una superestructura grande o que se ha unido a una estructura de alto peso molecular.

Un segundo casete de expresión se ensambla con la secuencia de ácidos nucleicos H1 de A/Nueva Caledonia/20/99 (H1N1) (SEQ ID NO: 33; Figura 16; Número de Acceso GenBank AY289929) para producir la construcción 540 (Figura 11). Se diseña una construcción de gen quimérico con el propósito de producir una forma trimérica soluble de H1 en la que el péptido de señal se origina de un gen de isomerasa de disulfuro de proteína de planta, y el dominio de transmembrana de H1 se reemplaza por la variante pII de la cremallera de leucina GCN4, se muestra que un péptido se autoensambla en trómeros (Harbury et al., 1993) (casete 544, Figura 11). Aunque carece del dominio de transmembrana, esta forma trimérica soluble es capaz de hemaglutinación (datos no mostrados).

Los extractos de proteína de plantas infiltradas con AGL1/540 o AGL1/544 se fraccionan mediante SEC y se examina la presencia de fracciones eluidas H1 mediante transferencia Western con anticuerpos antiinfluenza A (Fitzgerald, Concord, MA, USA). En hojas infiltradas AGL1/540, el H1 se acumula principalmente como una estructura de muy alto peso molecular, cuando el pico se sesga hacia estructuras de tamaño pequeño (H1; Figura 13C). En hojas infiltradas AGL1/544, la forma soluble de H1 se acumula con trómeros aislados como se muestra por



el patrón de elución de filtración de gel que es paralelo al perfil de elución de proteína anfitriona (H1 soluble; Figura 13D). En comparación, rosetas H1 (Protein Science Corp., Meriden, CT, USA), que consisten de micelas de 5-6 trímeros de hemaglutinina eluidas en fracciones 12 a 16 (Figura 13E), antes de la forma soluble de H1 (Figura 13D) y después que el H1 natural (Figura 13C).

- 5 Para evaluar el impacto de la coexpresión M1 en ensamble de hemaglutinina en la estructura, un casete de expresión M1 se ensambla utilizando el ácido nucleico que corresponde a la secuencia codificante del M1 A/PR/8/34 (H1N1) (SEQ ID NO: 35; Figura 18; Número de Acceso GenBank NC\_002016). La construcción se denomina 750 y se presenta en la Figura 11. Para la coexpresión de M1 y H1, las suspensiones de AGL1/540 y AGL1/750 se mezclan a igual volumen antes de infiltración. La coinfiltración de múltiples suspensiones de *Agrobacterium* permite la coexpresión de múltiples transgenes. El análisis de transferencia Western de fracciones de elución SEC que se muestra que la coexpresión de M1 no modifica el perfil de elución de las estructuras H1, pero resulta en una reducción en la acumulación H1 en hojas agroinfiltradas (véase Figura 13F).

### **Ejemplo 3: Aislamiento de estructuras H5 mediante centrifugación en gradiente de sacarosa y observación bajo microscopio de electrones**

- 15 La observación de la estructura de hemaglutinina bajo microscopio de electrones (EM) requiere una concentración mayor y nivel de pureza que aquel obtenido de SEC en extractos de hoja cruda de proteína. Para permitir la observación de EM de estructuras H5, primero se concentra un extracto crudo de hoja de proteína mediante precipitación PEG (20% de PEG) seguido por resuspensión en volúmenes 1/10 de regulador de extracción. El extracto de proteína concentrado se fracciona mediante filtración de gel S-500 HR y se agrupan las fracciones de elución 9, 10, y 11 (que corresponden al volumen de vacío de la columna) y se aíslan adicionalmente de proteínas anfitrionas mediante ultracentrifugación en 20-60% de gradiente de densidad de sacarosa. El gradiente de sacarosa se fracciona partiendo de la parte superior y las fracciones se dializan y concentran en una unidad de filtro centrífuga 100 NMWL antes de análisis. Como se muestra en transferencias western y el resultado de hemaglutinación (Figura 14A), el H5 se acumula principalmente en fracciones 16 a 19 que contienen ≈60% de sacarosa, mientras que la mayor parte de proteínas anfitrionas alcanza su pico en la fracción 13. Se agrupan las fracciones 17, 18, y 19, se tiñen negativamente, y se observa bajo EM. El examen de la muestra demuestra claramente la presencia de estructuras esféricas añadidas que varían en tamaño de 80 a 300 nm que coinciden con las características morfológicas de los VLP de influenza (Figura 14B).

### **Ejemplo 4: Purificación de los VLP de influenza H5 de biomasa de planta**

- 30 Además de un contenido abundante de proteínas solubles, los extractos de hoja de planta contienen una mezcla compleja de azúcares solubles, ácidos nucleicos y lípidos. El extracto crudo se clarifica mediante un cambio de pH y el tratamiento por calor seguido por filtración en tierra diatomácea (véase la sección de Materiales y métodos para una descripción detallada del método de clarificación). La Figura 15A (columnas 1-4) presenta un gel de tinción Coomassie Blue que compara el contenido de proteína en las diversas etapas de clarificación. Una comparación del contenido de proteína en el extracto crudo (columna 1) y en el extracto clarificado (columna 4) revela la capacidad de las etapas de clarificación para reducir el contenido global de proteína y retirar la mayor parte del contaminante principal visible a 50 kDa en extractos de hoja cruda. La banda de 50 kDa corresponde a la subunidad grande RuBisCO, que representa hasta 30% del total de proteínas de hoja.

- 40 Se purifican los VLP de influenza H5 de estos extractos clarificados mediante cromatografía de afinidad en una columna de fetuina. Una comparación de la carga fracción (Figura 15A, columna 5) con el flujo interno (Figura 15A, columna 6) y los VLP eluidos (Figura 15A, columna 7) demuestra la especificidad de la columna de afinidad de fetuina para los VLP de influenza H5 en extracto clarificado de planta.

- 45 El procedimiento de purificación resulta en alrededor de 75% de pureza en H5, como se determina mediante densitometría en el gel SDS-PAGE de tinción con Coomassie Blue (Figura 15A, columna 7). Con el propósito de evaluar la calidad estructural del producto purificado, el H5 purificado se concentra en la unidad de filtro centrífuga 100 NMWL (límite de peso molecular nominal) y se examina bajo EM después de tinción negativa. La Figura 15B muestra un sector representativo que muestra la presencia de los VLP profusos. Un examen más cerrado confirma la presencia de picos en los VLP (Figura 15C).

- 50 Como se muestra en la Figura 15D, se purifican los VLP H5 a aproximadamente 89% de pureza de extracto de hoja clarificado mediante cromatografía de afinidad en una columna de fetuina, con base en la densidad de la hemaglutinina H5 de tinción Coomassie Blue y en la determinación del contenido total de proteína mediante el método BCA.

La bioactividad de los VLP HA se confirma por su capacidad de aglutinar los glóbulos rojos de pavo (datos no mostrados).

La Figura 15D también confirma la identidad del VLP purificado visualizado mediante transferencia western e inmunodetección con un suero policlonal anti-H5 (A/Vietnam/1203/2004). Una única banda de aproximadamente 72 kDa se detecta y corresponde en tamaño a la forma HA0 no dividida de hemaglutinina de influenza. La Figura 15c muestra la estructura de VLP de la vacuna con picos de hemaglutinina que cubren su estructura.

- 5 Los VLP se formulan para inmunización de ratones al filtrar a través de un filtro 0.22 mm; se mide el contenido de endotoxina utilizando el kit de detección de endotoxina LAL (Limulus Amebocyte Lysate) (Lonza, Walkersville, MS, USA). La vacuna filtrada contiene  $105.8 \pm 11.6\%$  de EU/ml (unidades de endotoxina/ml).

#### **Ejemplo 5: Localización de los VLP de influenza en plantas**

- 10 Para localizar los VLP y confirmar su origen de membrana de plasma, las secciones de hoja delgada de plantas que producen H5 se fijan y examinan bajo TEM después de tinción positiva. La observación de las células de hoja indica la presencia de los VLP en las cavidades extracelulares formadas por la invaginación de la membrana de plasma (Figura 19). La forma y posición de los VLP observados demuestra que a pesar de una posición de su membrana de plasma en la pared celular, las células de plantas tienen la plasticidad requerida para producir los VLP de influenza derivados de su membrana de plasma y acumularlas en el espacio apoplástico.

#### **Ejemplo 6: Análisis de lípido de membrana de plasma**

- 15 La confirmación adicional de la composición y origen de los VLP de influenza de planta se obtiene de análisis del contenido de lípido. Los lípidos se extraen de los VLP purificados y su composición se compara con aquella de la membrana de plasma de tabaco altamente purificada mediante cromatografía de capa delgada de alto desempeño (HP-TLC). Los patrones de migración de los lípidos polares y neutros de los VLP y las membranas de plasma de control son semejantes. Los VLP purificados contienen los fosfolípidos principales (fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina) y esfingolípidos (glucosil-ceramida) encontrados en la membrana de plasma (Figura 27A), y contienen esteroides libres como los lípidos neutros únicos (Figura 27B). Sin embargo, la inmunodetección de un marcador de proteína de membrana de plasma (ATPasa) en extractos VLP purificados que muestran que la bicapa de lípido de VLP no contiene una de las proteínas principales asociadas con membranas de plasma de planta, sugiere que las proteínas anfitrionas se han excluido de las membranas durante el proceso de los VLP que brotan de las células de planta (Figura 27C).

#### **Ejemplo 7: Inmunogenicidad de los VLP H5 y el efecto de la ruta de administración**

- 30 A los ratones se les administra los VLP H5 hechos de plantas mediante inyección intramuscular, o intranasal (inhalación). Se inyectan 0.1 a 12 ug de los VLP intramuscularmente en ratones, con alumbre como un adyuvante, de acuerdo con los métodos descritos. Se observa que los títulos de anticuerpo pico con la menor cantidad de antígeno, en una magnitud es semejante a aquel de 5 ug de hemaglutinina soluble recombinante (H5) (Figura 20A).

Se administran 0.1 a 1 ug de los VLP H5 hechos de plantas intranasalmente con un adyuvante de quitosano proporcionado por una respuesta de anticuerpo mayor que aquella del H5 soluble recombinante con un adyuvante de alumbre (Figura 20B).

- 35 Para ambas rutas de administración, y sobre un rango de cantidades de antígeno, se observa seroconversión en todos los ratones probados. El antígeno soluble H5 recombinante confiere los título HI bajos ( $<1/40$ ) o insignificantes ( $1<1/10$  para el H5 recombinante sin adyuvante).

#### **Ejemplo 8: VLP H5 de títulos de anticuerpo de inhibición de hemaglutinación (HAI)**

- 40 La Figura 21 A, B ilustra la respuesta de anticuerpo de inhibición de hemaglutinación (HAI) 14 días luego de un "refuerzo" con VLP H5 hecho de planta, o el H5 soluble recombinante. La dosis menor de antígeno (0.1 ug) cuando se administra intramuscularmente produce una respuesta superior HAI a una administración 10 veces mayor (5 ug) del H5 soluble recombinante. El aumento de dosis de VLP H5 proporciona un aumento modesto en HAI sobre la dosis menor.

- 45 Se aumenta significativamente la respuesta HAI luego de administración intranasal en ratones a los que se le administra los VLP H5 hechos de plantas (1.0 o 0.1 ug) en comparación con aquellos a los que se les administra 1 ug del H5 soluble recombinante, que es semejante al control negativo. Todos los ratones inmunizados mediante inyección intramuscular de los VLP H5 (de 0.1 a 12 ug) tienen títulos HAI mayores que los ratones inmunizados con el antígeno de control H5 (Figura 21A). Para la misma dosis de 5 ug, los VLP inducen títulos HAI 20 veces mayores que la dosis correspondiente del antígeno de control H5. Los VLP también inducen títulos HAI significativamente mayores que el antígeno de control HA cuando se suministra a través de la ruta intranasal (Figura 21b). Para una dosis dada los niveles VLP H5 de títulos HAI son menores en ratones inmunizados intranasalmente que para los

ratones inmunizados intramuscularmente; 1 µg de VLP induce un título HAI medio de 210 cuando se administra i.m. mientras que la misma dosis induce un título HAI medio de 34 administrado i.n.

5 Cuando se administra intramuscularmente, todas las dosis de los VLP inducen altos niveles de anticuerpos capaces de unir los virus inactivos completos homólogos (Figuras 20a y 24). No se encuentra diferencia significativa entre la vacuna VLP hecha de vegetales y el antígeno de control H5 (excepto 12 mg del grupo VLP 14 días después de refuerzo), cuando ambas preparaciones de antígeno inducen títulos de anticuerpo de alta unión contra la cepa homóloga. Sin embargo, cuando se administran intranasalmente, los VLP inducen títulos de anticuerpo de unión mayor de lo que lo hace el antígeno de control H5 (Figura 20b). Cuando se mezcla con quitosano, la inmunización con un microgramo de VLP induce un título Ab medio recíproco de 5 500, 8.6 veces mayor que el nivel encontrado en ratones inmunizados con 1 µg del antígeno de control HA (título Ab medio recíproco de 920).

10 Luego se investiga la inmunogenicidad de los VLP de influenza derivados de planta a través de un estudio de dosis variada en ratones. Se inmunizan intramuscularmente grupos de cinco ratones Balb/c dos veces en intervalos de 3 semanas con 0.1 µg a 12 µg de los VLP que contienen HA de influenza A/Indonesia/5/05 (H5N1) formulado en alumbre (relación 1:1). Los títulos de inhibición de hemaglutinación (HI o HAI), utilizando antígeno completo de virus inactivo (A/Indonesia/5/05 (H5N1)), se miden en suero recolectado 14 días después de la segunda inmunización. La inmunización con dosis de VLP es tan baja como 0.1 µg lo que induce a la producción de anticuerpos que inhibe los virus de eritrocitos de aglutinación en altas diluciones (Figura 21 A). La inmunización paralela de ratones con 5 µg del antígeno H5 de control con adyuvante de alumbre no VLP (también de A/Indonesia/5/05) induce una respuesta HI que es 2-3 registro menor que la lograda con dosis VLP menores.

20 Para ambas rutas de administración, y sobre un rango de cantidades de antígeno, la repuesta HAI es superior en ratones a los que se les administra los VLP.

#### **Ejemplo 9: Efecto de adyuvante en inmunogenicidad de los VLP H5**

25 Los VLP H5 hechos de plantas tienen un origen de membrana de plasma (Figura 19, Ejemplo 5). Sin limitarse por la teoría, los virus envueltos o los VLP de envoltura del virus de manera general adquieren su envoltura de la membrana que brota. Las membranas de plasma de planta tienen un complemento de fitoesterol que es raro, si se encuentra en células de animales, y se ha demostrado que varios de estos esteroides exhiben efectos inmunoestimuladores.

30 Los VLP H5 hechos de plantas se administran intramuscularmente (Figura 22A) o intranasalmente (Figura 22B) a ratones en la presencia o ausencia de un adyuvante, y se determina el HAI (la respuesta de anticuerpo de inhibición de hemaglutinación). Los VLP, en la presencia o ausencia de adición de adyuvante (alumbre o quitosano, como en estos ejemplos) en cualquier sistema de administración demostró una inhibición de hemaglutinina HAI significativamente mayor que el H5 soluble recombinante. Incluso en la ausencia de adición de adyuvante (es decir alumbre o quitosano), los VLP H5 hechos de plantas demuestran un HAI significativo, indicador de una respuesta inmunitaria sistémica a la administración del antígeno.

35 El alumbre mejora el nivel promedio de títulos HAI mediante un factor de 5 para administración intramuscular de VLP (Figura 22a) y mediante un factor de 3.7 para el antígeno de control H5. Cuando se administra i.m., 5 mg de los VLP inducen un título HAI medio 12 veces mayor que la dosis correspondiente del antígeno de control H5. El quitosano no refuerza el nivel HAI medio del antígeno de control H5 (Figura 22b) mientras se aumenta el nivel HAI medio de ratones inmunizados con 1 µg de VLP administrado i.n. por un factor de 5 veces.

#### **Ejemplo 10: Isotipos de anticuerpo**

A los ratones se les administra VLP H5 hechos de plantas o H5 soluble recombinante en la presencia o ausencia de alumbre como un agregado adyuvante que demuestra una variedad de isotipos de inmunoglobulina (Figura 23A).

45 En la presencia de un agregado adyuvante, los perfiles de isotipo de anticuerpo de los VLP y el H5 recombinante son semejantes, con IgG1 que es el isotipo dominante. Cuando los VLP o el H5 recombinante se administran sin un agregado adyuvante, se reduce la respuesta IgG1, pero permanece la respuesta de isotipo dominante a los VLP, con IgM, IgG2a, IgG2B e IgG3 manteniendo los títulos similares en la presencia de adyuvante. Los títulos IgG1, IgG2a, y IgG2b se reducen marcadamente cuando el H5 recombinante se administra sin adición de adyuvante (Figura 23A).

50 Por lo tanto, estos datos demuestran que los VLP hechos de plantas no requieren adición de adyuvante para provocar respuesta de anticuerpo en un anfitrión.

Los títulos de anticuerpo contra cepas de virus inactivo completo de influenza (A/Indonesia/5/05; A/Vietnam/1203/04) en ratones se les administra los VLP hechos de plantas o HA soluble recombinante intramuscularmente en la

presencia de un antígeno agregado como se ilustra en la Figura 23B. No se observa diferencia significativa en los títulos de anticuerpo para estas cepas de influenza en ratones a los que se les administra 1 ug o 5 ug de los VLP o 5 ug de HA soluble.

#### **Ejemplo 11: Reactividad cruzada de anticuerpos de suero inducidos por la vacuna VLP H5**

- 5 Se evalúa la reactividad cruzada de los anticuerpos de suero inducidos por VLP H5 contra el virus de la influenza inactivo completo de diferentes cepas. Todas las dosis VLP (de 0.1 a 12 µg) así como también 5 µg del antígeno de control HA induce títulos de anticuerpo de alta unión contra una cepa subtipo 1 (A/Vietnam/1194/04), la cepa homóloga A/Indonesia/5/05 del subtipo 2.1, y una cepa subtipo 2.2 A/pavo/Turquía/1/05 (Figura 25A).

10 Sin embargo, solo el título HAI induce VLP hecho de planta contra la cepa A/pavo/Turquía/1/05 (Figura 25b). Los títulos HAI para A/Indonesia/5/05 son altos para los VLP.

#### **Ejemplo 12: Protección cruzada conferida mediante inmunización con VLP H5 hecho de planta**

Posteriormente se exponen ratones a los que previamente se les ha administrado un régimen de dos dosis de los VLP H5 A/Indonesia/5/05 como se describe, intranasalmente con virus infeccioso de influenza A/Pavo/582/06 (H5N1) ("H5N1 de Pavo"), y se observan. La dosis que se administra, por animal, es 10 LD<sub>50</sub> (4.09 X 10<sup>5</sup> CCID<sub>50</sub>).

- 15 7 días postexposición, solo 37.5% de los ratones a los que se les administra el control de vacuna PBS han sobrevivido expuestos a H5N1 de Pavo (Figura 26A). 100% de los animales a los que se les administra el antígeno de control (HA) o 1, 5 o 15 µg de los VLP H5 de Indonesia sobreviven hasta 17 días postexposición, cuando se termina el experimento.

20 También se supervisa la masa corporal de los ratones durante el experimento, y se grafica la masa promedio de los ratones que sobreviven (Figura 26B). A los ratones que se les administra 1, 5 o 15 ug de los VLP H5 Indonesia antes de exposición no pierden ninguna masa apreciable durante el curso del experimento, y en particular a los ratones que se les administra 5 ug de los VLP parecen tener ganancia significativa de masa. Los ratones de control negativo (sin exposición a H5N1 de Pavo) no ganan ni pierden apreciablemente masa corporal. Los ratones de control positivo (no se les administra los VLP, pero se exponen con H5N1 de Pavo) exhiben pérdida significativa de masa corporal durante el curso del experimento, y tres de estos ratones murieron. La masa corporal es un promedio de todos los ratones en la cohorte, el retiro de los ratones "enfermos" (los 3 que murieron) puede conducir a un aumento general evidente en la masa, sin embargo observe que la masa corporal promedio de la cohorte de control positivo está aun significativamente por debajo de aquel control negativo o las cohortes tratadas con VLP.

30 Estos datos, por lo tanto, demuestran que los VLP de influenza hechos de plantas que comprenden la proteína vírica hemaglutinina de H5 inducen una respuesta inmunitaria específica para cepas de influenza patogénicas, y que las partículas semejantes a virus pueden brotar de una planta membrana de plasma.

Por lo tanto, estos datos demuestran que las plantas son capaces de producir partículas de influenza semejantes a virus, y también por primera vez, que las partículas semejantes a virus pueden brotar de una membrana de plasma de planta.

- 35 Adicionalmente, utilizando tecnología transitoria de expresión actual, se produce un primer lote de antígeno solo 16 días después que se obtiene la secuencia HA objetivo. Bajo los rendimientos actuales para los VLP H5, y en una dosis de ejemplo de 5 µg por sujeto, cada kg de hoja infiltrada puede producir 20,000 dosis de vacuna. Esta única combinación de simplicidad de plataforma, capacidad de reacción e inmunogenicidad potente proporciona, entre otras realizaciones, una nueva respuesta de método en el contexto de una pandemia.

#### **Ejemplo 13: Caracterización de estructuras que contienen hemaglutinina (H1, H2, H3, H5, H6 y H9) en extractos de plantas utilizando cromatografía de exclusión de tamaño**

45 La hemaglutinina de influenza producida por ensamble de planta de diferentes subtipos en estructuras de alto peso molecular se evalúa mediante filtración de gel. Los extractos crudos o concentrados de plantas infiltradas con proteína de AGL1/660-, AGL1/540-, AGL1/783-, AGL1/780-, AGL1/785- y AGL1/790 (1.5 mL) se fraccionan mediante cromatografía de exclusión de tamaño (SEC) en columnas Sephacryl™ S-500 HR (GE Healthcare Bio-Science Corp., Piscataway, NJ, USA). Como se muestra en la Figura 46, el pico de elución Blue Dextran (2 MDa) temprano en la fracción 10. Cuando se concentran las proteínas de 200 µL de cada fracción de elución SEC (5 veces) mediante precipitación con acetona y se analizan mediante transferencia Western (Figura 46), se encuentran principalmente hemaglutininas en las fracciones 7 a 14, lo que indica la incorporación de HA en los VLP. Sin limitarse por la teoría, esto sugiere que la proteína HA se ha ensamblado en una superestructura grande o que se ha unido a una estructura de alto peso molecular, independiente del subtipo producido. En la Figura 46, se produce H1 de la cepa A/Nueva Caledonia/20/1999 y H3 de la cepa A/Brisbane/10/2007 utilizando casetes que contienen el

péptido de señal PDI. Los resultados obtenidos indican que el reemplazo del péptido de señal natural por aquel de PDI de alfalfa no afecta la capacidad de HA de ensamble en partículas.

**Ejemplo 14: Expresión transitoria de virus de hemaglutinina de estación de influenza mediante agroinfiltración en plantas N. benthamiana utilizando secuencia de nucleótidos del tipo natural**

5 La capacidad del sistema de expresión transitorio para producir hemaglutininas de influenza de estación se determina a través de la expresión del subtipo H1 de las cepas A/Brisbane/59/2007 (H1N1) (el plásmido #774), A/Nueva Caledonia/ 20/1999 (H1N1) (el plásmido #540) y A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1) (el plásmido #775), del subtipo H3 de las cepas A/Brisbane/10/2007 (el plásmido #776) y A/Wisconsin/67/2005 (el plásmido #777) y del tipo B de las cepas B/Malasia/2506/2004 (linaje Victoria) (el plásmido #778) y B/Florida/4/2006 (linaje Yamagata) (el plásmido #779). Las secuencias de codificación de gen de hemaglutinina primero se ensamblan en el casete de expresión de plastocianina, promotor, 5'UTR, 3'UTR y las secuencias de terminación de transcripción del gen plastocianina de alfalfa y los casetes ensamblados se insertan en un plásmido binario pCambia. Los plásmidos luego se transfectan en *Agrobacterium* (AGL1), que produce cepas de *Agrobacterium* AGL1/774, AGL1/540, AGL1/775, AGL1/776, AGL1/777, AGL1/778 y AGL1/779, respectivamente:

15 Las plantas de *N. benthamiana* se infiltran con AGL1/774, AGL1/540, AGL1/775, AGL1/776, AGL1/777, AGL1/778 y AGL1/779 y las hojas se cosechan después de un periodo de incubación de seis días. Para determinar si H1 se acumula en las hojas agroinfiltradas, primero se extrae la proteína del tejido de hoja infiltrado y se analiza mediante transferencia Western utilizando anticuerpos antiHA (véase Tabla 6 para los anticuerpos y condiciones utilizadas para la detección de cada subtipo HA). Para el HA de las cepas H1, se detecta una única banda de aproximadamente 72 kDa en los extractos (Figura 47), que corresponde al tamaño de la forma HA0 no dividida de hemaglutinina de influenza. Esto demuestra que la expresión de diferentes cepas epidémicas anuales de hemaglutinina en hojas infiltradas resulta en la acumulación del producto de traducción no dividido. Utilizando estas estrategias de expresión e inmunodetección, la expresión de influenza HA del subtipo H3 o tipo B no se detecta en los extractos crudos de proteína (Figura 47).

**Ejemplo 15: Expresión transitoria de virus pandémico potencial de hemaglutinina de influenza mediante agroinfiltración en plantas N. benthamiana utilizando la secuencia de nucleótidos tipo natural**

La capacidad del sistema de expresión transitorio para producir hemaglutinina de influenza potencial se determina a través de la expresión del subtipo H5 de cepas A/Anhui/1/2005 (H5N1) (el plásmido #781), A/Indonesia/5/2005 (H5N1) (el plásmido #660) y A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) (el plásmido #782), el subtipo H2 de la cepa A/Singapur/1/1957 (H2N2) (el plásmido #780), el H6 de la cepa A/Trullo/Hong Kong/W312/1997 (H6N1) (el plásmido #783), el H7 para la cepa A/Equipe/Praga/1956 (H7N7) (el plásmido #784) y finalmente H9 de la cepa A/Hong Kong/1073/1999 (H9N2) (el plásmido #785). Las secuencias que codifican el gen de hemaglutinina primero se ensamblan en el casete de expresión de plastocianina, promotor, 5'UTR, 3'UTR y las secuencias de terminación de transcripción del gen plastocianina de alfalfa y los casetes ensamblados se insertan dentro de un plásmido binario pCambia. Los plásmidos luego se transfieren en *Agrobacterium* (AGL1), que producen cepas de *Agrobacterium* AGL1/781, AGL1/660, AGL1/782, AGL1/780, AGL1/783, AGL1/784 y AGL1/785.

Se infiltran plantas de *N. benthamiana* con AGL1/781, AGL1/660, AGL1/782, AGL1/780, AGL1/784 y AGL1/785, y las hojas se cosechan después de un periodo de incubación de seis días. Para determinar si H5 se acumula en las hojas agroinfiltradas, primero se extrae la proteína del tejido de hoja infiltrado y se analizan mediante transferencia Western utilizando anticuerpos antiHA apropiados (véase Tabla 6 para los anticuerpos y condiciones utilizadas para la detección de cada subtipo HA). Una única banda de aproximadamente 72 kDa se detecta en los extractos de plantas transformadas con construcciones de expresión H5 y H2 (Figura 48a y b), que corresponde al tamaño de la forma HA0 no dividida de hemaglutinina de influenza. Esto demuestra que la expresión de diferentes cepas de hemaglutinina pandémicas potenciales en hojas infiltradas resulta en la acumulación del producto de traducción no dividido. Utilizando estas estrategias de expresión e inmunodetección, la expresión de influenza HA de H7 y H9 no se detecta en los extractos crudos de proteína (Figura 48b).

**Ejemplo 16: Expresión transitoria de H5 mediante agroinfiltración en plantas de N. tabacum**

La capacidad del sistema de expresión transitorio para producir hemaglutinina de influenza en hojas de *Nicotiana tabacum* se analiza a través de la expresión del subtipo H5 de la cepa A/Indonesia/5/2005 (H5N1) (el plásmido #660). Las secuencias que codifican el gen de hemaglutinina primero se ensamblan en el casete de expresión de plastocianina, promotor, 5'UTR, 3'UTR y las secuencias de terminación de transcripción del gen plastocianina de alfalfa y los casetes ensamblados se insertan en un plásmido binario pCambia. Los plásmidos luego se transfectan en *Agrobacterium* (AGL1), produciendo la cepa AGL1/660.

Se infiltran las plantas *N. tabacum* con AGL1/660 y las hojas se cosechan después de un periodo de incubación de seis días. Para determinar si se acumula H5 en las hojas agroinfiltradas, primero se extraen las proteínas de hojas

infiltradas y se analizan mediante transferencia Western utilizando anticuerpos anti-H5. Una única banda de aproximadamente 72 kDa se detecta en los extractos (Figura 49), que corresponde al tamaño de la forma HA0 no dividida de hemaglutinina de influenza. Esto demuestra que la expresión de hemaglutinina en hojas de *N. tabacum* infiltradas resulta en la acumulación del precursor HA0 no dividido.

**5 Ejemplo 17: Inmunogenicidad de vacuna VLP H5N1 hecha de vegetales de A/Indonesia/5/05 (H5N1) en hurones**

Se realiza un estudio de escala de dosis en hurones para evaluar la inmunogenicidad de los VLP derivados de planta. La reactividad cruzada in vitro de anticuerpo de suero inducida por la vacuna VLP H5 en 3 dosis (1, 5 y 15 ug) se evalúa mediante inhibición de hemaglutinación de tres de otras cepas H5N1 - A/pavo/Turquía/1/05 (subtipo 2.2), A/Vietnam/1194/04 (subtipo 1) y A/Anhui/5/05 (todos los virus inactivos, completos), utilizando suero tomado 14 días después de la primera dosis de vacuna (Figura 50A), y 14 días después de la segunda dosis (Figura 50 B). Para todas las 3 dosis de concentración, se observa reactividad cruzada.

**Ejemplo 18: Análisis de los resultados de inmunogenicidad de acuerdo con los criterios CHMP.**

El Comité de EMEA para Productos Medicinales para Uso Humano (CHMP) (<http://www.emea.europa.eu/htms/general/contacts/CHMP/CHMP.html>) establece tres criterios (aplicados a la segunda dosis) para la eficacia de la vacuna: 1 - Número de seroconversión o aumento significativo en títulos HI (4 veces) >40%; 2 - Aumento de la media geométrica de por lo menos 2.5; 3 – la proporción de sujetos que alcanzan un título HI de 1/40 debe ser por lo menos 70%. El análisis de estos criterios en el modelo de hurón mostrado en las Tablas 8-11. (\*) es indicador del cumplimiento o exceso de los criterios CHMP. Se muestra un resumen de análisis de inmunogenicidad cruzada en relación con los criterios CHMP para licenciamiento en la Tabla 12.

Los animales se evalúan para determinar el peso corporal, temperatura y condición general. No se registran signos de enfermedad o incomodidad durante el estudio. El peso corporal y temperatura está dentro de rangos normales durante el estudio. La vacuna es segura y es tolerada por los animales.

Tabla 8: Datos para cepa homóloga (A/Indonesia/5/05)

| Día                                  | Criterio                             | Grupo de estudio |                |      |                |        |       |                 |       |         |
|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------|----------------|------|----------------|--------|-------|-----------------|-------|---------|
|                                      |                                      | 1 µg             | 1 µg adyuvante | 5 µg | 5 µg adyuvante | 7.5 µg | 15 µg | 15 µg adyuvante | 30 µg | 5µg ITC |
| 14<br>(Después de primera inyección) | % de aumento de 4 veces de título HI | 0%               | 100%           | 0%   | 100%*          | 20%    | 20%   | 80%*            | 0%    | 0%      |
|                                      | Aumento de la media geométrica       | 0%               | 7.6            | 0%   | 15.6*          | 1.3    | 1.2   | 11.2*           | 0%    | 0%      |
|                                      | % de título HI de 1/40               | 0%               | 60%            | 0%   | 100%*          | 20%    | 0%    | 80%*            | 0%    | 0%      |
|                                      | Media de título HI                   |                  | 38             |      | 78             |        |       | 56              |       |         |

| Día                              | Criterio                             | Grupo de estudio |                |      |                |        |       |                 |       |         |
|----------------------------------|--------------------------------------|------------------|----------------|------|----------------|--------|-------|-----------------|-------|---------|
|                                  |                                      | 1 µg             | 1 µg adyuvante | 5 µg | 5 µg adyuvante | 7.5 µg | 15 µg | 15 µg adyuvante | 30 µg | 5µg ITC |
| 35 (14 días después de refuerzo) | % de aumento de 4 veces de título HI | 0%               | 100% *         | 0%   | 60% *          | 0%     | 0%    | 40% *           | 0%    | 0%      |
|                                  | Aumento de la media geométrica       | 0%               | 10.8 *         | 0%   | 5.9 *          | 0.7    | 0%    | 4*              | 0%    | 0%      |
|                                  | % de título HI de 1/40               | 0%               | 100% *         | 0%   | 100% *         | 0%     | 0%    | 100 % *         | 0%    | 0%      |
|                                  | Media de título HI                   |                  | 411            |      | 465            |        |       | 217             |       |         |

Tabla 9: Datos para cepas heterólogas (A/Vietnam/1194/04)

| Día                               | Criterio                             | Grupo de estudio |                |      |                |        |       |                 |       |          |
|-----------------------------------|--------------------------------------|------------------|----------------|------|----------------|--------|-------|-----------------|-------|----------|
|                                   |                                      | 1 µg             | 1 µg adyuvante | 5 µg | 5 µg adyuvante | 7.5 µg | 15 µg | 15 µg adyuvante | 30 µg | 5 µg ITC |
| 14 (Después de primera inyección) | % de aumento de 4 veces de título HI |                  | 0%             |      | 0%             |        |       | 0%              |       |          |
|                                   | Aumento de la media geométrica       |                  | 1.2            |      | 1.2            |        |       | 1.3             |       |          |
|                                   | % de título HI de 1/40               |                  | 0%             |      | 0%             |        |       | 0%*             |       |          |
| 35 (después de refuerzo)          | % de aumento de 4 veces de título HI |                  | 60% *          |      | 80% *          |        |       | 60% *           |       |          |
|                                   | Aumento de la media geométrica       |                  | 2.3            |      | 5.1 *          |        |       | 1.78            |       |          |
|                                   | % de título HI de 1/40               |                  | 0%             |      | 80% *          |        |       | 20 % *          |       |          |

Tabla 10: Datos para cepas heterólogas (A/pavo/Turquía/1/05)

| Día                                  | Criterio                             | Grupo de estudio |                |      |                |        |       |                 |       |          |
|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------|----------------|------|----------------|--------|-------|-----------------|-------|----------|
|                                      |                                      | 1 µg             | 1 µg adyuvante | 5 µg | 5 µg adyuvante | 7.5 µg | 15 µg | 15 µg adyuvante | 30 µg | 5 µg ITC |
| 14<br>(Después de primera inyección) | % de aumento de 4 veces de título HI |                  | 40%            |      | 20%            |        |       | 60%             |       |          |
|                                      | Aumento de la media geométrica       |                  | 1.9            |      | 1.7            |        |       | 2.8             |       |          |
|                                      | % de título HI de 1/40               |                  | 40%            |      | 20%            |        |       | 40%*            |       |          |
| 35<br>(después de refuerzo)          | % de aumento de 4 veces de título HI |                  | 80% *          |      | 100% *         |        |       | 80% *           |       |          |
|                                      | Aumento de la media geométrica       |                  | 10.6*          |      | 20.8 *         |        |       | 7.7*            |       |          |
|                                      | % de título HI de 1/40               |                  | 100%*          |      | 100% *         |        |       | 100 % *         |       |          |

Tabla 11: Datos para cepa heteróloga (A/Anhui/5/05)

| Día                                  | Criterio                             | Grupo de estudio |                |      |                |        |       |                 |       |          |
|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------|----------------|------|----------------|--------|-------|-----------------|-------|----------|
|                                      |                                      | 1 µg             | 1 µg adyuvante | 5 µg | 5 µg adyuvante | 7.5 µg | 15 µg | 15 µg adyuvante | 30 µg | 5 µg ITC |
| 14<br>(Después de primera inyección) | % de aumento de 4 veces de título HI |                  | 40%            |      | 20%            |        |       | 80%*            |       |          |
|                                      | Aumento de la media geométrica       |                  | 1.8            |      | 1.3            |        |       | 6.4*            |       |          |
|                                      | % de título HI de 1/40               |                  | 20%            |      | 20%            |        |       | 80%*            |       |          |



| Día                         | Criterio                             | Grupo de estudio |                |      |                |        |       |                 |       |          |
|-----------------------------|--------------------------------------|------------------|----------------|------|----------------|--------|-------|-----------------|-------|----------|
|                             |                                      | 1 µg             | 1 µg adyuvante | 5 µg | 5 µg adyuvante | 7.5 µg | 15 µg | 15 µg adyuvante | 30 µg | 5 µg ITC |
| 35<br>(después de refuerzo) | % de aumento de 4 veces de título HI |                  | 100% *         |      | 100% *         |        |       | 60% *           |       |          |
|                             | Aumento de la media geométrica       |                  | 11.8*          |      | 14.4 *         |        |       | 3*              |       |          |
|                             | % de título HI de 1/40               |                  | 100%*          |      | 80% *          |        |       | 80 % *          |       |          |

Tabla 12: Resumen de análisis inmunogenicidad cruzada en relación con el criterio CHMP para obtención de licencia

| Cepa                              | Criterio                             | Grupo de Estudio |                |                 |
|-----------------------------------|--------------------------------------|------------------|----------------|-----------------|
|                                   |                                      | 1 µg adyuvante   | 5 µg adyuvante | 15 µg adyuvante |
| A/pavo/Turquía/1/05 (subtipo 2.2) | % de aumento de 4 veces de título HI | 80%*             | 100%*          | 80%*            |
|                                   | Aumento de la media geométrica       | 10.6*            | 20.8*          | 7.7 *           |
|                                   | % de título HI de 1/40               | 100%*            | 100%*          | 100% *          |
| A/Anhui/1/05 (subtipo 2.3)        | % de aumento de 4 veces de título HI | 100% *           | 100%*          | 60% *           |
|                                   | Aumento de la media geométrica       | 11.8*            | 14.4 *         | 3*              |
|                                   | % de título HI de 1/40               | 100%*            | 80%*           | 80%*            |
| A/Vietnam/1194/04 (subtipo1)      | aumento de 4 veces de título HI      | 60%              | 80%*           | 60%             |
|                                   | Aumento de la media geométrica       | 2.3              | 7.1*           | 1.78            |
|                                   | % de título HI de 1/40               | 0%               | 80%*           | 20%             |

**Ejemplo 19: Selección de la secuencia de nucleótidos de hemaglutinina**

- 5 La secuencia de nucleótidos de HA se recupera de una base de datos de secuencia de influenza (véase URL: flu.lanl.gov), o la fuente del virus de influenza NCBI (Bao et al., 2008. J. Virology 82(2): 596-601; véase URL: ncbi.nlm.nih.gov/genomes/FLU/FLU.html). Para diversas secuencias de ácidos nucleicos HA, se enumeran múltiples entradas en las bases de datos (Tabla 13). alguna variación se asocia principalmente con el sistema de cultivo
- 10 (Origen - MDCK, ARN vírico/clínico aislado de huevo, desconocido); por ejemplo, el sitio de glucosilación en la posición 194 (numeración de la proteína madura) del HA está ausente cuando el virus de influenza tipo B se expresa en fluido alantoico de huevos (véase también Chen et al., 2008). Para algunas secuencias, pueden faltar los

dominios (por ejemplo, clones incompletos, artefactos de secuenciación, etc.). Los dominios y subdominios de hemaglutinina de influenza se discuten de manera general en la descripción. Los dominios o subdominios de una primera secuencia se pueden combinar con un dominio de una segunda secuencia existente por ejemplo el péptido de señal de una primera secuencia de cepa se puede combinar con el balance de la secuencia codificante de hemaglutinina de una segunda cepa que proporciona una secuencia codificante completa.

5

Tabla 13: Variación en subtipos de Influenza para secuencias de codificación HA seleccionadas

|    | Cepa                     | Referencia a base de datos de secuencia No. | Origen | SP | HA1 | HA2 | DTm | Divergencia                                                                          |
|----|--------------------------|---------------------------------------------|--------|----|-----|-----|-----|--------------------------------------------------------------------------------------|
| H1 | A/Islands Salomón/3/2006 | ISDN2315 58 (rec. Vacuna)                   | MDCK   | S  | S   | S   | S   | 189: R ou G, 220: K (MDCK) T(Huevo), 249: Q (MDCK) R(Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo) |
|    | A/Islands Salomón/3/2006 | ISDN2381 90                                 | Huevo  | S  | S   | S   | S   | 189: R ou G, 220: K (MDCK) T(Huevo), 249: Q (MDCK) R(Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo) |
|    | A/Islands Salomón/3/2006 | EU100724                                    | ?      | S  | S   | S   | S   | 189: R ou G, 220: K (MDCK) T(Huevo), 249: Q (MDCK) R(Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo) |
|    | A/Islands Salomón/3/2006 | ISDN2209 51                                 | MDCK   | S  | S   | N   | N   | 189: R ou G, 220: K (MDCK) T(Huevo), 249: Q (MDCK) R(Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo) |
|    | A/Islands Salomón/3/2006 | ISDN2209 53                                 | Huevo  | S  | S   | N   | N   | 189: R ou G, 220: K (MDCK) T(Huevo), 249: Q (MDCK) R(Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo) |
|    | A/Islands Salomón/3/2006 | EU124137                                    | Huevo  | S  | S   | N   | N   | 189: R ou G, 220: K (MDCK) T(Huevo), 249: Q (MDCK) R(Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo) |
|    | A/Islands Salomón/3/2006 | EU124135                                    | MDCK   | S  | S   | N   | N   | 189: R ou G, 220: K (MDCK) T(Huevo), 249: Q (MDCK) R(Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo) |
|    | A/Islands Salomón/3/2006 | EU124177                                    | MDCK   | S  | S   | S   | S   | 189: R ou G, 220: K (MDCK) T(Huevo), 249: Q (MDCK) R(Huevo), 550: L (MDCK) R (Huevo) |
|    |                          |                                             |        |    |     |     |     |                                                                                      |

ES 2 554 703 T3

|    | Cepa                | Referencia a base de datos de secuencia No. | Origen | SP | HA1 | HA2     | DTm | Divergencia                                  |
|----|---------------------|---------------------------------------------|--------|----|-----|---------|-----|----------------------------------------------|
| H1 | A/Brisbane/59/2007  | ISDN2826 76                                 | MDCK   | S  | S   | S       |     | 203: D/I/N D est le plus abondantchez les H1 |
|    | A/Brisbane/59/2007  | ISDN2851 01                                 | Huevo  | S  | S   | N       | N   | 203: D/I/N D est le plus abondantchez les H1 |
|    | A/Brisbane/59/2007  | ISDN2857 77                                 | Huevo  | S  | S   | S       | S   | 203: D/I/N D est le plus abondantchez les H1 |
|    | A/Brisbane/59/2007  | ISDN2826 77                                 | Huevo  | S  | S   | S       | S   | 203: D/I/N D est le plus abondantchez les H1 |
|    |                     |                                             |        |    |     |         |     |                                              |
| H3 | A/Brisbane/0/2007 1 | ISDN2748 93                                 | Huevo  | S  | S   | S       | S   | 202: V/G, 210:L/P, 215: del Ala, 242: S/I    |
|    | A/Brisbane/10/2007  | ISDN2576 48                                 | MDCK   | N  | S   | S       | S   | 202: V/G, 210:L/P, 215: del Ala, 242: S/I    |
|    | A/Brisbane/10/2007  | ISDN2567 51                                 | Huevo  | S  | S   | S       | S   | 202: V/G, 210:L/P, 215: del Ala, 242: S/I    |
|    | A/Brisbane/10/2007  | ISDN2737 57                                 | Huevo  | S  | S   | S       | S   | 202: V/G, 210:L/P, 215: del Ala, 242: S/I    |
|    | A/Brisbane/10/2007  | ISDN2737 59                                 | Huevo  | S  | S   | S       | S   | 202: V/G, 210:L/P, 215: del Ala, 242: S/I    |
|    | A/Brisbane/10/2007  | EU199248                                    | Huevo  | N  | S   | S       | S   | 202: V/G, 210:L/P, 215: del Ala, 242: S/I    |
|    | A/Brisbane/10/2007  | EU199366                                    | Huevo  | S  | S   | S       | S   | 202: V/G, 210:L/P, 215: del Ala, 242: S/I    |
|    | A/Brisbane/10/2007  | ISDN2570 43                                 | Huevo  | N  | S   | S       | S   | 202: V/G, 210:L/P, 215: del Ala, 242: S/I    |
|    | A/Brisbane/10/2007  | EU 199250                                   | MDCK   | N  | S   | S       | S   | 202: V/G, 210:L/P, 215: del Ala, 242: S/I    |
|    | A/Brisbane/10/2007  | ISDN2753 57                                 | Huevo  | N  | S   | N       | N   | 202: V/G, 210:L/P, 215: del Ala, 242: S/I    |
|    | A/Brisbane/10/2007  | ISDN2604 30                                 | Huevo  | N  | S   | S       | S   | 202: V/G, 210:L/P, 215: del Ala, 242: S/I    |
|    |                     |                                             |        |    |     |         |     |                                              |
| H3 | A/Wisconsin/67/2005 | ISDN1314 64 (rec. vacuna)                   | ?      | N  | S   | S       | N   | 138: A/S 156: H/Q 186: G/V 196: H/Y          |
|    | A/Wisconsin/67/2005 | DQ865947                                    | ?      | N  | S   | parcial | N   | 138: A/S 156: H/Q 186: G/V 196: H/Y          |

ES 2 554 703 T3

|   | Cepa                 | Referencia a base de datos de secuencia No. | Origen | SP | HA1 | HA2 | DTm | Divergencia                                                                                   |
|---|----------------------|---------------------------------------------|--------|----|-----|-----|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
|   | A/Wisconsin/67/2005  | EF473424                                    | ?      | N  | S   | S   | N   | 138: A/S 156: H/Q 186: G/V 196: H/Y                                                           |
|   | A/Wisconsin/67/2005  | ISDN1387 23                                 | Huevo  | N  | S   | S   | S   | 138: A/S 156: H/Q 186: G/V 196: H/Y                                                           |
|   | A/Wisconsin/67/2005  | EF473455                                    | Huevo  | N  | S   | S   | S   | 138: A/S 156: H/Q 186: G/V 196: H/Y                                                           |
|   | A/Wisconsin/67/2005  | ISDN1387 24                                 | ?      | N  | S   | S   | S   | 138: A/S 156: H/Q 186: G/V 196: H/Y                                                           |
|   |                      |                                             |        |    |     |     |     |                                                                                               |
| B | B/Malaysia/2506/2004 | ISDN1266 72 (rec. vacuna)                   | Huevo  | S  | S   | N   | N   | 120 K/N 210 T/A                                                                               |
|   | B/Malaysia/2506/2004 | EF566433                                    | Huevo  | S  | S   | N   | N   | 120 K/N 210 T/A                                                                               |
|   | B/Malaysia/2506/2004 | ISDN2312 65                                 | Huevo  | S  | S   | S   | S   | 120 K/N 210 T/A                                                                               |
|   | B/Malaysia/2506/2004 | ISDN2315 57                                 | MDCK   | S  | S   | S   | S   | 120 K/N 210 T/A                                                                               |
|   | B/Malaysia/2506/2004 | EF566394                                    | MDCK   | S  | S   | N   | N   | 120 K/N 210 T/A                                                                               |
|   | B/Malaysia/2506/2004 | EU124274                                    | Huevo  | S  | S   | S   | S   | 120 K/N 210 T/A                                                                               |
|   | B/Malaysia/2506/2004 | EU124275                                    | MDCK   | S  | S   | S   | S   | 120 K/N 210 T/A                                                                               |
|   | B/Malaysia/2506/2004 | ISDN1247 76                                 | MDCK   | S  | S   | N   | N   | 120 K/N 210 T/A                                                                               |
|   |                      |                                             |        |    |     |     |     |                                                                                               |
| B | B/Florida/4/2006     | ISDN2616 49                                 | Huevo  | S  | S   | S   | N   | Carece de sitio de glicosilación en la posición 211; 10 amino ácidos de cola DTm/citoplásmica |
|   | B/Florida/4/2006.    | EU100604                                    | MDCK   | N  | S   | N   | N   |                                                                                               |
|   | B/Florida/4/2006     | ISDN2180 61                                 | MDCK   | N  | S   | N   | N   |                                                                                               |

# ES 2 554 703 T3

|    | Cepa                       | Referencia a base de datos de secuencia No. | Origen  | SP | HA1 | HA2 | DTm | Divergencia                                                    |
|----|----------------------------|---------------------------------------------|---------|----|-----|-----|-----|----------------------------------------------------------------|
|    | B/Florida/4/2006           | ISDN2857 78                                 | Huevo   | S  | S   | S   | S   | Incluye cola citoplásmica                                      |
|    |                            |                                             |         |    |     |     |     |                                                                |
| B  | B/Brisbane/3/2007          | ISDN2566 28                                 | Huevo   | N  | S   | N   | N   | Carece de sitio de glicosilación en la posición 211            |
|    | B/Brisbane/3/2007          | ISDN2637 82                                 | Huevo   | S  | S   | S   | S   | Carece de sitio de glicosilación en la posición 211            |
|    | B/Brisbane/3/2007          | ISDN2637 83                                 | MDCK    | S  | S   | S   | S   |                                                                |
|    |                            |                                             |         |    |     |     |     |                                                                |
| H5 | A/Vietnam/1194/2 004       | ISDN3868 6 (Rec. vacuna)                    | ?       | S  | S   | S   | S   |                                                                |
|    | A/Vietnam/1194/2 004       | AY651333                                    | ?       | S  | S   | S   | S   |                                                                |
|    | A/Vietnam/1194/2 004       | EF541402                                    | ?       | S  | S   | S   | S   |                                                                |
|    |                            |                                             |         |    |     |     |     |                                                                |
| H5 | A/Anhui1/1/2005            | DQ37928 (rec. vacuna)                       | ?       | S  | S   | S   | S   |                                                                |
|    | A/Anhui1/1/2005            | ISDN1314 65                                 | Huevo   | S  | S   | S   | S   |                                                                |
|    |                            |                                             |         |    |     |     |     |                                                                |
| H7 | A/Pollo/Italia/13474/19 99 | AJ91720                                     | gen ARN | S  | S   | S   | S   |                                                                |
| H7 | A/Equino/Praga/56          | AB298277 (Labreassortant)                   | ?       | S  | S   | S   | S   | 152 (R/G) 169 (T/I) 208 (N/D) (Sitio de glucosilación abolido) |
|    | A/Equino/Praga/56          | X62552                                      | ?       | S  | S   | S   | S   |                                                                |
|    |                            |                                             |         |    |     |     |     |                                                                |
| H9 | A/Hong Kong/1073/1999      | AJ404626                                    | ?       | S  | S   | S   | S   |                                                                |
|    | A/Hong Kong/1073/1999      | AB080226                                    | ?       | N  | S   | N   | N   |                                                                |

# ES 2 554 703 T3

|    | Cepa                                | Referencia a base de datos de secuencia No. | Origen                | SP | HA1 | HA2 | DTm | Divergencia |
|----|-------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------|----|-----|-----|-----|-------------|
|    |                                     |                                             |                       |    |     |     |     |             |
| H2 | A/Singapur/1/1957                   | AB296074                                    | ?                     | S  | S   | S   | S   |             |
|    | A/Singapur/1/1957                   | L20410                                      | ARN                   | S  | S   | S   | S   |             |
|    | A/Singapur/1/1957                   | L11142                                      | ?                     | S  | S   | S   | S   |             |
|    |                                     |                                             |                       |    |     |     |     |             |
| H2 | A/Japón/305/1957                    | L20406                                      | ?                     | S  | S   | S   | S   |             |
|    | A/Japón/305/1957                    | L20407                                      | ?                     | S  | S   | S   | S   |             |
|    | A/Japón/305/1957                    | CY014976                                    | ?                     | S  | S   | S   | S   |             |
|    | A/Japón/305/1957                    | AY209953                                    | ?                     | S  | S   | N   | N   |             |
|    | A/Japón/305/1957                    | J02127                                      | ?                     | S  | S   | S   | S   |             |
|    | A/Japón/305/1957                    | DQ508841                                    | ?                     | S  | S   | S   | S   |             |
|    | A/Japón/305/1957                    | AY643086                                    | ?                     | S  | S   | S   | N   |             |
|    | A/Japón/305/1957                    | AB289337                                    | ?                     | S  | S   | S   | S   |             |
|    | A/Japón/305/1957                    | AY643085                                    | ?                     | S  | S   | S   | S   |             |
|    | A/Japón/305/1957                    | AY643087                                    | Resistente a Fármacos | S  | S   | S   | N   |             |
|    |                                     |                                             |                       |    |     |     |     |             |
| H6 | A/Trullo/Hong Kong/W312/1997 (H6N1) | AF250479                                    | Huevo                 | S  | S   | S   | S   |             |

|                                                                                                                                                                                                                           | Cepa | Referencia a base de datos de secuencia No. | Origen | SP | HA1 | HA2 | DTm | Divergencia |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|---------------------------------------------|--------|----|-----|-----|-----|-------------|
| <p>S, N - Sí, No, respectivamente</p> <p>SP -presencia de señal de secuencia de péptido S/N</p> <p>HA1 - dominioHA1 complete S/N</p> <p>HA2 -dominioHA2 complete S/N</p> <p>DTm -dominio completo de transmembranaS/N</p> |      |                                             |        |    |     |     |     |             |

Cepa: H1 de A/Islas Salomón/3/2006

Se comparan ocho secuencias de aminoácidos, y se identifican las variaciones. (Tabla 14). La posición 171 exhibe una variación de glicina (G) o arginina (R) en algunas secuencias.

5 Tabla 14: Variación de aminoácidos A/Islas Salomón/3/2006

| Aminoácido #                     | MDCK | Huevo |
|----------------------------------|------|-------|
| 212                              | K    | T     |
| 241                              | Q    | R     |
| 542                              | L    | R     |
| Numeración desde la M de partida |      |       |

Cepa: H1 de A/Brisbane/59/2007

La posición 203 exhibe una variación de ácido aspártico (D), isoleucina (I) o asparagina (N).

Cepa: H3 de A/Brisbane/10/2007

- 10 Se observan Variaciones de secuencia en 5 posiciones (Tabla 15). En la posición 215, se observa una eliminación en las dos secuencias de muestra.

Tabla 15: Variación de aminoácidos H3 de A/Brisbane/10/2007

|            | Origen | 202, 210, 215, 235 242* |   |    |   |   |
|------------|--------|-------------------------|---|----|---|---|
| ISDN274893 | Huevo  | V                       | L | -Y |   | I |
| ISDN273759 | Huevo  | G                       | P | A  | S | I |
| EU 199248  | Huevo  | G                       | P | A  | S | I |
| EU199366   | Huevo  | G                       | P | A  | S | I |
| ISDN273757 | Huevo  | V                       | L | -  | S | S |

## ES 2 554 703 T3

|                                   | Origen | 202, 210, 215, 235 242* |   |   |   |   |
|-----------------------------------|--------|-------------------------|---|---|---|---|
| ISDN257043                        | Huevo  | G                       | P | A | S | I |
| EU199250                          | MDCK   | G                       | L | A | S | I |
| ISDN375357                        | Huevo  | G                       | P | A | S | I |
| ISDN260430                        | Huevo  | G                       | P | A | S | I |
| ISDN256751                        | Huevo  | G                       | P | A | S | I |
| ISDN257648                        | MDCK   | G                       | L | A | S | I |
| *Numeración desde la M de partida |        |                         |   |   |   |   |

Cepa: H3 de A/Wisconsin/67/2005

Se observan variaciones de secuencia en esta cepa en 4 posiciones (Tabla 16).

Tabla 16: Variación de aminoácidos H3 de A/Wisconsin/67/2005

|                                      | Origen      | 138, 156, 186, 196 |   |   |   |
|--------------------------------------|-------------|--------------------|---|---|---|
| ISDN138724                           | Desconocido | A                  | H | G | H |
| DQ865947                             | Desconocido | S                  | H | V | Y |
| EF473424                             | Desconocido | A                  | H | G | H |
| ISDN138723                           | Huevo       | S                  | Q | V | Y |
| ISDN131464                           | Desconocido | A                  | H | G | H |
| EF473455                             | Huevo       | A                  | H | G | H |
| *Numeración desde la proteína madura |             |                    |   |   |   |

5

Cepa: B de B/Malasia/2506/2004

Se observa la variación en dos posiciones (Tabla 17). La posición 120 no es un sitio de glucosilación; la posición 210 está involucrada en glucosilación; esta glucosilación se suprime luego de cultivo en huevos.

Tabla 17: Hemaglutinina de variación de aminoácidos B/Malaysia/2506/2004

| Aminoácido #                      | MDCK | Huevo |
|-----------------------------------|------|-------|
| 120                               | K    | N     |
| 210                               | T    | A     |
| * Numeración desde la mitad de SP |      |       |

10

Cepa: hemaglutinina de B/Florida/4/2006; ISDN261649



Las variaciones observadas incluyen la variación de la secuencia de aminoácidos en la posición 211, dependiendo del sistema de cultivo. Se encuentra Asparatina (N) en las secuencias aislada de células MDCK, se encuentra ácido glutámico blanco (D) en la secuencia aislada de huevos. La posición 211 es un sitio de glucosilación, y se suprime luego de cultivo en huevos.

5 Cepa: H2 de A/Singapur/1/1957

Se observan variaciones de secuencia en 6 posiciones (Tabla 18).

Tabla 18: H2 desde variación de aminoácidos A/Singapur/1/1957

|                                       | Origen      | Aminoácido<br>No. 166 168 |   | 199\236 |     | 238 | 358 |
|---------------------------------------|-------------|---------------------------|---|---------|-----|-----|-----|
| L20410                                | ARN vírico  | K                         | E | T       | L   | S   | V   |
| L11142                                | Desconocido | E                         | G | K       | L   | S   | I   |
| AB296074                              | Desconocido | K                         | G | T       | Q   | G   | V   |
| Consenso A/Japón/305/1957             |             | K                         | G | T       | Q/L | G   | V   |
| 1 Numeración desde la proteína madura |             |                           |   |         |     |     |     |

Cepas: H5 de A/Vietnam/1194/2004 y H5 de A/Anhui/2005

10 No se observan variaciones en la secuencia de aminoácidos luego de alineación de las secuencias primarias de estas cepas H5.

Cepa: H6 de A/Trullo/Hong Kong/W312/1997.

Solo una entrada está disponible para la cepa (AF250179).

Cepa: H7 de A/Equino/Praga/56

15 Se encuentra un total de 2 entradas de secuencias en las bases de datos. La entrada AB298877 se excluye como ya que es un laboratorio de reclasificación.

Cepa: H9 de A/Hong Kong/1073/1999; AJ404626.

Se encuentra un total de 2 entradas de secuencia en la base de datos. Solo se completa una.

20 **Ejemplo 20. Expresión transitoria de virus de hemaglutinina de influenza fusionado a un péptido de señal de una planta que secreta proteína.**

También se investiga el efecto de modificación del péptido de señal en el nivel de acumulación de HA para otras hemaglutininas a través de la expresión de HA subtipo A de las cepas A/Brisbane/59/2007 (H1N1) (el plásmido #787), A/Nueva Caledonia/ 20/1999 (H1N1) (el plásmido #540), de las cepas A/Brisbane/10/2007 (H3N2) (el plásmido 790) y A/Indonesia/5/2005 (H5N1) (el plásmido #663) y del tipo B de las cepas B/Florida/4/2006 (el plásmido #798) fusionado al péptido de señal (SP; nucleótidos 32-103) de la isomerasa de disulfuro de alfalfa de proteína (PDI; número de Acceso Z11499; SEQ. ID. NO: 34; Figura 17). Las fusiones del gen de hemaglutinina PDI SP se ensamblan en el casete de expresión de plastocianina, promotor, 5'UTR, 3'UTR y las secuencias de terminación de transcripción del gen plastocianina de alfalfa y los casetes ensamblados se insertan en un plásmido binario pCambia. Los plásmidos luego se transfectan en Agrobacterium (AGL1), lo que produce las cepas Agrobacterium AGL1/787, AGL1/540, AGL1/790, AGL1/663 y AGL1/798, respectivamente.

Se infiltran plantas de N. benthamiana con AGL1/787, AGL1/540, AGL1/790, AGL1/663 y AGL1/798. En paralelo, se infiltra una serie de plantas con AGL1/774, AGL1/776, AGL1/660 y AGL1/779 para propósitos de comparación. Las hojas se cosechan después de un periodo de incubación de seis días y se extraen proteínas de hojas infiltradas y se analizan mediante transferencia Western utilizando los anticuerpos antiHA apropiados. La expresión de HA de

H1/Brisbane y H3/Brisbane se mejora considerablemente utilizando el SP de PDI que se compara con la expresión observada para los mismos HA con su péptido de señal natural (Figura 87b y c, respectivamente). La expresión de un tercer HA del subtipo H1 (cepa A/Nueva Caledonia/ 20/1999) se confirma utilizando esta estrategia de reemplazo SP (Figura 87a). La modificación del péptido de señal no conduce a aumento sustancial en la acumulación de HA para H5 (A/Indonesia/5/2005) (Figura 87d), y no se detecta señal para HA de la cepa B/Florida/4/2006, independientemente del péptido de señal utilizado para expresión (Figura 87e). Para todas las condiciones en donde se detecta la expresión de HA, se observa una única banda inmunorreactiva en un peso molecular de aproximadamente 72 kDa (Figura 87a a d), que corresponde al tamaño del precursor HA0 no dividido.

#### Ejemplo 21. Expresión de HA bajo el control del casete de expresión CPMV-HT.

Un casete de expresión CPMV-HT (Sainsbury et al. 2008 Plant Physiology 148: 1212-1218; véase también documento WO 2007/135480) que comprende las secuencias no traducidas del Virus del Mosaico del Caupeí RNA2 (CPMV) se utiliza para la expresión de algunas hemaglutininas en plantas transgénicas. El HA de A/Nueva Caledonia/20/1999 (H1), A/Brisbane/59/2007 (H1), A/Brisbane/ 10/2007 (H3), A/Indonesia/5/2005 (H5) y B/Florida/4/2006 (B) se expresa bajo el control de CPMV-HT en plantas *N. benthamiana*, que se agroinfiltran como se describe. Después de incubación, se cosechan las hojas, se extraen y los contenidos HA en los extractos de proteína se comparan mediante transferencia Western. Como se muestra en la Figura 88, el casete de expresión CPMV-HT conduce a un nivel de expresión HA mayor que el casete de plastocianina, independientemente del péptido de señal utilizado. Adicionalmente, para la cepa B de B/Florida/4/2006, el uso del casete de expresión CPMV-HT permite la detección de acumulación de HA que permanece indetectable bajo estas condiciones de inmunodetección cuando se expresa bajo el casete de plastocianina.

Tabla 19: Casete de expresión utilizado para expresión de hemaglutinina de influenza con péptidos de señal PDI o naturales

| Cepa Agro | HA<br>Expresado              | Péptido de Señal | Casete de expresión |
|-----------|------------------------------|------------------|---------------------|
| AGL1/540  | H1 (A/Nueva Caledonia/20/99) | PDI              | plastocianina       |
| AGL1/580  | H1 (A/Nueva Caledonia/20/99) | PDI              | CPMV-HT             |
| AGL1/774  | H1 (A/Brisbane/59/2007)      | Natural          | plastocianina       |
| AGL1/787  | H1 (A/Brisbane/59/2007)      | PDI              | plastocianina       |
| AGL1/732  | H1 (A/Brisbane/59/2007)      | Natural          | CPMV-HT             |
| AGL1/776  | H3 (A/Brisbane/10/2007)      | Natural          | plastocianina       |
| AGL1/790  | H3 (A/Brisbane/10/2007)      | PDI              | plastocianina       |
| AGL1/735  | H3 (A/Brisbane/10/2007)      | Natural          | CPMV-HT             |
| AGL1/736  | H3 (A/Brisbane/10/2007)      | PDI              | CPMV-HT             |
| AGL1/660  | H5 (A/Indonesia/5/2005)      | Natural          | plastocianina       |
| AGL1/685  | H5 (A/Indonesia/5/2005)      | Natural          | CPMV-HT             |
| AGL1/779  | B (B/Florida/4/2006)         | Natural          | plastocianina       |
| AGL1/798  | B (B/Florida/4/2006)         | PDI              | plastocianina       |
| AGL1/738  | B (B/Florida/4/2006)         | natural          | CPMV-HT             |
| AGL1/739  | B (B/Florida/4/2006)         | PDI              | CPMV-HT             |

**Ejemplo 22. Co-expresión con Hsp70 y Hsp40 en combinación con modificación del péptido de señal.**

El Hsp70 y Hsp40 citosólico (número de construcción R870) de origen vegetal se coexpresan con H1 Nueva Caledonia (número de construcción 540) o H3 Brisbane (número de construcción 790), que llevan un péptido de señal de origen vegetal (péptido de señal de PDI de alfalfa). La coexpresión se realiza mediante agroinfiltración de plantas *N. benthamiana* con una suspensión bacteriana que contiene una mezcla (relación 1:1:1) de AGL1/540, AGL1/R870, AGL1/35SHcPro (para H1) o AGL1/790, AGL1/R870 y AGL1/35SHcPro (para H3). Las plantas de control se agroinfiltran con una mezcla (relación 1:2) de AGL1/540, AGL1/35SHcPro (for H1) o AGL1/790, AGL1/35SHcPro (para H3). Después de incubación, las hojas se cosechan, se extraen y se comparan los contenidos de HA en extractos de proteína mediante transferencia Western (Figura 89). En las condiciones probadas los resultados obtenidos indica que la coexpresión de Hsp70 y Hsp40 no aumenta el nivel de acumulación de hemaglutinina para H1 Nueva Caledonia. Sin embargo, para H3 Brisbane, la transferencia Western claramente indica que la coexpresión del Hsp70 y Hsp40 citosólico resulta en un aumento significativo en el nivel de acumulación de hemaglutinina.

La presente invención se ha descrito con respecto a una o más realizaciones. Sin embargo, será evidente para aquellos expertos en la técnica que se puede hacer una serie de variaciones y modificaciones sin apartarse del alcance de la invención como se define en las reivindicaciones.

La presente solicitud es una solicitud divisional con base en la Solicitud Europea anterior No. 09700061.6, que a su vez se deriva de la Solicitud PCT No. PCT/CA2009/000032. Las siguientes cláusulas numeradas, que corresponden a las reivindicaciones de esa Solicitud PCT anterior presentada, hacen parte de la presente descripción y en particular forman aspectos adicionales de la invención, ya sea o no que aparezcan en las reivindicaciones actuales.

**Cláusulas**

A. Un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una hemaglutinina de influenza (HA) ligada operativamente a una región reguladora activa en una planta.

B. El ácido nucleico de la cláusula A, en donde el HA comprende un péptido de señal natural o no natural.

C. El ácido nucleico de la cláusula B, en donde el péptido de señal no natural es un péptido de señal de isomerasa de disulfuro de proteína.

D. El ácido nucleico de la cláusula A, en donde el HA es una influenza tipo A, una influenza tipo B, o es un subtipo de influenza tipo A, seleccionado del grupo que consiste de H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, y H16.

E. El ácido nucleico de la cláusula A, en donde el HA es de una influenza tipo A, seleccionado del grupo que consiste de H1, H2, H3, H5, H6, H7 y H9.

F. Un método para producir partículas semejantes al virus de la influenza (VLP) en una planta que comprende:

a) introducir el ácido nucleico de la cláusula A en la planta, o parte de la planta, y

b) incubar la planta o parte de la planta bajo condiciones que permitan la expresión del ácido nucleico, produciendo por lo tanto los VLP.

G. El método de la cláusula F, en donde en la etapa de introducir (etapa a), el ácido nucleico se expresa transitoriamente en la planta.

H. El método de la cláusula F, en donde, en la etapa de introducir (etapa a), el ácido nucleico se expresa establemente en la planta.

I. El método de la cláusula F que comprende adicionalmente una etapa de c) cosechar el anfitrión y purificar los VLP.

J. El método de la cláusula F, en donde, en la etapa de introducir (etapa a), un segundo ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una o más de una de las proteínas chaperonas se introduce en la planta.

K. El método de la cláusula J, en donde una o más de una proteína chaperona se selecciona del grupo que consiste de Hsp40 y Hsp70.

- L. Un método para producir partículas semejantes al virus de la influenza (VLP) en una planta que comprende:
- a) proporcionar una planta, o una parte de una planta, que comprende el ácido nucleico de la cláusula A, y
  - b) incubar la planta o parte de la planta bajo condiciones que permitan la expresión del ácido nucleico, produciendo por lo tanto los VLP
- 5 M. Una planta que comprende el ácido nucleico de la cláusula A.
- N. La planta de la cláusula M, que comprende adicionalmente un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una o más de una de las proteínas chaperonas ligadas operativamente a una región reguladora activa en una planta.
- 10 O. La planta de la cláusula N, en donde una o más de una de las proteínas chaperonas se seleccionan del grupo que consiste de Hsp40 y Hsp70.
- P. Una partícula semejante a virus (VLP) que comprende una proteína de hemaglutinina (HA) del virus de influenza y uno o más de un lípido derivado de una planta.
- 15 Q. La partícula semejante a virus (VLP) de la cláusula P, en donde el HA es una influenza tipo A, una influenza tipo B, o es un HA de subtipo de influenza tipo A seleccionado del grupo que consiste de H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, y H16.
- R. El VLP de la cláusula Q, en donde el HA es de una influenza tipo A, seleccionado del grupo que consiste de H1, H2, H3, H5, H6, H7 y H9.
- S. Una composición que comprende una dosis efectiva del VLP de la cláusula P y un portador farmacéuticamente aceptable.
- 20 T. Un método para inducir inmunidad a una infección por virus de influenza en un sujeto, que comprende administrar la partícula semejante a virus de la cláusula P.
- U. El método de la cláusula T, en donde la partícula semejante a virus se administra a un sujeto oralmente, intradérmicamente, intranasalmente, intramuscularmente, intraperitonealmente, intravenosamente, o subcutáneamente.
- 25 V. Una partícula semejante a virus (VLP) que comprende un virus de influenza HA que lleva N-glucanos específicos de planta, o N-glucanos modificados.
- W. La partícula semejante a virus (VLP) de la cláusula V, en donde el HA es una influenza tipo A, una influenza tipo B, o es un HA del subtipo de influenza tipo A seleccionado del grupo que consiste de H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, y H16.
- 30 X. El VLP de la cláusula W, en donde el HA es de una influenza tipo A, seleccionado del grupo que consiste de H1, H2, H3, H5, H6, H7 y H9.
- Y. Una composición que comprende una dosis efectiva del VLP de la cláusula V y un portador farmacéuticamente aceptable.
- 35 Z. Un método para inducir inmunidad a una infección por virus de influenza en un sujeto, que comprende administrar la composición de la cláusula Y.
- AA. El método de la cláusula Z, en donde la composición se administra a un sujeto oralmente, intradérmicamente, intranasalmente, intramuscularmente, intraperitonealmente, intravenosamente, o subcutáneamente.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Medicago Inc.

<120> Partículas Recombinantes Semejantes al Virus de la Influenza (VLP) Producidas en Plantas Transgénicas que Expresan Hemaglutinina

5 <130> P126901.EP.01

<150> EP 09700061.6

<151> 2009-01-12

<150> CA 2615372

<151> 2008-01-21

10 <150> US 61/022,775

<151> 2008-01-22

<150> PCT/CA2008/001281

<151> 2008-07-11

<160> 126

15 <170> PatentIn versión 3.4

<210> 1

<211> 1556

<212> ADN

<213> Virus Influenza A

20 <400> 1

agatcttgcg tgacacaata tgtataggct accatgccaa caactcaacc gacactgttg 60  
 acacagtgact tgagaagaat gtgacagtga cacactctgt caacctactt gaggacagtc 120  
 acaatggaaa actatgtcta ctaaaaggaa tagcccccact acaattgggt aattgcagcg 180  
 ttgcgggatg gatcttagga aaccagaat gogaattact gatttccaag gaatcatggt 240  
 cctacattgt agaaacacca aatcctgaga atggaacatg ttaccagggg tatttcggcg 300  
 actatgagga actgagggag caattgagtt cagtatcttc atttgagaga ttogaaatat 360  
 tccccaaaga aagctcatgg cccaaccaca ccgtaaccgg agtatcagca tcatgctccc 420  
 ataatgggaa aagcagtttt tacagaaatt tgctatggct gacggggaag aatggtttgt 480  
 acccaaacct gagcaagtc tatgtaaaca acaaagagaa agaagtcctt gtactatggg 540  
 gtgttcacga ccgcctaac ataggggaacc aaagggcact ctatcataca gaaaatgctt 600  
 atgtctctgt agtgtcttca cattatagca gaagattcac ccagaaata gccaaaagac 660  
 ccaaagtaag agatcaggaa ggaagaatca actactactg gactctgctg gaacctgggg 720  
 atacaataat atttgaggca aatggaaatc taatagcgcc atggtatgct ttgcaactga 780  
 gtagaggctt tggatcagga atcatcacct caaatgcacc aatggatgaa tgtgatgca 840  
 agtgtcaaac acctcagggg gctataaaca gcagtcttcc ttccagaat gtacaccag 900  
 tcacaatagg agagtgtcca aagtatgtca ggagtgcata attaaggatg gttacaggac 960  
 taaggaaacat cccatccatt caatccagag gtttgtttgg agccattgac ggtttcattg 1020  
  
 aaggggggtg gactggaatg gtagatgggt ggtatggtta tcatcatcag aatgagcaag 1080  
 gatctggcta tgctgcagat caaaaaagta ccaaaaatgc cattaacggg attacaaaca 1140  
 aggtcaatc tgtaattgag aaaatgaaca ctcaattcac agctgtgggc aaagagttca 1200  
 acaaattgga aagaaggatg gaaaactta ataaaaagt tgatgatggg tttctagaca 1260  
 tttggacata taatgcagaa ttgttggttc tactggaaaa tgaaaggact ttggatttcc 1320  
 atgactccaa tgtgaagaat ctgtatgaga aagtaaaaag ccaattaaag aataatgcca 1380  
 aagaaatagg aaacgggtgt tttgagttct atcacaagt taacaatgaa tgcattggaga 1440  
 gtgtgaaaaa ttgtacctat gactatccaa aatattccga agaattcaag ttaaacaggg 1500  
 agaaaattga tggagtgaat ttggaatcaa tgggagtata ctaagagctc aggcct 1556

<210> 2

<211> 219

5 <212> ADN

<213> Virus Influenza A

<400> 2

ggtacotatg actatccaaa atattccgaa gaatcaaatg taaacaggga gaaaattgat 60  
 ggagtgaat tggaatcaat gggagtatac cagattctgg cgatctactc aactgtcgcc 120  
 agttccctgg ttcttttggg ctccctgggg gcaatcagct tctggatgtg ttccaatggg 180  
 tctttgcagt gtagaatatg catctaagag ctccagcct 219

<210> 3

10 <211> 1719

<212> ADN

<213> Virus Influenza A

<400> 3

```

aagcttatgg agaaaatagt gcttcttctt gcaatagtca gtcttgtaa aagtgatcag      60
atttgcattg gttaccatgc aaacaattca acagagcagg ttgacacaat catggaaaag      120
aacgttactg ttacacatgc ccaagacata ctggaaaaga cacacaacgg gaagctctgc      180
gatctagatg gagtgaagcc tctaatttta agagattgta gtgtagctgg atggctcctc      240
gggaacccaa tgtgtgacga attcatcaat gtaccggaat ggtcttacat agtggagaag      300
gccaatccaa ccaatgacct ctgttaccca gggagtttca acgactatga agaactgaaa      360
cacctattga gcagaataaa ccattttgag aaaattcaaa tcatecccaa aagttcttgg      420
tccgatcatg aagcctcacc aggagttagc tcagcatgtc catacctggg aagtcctccc      480
tttttttaga atgtggtatg gcttatcaaa aagaacagta catacccaac aataaagaaa      540
agctacaata ataccaacca agaggatctt ttggtactgt ggggaattca ccatcctaatt      600
gatgcggcag agcagacaag gctatatcaa aacccaacca cctatatctc cattgggaca      660
tcaacactaa accagagatt ggtaccaaaa atagctacta gatccaaagt aaacgggcaa      720
agtggaagga tggagtctct ctggacaatt ttaaaaccta atgatgcaat caacttcgag      780

agtaatggaa atttcattgc tccagaatat gcatacaaaa ttgtcaagaa aggggactca      840
gcaattatga aaagtgaatt ggaatatggt aactgcaaca ccaagtgtca aactccaatg      900
ggggcgataa actctagtat gccattccac aacatacacc ctctcaccat cgggggaatgc      960
cccaaatatg tgaaatcaaa cagattagtc cttgcaacag ggctcagaaa tagccctcaa     1020
agagagagca gaagaaaaaa gagaggacta ttggagcta tagcaggttt tatagagggg     1080
ggatggcagg gaatggtaga tggttggtat ggggtaccac atagcaatga gcaggggagt     1140
gggtacgctg cagacaaaga atccactcaa aaggcaatag atggagtcac caataaggtc     1200
aactcaatca ttgacaaaat gaacactcag ttgaggccg ttggaaggga atttaataac     1260
ttagaaagga gaatagagaa tttaaacaag aagatggaag acgggtttct agatgtctgg     1320
acttataatg ccgaacttct ggttctcatg gaaaatgaga gaactctaga ctttcatgac     1380
tcaaattgta agaacctcta cgacaaggtc cgactacagc ttagggataa tgcaaaggag     1440
ctgggtaacg gttgtttcga gttctatcac aaatgtgata atgaatgtat ggaaagtata     1500
agaaacggaa cgtacaacta tcgcagctat tcagaagaag caagattaaa aagagaggaa     1560
ataagtgggg taaaattgga atcaatagga acttaccaaa tactgtcaat ttattcaaca     1620
gtggcgagtt ccctagcact ggcaatcatg atggctggtc tatctttatg gatgtgctcc     1680
aatggatcgt tacaatgcag aatttgcatt taagagctc     1719

```

5

<210> 4

<211> 25

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

10

<223> Cebador Plasto-443c  
 <400> 4  
 gtattagtaa ttagaatttg gtgtc 25  
 <210> 5  
 5 <211> 44  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Cebador SpHA(Ind)-Plasto.r  
 10 <400> 5  
 gcaagaagaa gcactathtt ctccatttc tctcaagatg atta 44  
 <210> 6  
 <211> 45  
 <212> ADN  
 15 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Cebador Plasto-SpHA(Ind) .c  
 <400> 6  
 ttaatcatct tgagagaaaa tggagaaaat agtgcttctt ctgac 45  
 20 <210> 7  
 <211> 38  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 25 <223> Cebador HA(Ind)-Sac.r  
 <400> 7  
 acttgagct cttaaagca aattctgcat tgtaacga 38  
 <210> 8  
 <211> 1471  
 30 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial



<220>

<223> Casete basado en plastocianina de Alfalfa

<400> 8

```

agagggtaccc cgggctggta tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagt 60
taagttagca agtgtgtaca tttttacttg aacaaaaata ttccactact actgttataa 120
atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt 180
tgacaacaat tttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattggtca 240
aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga 300
gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa 360
aagctacaca aataaggggt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg 420
taccattaga gaatttttgg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaatta 480
aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaatga attgatgaaa gagttggatt 540
aaagttgtat tagtaattag aatttggtgt caaatttaat ttgacatttg atcttttctt 600
atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa 660
ataacggtat attaactcct ccaaaaaaaaa aaaacggtat atttactaaa aaatctaagc 720
cacgtaggag gataacagga tcccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacaa 780
aatcctgatg agataaccca cttaaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa 840
atcacacatt ctccacaca tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca 900
ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt ccttcaaac acatacaaag 960
agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tggcgaaaaa cgttgcgatt 1020
ttcggcttat tgttttctct tcttgtgttg gttccttctc agatctgagc tctaagttaa 1080
aatgcttctt cgtctcctat ttataatatg gtttgttatt gttaattttg ttcttgtaga 1140
agagottaat taatogttgt tgttatgaaa tactatttgt atgagatgaa ctggtgtaat 1200
gtaattcatt tacataagtg gagtcaaat cagaatgttt cctccataac taactagaca 1260
tgaagacctg ccgcgtacaa ttgtcttata ttgaaacaac taaaattgaa catcttttgc 1320
cacaacttta taagtggta atatatggt caagttcaat agattaataa 1380

tggaaatata agttatcgaa attcattaac aatcaactta acgttattaa ctactaattt 1440
tatatcatcc cctttgataa atgatatgac a 1471

```

5 <210> 9

<211> 565

<212> PRT

<213> Virus Influenza A

<400> 9

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| Met | Lys | Ala | Lys | Leu | Leu | Val | Leu | Leu | Cys | Thr | Phe | Thr | Ala | Thr | Tyr | 1   | 5   | 10  | 15 |
| Ala | Asp | Thr | Ile | Cys | Ile | Gly | Tyr | His | Ala | Asn | Asn | Ser | Thr | Asp | Thr | 20  | 25  | 30  |    |
| Val | Asp | Thr | Val | Leu | Glu | Lys | Asn | Val | Thr | Val | Thr | His | Ser | Val | Asn | 35  | 40  | 45  |    |
| Leu | Leu | Glu | Asp | Ser | His | Asn | Gly | Lys | Leu | Cys | Leu | Leu | Lys | Gly | Ile | 50  | 55  | 60  |    |
| Ala | Pro | Leu | Gln | Leu | Gly | Asn | Cys | Ser | Val | Ala | Gly | Trp | Ile | Leu | Gly | 65  | 70  | 75  |    |
| Asn | Pro | Glu | Cys | Glu | Leu | Leu | Ile | Ser | Lys | Glu | Ser | Trp | Ser | Tyr | Ile | 85  | 90  | 95  |    |
| Val | Glu | Thr | Pro | Asn | Pro | Glu | Asn | Gly | Thr | Cys | Tyr | Pro | Gly | Tyr | Phe | 100 | 105 | 110 |    |
| Ala | Asp | Tyr | Glu | Glu | Leu | Arg | Glu | Gln | Leu | Ser | Ser | Val | Ser | Ser | Phe | 115 | 120 | 125 |    |
| Glu | Arg | Phe | Glu | Ile | Phe | Pro | Lys | Glu | Ser | Ser | Trp | Pro | Asn | His | Thr | 130 | 135 | 140 |    |
| Val | Thr | Gly | Val | Ser | Ala | Ser | Cys | Ser | His | Asn | Gly | Lys | Ser | Ser | Phe | 145 | 150 | 155 |    |
| Tyr | Arg | Asn | Leu | Leu | Trp | Leu | Thr | Gly | Lys | Asn | Gly | Leu | Tyr | Pro | Asn | 165 | 170 | 175 |    |
| Leu | Ser | Lys | Ser | Tyr | Val | Asn | Asn | Lys | Glu | Lys | Glu | Val | Leu | Val | Leu | 180 | 185 | 190 |    |
| Trp | Gly | Val | His | His | Pro | Pro | Asn | Ile | Gly | Asn | Gln | Arg | Ala | Leu | Tyr | 195 | 200 | 205 |    |
| His | Thr | Glu | Asn | Ala | Tyr | Val | Ser | Val | Val | Ser | Ser | His | Tyr | Ser | Arg | 210 | 215 | 220 |    |
| Arg | Phe | Thr | Pro | Glu | Ile | Ala | Lys | Arg | Pro | Lys | Val | Arg | Asp | Gln | Glu | 225 | 230 | 235 |    |
| Gly | Arg | Ile | Asn | Tyr | Tyr | Trp | Thr | Leu | Leu | Glu | Pro | Gly | Asp | Thr | Ile | 245 | 250 | 255 |    |
| Ile | Phe | Glu | Ala | Asn | Gly | Asn | Leu | Ile | Ala | Pro | Trp | Tyr | Ala | Phe | Ala | 260 | 265 | 270 |    |
| Leu | Ser | Arg | Gly | Phe | Gly | Ser | Gly | Ile | Ile | Thr | Ser | Asn | Ala | Pro | Met | 275 | 280 | 285 |    |

Asp Glu Cys Asp Ala Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn Ser  
 290 295 300  
 Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys Pro  
 305 310 315 320  
 Lys Tyr Val Arg Ser Ala Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn  
 325 330 335  
 Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe  
 340 345 350  
 Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His  
 355 360 365  
 His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr  
 370 375 380  
 Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu  
 385 390 395 400  
 Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys Leu  
 405 410 415  
 Glu Arg Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe Leu  
 420 425 430  
 Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu  
 435 440 445  
 Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys  
 450 455 460  
 Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys  
 465 470 475 480  
 Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Lys  
 485 490 495  
 Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn  
 500 505 510  
 Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln  
 515 520 525  
 Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Val Leu Leu Val  
 530 535 540  
 Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln  
 545 550 555 560  
 Cys Arg Ile Cys Ile  
 565

<210> 10

<211> 568

<212> PRT

5 <213> Virus Influenza A

<400> 10

Met Glu Lys Ile Val Leu Leu Leu Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser  
 1 5 10 15

Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val  
 20 25 30  
 Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile  
 35 40 45  
 Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys  
 50 55 60  
 Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn  
 65 70 75 80  
 Pro Met Cys Asp Glu Phe Ile Asn Val Pro Glu Trp Ser Tyr Ile Val  
 85 90 95  
 Glu Lys Ala Asn Pro Thr Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Ser Phe Asn  
 100 105 110  
 Asp Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn His Phe Glu  
 115 120 125  
 Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Ser Asp His Glu Ala Ser  
 130 135 140  
 Ser Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Leu Gly Ser Pro Ser Phe Phe  
 145 150 155 160  
 Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Ser Thr Tyr Pro Thr Ile  
 165 170 175  
 Lys Lys Ser Tyr Asn Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp  
 180 185 190  
 Gly Ile His His Pro Asn Asp Ala Ala Glu Gln Thr Arg Leu Tyr Gln  
 195 200 205  
 Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Ile Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg  
 210 215 220  
 Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly  
 225 230 235 240  
 Arg Met Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Pro Asn Asp Ala Ile Asn  
 245 250 255  
 Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Tyr Ala Tyr Lys Ile  
 260 265 270  
 Val Lys Lys Gly Asp Ser Ala Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly  
 275 280 285  
 Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Met Gly Ala Ile Asn Ser Ser  
 290 295 300  
 Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys  
 305 310 315 320  
 Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser  
 325 330 335  
 Pro Gln Arg Glu Ser Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile  
 340 345 350  
 Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr  
 355 360 365

Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys  
 370 375 380  
 Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser  
 385 390 395 400  
 Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe  
 405 410 415  
 Asn Asn Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp  
 420 425 430  
 Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met  
 435 440 445  
 Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu  
 450 455 460  
 Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly  
 465 470 475 480  
 Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu  
 485 490 495  
 Ser Ile Arg Asn Gly Thr Tyr Asn Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala  
 500 505 510  
 Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly  
 515 520 525  
 Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala  
 530 535 540  
 Leu Ala Ile Met Met Ala Gly Leu Ser Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly  
 545 550 555 560  
 Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile  
 565

<210> 11

<211> 1629

<212> ADN

5 <213> Virus Influenza A

<400> 11

|                                                                   |      |
|-------------------------------------------------------------------|------|
| gacaaaatat gtcttgggca ccatgctgtg gcaaatggaa caaaagtga cacattaaca  | 60   |
| gagaggggga ttgaagtagt gaacgccaca gagacgggtg aaactgcga tatcaagaaa  | 120  |
| atatgtattc aagggaaaag gccaacagat ctgggacaat gtggacttct aggaacccta | 180  |
| ataggacctc cccaatgtga tcaattcctg gagttttact ctgatttgat aattgagcga | 240  |
| agagaaggaa ccgatgtgtg ctatcccggt aaattcacaa atgaagaatc actgaggcag | 300  |
| atccttcgag ggtcaggagg aattgataag gagtcaatgg gtttcaccta tagtggaata | 360  |
| agaaccaatg gagcgacaag tgcttgcaaa agatcagggt cttctttcta tgcagagatg | 420  |
| aagtgggtgc tgtcgaaatc agacaatgcg gcattccctc aaatgacaaa gtcttataga | 480  |
| aatcccagaa acaaacagc tctgataatt tggggagttc atcactctgg atcggttagc  | 540  |
| gagcagacca aactctatgg aagtggaaac aagttgataa cagtaggaag ctcaaatatc | 600  |
|                                                                   |      |
| cagcaatcat tcacccaag tccgggagca cggccacaag tgaatggaca atcagggaga  | 660  |
| atcgattttc actggctact ccttgatccc aatgacacag tgaccttcac tttcaatggg | 720  |
| gcattcatag cccctgacag ggcaagtctc tttagaggag aatcactagg agtccagagt | 780  |
| gatgttcttc tggattctag ttgtggaggg gattgctttc acagtggggg tacgatagtc | 840  |
| agttccctgc cattccaaaa catcaaccct agaactgtgg ggagatgccc togttatgtc | 900  |
| aaacagacaa gctctctttt ggctacagga atgagaaatg ttccagagaa tccaaagccc | 960  |
| agaggccttt ttggagcaat tgctggatc atagagaatg gatgggaggg tctcatcgat  | 1020 |
| ggatggtatg gtttcagaca tcaaatgca caagggaag gaactgcagc tgactacaaa   | 1080 |
| agcacccaat ctgcaataga tcagatcaca ggcaaatga atcgtctgat tgacaaaaca  | 1140 |
| aatcagcagt ttgagctgat agacaatgag ttcaatgaga tagaacaaca aataggaaat | 1200 |
| gtcattaatt ggacacgaga cgcaatgact gaggtatggt ogtataatgc tgagctgttg | 1260 |
| gtggcaatgg aaaatcagca tacaatagat cttgcggact cagaaatgaa caaactttat | 1320 |
| gagcgtgtca gaaaacaact aagggagaat gctgaagaag atggaactgg atgttttgag | 1380 |
| atattccata agtgtgatga tcagtgcctg gagagcataa ggaacaacac ttatgaccat | 1440 |
| actcaatata gaacagagtc attgcagaat agaatacaga tagaccagc gaaattgagt  | 1500 |
| agtgataca aagacataat cttatggttt agcttcgggg catcatgttt tcttcttcta  | 1560 |
| gccgttgtaa tgggattggt tttcatttgc ataaagaatg gaaacatgcg gtgcaccatt | 1620 |
| tgtatatata                                                        | 1629 |

<210> 12

<211> 1773

<212> ADN

5 <213> Virus Influenza A

<400> 12

```

agcaaaagca ggggttatac catagacaac caaaggcaag acaatggcca tcatttatct    60
aattcttctg ttcacagcag tgagagggga ccaaatatgc attggatacc attccaacaa    120
ttccacagaa aaggttgaca caatcctaga gagaaatgtc actgtgactc acgctgagga    180
cattcttgag aagactcaca atgggaagtt atgcaaaacta aatggaatcc ctccacttga    240
attaagggat tgcagcattg cgggatggct ccttgggaat ccagaatgtg atatacttct    300
aactgtgcc aaatgggtcat acataataga aaaagaaaat ccaaggaacg gcttgtgcta    360
cccaggcagt ttcaatgatt atgaagaatt gaagcatctt atcagcagcg tgacacattt    420
tgagaaagta aagattctgc ccagaaatga atggacacag catacaacaa ctggagggttc    480
acaggcttgc gcagactatg gtggtccgtc attcttccgg aacatgggtc ggttgacaaa    540
gaaagggctg aattatccaa ttgcacaaaag atcttacaac aatacaagtg ggaacaaat    600
gctgatcatt tgggggatac atcaccccaa tgatgaaagt gaacaaagag cattgtatca    660

gaatgtgggg acctatgtgt cagtaggaac atcaacactg aacaaaagat catccccaga    720
aatagcaaca agacctaaag tgaatggaca aggaggcaga atggaattct cgtggactat    780
cttagatata tgggacacaa taaattttga gagtactggc aatctaattg caccagaata    840
tggtttcaaa atatccaac gaggtagttc agggatcatg aaacagaag gaaaacttga    900
aaactgcag accaagtgc aaactcctt gggagcaata aatacaacat tacccttca    960
caatatccac ccaactgacca ttggtgagtg ccccaaatat gtaaaatcgg aaagattagt   1020
cttagcaaca ggactaagaa acgtccctca gattgagtcaggggattgt ttggggcaat   1080
agctggtttt atagaggggtg gatggcaagg aatggttgat ggttggtatg ggtatcatca   1140
cagcaatgac cagggatctg ggtatgcagc agacaaagaa tccactcaa aggcaattga   1200
tggaatcacc aacaaggtaa attctgtgat cgaagagatg aacacccaat tgggagctgt   1260
tggaagaaag ttcatgaact tggagagaag actggagaac ttgaataaaa agatggagga   1320
cggatttcta gatgtgtgga catacaatgc cgagctccta gttctaattg aaaatgagag   1380
gacacttgac tttcatgatt ctaatgtcaa gaatctatat gataaagtca gaatgcaact   1440
gagagacaat gcaaaagaac tagggaatgg atgttttgaa ttttatcaca aatgtgatga   1500
tgaatgcagt aacagtgtga agaattggac atatgattat tccaagtatg aagaggagtc   1560
taactaaac aggactgaaa tcaaggggt taaattgagc aatatggggg tttatcaaat   1620
ccttgccatc tatgctacag tagcagggtc cctgtcactg gcaatcatga tagctgggat   1680
ttctatatgg atgtgctcca acgggtctct gcaatgcaga atctgcatat gatcatcagt   1740
cattttgtaa ttaaaaacac ccttgtttct act                                     1773

```

<210> 13

<211> 1086

<212> ADN

5 <213> Virus Influenza A

<400> 13

```

caaaaacttc cgggaaatga caacagcaog gcaacgctgt gcoctgggca ccatgcagta    60
ccaaacggaa cgatagtga aacaatcacg aatgaccaa ttgaagttac taatgctact    120
gagctgggtac agagtctctc aacaggtgga atatgcgaca gtctctcatca gatccttgat    180
ggagaaaaact gcacactaat agatgctcta ttgggagacc ctcaagtgtga tggcttccaa    240
aataagaaat gggacctttt tgttgaacgc agcaaagcct acagcaactg ttacccttat    300
gatgtgcogg attatgcctc ccttaggtca ctagttgcct catccggcac actggagttt    360
aacaatgaaa gcttcgattg gactggagtc actcagaatg gaacaagctc tgcttgcaaa    420
aggagatcta ataaaagttt ctttagtaga ttgaattggt tgacccactt aaaatacaaa    480
taccagcat tgaacgtgac tatgccaaac aatgaaaaat ttgacaaatt gtacatttgg    540
ggggttcacc acccgggtac ggacagtgc caaatcagcc tatatgctca agcatcagga    600
agaatcacag tctctacca aagaagccaa caaactgtaa tccgaatat cggatctaga    660

cccagggtaa gggatgtctc cagccgaata agcatctatt ggacaatagt aaaaccggga    720
gacatacttt tgattaacag cacagggaat ctaattgctc ctgggggtta cttcaaaata    780
cgaaagtggga aaagctcaat aatgagatca gatgcacca ttggcaaatg caattccgaa    840
tgcatcactc caaatggaag cattcccaat gacaaccat ttcaaaatgt aaacaggatc    900
acatatgggg cctgtccag atatgttaag caaaacactc tgaattggc aacagggatg    960
cgaaatgtac cagagaaaca aactagaggc atatttggcg caatcgggg tttcatagaa   1020
aatggttggg agggaaatggt ggacggttgg taoggtttca ggcataaaaa ttctgagggc   1080
acagga                                     1086

```

<210> 14

<211> 1048

<212> ADN

5 <213> Virus Influenza A

<400> 14



|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| atgctatcaa tcacgattct gtttctgctc atagcagagg gttcctctca gaattacaca  | 60   |
| gggaatcccg tgatatgcct gggacatcat gccgtatcca atgggacaat ggtgaaaacc  | 120  |
| ctgactgatg accaagtaga agttgtcact gccaagaat tagtggaatc gcaacatcta   | 180  |
| ccggagttgt gtcctagccc ttttaagatta gtagatggac aaacttgtga catcgtcaat | 240  |
| ggtgccttgg ggagtccagg ctgtgatcac ttgaatggtg cagaatggga tgtcttcata  | 300  |
| gaacgaccca ctgctgtgga cacttggtat ccatttgatg tgccggatta ccagagccta  | 360  |
| cggagtatcc tagcaaacaa tgggaaatth gagttcattg ctgaggaatt ccaatggaac  | 420  |
| acagtcaaac aaaatgggaa atccggagca tgcaaaagag caaatgtgaa tgactttttc  | 480  |
| aacagattga actggctgac caaatctgat gggaatgcat acccacttca aaacctgaca  | 540  |
| aaggttaaca acggggacta tgcaagactt tacatatggg gagttcatca tccttcaact  | 600  |
| gacacagaac aaaccaactt gtataagaac aaccctggga gagtaactgt ttccaccaaa  | 660  |
| accagtcaaa caagtgtggt accaaacatt ggagtagac catgggtaag aggccaaagc   | 720  |
| ggcaggatta gcttctattg gacaattgtg gagccaggag acctcatagt cttcaacacc  | 780  |
| ataggaatt taattgctcc gagaggatcat tacaagctta acagtcaaaa gaagagcaca  | 840  |
| attctgaata ctgcaattcc cataggatct tgtgttagta aatgtcacac agataggggt  | 900  |
| tcaatctcta caaccaaacc ctttcagaac atctcaagaa tatcaattgg ggactgtccc  | 960  |
| aagtatgtca aacagggatc cttgaaacta gctacaggaa tgaggaatat ccctgagaaa  | 1020 |
| gcaaccagag gcctgtttgg tgcaattg                                     | 1048 |

<210> 15

<211> 1707

<212> ADN

5 <213> Virus Influenza A

<400> 15

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| atggagaaaa tagtgcttct tcttgcaata gtcagtcttg ttaaaagtga tcagatttgc  | 60   |
| attggttacc atgcaaacaa ctgcacagag caggttgaca caataatgga aaagaacgtt  | 120  |
| actgttacac atgcccaga catactggaa aagacacaca acgggaaact ctgcgatcta   | 180  |
| gatggagtga agcctctaata tttgagagat tgtagttag ctggatggct cctcggaaac  | 240  |
| cctatgtgtg acgaattcat caatgtgccg gaatggtctt acatagtga gaaggccagt   | 300  |
| ccagccaatg acctctgtta cccaggggat ttcaacgact atgaagaact gaaacaccta  | 360  |
| ttgagcagaa taaccactt tgagaaaatt cagatcatcc ccaaaagttc ttggtccaat   | 420  |
| catgaagcct catcaggggt gagcgagca tgtccatacc atggaagcc ctctttttc     | 480  |
| agaaatgtg tatggcttat caaaaagaac agtgcatacc caacaataaa gaggagctac   | 540  |
| aataatacca accaagaaga tcttttggtta ctgtggggga ttcacatcc taatgatgcg  | 600  |
| gcagagcaga caaagctcta tcaaaacca accacctata tttccgttg aacatcaaca    | 660  |
| ctaaaccaga gattggtccc aaaaatagct actagatcca aagtaaagg gcaaagtga    | 720  |
| agaatggagt tcttctggac aattttaag ccgaatgatg ccataaattt cgagagtaat   | 780  |
| ggaaatttca ttgtccaga atatgcatac aaaattgtca agaaagggga ctcagcaatt   | 840  |
| atgaaaagtg aattggaata tggttaactgc aacaccaagt gtcaaactcc aatgggggcg | 900  |
| ataaactcta gtatgccatt ccacaacata caccctctca caatcgggga atgccccaa   | 960  |
| tatgtgaaat caaacagatt agtccttgcg actggactca gaaatacccc tcaaagagat  | 1020 |
| agaagaaga aaaagagagg actatttga gctatagcag gttttataga gggaggatgg    | 1080 |
| caaggaatgg tagatggtg gtatgggtac caccatagca atgagcaggg gagtggatac   | 1140 |
| gctgcagaca aagaatccac tcaaaaggca atagatggag tcaccaataa ggtcaactcg  | 1200 |
| atcattgaca aaatgaacac tcagtttgag gccgttgga gggaatttaa taacttagaa   | 1260 |
| aggaggatag aaaattttaa caagaagatg gaagacggat tcctagatgt ctggacttat  | 1320 |
| aatgctgaac ttctggttct catggaaaat gagagaactc tagactttca tgattcaa    | 1380 |
| gtcaagaacc ttacaacaa ggtccgacta cagcttaggg ataatgcaa ggagctgggt    | 1440 |
| aatggttgtt tcgagttcta tcacaaatgt gataatgaat gtatggaaag tgtaaaaaac  | 1500 |
| gggacgtatg actaccgca gtattcagaa gaagcaagac taaacagaga ggaaataagt   | 1560 |
| ggagtaaaat tggaatcaat ggaacttac caaatactgt caattttattc aacagtggcg  | 1620 |
| agttccctag cactggcaat catggttagct ggtctatctt tatggatgtg ctccaatggg | 1680 |
| tcgttacaat gcagaatttg catttaa                                      | 1707 |

<210> 16

<211> 1050

<212> ADN

5 <213> Virus Influenza A

<400> 16

```

atgattgcaa tcattgtaat agcgatactg gcagcagccg gaaagtcaga caagatctgc    60

attgggtatc atgccaacaa ttcaacaaca caggtggata cgatacttga gaagaatgta    120
accgtcacac actcagttga attgctggag aatcagaagg aagaagatt ctgcaagatc    180
ttgaacaagg cccctctcga cctaaagga tgcaccatag agggttggat cttggggaat    240
ccccaatgcg atctgttgct tggtgaccaa agctggtcat atatagtga aagacctact    300
gccccaaatg ggatatgcta ccagagagct ttgaatgagg tagaagaact gaaagcattt    360
atcggatcag gagaaaggg agagagattt gagatgtttc ccaaaagcac atgggcaggg    420
gtagacacca gcagtggggt aacaaaagct tgtccttata atagtggttc atctttctac    480
agaaacctcc tatggataat aaagaccaag tcagcagcgt atccagtaat taagggaact    540
tacagcaaca ctggaacca gccaatctc tattctctgg gtgtgcacca tcctcctgac    600
accaatgagc aaaatactct gtatggctct ggcgatcgg atgttaggat gggaaactgag    660
agcatgaatt ttgccaagag ccagaaaatt ggggcaagac ccgctgtgaa tggccaaaga    720
ggtcgaattg attattactg gtctgtttta aaaccaggag aaaccttgaa tgtggaatct    780
aatggaatc taatcgctcc ttggtatgca tacaatttg tcaacacaaa taataaggga    840
gcggtcttca agtcaaatcc accaatcgag aattgcgatg ccacatgcca gactattgca    900
ggagtcctaa ggaaccaata aacatttcag aatgtgagcc ctctgtggat aggagaatgc    960
cccaagtatg tgaagagtga aagtctaagg cttgctactg gactaagaaa tgttccacag   1020
attgaaacca gagggctttt cggagctatc                                1050

```

<210> 17

<211> 1698

<212> ADN

5 <213> Virus Influenza A

<400> 17

```

atggaaaaat tcatcgcaat agcaaccttg gcgagcacia atgcatacga taggatatgc 60
attgggtacc aatcaaacaa ctccacagac acagtgaaca ctctcataga acagaatgta 120
ccagtcaccc aaacaatgga gctcgtggaa acagagaaac atcccgttta ttgtaacact 180
gatttaggtg ccccatggga actgcgagac tgcaagattg aggcagtaat ctatgggaac 240
cccaagtgtg acatccatct gaaggatcaa ggttgggtcat acatagtga gagggccagc 300
gcaccagaag ggatgtgtta ccttggatct gtggaaaatc tagaagaact gaggtttgtc 360
ttctccagtg ctgcatctta caagagaata agactatttg actattccag gtggaatgtg 420
actagatctg gaacgagtaa agcatgcaat gcatcaacag gtggccaatc cttctatagg 480
agcatcaatt ggttgaccaa aaaggaacca gacacttatg acttcaatga aggagcttat 540
gttaataatg aagatggaga catcattttc ttatggggga tccatcatcc gccggacaca 600
aaagagcaga caacactata taaaatgca aacactttga gtagtgttac tactaacact 660
ataaacagaa gctttcaacc aaatattggt cccagaccat tagtaagagg acagcaaggg 720

aggatggatt actattgggg cattctgaaa agaggggaga ctctgaagat caggaccaac 780
ggaaatttaa tcgcacctga atttggtctat ctgctcaaag gtgaaagcta cggcagaata 840
attcaaatg aggatatacc catcgggaaac tgtaacacaa aatgtcaaac atatcgggga 900
gcaatcaata gcagcaaac ctttcagaat gcaagtaggc attacatggg agaatgtccc 960
aaatatgtga agaaggcaag cttgcgactt gcagttgggc ttaggaatac gccttctgtt 1020
gaacccagag gactgttttg agccattgct ggtttcattg aaggaggatg gtctggaatg 1080
attgatgggt ggtatggatt tcatcacagc aattcagagg gaacaggaat ggcagctgac 1140
cagaaatcaa cacaagaagc catcgataag atcaccaata aagtcaacaa tatagttgac 1200
aagatgaaca gggagtgtga agttgtgaat catgagttct ctgaagttga aaaaagaata 1260
aacatgataa acgataaaat agatgaccaa attgaagatc tttgggctta caatgcagag 1320
ctccttgtgc tcttagagaa ccagaaaacg ctagacgaac atgattccaa tgtcaaaaac 1380
ctttttgatg aagtgaaaag gagactgtca gccaatgcaa tagatgctgg gaacggttgc 1440
tttgacatac ttcacaaatg cgacaatgag tgtatggaaa ctataaagaa cgggaacttac 1500
gatcataagg aatatgaaga ggaggctaaa ctagaagga gcaagataaa tggagtataa 1560
ctagaagaga acaccactta caaaattctt agcatttaca gtacagtggc ggccagtctt 1620
tgcttggaac tcttgattgc tggaggttta atcctgggca tgcaaatgg atcttgtaga 1680
tgcatgttct gtatttga 1698

```

<210> 18

<211> 1363

<212> ADN

5 <213> Virus Influenza A

<400> 18

```

atggaacag tatcactaat gactatacta ctagtagcaa cagcaagcaa tgcagacaaa    60
atctgcacgc gccaccagtc aacaaactcc acagaaactg tggacacgct aacagaaacc    120
aatgttcctg tgacacatgc caaagaattg ctccacacag agcacaatgg aatgctgtgt    180
gcaacaaatc tgggacatcc cctaatttta gacacgtgca ctattgaagg actgatctat    240
ggtaaccctt cttgtgactt gctgttggga ggaagagaat ggtcctacat cgtcgaaagg    300
tcatcagctg taaatggaac gtgttaccct ggaatgtag agaacctaga ggaactcagg    360
acacttttta gtccgctag ttctaccoga agaattccaa tcttccaga cacaatctgg    420
aatgtgactt acactggaac aagcaagca tgttcagatt cattctacag gagtatgaga    480
tggctgactc aaaaaagogg gtcttaccct gtccaagacg ctcaatacac aaataatatg    540
ggaaagagca ttcttttctg gtggggcata catcaccac ccactgaagc tgcacagaca    600
aatttgtaca caagaaccga cacaacaaca agcgtgacaa cagaagactt aaataggatc    660
ttcaaacoga tggtagggcc aaggccctt gtcaatggtc tgcagggaag aattaattat    720
tattggtcgg tactaaaacc aggccagaca ctgcgagtaa gatccaatgg gaatctaatt    780

gctccatggt atggacacat tctttcggga gggagccatg gaagaatcct gaagactgat    840
ttaaaaagta gtaattgctg agtgcaatgt cagactgasa aaggcggctt aaacagtaca    900
ttgccgttcc acaatatcag taaatatgca ttggaaaact gtcccaaata tgttagagtt    960
aaaagtctca aactggcagt aggggtgagg aacgtgctg ctagatcaag tagaggacta    1020
ttcggagcca tagctggatt catagaagga ggttggccag gactagtgcg tggttggtat    1080
ggtttccagc attcaaatga tcaaggggtt ggtattgcgg cagataggga ttcaactcaa    1140
aaggcaattg atagaataac aaccaaggtg aataatatag tcgacaaat gaacaaacaa    1200
tatgaaataa ttgatcatga attcagtgag gttgaaacta ggctcaacat gatcaataat    1260
aagattgatg accaaataca agacatatgg gcatataatg cagagttgct agtactactt    1320
gaaaaccaga aaacactcga tgagcatgac gcaaatgtga aga                    1363

```

<210> 19

<211> 1727

<212> ADN

5 <213> Virus Influenza A

<400> 19

```

agcaaaagca ggggtcacaa tgtacaaagt agtagtaata attgcgctcc ttggagcagt      60
gaaaggtctt gacagaatct gcctaggaca ccatgcgggt gccaatggaa ccattgtgaa     120
gacccttaca aatgaacaag aggaagtgac caatgctact gagacggtag agagcacaaa     180
tttgaataaa ttgtgtatga aaggaagaag ctacaaggac ttgggcaatt gtcacccggt     240
aggaatgttg ataggaacac ctgtttgtga tccgcacttg accgggacct gggacactct     300
cattgagcga gagaatgcca ttgccactg ttatccaggg gcaaccataa atgaagaagc     360
attgaggcag aaaataatgy aaagtggagy aatcagcaag atgagcactg gcttcactta     420
tgggtcttcc atcacctcag ctgggaccac taaggcatgc atgagaaatg gaggagatag     480
tttctatgca gagctcaaat ggctagtgtc aaagacaaag ggacaaaatt tccctcagac     540
aacaacacc tatcggaata cggacacagc agaacatctc ataatatggg gaattcatca     600
cccttccagc acacaggaaa agaatgactt atacggaact cagtcactat ctatatcagt     660
tgagagttct acatatcaga acaactttgt tccagttgtt ggggcaagac ctcaggtcaa     720
tggacaaagt gggcgaattg actttcactg gacactagta cagccgggtg acaacataac     780
cttctcagac aatggagggtc taatagcacc aagtcgagtt agcaaattaa ctggaaggga     840
tttgggaatc caatcagaag cgttgataga caacagttgt gaatccaaat gcttttggag     900
agggggttct ataaatacaa agctcccttt tcaaaatctg tcaccacagaa cagtaggtca     960
atgccccaaa tacgtaaatc agaggagttt actgcttgca acagggatga ggaatgtgcc    1020
agaagtgggtg caggaagggt gtctgtttgg tgcaatagca gggttcatag aaaacggatg    1080
ggaaggaatg gtagacgggt ggtatggttt cagacaccaa aatgccaggt gcacaggcca    1140

agctgctgat tacaagagta ctcaagcagc tattgaccaa atcacaggga aactgaacag    1200
gttgattgag aagaccaaca ctgagtttga gtcaatagaa tctgaattca gtgagactga    1260
gcatcaaatt ggtaacgtca ttaattggac caaagattca ataaccgaca tttggactta    1320
caacgcagag ctattagtgg caatggagaa tcagcacaca attgacatgg ctgattcaga    1380
gatgctaaat ctgtatgaaa gggtaagaaa gcaactcaga cagaatgcag aagaagacgg    1440
aaagggatgt tttgagatat atcatacttg tgatgattcg tgcatggaga gtataaggaa    1500
caatacttat gaccattcac aatacagaga ggaggctctt ctgaatagac tgaacatcaa    1560
cccagtgaat ctttcttcggt ggtacaaaga catcatactt tggtttagct tcggggaatc    1620
atgctttgtt cttctagccg ttgttatggg tcttgttttc ttctgcctga aaaatggaaa    1680
catgcgatgc acaatctgta tttagttaaa aacaccttgt ttctact                    1727

```

<210> 20

<211> 1698

5 <212> ADN

<213> Virus Influenza A

<400> 20

```

atggagaaaa cactgctatt tgcagctatt ttcccttctg tgaaagcaga tgagatctgt    60
atcgggtatt taagcaacaa ctgcacagac aaagttgaca caataattga gaacaatgtc    120
acggtcacta gctcagtgga actggttgag acagaacaca ctggatcatt ctgttcaatc    180
aatggaaaac aaccaataag ccttggagat tgttcatttg ctggatggat attaggaaac    240
cctatgtgtg atgaactaat tggaaagact tcatggtctt acattgtgga aaaacccaat    300
ccaacaaatg gaatctgtta ccaggaact ttagagagtg aagaagaact aagactgaaa    360
ttcagtgagg ttttagaatt taacaaatc gaagtattca catcaaatgg atggggtgct    420
gtaaattcag gagtaggagt aaccgctgca tgcaaatcgg ggggttctaa ttctttcttt    480
cgaaacatgg tatggctgat acaccaatca ggaacatata ctgtaataaa gagaaccttt    540
aacaacacca aaggagaga tgtactgatt gtttgggaa ttcacatcc tgctacactg    600
acagaacatc aagatctgta taaaaaggac agtcctatg tagcagtggg ttcagagacc    660
tacaacagaa gattcactcc agaaatcaac actaggccca gagtcaatgg acaggccgga    720
cggatgacat tctactggaa gatagtcaaa ccaggagaat caataacatt cgaatctaatt    780
ggggcgttcc tagtcctag atatgctttt gagattgtct ctgttgaaa tgggaaactg    840
ttcaggagcg aactgaacat tgaatcatgc tctaccaaat gtcaaacaga aataggagga    900
attaatacga acaaaagctt ccacaatgtt cacagaaaca ctatcgggga ttgccccaaag    960
tatgtgaatg tcaaatcctt aaagcttgca acaggaccta gaaatgtccc agcaatagca   1020
tcgagaggct tgtttggagc aatagctgga ttcatagaag ggggatggcc tggactgac   1080
aatggatggt atgggttcca acacagggac gaagaaggaa caggcattgc agcagacaag   1140
gagtcaactc aaaaggcaat agaccagata acatccaagg taataaactat cgttgacagg   1200

atgaatacaa actttgagtc tgtgcaacac gaattcagtg aaatagagga aagaataaat   1260
caattatcaa aacacgtaga tgattctgtg gttgacatct ggtcatataa tgcacagctt   1320
ctogttttac ttgaaaatga gaagacactg gacctccatg actcaaatgt caggaaacctc   1380
catgagaaa gtcagaagaat gctaaaggac aatgccaaag atgaggggaa cggatgcttc   1440
accttttacc ataagtgtga caataaatgc attgaacgag ttagaaacgg aacatatgat   1500
cataaagaat tcgaggagga atcaaaaatc aatcgccagg agattgaagg ggtgaaacta   1560
gattctagt ggaatgtgta taaaatactg tcaatttaca gctgcattgc aagcagtctt   1620
gtattggcag cactcatcat ggggttcatt ttttggcat gcagtaattg atcatgtaga   1680
tgtaccattt gcattttag                                     1698

```

<210> 21

<211> 1695

<212> ADN

5 <213> Virus Influenza A

<400> 21

```

atggaataat tcatcatttt gagtactgtc ttggcagcaa gctttgcata tgacaaaatt 60
tgcattggat accaaacaaa caactcgact gaaacggtaa acacactaag tgaacaaaac 120
gttcoggtga cgcaggtgga agaacttgta catcgtggga ttgatccgat cctgtgtgga 180
acggaactag gatcaccact agtgcttgat gactgttcat tagagggtct aatcctaggc 240
aatcccaaat gtgatcttta tttgaatggc agggaatggt catacatagt agagaggccc 300
aaagagatgg aaggagtttg ctatccaggg tcaattgaaa accaggaaga gctaagatct 360
ctgttttctt ccatcaaaaa atatgaaaga gtgaagatgt ttgatttcac caaatggaat 420
gtcacatata ctgggaccag caaggcctgc aataatacat caaaccaagg ctcatcttat 480
aggagcatga gatggttgac cttaaaatca ggacaatttc cagtccaaac agatgagtac 540
aagaacacca gagattcaga cattgtattc acctgggcca ttcaccaccc accaacatct 600
gatgaacaag taaaattata caaaaatcct gatactctct cttcagtcac cacogtagaa 660
atcaatagga gcttcaagcc taatataggg ccaagaccac tcttgagagg acaacaaggg 720
agaatggatt actactgggc tgttcttaaa cctggacaaa cagtcaaat acaaaccaat 780
ggtaattotta ttgcacctga atatggtcac ttaatcacag ggaatcaca tggcaggata 840
ctcaagaata atttgcccat gggacagtgt gtgactgaat gtcaattgaa cgagggtgta 900
atgaacacaa gcaaaccctt ccagaacact agtaagcact atattgggaa atgccccaaa 960
tacataccat caggaggttt aaaattggca atagggtcca ggaatgtccc acaagttcaa 1020
gatcgggggc tctttggagc aattgcaggt ttcatagaag ggggatggcc agggctagtg 1080
gctggttggc acggatttca gcatcaaat ggggagggga caggcatagc tgcagacaga 1140
gacagcacc c aaagggaat agacaatatg caaaacaaac tcaacaatgt catcgacaaa 1200

atgaataaac aatttgaagt ggtgaatcat gagttttcag aagtggaaag cagaataaac 1260
atgattaatt ccaaaattga tgatcagata actgacatat gggcatacaa tgctgaattg 1320
cttgctctat tggaaaatca gaagacatta gatgagcatg acgctaattg aaggaatcta 1380
catgatcggg tcagaagagt cctgagggaa aatgcaattg acacaggaga cggctgcttt 1440
gagattttac ataaatgtga caacaattgt atggacacga ttagaaacgg gacatacaat 1500
cacaagagat atgaggaaga aagcaaaatc gaacgacaga aagtcaatgg tgtgaaactt 1560
gaggagaatt ctacatataa aattctgagc atctacagca gtgttgcttc aagcttagtt 1620
ctactgctca tgattattgg gggtttcatt ttccgggtgtc aaaatggaaa tgttcgttgt 1680
actttctgta tttaa 1695

```

<210> 22

<211> 1701

<212> ADN

5 <213> Virus Influenza A

<400> 22



|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| atggctctaa atgtcattgc aactttgaca cttataagtg tatgtgtaca tgcagacaga  | 60   |
| atatgcgtgg ggtatctgag caccaattca tcagaaaggg tcgacacgct ccttgaaaat  | 120  |
| ggggtcccag tcaccagctc cattgatctg attgagacaa accacacagg aacatactgt  | 180  |
| tctctaaatg gagtcagtc agtgcatttg ggagattgca gctttgaagg atggattgta   | 240  |
| ggaaaccag cctgcaccag caactttggg atcagagagt ggtcatacct gattgaggac   | 300  |
| cccgcgccc ctcattgggt ttgctaccct ggagaattaa acaacaatgg tgaactcaga   | 360  |
| cacttgttca gtggaatcag gtcattcagt agaacggaat tgatcccacc tacctcctgg  | 420  |
| ggggaagtac ttgacggtac aacatctgct tgcagagata acacgggaac caacagcttc  | 480  |
| tatcgaaatt tagtttggtt tataaagaag aatactagat atccagttat cagtaagacc  | 540  |
| tacaacaata caacgggaag ggtggtttta gttttatggg gaatacatca ccagtgctc   | 600  |
| gtggtatgaga caaagactct gtatgtcaat agtgatccat acacactggg ttccaccaag | 660  |
| tcttgagcgc agaatataa actagaaacg ggagtcogac ctggctataa tggacagagg   | 720  |
| agctggatga aaatttattg gtctttgata catccagggg agatgattac tttcgagagt  | 780  |
| aatggtggat ttttagcccc aagatatggg tacataattg aagaatatgg aaaaggaagg  | 840  |
| attttccaga gtgcacacag aatgtctagg tgcaacacca agtgccagac ttcggttgga  | 900  |
| gggataaaca caaacagaaac gttccaaaac atcgataaga atgctcttgq tgactgtccc | 960  |
| aaatacataa agtctggcca actcaagcta gccactggac tcagaaatgt gccagctata  | 1020 |
| tcgaatagag gattgttcgg agcaattgca gggttcatag aaggaggctg gccaggttta  | 1080 |
| atcaatggtt ggtacggttt tcagcatcaa aatgaacagg gaacaggaat agctgcagac  | 1140 |
| aaagaatcaa cacagaaagc tatagaccag ataacaacca aaataaataa cattattgat  | 1200 |
| aaaatgaatg ggaactatga ttcaattagg ggtgaattca atcaagttga gaagcgtata  | 1260 |
|                                                                    |      |
| aacatgcttg cagacagaat agatgatgcc gtgacggaca tttggtcata caatgccaaa  | 1320 |
| cttcttgat tgctggaaaa tgataaaact ttagatatgc atgatgctaa tgtaagaat    | 1380 |
| ttacatgagc aagtacgaag agaattgaag gacaatgcaa ttgacgaagg aaatggctgt  | 1440 |
| tttgaactcc ttcataaatg caatgactcc tgcatggaaa ctataagaaa tggaaactat  | 1500 |
| gaccacactg agtatgcaga ggagtcaaag ttaaagaggc aagaaatcga tgggatcaaa  | 1560 |
| ctcaaatcag aagacaaagt ttacaaagca ttatcaatat acagttgcat tgcaagtagt  | 1620 |
| gttgtaactag taggactcat actctcttcc atcatgtggg cctgtagtag tgggaattgc | 1680 |
| cgattcaatg tttgtatata a                                            | 1701 |

<210> 23

<211> 1749

5 <212> ADN

<213> Virus Influenza A

<400> 23

```

agcaaaagca ggggaaaatg attgcactca tattgggttg actggetctg agccacactg      60
cttattctca gatcacaaat gggacaacag gaaaccccat tatatgcttg gggcatcatg      120
cagtggaaaa cggcacatct gttaaaacac taacagacaa tcacgtagaa gttgtgtcag      180
ctaaagaatt agttgagacg aaccacactg atgaactgtg cccaagcccc ttgaagcttg      240
tcgacgggca agactgccac ctcatcaatg gtgcattggg gagtccaggc tgtgaccgtt      300
tgcaggacac cacttgggat gtcttcattg aaaggcccac tgcagtagac acatgttatc      360
cattcgacgt ccagattac cagagtctca gaagcatcct agcaagcagt gggagtttg      420
agttcatcgc cgaacaattc acctggaatg gtgtcaaagt tgacggatca agcagtgtt      480
gtttgagggg cggtcgcaac agcttcttct cccgactaaa ctggctaacc aaagcaacaa      540
atggaaacta tggacctatt aacgtcacta aagaaaatac gggctcttat gtcaggctct      600
atctctgggg agtgcacac ccatcaagcg ataatgagca aacggatctc tacaaggtgg      660
caacagggag agtaacagta tctacccgct cggaccaaat cagtattgtt cccaatatag      720
gaagtagacc gagggaag aatcagagcg gcaggataag catctactgg accctagtaa      780
accaggggga ctccatcatt ttcaacagta ttgggaattt gattgcacca agaggccact      840
acaaaataag caaatctact aagagcacag tgcttaaaag tgacaaaagg attgggtcat      900
gcacaagccc ttgcttaact gataaagggt cgatccaaag tgacaaacct tttcagaatg      960
tatcaaggat tgctatagga aactgccga aatatgtaaa gcaagggtcc ctgatgttag     1020
caactggaat gcgcaacatc cctggcaaac aggcaaaggg cttatttggg gcaattgctg     1080
gattcattga aaatggttg caaggcctga ttgatgggtg gtatggattc aggcaccaa     1140
atgctgaagg aacaggaact gctgcagacc tgaagtcaac tcaggcagcc attgatcaga     1200
taaattggcaa gctgaacaga ttgatagaga agacaaatga aaaatatcac caaatagaaa     1260

aggaattcga acaggtggaa ggaagaatac aagacctga gaagtacgtt gaggacacta     1320
agattgattt gtgtcatac aatgctgaat tgctagtagc actagagaat cagcacacaa     1380
tagatgtcac agactccgaa atgaacaagc tttttgaaag agtaagaagg caattaagag     1440
agaatgcaga agatcaaggc aacggttgtt tcgagatatt ccatcagtgt gacaacaatt     1500
gtatagaaag cattagaaac ggaacttatg accacaacat ctacagggat gaagccatca     1560
acaatcgaat caaaataaat cctgtcactt tgacgatggg gtacaaggac ataatcctgt     1620
ggatttcttt ctccatgtca tgctttgtct tcgtggcact gattctggga tttgttctat     1680
gggcttgtca aaacgggaat atccgatgcc aaatctgtat ataaagaaaa aacacccttg     1740
tttctactc                                     1749

```

<210> 24

<211> 1762

5 <212> ADN

<213> Virus Influenza A

<400> 24

```

agcaaaagca ggggatacaa aatgaacact caaatcatcg tcattctagt cctcggactg      60
togatggtga gatctgacaa gattttgtctc gggcaccatg ccgtagcaaa tgggacaaaa      120
gtcaacacac taactgagaa aggagtggaa gtggtcaatg ccacggagac agtggagatt      180
acaggaataa ataaagtgtg cacaaaaggg aagaaagcgg tggacttggg atcttgtgga      240
atactgggaa ctatcattgg gcctccacaa tgtgactctc atcttaaatt caaagctgat      300
ctgataatag aaagaagaaa ttcaagtgac atctgttacc cagggaaatt cactaatgag      360
gaagcactga gacaaataat cagagaatct ggtggaattg acaaagagcc aatgggattt      420
agatattcag gaataaaaaac agacggggca accagtgcgt gtaagagaac agtgtcctct      480
ttctactcag aaatgaaatg gcttttatcc agcaaggcta accaggtgtt cccacaactg      540
aatcagacat acaggaacaa cagaaaagaa ccagccctaa ttgtttgggg agtacatcat      600
tcaagttcct tggatgagca aaataagcta tatggagctg ggaacaagct gataacagta      660
ggaagctcaa aataccaaca atcgttttca ccaagtccag gggacaggcc caaagtgaat      720
ggtcaggccg ggaggatcga ctttcattgg atgctattgg acccagggga tacagtcact      780
tttacottca atggtgcatt catagcccca gatagagcca cttttctccg ctctaattgc      840
ccatcgggag ttgagtacaa tgggaagtca ctgggaatac agagtgatgc acaaattgat      900
gaatcatgtg aaggggaatg cttctacagt ggagggacaa taaacagccc tttgccattt      960
caaaacatcg atagtgggc tgtcgggaag tgccccagat atgtaaagca atcaagcctg     1020
ccgctggcct taggaatgaa aaatgtacca gagaaaatac atactagggg actgttcggg     1080
gcaattgcag gattcatcga gaatggatgg gaaggactca ttgatggatg gtatggattt     1140
aggcatcaaa atgcacaggg gcaggggaaca gctgctgact acaagagtac tcaggctgca     1200
attgaccaga taacagggaa acttaantaga ttaattgaaa aaaccaacac acagtttgaa     1260

ctcatagaca atgagttcac tgaagtggag cagcagatag gcaatgtaat aaactggaca     1320
agggactcct tgactgagat ctggtcatac aatgctgaac ttctagtagc aatggaaaat     1380
cagcatacaa ttgacctgac agattctgaa atgaacaaac totatgagag agtgagaaga     1440
cagctaaggg agaatgccga ggaggatgga actggatgtt ttgagatttt ccaccgatgt     1500
gacgatcaat gtatggagag catacgaaat aatacttaca atcacactga atatcgacag     1560
gaagccttac agaataggat aatgatcaat ccggtaaago ttagtgggtg gtacaaagat     1620
gtgatactat ggtttagctt cggggcatca tgtgtaatgc ttctagccat tgctatgggt     1680
cttattttca tgtgtgtgaa aaacgggaat ctgcgggtgca ctatctgtat ataattattt     1740
gaaaaacacc cttgtttcta ct                                             1762

```

&lt;210&gt; 25

&lt;211&gt; 1760

5 &lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Virus Influenza A

&lt;400&gt; 25

# ES 2 554 703 T3

```

agcaaaagca ggggatattg tcaaaacaac agaatggtga tcaaagtgct ctactttctc 60
atcgtattgt taagtaggta ttcgaaagca gacaaaatat gcataggata tctaagcaac 120
aacgccacag acacagtaga cacactgaca gagaacggag ttccagtgc cagctcagtt 180
gatctcgttg aaacaaacca cacaggaaca tactgctcac tgaatggaat cagcccaatt 240
catcttggtg actgcagctt tgagggatgg atcgtaggaa acccttcctg tgccaccaac 300
atcaacatca gagagtggtc gtatctaatt gaggacccca atgcccccaa caaactctgc 360
ttcccaggag agttagataa taatggagaa ttacgacatc tcttcagcgg agtgaactct 420
tttagcagaa cagaattaat aagtcccaac aaatggggag acattctgga tggagtcacc 480
gcttcttgcc gcgataatgg ggcaagcagt ttttacagaa atttggtctg gatagtgaag 540
aataaaaatg gaaaataccc tgtcataaag ggggattaca ataacacaac aggcagagat 600
gttctagtag tctggggcat tcaccatccg gatacagaaa caacagccat aaacttgtag 660
gcaagcaaaa acccctacac attagtatca acaaaggaat ggagcaaaag atatgaacta 720
gaaattggca ccagaatagg tgatggacag agaagttgga tgaaactata ttggcacctc 780
atgcgccctg gagagaggat aatgtttgaa agcaacgggg gccttatagc gccagatac 840
ggatacatca ttgagaagta cgttacagga cgaattttcc aaagtggagt gagaatggcc 900
aaatgcaaca caaagtgtca aacatcatta ggtgggataa acaccaacaa aactttccaa 960
aacatagaga gaaatgctct tggagattgc ccaaagtaca taaagtctgg acagctgaag 1020
cttgcaactg ggctgagaaa tgtcccatcc gttggtgaaa gaggtttgtt tgggtgcaatt 1080
gcaggcttca tagaaggagg gtggcctggg ctaattaatg gatggtatgg tttccagcat 1140
cagaatgaac aggggactgg cattgctgca gacaaagcct ccactcagaa agcgatagat 1200

gaaataacaa caaaaattaa caatataata gagaagatga acggaaacta tgattcaata 1260
agaggggaat tcaatcaagt agaaaagagg atcaacatgc tcgctgatcg agttgatgat 1320
gcagtaactg acatatggtc gtacaatgct aaacttcttg tactgcttga aaatgggaga 1380
acattggact tacacgacgc aaatgtcagg aacttacacg atcagggtcaa gagaatattg 1440
aaaagtaatg ctattgatga aggagatggt tgcttcaatc ttcttcacaa atgtaatgac 1500
tcatgcatgg aaactattag aaatgggacc tacaatcatg aagattacag ggaagaatca 1560
caactgaaaa ggcaggaaat tgagggaata aaattgaagt ctgaagacaa tgtgtataaa 1620
gtactgtcga tttatagctg cattgcaagc agtattgtgc tggtaggtct catacttgcg 1680
ttcataatgt gggcatgcag caatggaaat tgccggttta atgtttgtat atagtcggaa 1740
aaaataccct tgtttctact 1760

```

<210> 26

<211> 1882

5 <212> ADN

<213> Virus Influenza B

<400> 26

```

agcagaagcg ttgcattttc taatatccac aaaatgaagg caataattgt actactcatg 60
gtagtaacat ccaatgcaga togaatctgc actgggataa catcgtcaaa ctcacctcat 120
gtgggttaaaa ctgccactca aggggaagtc aatgtgactg gtgtgatacc actaacaaca 180
acacctacca aatctcattt tgcaaatctc aaaggaacac agaccagagg aaaactatgc 240
ccaaactggt ttaactgcac agatctggac gtggccctag gcagaccaa atgcattggg 300
aacacaccct cgcacaaaagt ctcaatactc catgaagtca aacctgctac atctggatgc 360
tttctataa tgcacgacag aacaaaaatc agacaactac ctaatcttct cagaggatat 420
gaaaacatca ggttatcaac cagtaatggt atcaatacag agacggcacc aggaggaccc 480
tacaaggtgg ggacctcagg atcttgcctt aacgttgcta atgggaacgg cttcttcaac 540
acaatggctt ggggttatccc aaagacaac aacaagacag caataaatcc agtaacagta 600
gaagtaccat acatttggtc agaaggggaa gaccaaatta ctgtttgggg gttccactct 660
gatgacaaaa cccaaatgga aagactctat ggagactcaa atcctcaaaa gttcacctca 720
tctgccaatg gagtaaccac acattatggt tctcagattg gtggcttccc aaatcaaaca 780
gaagacgaag ggctaaaaca aagcggcaga attgttgttg attacatggt acaaaaacct 840
ggaaaaacag gaacaattgt ttatcaaaga ggcattttat tgcctcaaaa agtgtggtgc 900
gcaagtggca ggagcaaggt aataaaaggg tccttgctt taattggtga agcagattgc 960
ctccacgaaa agtacgggtg attaaataaa agcaagcctt actacacagg agagcatgca 1020
aaggccatag gaaattgccc aatatgggtg aaaaaccctt tgaagctggc caatggaacc 1080
aaatatagac cgcctgcaaa actattaaag gaaagaggtt tcttcggagc tattgctggt 1140
ttcttggaag gaggatggga aggaatgatt gcaggttggc acggatacac atctcatgga 1200

gcacatggag tggcagtggc agcagacctt aagagtacac aagaagctat aaacaagata 1260
acaaaaatc tcaactatit aagtgaacta gaagtaaaaa accttcaaag actaagcgga 1320
gcaatgaatg agcttcacga cgaaatactc gagctagacg aaaaagtgga tgatctaaga 1380
gctgatacaa taagctcaca aatagagctt gcagtcttgc tttccaacga agggataata 1440
aacagtgaag atgagcatct cttggcactt gaaagaaaac tgaagaaaat gcttggcccc 1500
tctgctgtag aaataggga tgggtgcttt gaaaccaaac acaaatgcaa ccagacttgc 1560
ctagacagga tagctgctgg caoctttaat gcaggagatt tttctcttcc cacttttgat 1620
tcattaaaca ttactgctgc atctttaaat gatgatggct tggataatca tactatactg 1680
ctctactact caactgctgc ttctagcttg gctgtaacat taatgatagc tatcttcatt 1740
gtctacatgg tctccagaga caatgtttct tgttccatct gtctgtgagg gagattaagc 1800
cctgtgtttt cctttactgt agtgctcatt tgcttgtcac cattacaaag aaacgttatt 1860
gaaaaatgct cttgttacta ct 1882

```

<210> 27

<211> 2073

5 <212> ADN

<213> Virus influenza C

<400> 27

```

agcagaagca ggggggtaat aatgtttttc tcattactct tgggtgtggg cctcacagag    60
gctgaaaaaa taagatatg ccttcaaaag caagtgaaca gtagcttcag cctacacaat    120
ggcttcggag gaaatttcta tgccacagaa gaaaaaagaa tgtttgagct tgttaagccc    180
aaagctggag cctctgtctt gaatcaaagt acatggattg gctttggaga ttcaaggact    240
gacaaaagca attcagcttt tcctaggtct gctgatgttt cagcaaaaac tgcgtgataag    300
tttcgttttt tgtctgggtg atccttaatg ttgagtatgt ttggcccacc tgggaaggta    360
gactaccttt accaaggatg tggaaaacat aaagtttttt atgaaggagt taactggagt    420
ccacatgctg ctataaattg ttacagaaaa aattggactg atatcaaact gaatttcag    480
aaaaacattt atgaattggc ttcaaatca cattgcatga gcttggtgaa tgctttggac    540
aaaaatattc ctttacaagt gactgctggg actgcaggaa attgcaacaa cagcttctta    600
aaaaatccag cattgtacac acaagaagtc aagccttcag aaaacaaatg tgggaagaa    660
aatcttgctt tcttcacact tccaacccaa tttggaacct atgagtgcaa actgcatctt    720
gtggcttctt gctatttcat ctatgatagt aaagaagtgt acaataaaag aggatgtgac    780
aactactttc aagtgatcta tgattcattt ggaaaagtcg ttggaggact agataacagg    840
gtatcacctt acacagggaa ttctggagac accccaacaa tgcaatgtga catgctccag    900
ctgaaacctg gaagatatte agtaagaagc totccaagat tctttttaat gcctgaaaga    960
agttattgct ttgacatgaa agaaaaagga ccagtcactg ctgtccaate catttgggga   1020

aaaggcagag aatctgacta tgcagtggat caagcttgct tgagcactcc aggggtgcatg   1080
ttgatccaaa agcaaaagcc atacattgga gaagctgatg atcaccatgg agatcaagaa   1140
atgagggagt tgctgtcagg actggactat gaagctagat gcatatcaca atcagggtgg   1200
gtgaatgaaa ccagtccttt tacggagaaa tacctccttc ctcccaaatt tggaaatgc   1260
cctttggctg caaaggaaga atccattcca aaaatcccag atggccttct aattcccacc   1320
agtggaaacc ataccactgt aaccaaacct aagagcagaa tttttggaat cgatgacctc   1380
attattgggt tgctctttgt tgcaatcgtt gaaacaggaa ttggaggcta tctgcttggg   1440
agttagaaaag aatcaggagg aggtgtgaca aaagaatcag ctgaaaaagg gtttgagaaa   1500
atttgaaatg acatacaaat tttaaaatct tctataaata tcgcaataga aaaactaat   1560
gacagaattt ctcatgatga gcaagccatc agagatctaa ctttagaaat tgaaaatgca   1620
agatctgaag ctttattggg agaattggga ataataagag ccttattggt aggaaatata   1680
agcataggat tacaggaatc tttatgggaa ctgcttcag aaataacaaa tagagcagga   1740
gatctagcag ttgaagtctc cccaggttgc tggataattg acaataacat ttgtgatcaa   1800
agctgtcaaa attttatttt caagttcaac gaaactgcac ctgttccaac cattccccct   1860
cttgacacaa aaattgatct gcaatcagat cctttttact ggggaagcag cttgggctta   1920
gcaataactg ctactatttc attggcagct ttggtgatct ctgggatcgc catctgcaga   1980
actaaatgat tgagacaatt ttgaaaaatg gataatgtgt tggccaatat ttgtacagt   2040
tttataaaaa acaaaaatcc ccttgctact gct                                     2073

```

<210> 28

<211> 1670

5 <212> ADN

<213> Virus influenza A

<400> 28

```

agatcttcgc tgacacaata tgtataggct accatgccaa caactcaacc gacactgttg      60
acacagtact tgagaagaat gtgacagtga cacactctgt caacctactt gaggacagtc     120
acaatggaaa actatgtcta ctaaaaggaa tagcccccact acaattgggt aattgcagcg     180
ttgccggatg gatcttagga aaccagaat gcgaattact gatttccaag gaatcatggt     240
cctacattgt agaaacacca aatcctgaga atggaacatg ttaccagggt tatttcgccg     300
actatgagga actgaggagg caattgagtt cagtatcttc atttgagaga ttcgaaatat     360
tccccaaaga aagctcatgg cccaaccaca ccgtaaccgg agtatcagca tcatgctccc     420
ataatgggaa aagcagtttt tacagaaatt tgctatggct gacggggaag aatggtttgt     480
acccaaacct gagcaagtcc tatgtaaaca acaaagagaa agaagtcctt gtactatggg     540
gtgttcatca cccgcctaac ataggggaacc aaagggcact ctatcataca gaaaatgctt     600
atgtctctgt agtgtcttca cattatagca gaagattcac cccagaaata gccaaaagac     660
ccaaagtaag agatcaggaa ggaagaatca actactactg gactctgctg gaacctgggg     720

atacaataat atttgaggca aatggaaatc taatagcgcc atggtatgct tttgactga      780
gtagaggcct tggatcagga atcatcacct caaatgcacc aatggatgaa tgtgatgcga     840
agtggtcaaac acctcaggga gctataaaca gcagtcttcc tttccagaat gtacaccag     900
tcacaatagg agagtgtcca aagtatgtca ggagtgcata attaaggatg gttacaggac     960
taaggaacat cccatccatt caatccagag gtttgtttgg agccattgcc ggtttcattg    1020
aaggggggtg gactggaatg gtagatgggt ggtatgggta tcatcatcag aatgagcaag    1080
gatctggcta tgctgcagat caaaaaagta caaaaaatgc cattaacggg attacaaaca    1140
aggtcaattc tgtaattgag aaaatgaaca ctcaattcac agctgtgggc aaagagttca    1200
acaaattgga aagaaggatg gaaaacttaa ataaaaaagt tgatgatggg tttctagaca    1260
tttggacata taatgcagaa ttgttggttc tactggaaaa tgaaaggact ttggatttcc    1320
atgactccaa tgtgaagaat ctgtatgaga aagtaaaaag ccaattaaag aataatgcc    1380
aagaaatagg aaacgggtgt tttgagttct atcacaagtg taacaatgaa tgcattggaga    1440
gtgtgaaaaa tggtagctat gactatccaa aatattccga agaatacaag ttaaacaggg    1500
agaaaattga tggagtgaat ttggaatcaa tgggagtata ccagattctg gcgatctact    1560
caactgtcgc cagtccctg gttcttttgg tctccctggg ggcaatcagc ttctggatgt    1620
gttccaatgg gtctttgcag tgtagaatat gcactaaga gctcaggcct                    1670

```

<210> 29

5 <211> 32

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cebador Xmal-pPlas.c

10 <400> 29

agttccccgg gctggtatat ttatatgttg tc 32

<210> 30  
 <211> 46  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 5 <220>  
 <223> SacI-ATG-pPlas.r  
 <400> 30  
 aatagagctc cattttctct caagatgatt aattaattaa ttagtc 46  
 <210> 31  
 10 <211> 46  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> SacI-PlasTer.c  
 15 <400> 31  
 aatagagctc gttaaaatgc ttcttcgtct cctatttata atatgg 46  
 <210> 32  
 <211> 48  
 <212> ADN  
 20 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> EcoRI-PlasTer.r  
 <400> 32  
 ttacgaattc tccttcctaa ttggtgtact atcatttacc aaagggga 48  
 25 <210> 33  
 <211> 1711  
 <212> ADN  
 <213> Virus Influenza A  
 <400> 33



```

atgaaagcaa aactactggt cctgttatgt acatttacag ctacatatgc agacacaata    60
tgtataggct accatgccaa caactcaacc gacactgttg acacagtact tgagaagaat    120
gtgacagtga cacactctgt caacctactt gaggacagtc acaatggaaa actatgtcta    180
ctaaaaggaa tagccccact acaattgggt aattgcagcg ttgocggatg gatcttagga    240
aaccacagaat gcgaattact gatttccaag gaatcatggt cctacattgt agaaacacca    300
aatcctgaga atggaacatg ttaccacaggg tatttcgccc actatgagga actgagggag    360
caattgagtt cagtatcttc atttgagaga ttogaaatat tccccaaaga aagctcatgg    420
ccccaccaca ccgtaaccgg agtatcagca tcatgctccc ataatgggaa aagcagtttt    480
tacagaaatt tgctatggct gacggggaag aatggtttgt acccaaacct gagcaagtcc    540
tatgtaaaca acaagagaga agaagtcctt gtactatggg gtgttcatca ccgcctaac    600
ataggaacc aaagggccct ctatcataca gaaaatgctt atgtctctgt agtgtcttca    660
cattatagca gaagattcac ccagaaaata gccaaaagac ccaaagtaag agatcaggaa    720
ggaagaatca actactactg gactctgctg gaacctgggg atacaataat atttgaggca    780
aatggaaatc taatagggcc atggtatgct ttgcaactga gtagaggctt tggatcagga    840
atcatcacct caaatgcacc aatggatgaa tgtgatgcca agtgtcaaac acctcagga    900
gctataaaca gcagtcttcc ttccagaaat gtacaccagc tcacaatagg agagtgtcca    960
aagtatgtca ggagtgcaca attaaggatg gttacaggac taaggaacat cccatccatt   1020
caatccagag gtttgtttgg agccattgcc ggtttcattg aaggggggtg gactggaatg   1080
gtataggggt ggtatggtta tcatcatcag aatgagcaag gatctggcta tgctgcagat   1140
caaaaaagta cacaaaatgc cattaacggg attacaaaca aggtgaattc tgtaattgag   1200
aaaatgaaca ctcaattcac agctgtgggc aaagaattca acaaatgga aagaaggatg   1260
gaaaacttaa ataaaaaagt tgatgatggg ttctagaca ttggacata taatgcagaa   1320
ttgttgggtc tactggaaaa tgaaaggact ttggatttcc atgactccaa tgtgaagaat   1380
ctgtatgaga aagtaaaaag ccaattaaag aataatgcc aagaatagg aaacgggtgt   1440

tttgaattct atcacaagtg taacaatgaa tgcattgaga gtgtgaaaaa tggaaacttat   1500
gactatccaa aatattccga agaatacaag ttaaacaggg agaaaattga tggagtgaat   1560
ttggaatcaa tgggagtcta tcagattctg gcgatctact caactgtcgc cagttccctg   1620
gttcttttgg tctccctggg ggcaatcagc ttctggatgt gttccaatgg gtctttgcag   1680
tgtagaatat gcattctgaga ccagaatttc a                                1711

```

<210> 34

<211> 1781

<212> ADN

5 <213> Medicago sativa

<400> 34

```

ccaaatcctt aacattcttt caacaccaac aatggcgaaa aacgttgoga ttttcggttt    60
attgttttct cttcttctgt tggttccttc tcagatcttc gctgaggaat catcaactga    120
cgctaaggaa tttgttctta cattggataa cactaatttc catgacactg ttaagaagca    180
cgatttcate gtcgttgaat tctacgcacc ttggtgtgga cactgtaaga agctagcccc    240
agagtatgag aaggctgctt ctatcttgag cactcaogag ccaccagtgt ttttggctaa    300
agttgatgcc aatgaggagc acaacaaaga cctcgcatcg gaaaatgatg ttaagggtatt    360
cccaaccatt aagattttta ggaatggtgg aaagaacatt caagaatata aaggtccccc    420
tgaagctgaa ggtattgttg agtatttgaa aaaacaaagt ggccctgcat ccacagaaat    480
taaatctgct gatgatgaga ccgcttttgt tggtgacaac aaagttgtta ttgtcggagt    540
tttccctaaa tttctgggtg aggagtacga taacttcatt gcattagcag agaagttgcg    600
ttctgactat gactttgctc acactttgaa tgccaaacac ctcccaaagg gagactcatc    660
agtgtctggg cctgtggtta gggtatttaa gccatttgac gagctctttg ttgactcaaa    720
ggatttcaat gtagaagctc tagagaaatt cattgaagaa tccagtaccc caattgtgac    780
tgtcttcaac aatgagccta gcaatcacc ctttgttgtc aaattcttta actctcccaa    840
cgcaaaggct atgttgttca tcaactttac taccgaaggt gctgaatctt tcaaaacaaa    900
ataccatgaa gtggctgagc aatacaaaac acagggaggt agctttcttg ttggagatgt    960
tgagtctagt caaggtgcct tccagtattt tggactgaag gaagaacaag taacctctaat   1020
tattattcag cataatgatg gcaagaagtt ttcaaacc c aatttggaac ttgatcaact   1080
cccaacttgg ttgaaggcat acaaggatgg caaggttgaa ccatttgtca agtctgaacc   1140
tattctgaa actaacaacg agcctgttaa agtgggtggt gggcaaacctc ttgaggacgt   1200
tgttttcaag tctgggaaga atgttttgat agagttttat gctccttggg gtggtcactg   1260
caagcagttg gtcocaaatct tggatgaagt tgctgtctca ttccaaagcg atgctgatgt   1320
tgttattgca aaactggatg caactgccaa cgatatccca accgacacct ttgatgtcca   1380
aggctatcca acctgtact tcaggtcagc aagtggaaaa ctatcacaat acgacggtgg   1440

taggacaaag gaagacatca tagaattcat tgaaaagaac aaggataaaa ctggtgctgc   1500
tcataagaa gtagaacaac caaaagctgc tgctcagcca gaagcagaac aacaaaaaga   1560
tgagctttga aaagttccgc ttggaggata tcggcacaca gtcactctgcg ggctttacaa   1620
ctcttttgta tctcagaatc agaagttagg aaactctagt gccaatctat ctatttttgc   1680
gtttcatttt atctttttgg ttactctaa tgtattactg aataatgtga gttttggcgg   1740
agtttagtac tggaactttt gtttctgtaa aaaaaaaaaa a                               1781

```

<210> 35

<211> 1027

<212> ADN

5 <213> Virus Influenza A

<400> 35

```

agcgaaagca ggtagatatt gaaagatgag tcttctaacc gaggtcgaaa cgtacgttct    60
ctctatcacc ccgtcaggcc cctcctaaagc cgagatcgca cagagacttg aagatgtctt    120
tgcagggaag aacaccgatc ttgagggtct catggaatgg ctaaagacaa gaccaatcct    180
gtcacctctg actaagggga ttttaggatt tgtgttcaag ctacccgtgc ccagtgaagc    240
aggactgcag cgtagaagct ttgtccaaaa tgccttaaat gggaacgggg atccaaataa    300
catggacaaa gcagtttaac tgtataggaa gctcaagagg gagataacat tccatggggc    360
caaagaaatc tcactcagtt attctgctgg tgcacttgcg agttgtatgg gcctcatata    420
caacaggatg ggggctgtga ccactgaagt ggcatttggc ctggtatgtg caacctgtga    480
acagattgct gactccagc atcgggtctc taggcaaatg gtgacaacaa ccaaccact    540
aatcagacat gagaacagaa tggttttagc cagcactaca gctaaggcta tggagcaaat    600
ggctggatcg agtgagcaag cagcagaggc catggaggtt gctagtccag ctaggcaaat    660
ggtgcaagcg atgagaacca ttgggactca tctagctcc agtgctggtc tgaaaaatga    720
tcttcttgaa aatttgcagg cctatcagaa acgaatggg gtgcagatgc aacggttcaa    780
gtgatcctct cgtatttgc gcaaatatca ttgggatctt gcacttgata ttgtggatc    840
ttgatcgtct ttttttcaaa tgcatttacc gtcgctttaa atacggactg aaaggagggc    900
cttctacgga aggagtgcc aagtcctatg gggaagaata tcgaaaggaa cagcagagtg    960
ctgtggatgc tgacgatggt cattttgtca gcatagagct ggagtaaaaa actacettgt   1020
ttctact                                     1027

```

<210> 36

<211> 1788

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 774 de A/Brisbane/59/2007

<400> 36

```

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caagagaag agactaatta    60

```

attaattaat catcttgaga gaaaatgaaa gtaaaactac tggctcctgtt atgcacattt 120  
 acagctacat atgcagacac aatatgtata ggctaccatg ctāacaactc gaccgacact 180  
 gttgacacag tacttgaaaa gaatgtgaca gtgacacact ctgtcaacct gcttgagaac 240  
 agtcacaatg gaaaactatg tctattaaaa ggaatagccc cactacaatt gggtaattgc 300  
 agcgttgccg ggtggatctt aggaaccca gaatgcgaat tactgatttc caaggagtca 360  
 tggctctaca ttgtagaaaa accaaatcct gagaatggaa catgttacct agggcatttc 420  
 gctgactatg aggaactgag ggagcaattg agttcagtat ctctatttga gaggttcgaa 480  
 atattcccca aagaaagctc atggcccaac cacaccgtaa coggagtgtc agcatcatgc 540  
 tcccataatg gggaaagcag tttttacaga aatttgctat ggctgaoggg gaagaatggt 600  
 ttgtacccaa acctgagcaa gtcttatgca aacaacaaag aaaaagaagt ccttgtacta 660  
 tggggtgttc atcaccgcc aaacataggt gacaaaagg cctctatca tacagaaat 720  
 gcttatgtct ctgtagtgtc ttcacattat agcagaaaat tcaccccaga aatagccaaa 780  
 agacccaaag taagagatca agaaggaaga atcaattact actggactct gcttgaaccc 840  
 ggggatacaa taatatttga ggcaaatgga aatctaatag cgccaagata tgctttcgca 900  
 ctgagtagag gctttggatc aggaatcctc aactcaaatg caccaatgga taaatgtgat 960  
 gogaagtgc aaacacctca gggagctata aacagcagtc ttctttcca gaacgtacac 1020  
 ccagtcacaa taggagagtg tccaaagtat gtcaggagtg caaaattaag gatggttaca 1080  
 ggactaagga acatccctc cattcaatcc agaggttgt ttggagccat tgccggtttc 1140  
 attgaagggg ggtggactgg aatggtagat ggttggtatg gttatcatca tcagaatgag 1200  
 caaggatctg gctatgctgc agatcaaaaa agcacacaaa atgccattaa tgggattaca 1260  
 aacaaggtca attctgtaat tgagaaaatg aacactcaat tcacagcagt gggcaagag 1320  
 ttcaacaaat tggaaagaag gatggaaaac ttgaataaaa aagttgatga tgggtttata 1380  
 gacatttga catataatgc agaactgtt gttctactgg aaatgaaag gactttggat 1440  
 ttccatgact ccaatgtgaa gaatctgtat gagaaagtaa aaagccagtt aaagaataat 1500  
 gctaaagaaa taggaatgg gtgttttgag ttctatcaca agtgtaacga tgaatgcatg 1560  
 gagagtgtaa agaatggaac ttatgactat ccaaaatatt ccgaagaatc aaagttaaac 1620  
 agggagaaaa ttgatggagt gaaattggaa tcaatgggag tctatcagat tctggcgatc 1680  
 tactcaacag tcgccagttc tetggtctt ttggtctccc tgggggcaat cagcttctgg 1740  
 atgtgttcca atgggtcttt acagtgtaga atatgcatct aagagctc 1788

<210> 37

<211> 1788

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 775 de A/Isas Salomón 3/2006

<400> 37

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta 60  
 attaattaat catcttgaga gaaaatgaaa gtaaaactac tggctcctgtt atgcacattt 120  
 acagctacat atgcagacac aatatgtata ggctaccatg ccaacaactc aaccgacact 180  
 gttgacacag tacttgagaa gaatgtgaca gtgacacact ctgtcaacct gcttgaggac 240  
 agtcacaatg gaaaattatg tctattaaaa ggaatagccc cactacaatt gggtaattgc 300  
 agcgttgccg gatggatctt aggaaccca gaatgcgaat tactgatttc cagggaatca 360  
 tggctcctaca ttgtagaaaa accaaatcct gagaatggaa catgttaccg agggcatctc 420  
 gccgactatg aggaactgag ggagcaattg agttcagtat cttcatctga gagattcgaa 480  
 atattcccca aagaagctc atggcccaac cacaccacaa ccggagtatc agcatcatgc 540  
 tcccataatg gggaaagcag tttttacaaa aatttgctat ggctgacggg gaagaatggt 600  
 ttgtacccaa acctgagcaa gtcctatgca aacaacaaag agaaagaagt ccttgacta 660  
 tgggggtgttc atcaccgcc taacataggt gaccaaaggg ctctctatca taaagaaaat 720  
 gcttatgtct ctgtagtgc ttcacattat agcagaaaat tcaccccaga aatagccaaa 780  
 agacccaaag taagagatca agaaggaaga atcaactact actggactct acttgaaccc 840  
 ggggatacaa taatatttga ggcaaatgga aatctaatag cgccaagata tgctttcgca 900  
 ctgagtagag gctttggatc aggaatcatc aactcaaag caccaatgga tgaatgtgat 960  
 gcgaagtgcc aaacacctca gggagctata aacagcagtc ttcctttcca gaatgtacac 1020  
 cctgtcacia taggagagtg tccaaagtat gtcaggagtg caaaattaag gatggttaca 1080  
 ggactaagga acatcccatc cattcaatcc agaggtttgt ttggagccat tgccggtttc 1140  
 attgaagggg ggtggactgg aatggtagat ggttggtagt gttatcatca tcagaatgag 1200  
 caaggatctg gctatgctgc agatcaaaaa agcacacaaa atgccattaa tgggattaca 1260  
 aacaaggatc attctgtaat tgagaaaatg aacactcaat tcacagctgt gggcaaagag 1320  
 ttcaacaaat tggaagaag gatggaaaac ttaataaaa aagttgatga tgggtttata 1380  
 gacatttga catataatgc agaattgttg gttctactgg aaaatgaaag gactttggat 1440  
 ttccatgact ccaatgtgaa gaatctgtat gagaagtaa aaagccaatt aaagaataat 1500  
 gccaaagaaa taggaaatgg gtgttttgag ttctatcata agtgtaacga tgaatgcagt 1560  
 gagagtgtaa aaaatggaac ttatgactat ccaaaatatt ccgaagaatc aaagttaaac 1620  
 agggagaaaa ttgatggagt gaaattggaa tcaatgggag tctatcagat tctggcgatc 1680  
 tactcaacag tcgccagttc tctggttctt ttggtctccc tgggggcaat cagcttctgg 1740  
 atgtgttcca atgggtcttt gcagtgtaga atatgcattc gagagctc 1788

<210> 38

<211> 1791

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 776 de A/Brisbane 10/2007

<400> 38

```

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta 60
attaattaat catcttgaga gaaaatgaag actatcattg ctttgagcta cattctatgt 120
ctggttttca ctcaaaaact tcccggaat gacaacagca cggcaacgct gtgccttggg 180
caccatgcag taccaaaacg aacgatagtg aaaacaatca cgaatgacca aattgaagtt 240
actaatgcta ctgagctggt tcagagttcc tcaacaggtg aaatatgcga cagtccctcat 300
cagatccctg atggagaaaa ctgcacacta atagatgctc tattgggaga ccctcagtgt 360
gatggcttcc aaaataagaa atgggacctt tttgttgaa gcagcaaacg ctacagcaac 420
tgttaccctt atgatgtgcc ggattatgcc tcccttaggt cactagttgc ctcatccggc 480
acactggagt ttaacaatga aagtttcaat tggactggag tcactcaaaa cggaacaagc 540
tctgcttgca taaggagatc taataacagt ttctttagta gattgaattg gttgacccac 600
ttaaatttca aatcccagc attgaacgtg actatgccaa acaatgaaa atttgacaaa 660
ttgtacattt ggggggttca ccaccgggt acggacaatg accaaatctt cctgtatgct 720
caagcatcag gaagaatcac agtctctacc aaaagaagcc acaaaactgt aatccogaat 780
atcggatcta gaccagagt aaggaatata ccagcagaa taagcatcta ttggacaata 840
gtaaaaccgg gagacatact tttgattaac agcacaggga atctaattgc tccatggggt 900
tacttcaaaa tacgaagtgg gaaaagctca ataagagat cagatgcacc cattggcaaa 960
tgcaattctg aatgcatcac tccaaacgga agcattccca atgacaacc attccaaaat 1020
gtaaacagga tcacatacgg ggctgtccc agatatgta agcaaaacac tctgaaattg 1080
gcaacaggga tgcgaaatgt accagagaaa caaactagag gcatatttgg cgcaatcgcg 1140
ggtttcatag aaaatggtt ggaggggaatg gtggatggtt ggtatggtt caggcatcaa 1200
aattctgagg gaataggaca agcagcagat ctcaaaagca ctcaagcagc aatcgatcaa 1260
atcaatggga agctgaatag gttgatcggg aaaaccaacg agaaattcca tcagattgaa 1320
aaagagttct cagaagtcga agggagaatc caggaccttg agaaatatgt tgaggacacc 1380
aaaatagatc tctggtcata caacggcgag cttcttgttg ccctggagaa ccaacataca 1440
attgatctaa ctgactcaga aatgaacaaa ctgtttgaaa aaacaaagaa gcaactgagg 1500
gaaaatgctg aggatatggg caatggttgt ttcaaaatat accacaaatg tgacaatgcc 1560
tgcataggat caatcagaaa tggaaactat gaccacgatg tatacagaga tgaagcatta 1620
aacaacgggt tccagatcaa gggcggtgag ctgaagtcag gatacaaga ttggatacta 1680
tggatttcc tggccatata atgttttttg ctttgtgttg ctttgttggg gttcatcatg 1740
tgggcctgcc aaaaaggcaa cattaggtgc aacatttgca tttgagagct c 1791

```

<210> 39

<211> 1791

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 777 de A/Wisconsin/67/2005

<400> 39

```

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta    60
attaattaat catcttgaga gaaaatgaag actatcattg ctttgagcta cattctatgt    120
ctggttttca ctcaaaaact tcccggaaat gacaacagca cggcaacgct gtgccttggg    180
caccatgcag taccaaaacg aacgatagtg aaaacaatca cgaatgacca aattgaagtt    240
actaatgcta ctgagctggg tcagagttcc tcaacaggtg gaatatgcga cagtcctcat    300
cagatccttg atggagaaaa ctgcacacta atagatgctc tattgggaga cctcagtggt    360
gatggcttcc aaaataagaa atgggacctt tttgttgaa gcagcaaacg ctacagcaac    420
tgttaccctt atgatgtgac ggattatgac tcccttaggt cactagttgc ctcatcgggc    480
acactggagt ttaacgatga aagtttcaat tggactggag tcactcaaaa tggaacaagc    540
tctgcttgca aaaggagatc taataacagt ttcttttagt gattgaattg gttgacccac    600
ttaaaattca aatcccagc attgaacgtg actatgccaa acaatgaaa atttgacaaa    660
ttgtacattt ggggggttca ccaccgggt acggacaatg accaaatctt cctgcattgt    720
caagcatcag gaagaatcac agtctctacc aaaagaagcc acaaaactgt aatccgaat    780
atcggatcta gaccagaat aaggaatata ccagcagaa taagcatcta ttggacaata    840
gtaaaaccgg gagacatact tttgattaac agcacagga atctaattgc tcctaggggt    900
tacttcaaaa tacgaagtgg gaasagctca ataagagat cagatgcacc cattggcaaa    960
tgcaattctg aatgcatac tccaaatgga agcattccca atgacaaacc atttcaaaat   1020
gtaaacagga tcacatatgg ggcctgtccc agatatgtta agcaaaacac tctgaattg   1080
gcaacagga tgcaaatgt accagagaaa caaactagag gcataatttg cgcaatcggc   1140
ggtttcatag aaaatggttg ggagggaatg gtggatggtt ggtacggttt caggcatcaa   1200
aattctgagg gaataggaca agcagcagat ctcaaaagca ctcaagcagc aatcaatcaa   1260
atcaatggga agctgaatag gttgatcggg aaaaccaacg agaaattcca tcagattgaa   1320
aaagagttct cagaagtaga agggagaatc caggacctcg agaaatatgt tgaggacact   1380
aaaatagatc tctggtcata caacggcgag cttottgttg ccttgagaa ccaacataca   1440
attgatctaa ctgactcaga aatgaacaaa ctgtttgaaa gaacaaagaa gcaactgagg   1500
gaaaatgctg aggatatggg caatggttgt ttcaaaatat accacaaatg tgacaatgcc   1560
tgcataggat caatcagaaa tggaacttat gaccatgatg tatacagaga tgaagcatta   1620
aacaaccggt tcagatcaa aggcgttgag ctgaagtcag gatacaaaga ttggatacta   1680

tggatttctt ttgccatac atgttttttg ctttgtgttg ctttgttggg gttcatcatg   1740
tgggcctgcc aaaaaggcaa cattaggtgc aacatttgca tttgagagct c           1791

```

<210> 40

<211> 1848

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 778 de B/Malasia/2506/2004

<400> 40

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta 60  
 attaattaat catcttgaga gaaaatgaag gcaataattg tactactcat ggtagtaaca 120  
 tccaatgcag atcgaatctg cactgggata acatcgtcaa actcaccaca tgttgtcaaa 180  
 actgctactc aaggggaggt caatgtgact ggtgtaatac cactgacaac aacacccacc 240  
 aaatctcatt ttgcaaactc caaaggaaca gaaaccagag ggaaactatg cccaaaatgc 300  
 ctcaactgca cagatctgga cgtggccttg ggcagaccaa aatgcacggg gaacataccc 360  
 tcggcaagag tttcaatact ccatgaagtc agacctgtta catctgggtg ctttcctata 420  
 atgcacgaca gaacaaaaat tagacagctg cctaaacttc tcagaggata cgaacatata 480  
 aggttatcaa ctcataacgt tatcaatgca gaaaatgcac caggaggacc ctacaaaatt 540  
 ggaacctcag ggtcttgccc taacgttacc aatggaaacg gatTTTTcgc aacaatggct 600  
 tgggccgtcc caaaaaacga caacaacaaa acagcaacaa attcattaac aatagaagta 660  
 ccatacattt gtacagaagg agaagaccaa attaccgttt gggggttcca ctctgataac 720  
 gaaacccaaa tggcaaagct ctatggggac tcaaagcccc agaagttcac ctcatctgcc 780  
 aacggagtga ccacacatta cgtttcacag attggtggct tcccaaatca aacagaagac 840  
 ggaggactac cacaaagcgg tagaattggt gttgattaca tggtgcaaaa atctgggaaa 900  
 acaggaacaa ttacctatca aagaggtatt ttattgcctc aaaaagtgtg gtgcgcaagt 960  
 ggcaggagca aggtataaaa aggatcgttg cctttaattg gagaagcaga ttgcctccac 1020  
 gaaaaatacg gtggattaaa caaaagcaag ccttactaca caggggaaca tgcaaaggcc 1080  
 ataggaaatt gcccaatatg ggtgaaaaca cccttgaagc tggccaatgg aaccaaatat 1140  
 agacctcctg caaaactatt aaaggaaagg ggtttcttcg gagctattgc tggtttctta 1200  
 gaaggaggat gggaaggaat gattgcaggt tggcacggat acacatccca tggggcacat 1260  
 ggagtagcgg tggcagcaga cottaagagc actcaagagg ccataaacia gataacaaaa 1320  
 aatctcaact ctttgagtga gctggaagta aagaatcttc aaagactaag cggtgccatg 1380  
 gatgaactcc acaacgaaat actagaacta gacgagaaag tggatgatct cagagctgat 1440  
 acaataagct cacaaataga actcgcagtc ctgctttcca atgaaggaat aataaacagt 1500  
 gaagatgagc atctcttggc gcttgaaaga aagctgaaga aaatgctggg cccctctgct 1560  
 gtagagatag ggaatggatg ctttgaaacc aaacacaagt gcaaccagac ctgtctcgac 1620  
 agaatagctg ctggtacctt tgatgcagga gaattttctc tccccacttt tgattcactg 1680  
 aatattactg ctgcatcttt aaatgacgat ggattggata atcatactat actgctttac 1740  
 tactcaactg ctgcctccag tttggctgta acattgatga tagctatctt tgttgtttat 1800  
 atggtctcca gagacaatgt ttcttgctcc atctgtctat aagagctc 1848

<210> 41

<211> 1845

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 779 de B/Florida/4/2006



<400> 41

```

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta      60
attaattaat catcttgaga gaaatgaag gcaataattg tactactcat ggtagtaaca      120
tccaatgcag atcgaatctg cactggaata acatcttcaa actcacctca tgtgggtcaaa      180
acagccactc aaggggaggt caatgtgact ggtgtgatac cactaacaac aacaccaaca      240
aaatcttatt ttgcaaatct caaaggaaca aggaccagag ggaaactatg cccagactgt      300
ctcaactgca cagatctgga tgtggctttg ggcagaccaa tgtgtgtggg gaccacacct      360
toggcgaagg cttcaatact ccacgaagtc aaacctgtta catccgggtg ctttctata      420
atgcacgaca gaacaaaat caggcaacta cccaatcttc tcagaggata tgaaaatata      480
aggctatcaa cccaaaacgt catcgatgag gaaaaggcac caggaggacc ctacagactt      540
ggaacctcag gatcttgccc taacgctacc agtaagagcg gatttttgcg aacaatggct      600
tgggctgtcc caaaggacaa caacaaaaat gcaacgaacc cactaacagt agaagtacca      660
tacatttgta cagaagggga agaccaaatc actggttggg ggttccattc agataacaaa      720
acccaaatga agaacctcta tggagactca aatctcaca agttcacctc atctgctaata      780
ggagtaacca cacactatgt ttctcagatt ggcagcttcc cagatcaaac agaagacgga      840
ggactaccac aaagcggcag gattgttgtt gattacatga tgcaaaaacc tgggaaaaca      900
ggaacaattg tctacaaaag aggtgttttg ttgctcaca aggtgtggtg cgcgagtggc      960
aggagcmaag taataaaagg gtcccttgctt ttaattggtg aagcagattg ccttcatgaa     1020
aaatacgggt gattaaacaa aagcaagcct tactacacag gagaacatgc aaaagccata     1080
ggaaattgcc caatatgggt gaaaacacct ttgaagctcg ccaatggaac caaatataga     1140
cctcctgcaa aactattaaa ggaaggggtt ttcttcggag ctattgctgg tttcctagaa     1200
ggaggatggg aaggaatgat tgcaggctgg caggatata catctcacgg agcacatgga     1260
gtggcagtgg cggcggacct taagagtacg caagaagcta taaacaagat aacaaaaaat     1320
ctcaattctt tgagtgagct agaagtaaag aatcttcaa gactaagtgg tgccatggat     1380

gaactccaca acgaaatact cgagctggat gagaagtggt atgatctcag agctgacact     1440
ataagctcgc aaatagaact tgcagtcttg ctttccaacg aaggaataat aaacagtga     1500
gatgagcacc tattggcact tgagagaaaa ctaaagaaaa tgctgggtcc ctctgctgta     1560
gagataggaa atggatgctt cgaaacccaa cacaagtga accagacctg cttagacagg     1620
atagctgctg gcacctttaa tgcaggagaa tttctctccc ccacttttga ttcactgaac     1680
attactgctg catctttaa tgatgatgga ttggataacc atactatact gctctattac     1740
tcaactgctg cttctagttt ggctgtaaca ttgatgctag ctatctttat tgtttatatg     1800
gtctccagag acaacgttcc atgctccacc tgtctataag agctc                       1845

```

<210> 42

5 <211> 1779

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 780 de A/Singapur/1/57

<400> 42

```

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta      60
attaattaat catcttgaga gaaaatggcc atcatttatc taattctcct gttcacagca      120
gtgagagggg accaaatatg cattggatac catgccaata attccacaga gaaggcgac      180
acaattctag agcggaaact cactgtgact catgccaagg acattcttga gaagacccat      240
aacggaaagt tatgcaaact aaacggaatc cctccacttg aactagggga ctgtagcatt      300
gccggatggc tccttgaaa tccagaatgt gataggcttc taagtgtgcc agaattgtcc      360
tatataatgg agaaagaaaa cccgagagac ggtttgtgtt atccaggcag cttcaatgat      420
tatgaagaat tgaaacatct cctcagcagc gtgaaacatt tcgagaaaagt aaagattctg      480
cccaaagata gatggacaca gcatacaaca actggagggt cacgggcctg cgcgggtgtct      540
ggtaattccat cattcttcag gaacatggtc tggctgacaa agaaagaatc aaattatccg      600
gttgccaaag gatcgtacaa caatacaagc ggagaacaaa tgctaataat ttggggggtg      660
caccatccca atgatgagac agaacaaaga acattgtacc agaattgtgg aacctatggt      720
tccgtaggca catcaacatt gaacaaaagg tcaaccccag acatagcaac aaggcctaaa      780
gtgaatggac taggaagtag aatggagttc tcttggaacc tattggatat gtgggacacc      840
ataaattttg agagtactgg taatctaatt gcaccagagt atggattcaa aatatcgaaa      900
agaggtagtt cagggatcat gaaaacagaa ggaacacttg agaactgtga gaccaaatgc      960
caaaactcctt tgggagcaat aaatacaaca ttgccttttc acaatgtcca cccactgaca     1020
ataggtgagt gcccacaaata tgtaaaatcg gagaagttgg tcttagcaac aggactaagg     1080
aatgttcccc agattgaatc aagaggattg tttggggcaa tagctggttt tatagaagga     1140
ggatggcaag gaatggttga tgggtggtat ggataccatc acagcaatga ccagggatca     1200
gggtatgcag cagacaaaaga atccactcaa aaggcatttg atggaatcac caacaaggta     1260
aattctgtga ttgaaaagat gaacacccaa tttgaagctg ttgggaaaga gttcagtaac     1320
ttagagagaa gactggagaa cttgaacaaa aagatggaag acgggtttct agatgtgtgg     1380
acatacaatg ctgagcttct agttctgatg gaaaatgaga ggacacttga ctttcatgat     1440
tctaattgtc agaactctgt tgataaagtc agaatgcagc tgagagacaa cgtcaaagaa     1500
ctaggaaatg gatgttttga attttatcac aaatgtgatg atgaatgcat gaatagtgtg     1560
aaaaacggga cgtatgatta tcccaagtat gaagaagagt ctaaactaaa tagaaatgaa     1620
atcaaagggg taaaattgag cagcatgggg gtttatcaaa tccttgccat ttatgttaca     1680
gtagcagggt ctctgtcact ggcaatcatg atggctggga tctctttctg gatgtgctcc     1740
aacgggtctc tgcagtgcag gatctgcata tgagagctc                               1779

```

<210> 43

5 <211> 1794

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 781 de A/Anhui/1/2005

<400> 43

```

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta    60
attaattaat catcttgaga gaaaatggag aaaatagtgc ttcttcttgc aatagtcagc    120
cttgtaaaaa gtgatcagat ttgcattggt taccatgcaa acaactcgac agagcagggt    180
gacacaataa tggaaaagaa cgttactgtt acacatgccc aagacatact ggaaaagaca    240
cacaacggga agctctgga tctagatgga gtgaagcctc tgattttaag agattgtagt    300
gtagctggat ggctcctcgg aaacccaatg tgtgacgagt tcatcaatgt gcgggaatgg    360
tcttacatag tggagaaggc caaccagcc aatgacctct gttaccagc gaatttcaac    420
gactatgaag aactgaaaca cctattgagc agaataaacc attttgagaa aattcagatc    480
atccccaaaa gttcttggtc cgatcatgaa gcctcatcag gggtcagctc agcatgtcca    540
taccaggga cgcctcctt ttccagaaat gtggtatggc ttatcaaaaa gaacaataca    600
taccacaaca taagagaag ctacaataat accaaccagg aagatctttt gatactgtgg    660
gggattcatc attctaastg tgcggcagag cagacaaagc tctatcaaaa cccaaccacc    720
tatatttcog ttgggacac aacactaac cagagattgg taccaaaaat agctactaga    780
tccaaagtaa acgggcaaa tgggaaggat gatttcttct ggacaatttt aaaaccgaat    840
gatgcaatca acttcgagag taatggaaat ttcatgtctc cagaatatgc atacaaaatt    900
gtcaagaaag gggactcagc aattgttaaa agtgaagtgg aatatgtaa ctgcaataca    960
aagtgtcaaa ctccaatagg ggcgataaac tctagtatgc cattccacaa catacaccct 1020
ctcaccatcg gggaatgcc caaatatgtg aaatcaaca aattagtctt tgcgactggg 1080

ctcagaataa gtccctctaag agaaagaaga agaaaaagag gactatttgg agctatagca 1140
gggtttatag agggaggatg gcagggaatg gtagatggtt ggtatgggta ccaccatagc 1200
aatgagcagg ggagtgggta cgtgcagac aaagaatcca ctcaaaaggc aatagatgga 1260
gtccaataa aggtcaactc gatcattgac aaaatgaaca ctcagtttga ggccgttgga 1320
agggaattta ataacttaga aaggagaata gagaatttaa acaagaaaat ggaagacgga 1380
ttcctagatg tctggactta taatgctgaa cttctggttc tcatggaaaa tgagagaact 1440
ctagacttcc atgattcaaa tgtcaagaac ctttacgaca aggtccgact acagcttagg 1500
gataatgcaa aggagctggg taacggttgt ttcgagttct atcacaaatg tgataatgaa 1560
tgtatggaaa gtgtaagaaa cggaaactat gactaccgc agtattcaga agaagcaaga 1620
ttaaaaagag aggaataaag tggagtataa ttggaatcaa taggaactta ccaatactg 1680
tcaatttatt caacagttgc gagttctcta gcactggcaa tcatggtggc tggctctatc 1740
ttgtggatgt gctccaatgg gtcgttacaa tgcagaattt gcatttaaga gctc 1794

```

<210> 44

5 <211> 1797

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 782 de A/Vietnam/1194/2004

<400> 44

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta  | 60   |
| attaattaat catcttgaga gaaaatggag aaaatagtgc ttctttttgc aatagtcagt  | 120  |
| cttgtaaaaa gtgatcagat ttgcattggt taccatgcaa acaactcgac agagcagggt  | 180  |
| gacacaataa tggaaaagaa cgttactggt acacatgccc aagacatact ggaaaagaca  | 240  |
| cacaatggga agctctgcga tctagatgga gtgaagcctc taattttgag agattgtagt  | 300  |
| gtagctggat ggctcctcgg aaacccaatg tgtgacgagt tcatcaatgt gccggaatgg  | 360  |
| tcttacatag tggagaaggc caatccagtc aatgacctct gttaccagg ggatttcaat   | 420  |
| gactatgaag aattgaaaca cctattgagc agaataaacc attttgagaa aattcagatc  | 480  |
| atcccaaaaa gttcttggtc cagtcatgaa gcctcattgg gggtcagctc agcatgtcca  | 540  |
| taccaggga agtcctcctt ttccagaaat gtggtatggc ttatcaaaaa gaacagtaca   | 600  |
| taccaacaa taaaggagg ctacaataat accaaccaag aagatctttt ggtactgtgg    | 660  |
| gggattcacc atcctaata tgcggcagag cagacaaagc tctatcaaaa cccaaccacc   | 720  |
| tataatttccg ttgggacatc tacaataaac cagagattgg taccaagaat agctactaga | 780  |
| tccaaagtaa acgggcaaag tgggaaggat gagttcttct ggacaatttt aaaaccgaat  | 840  |
| gatgcaatca acttcgagag taatggaaat ttcattgctc cagaatatgc atacaaaatt  | 900  |
| gtcaagaaag gggactcaac aattatgaaa agtgaattgg aatatggtaa ctgcaatacc  | 960  |
| aagtgtcaaa ctccaatggg ggcgataaac tctagcatgc cattccacaa tataaccct   | 1020 |
| ctcaccatcg gggaatgcc caaatatgtg aatcaaaca gattagtcct tgcgactggg    | 1080 |
| ctcagaaata gccctcaaag agagagaaga agaaaaaga gaggattatt tggagctata   | 1140 |
| gcaggtttta tagagggagg atggcaggga atggtagatg gttggtatgg gtaccacat   | 1200 |
| agcaacgagc aggggagtgg gtacgctgca gacaaagaat ccaactcaaaa ggcaatagat | 1260 |
| ggagtcacca ataaggtcaa ctcgattatt gacaaaatga acactcagtt tgaggccgtt  | 1320 |
| ggaagggaa ttaacaactt agaaaggaga atagagaatt taaacaagaa gatggaagac   | 1380 |
| gggttcctag atgtctggac ttataatgct gaacttctag ttctcatgga aaacgagaga  | 1440 |
| actctagact ttcattgactc aatgtcaag aacctttacg acaagggtccg actacagctt | 1500 |
| agggataatg caaaggagct gggtaacggt tgtttcgagt tctatcataa atgtgataat  | 1560 |
| gaatgtatgg aaagtgtaa aaacggaacg tatgactacc cgcagtattc agaagaagca   | 1620 |
| agactaaaa gagaggaaat aagtggagta aaattggaat caataggaat ttaccaaata   | 1680 |
| ttgtcaattt attctacagt gccagctcc ctagcactgg caatcatggt agctggtcta   | 1740 |
| tccttatgga tgtgctccaa tgggtcgta caatgcagaa ttgcatatta agagctc      | 1797 |

<210> 45

5 <211> 1791

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> clone 783 de A/Trullo/HongKong/W312/97

<400> 45

```

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta      60
attaattaat catcttgaga gaaaatgatt gcaatcattg taatagcaat actggcagca      120
gccggaaaagt cagacaagat ctgcattggg tatcatgcc acaattcaac aacacaggta      180
gatacgatac ttgagaagaa tgtgactgtc acacactcaa ttgaattgct ggaaaatcag      240
aaggaaagaa gattctgcaa gatattgaac aaggcccttc togacttaag ggaatgtacc      300
atagaggggtt ggatcttggg gaatcccaa tgcgacctat tgcttgggtga tcaaagctgg      360
tcatacattg tggaaagacc tactgtcaa aacgggatct gctaccaggg aaccttaaat      420
gaggtagaag aactgagggc acttattgga tcaggagaaa gggtagagag atttgagatg      480
tttcccaaaa gcacctggca aggagttgac accaacagtg gaacaacaag atcctgccct      540
tattctactg gtgcgtcttt ctacagaaac ctctatgga taataaaaac caagacagca      600
gaatatccag taattaaggg aatttacaac aacactggaa cccagccaat cctctatttc      660
tggtgtgtgc atcatcctcc taacaccgac gagcaagata ctctgtatgg ctctggtgat      720
cgatacgtta gaatgggaac tgaagcatg aattttgcca agagtccgga aattgcggca      780
aggcctgctg tgaatggaca aagaggcaga attgattatt attggtcggg tttaaaacca      840

ggggaaacct tgaatgtgga atctaattga aatctaactg ccccttggtg tgcatacaaa      900
tttgtcaaca caaatagtaa aggagccgtc ttcaggtcag atttaccat cgagaactgc      960
gatgccacat gccagactat tgcaggggtt ctaaggacca ataaaacatt tcagaatgtg     1020
agtccctctg ggataggaga atgtcccaaa taactgaaaa gtgaaagtct gaggcttgca     1080
actggactaa gaaatgttcc acagattgaa actagaggac tottoggagc tattgcaggg     1140
tttattgaag gaggatggac tgggatgata gatgggtggt atggctatca ccatgaaaat     1200
tctcaagggg caggatatgc agcagacaga gaaagcactc aaaaggctgt aaacagaatt     1260
acaaataagg tcaattccat catcaacaaa atgaacacac aatttgaagc tgtcgatcac     1320
gaattttcaa atctggagag gagaattgac aatctgaaca aaagaatgca agatggattt     1380
ctggatgttt ggacatacaa tgctgaactg ttggttcttc ttgaaaacga aagaacacta     1440
gacatgcatg acgcaaatgt gaagaacctc catgaaaagg tcaaatcaca actaaggagc     1500
aatgctacga tottagggaa tgggtgcttt gaattttggc ataagtgtga caatgaatgc     1560
atagagtctg tcaaaaatgg tacatatgac tatcccaaat accagactga aagcaaatta     1620
aacaggctaa aaatagaatc agtaaaagta gagaaccttg gtgtgtatca aattcttgcc     1680
atztatagta cggtatcgag cagcctagtg ttggtagggc tgatcatggc aatgggtctt     1740
tggtatgtgt caaatgggtc aatgcagtgc aggatatgta tataagagct c               1791

```

<210> 46

5 <211> 1803

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> clone 784 de A/Equino/Praga/56

<400> 46

```

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta      60
attaattaat catcttgaga gaaaatgaac actcaaattc taatattagc cacttcggca      120
ttcttctatg tacgtgcaga taaaatctgc ctaggacatc atgctgtgtc taatggaacc      180
aaagtagaca cccttactga aaaaggaata gaagttgtca atgcaacaga aacagttgaa      240
caaacaaaca tccctaagat ctgctcaaaa ggaaaacaga ctgttgacct tggccaatgt      300
ggattactag ggaccgttat tggctctccc caatgtgacc aatttcttga gttctctgct      360
aatttaatag ttgaaagaag ggaaggtaat gacatttgtt atccaggcaa atttgacaat      420
gaagaacat tgagaaaaat actcagaaaa tccggaggaa ttaaaaagga gaatatggga      480
ttcacatata ccggagttag aaccaatgga gagactagcg catgtagaag gtcaagatct      540
tccttttatg cagagatgaa atggcttcta tccagcacag acaatgggac atttccacaa      600
atgacaaaagt cctacaagaa cactaagaag gtaccagctc tgataatctg gggaatccac      660
cactcaggat caactactga acagactaga ttatatggaa gtgggaataa attgataaca      720

gtttggagtt ccaaatacca acaatctttt gtcccaaadc ctggaccaag accgcaaatg      780
aatggtcaat caggaagaat tgactttcac tggctgatgc tagatcccaa tgatactgtc      840
actttcagtt ttaatggggc ctttatagca cctgaccgag ccagttttct aagaggtaaa      900
tctctaggaa tccaaagtga tgcacaactt gacaataatt gtgaagggtga atgctatcat      960
attggaggta ctataattag caacttgccc tttcaaaaca ttaatagtag ggcaatcgga     1020
aatgccccca gatacgtgaa gcagaagagc ttaatgctag caacaggaat gaaaaatgtt     1080
cctgaagctc ctgcacataa acaactaact catcacatgc gcaaaaaaag aggtttatct     1140
ggtgcaatag caggattcat tgaaaatggg tgggaaggat taatagacgg atggtatgga     1200
tataagcatc agaatgcaca aggagaaggg actgctgcag actacaaaag tacacaatct     1260
gctatcaacc aaataaccgg aaaattgaac agactaatag aaaaaaccaa ccagcaattc     1320
gaactaatag ataatgagtt caatgaaata gaaaaacaaa ttggcaatgt tattaactgg     1380
actagagatt ctatcatcga agtatggtca tataatgcag agttcctcgt agcagtgagg     1440
aatcaacaca ctattgattt aactgactca gaaatgaaca aactatatga aaaggtaaga     1500
agacaactga gagaaaatgc tgaggaagat ggtaatggct gttttgaaat attccaccaa     1560
tgtgacaatg attgcatggc cagcattaga aacaacacat atgaccataa aaaatacaga     1620
aaagaggcaa tacaaaacag aatccagatt gacgcagtaa agttgagcag tggttacaaa     1680
gatataatac tttggtttag cttcggggca tcatgtttct tatttcttgc cattgcaatg     1740
ggtcttgttt tcatatgtat aaaaaatgga aacatgcggt gcactatttg tatataagag     1800
ctc                                                                    1803

```

<210> 47

5 <211> 1773

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 785 de A/HongKong/1073/99

&lt;400&gt; 47

```

cactttgtga gtctacactt tgattccctt caaacacata caaagagaag agactaatta      60
attaattaat catcttgaga gaaatggaa acaatatcac taataactat actactagta      120
gtaacagcaa gcaatgcaga taaatctgc atcgccacc agtcaacaaa ctccacagaa      180
actgtggaca cgctaacaga aaccaatgtt cctgtgacac atgccaaaga attgctccac      240
acagagcata atggaatgct gtgtgcaaca agcctgggac atccctcat tctagacaca      300
tgcactattg aaggactagt ctatggcaac ccttcttggt acctgctgtt gggaggaaga      360
gaatggtcct acatcgtcga aagatcatca gctgtaaag gaaagtgtta ccctgggaat      420
gtagaaaacc tagaggaact caggacactt ttagttccg ctagttccta ccaaagaatc      480
caaatcttcc cagacacaac ctggaatgtg acttacctg gaacaagcag agcatgttca      540
ggttcattct acaggagtat gagatggctg actcaaaaga ggggttttta ccctgttcaa      600
gacgccaat acacaaataa caggggaaag agcattcttt tcgtgtgggg catacatcac      660
ccaccacact atacogagca aacaaatttg tacataagaa acgacacaac aacaagcgtg      720
acaacagaag atttgaatag gaccttcaa ccagtgatag ggccaaggcc ccttgtcaat      780
ggtctgcagg gaagaattga ttattattgg tcggtactaa aaccaggcca aacattgcga      840
gtaogatcca atgggaatct aattgctcca tggatggac acgttcttcc aggagggagc      900
catggaagaa tctgaagac tgatttaaaa ggtggtaatt gtgtagtcca atgtcagact      960
gaaaaagggt gcttaaacag tacattgccca ttccacaata tcagtaaata tgcatttggg      1020
acctgcccc aatatgtaag agttaatagt ctcaactgg cagtcggtct gaggaacgtg      1080
cctgctagat caagtagagg actatttggg gccatagctg gattcataga aggaggttgg      1140
ccaggactag tcgtcggctg gtatggttcc cagcattcaa atgatcaagg ggttggtatg      1200
gctgcagata gggattcaac tcaaaaggca attgataaaa taacatccaa ggtgaataat      1260
atagtcgaca agatgaacaa gcaatatgaa ataattgatc atgaatttag tgaggttgaa      1320
actagactca atatgatcaa taataagatt gatgaccaa tacaagcgt atgggcatat      1380
aatgcagaat tgctagtact acttgaanaa caaaaaaac tcgatgagca tgatgcgaac      1440
gtgaacaatc tatataacaa ggtgaagagg gcactgggct ccaatgctat ggaagatggg      1500
aaaggctgtt tcgagctata ccataaatgt gatgatcagt gcatggaac aattcggaac      1560
gggacctata ataggagaaa gtatagagag gaatcaagac tagaaaggca gaaatagag      1620
ggggttaagc tggaatctga gggaaactac aaaatcctca ccatttattc gactgtcgcc      1680
tcctctcttg tgcttgcaat ggggttggct gccttctgt tctgggcat gtccaatgga      1740
tcttcagat gcaacatttg tatataagag etc                                     1773

```

&lt;210&gt; 48

5 &lt;211&gt; 565

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Secuencia artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; clone 774 de A/Brisbane/59/2007

&lt;400&gt; 48

```

Met Lys Val Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr
1      5      10      15
Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
20      25      30
Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
35      40      45
Leu Leu Glu Asn Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Leu Leu Lys Gly Ile
50      55      60

```



Ala Pro Leu Gln Leu Gly Asn Cys Ser Val Ala Gly Trp Ile Leu Gly  
 65 70 75 80  
 Asn Pro Glu Cys Glu Leu Leu Ile Ser Lys Glu Ser Trp Ser Tyr Ile  
 85 90 95  
 Val Glu Lys Pro Asn Pro Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly His Phe  
 100 105 110  
 Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe  
 115 120 125  
 Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Ser Ser Trp Pro Asn His Thr  
 130 135 140  
 Val Thr Gly Val Ser Ala Ser Cys Ser His Asn Gly Glu Ser Ser Phe  
 145 150 155 160  
 Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Gly Lys Asn Gly Leu Tyr Pro Asn  
 165 170 175  
 Leu Ser Lys Ser Tyr Ala Asn Asn Lys Glu Lys Glu Val Leu Val Leu  
 180 185 190  
 Trp Gly Val His His Pro Pro Asn Ile Gly Asp Gln Lys Ala Leu Tyr  
 195 200 205  
 His Thr Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser His Tyr Ser Arg  
 210 215 220  
 Lys Phe Thr Pro Glu Ile Ala Lys Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln Glu  
 225 230 235 240  
 Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr Ile  
 245 250 255  
 Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Arg Tyr Ala Phe Ala  
 260 265 270  
 Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Asn Ser Asn Ala Pro Met  
 275 280 285  
 Asp Lys Cys Asp Ala Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn Ser  
 290 295 300  
 Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys Pro  
 305 310 315 320  
 Lys Tyr Val Arg Ser Ala Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn  
 325 330 335  
 Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe  
 340 345 350  
 Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His  
 355 360 365  
 His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr  
 370 375 380  
 Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu  
 385 390 395 400  
 Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys Leu  
 405 410 415

Glu Arg Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe Ile  
420 425 430  
Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu  
435 440 445  
Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys  
450 455 460  
Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys  
465 470 475 480  
Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp Glu Cys Met Glu Ser Val Lys  
485 490 495  
Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn  
500 505 510  
Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln  
515 520 525  
Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Val Leu Leu Val  
530 535 540  
Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln  
545 550 555 560  
Cys Arg Ile Cys Ile  
565

<210> 49

<211> 565

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 775 de A/Islas Salomón 3/2006

<400> 49

Met Lys Val Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr  
1 5 10 15  
Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr  
20 25 30  
Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn  
35 40 45  
Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Leu Leu Lys Gly Ile  
50 55 60  
Ala Pro Leu Gln Leu Gly Asn Cys Ser Val Ala Gly Trp Ile Leu Gly  
65 70 75 80  
Asn Pro Glu Cys Glu Leu Leu Ile Ser Arg Glu Ser Trp Ser Tyr Ile  
85 90 95  
Val Glu Lys Pro Asn Pro Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly His Phe  
100 105 110  
Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe  
115 120 125

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Glu | Arg | Phe | Glu | Ile | Phe | Pro | Lys | Glu | Ser | Ser | Trp | Pro | Asn | His | Thr | 130 | 135 | 140 |
| Thr | Thr | Gly | Val | Ser | Ala | Ser | Cys | Ser | His | Asn | Gly | Glu | Ser | Ser | Phe | 145 | 150 | 155 |
| Tyr | Lys | Asn | Leu | Leu | Trp | Leu | Thr | Gly | Lys | Asn | Gly | Leu | Tyr | Pro | Asn | 165 | 170 | 175 |
| Leu | Ser | Lys | Ser | Tyr | Ala | Asn | Asn | Lys | Glu | Lys | Glu | Val | Leu | Val | Leu | 180 | 185 | 190 |
| Trp | Gly | Val | His | His | Pro | Pro | Asn | Ile | Gly | Asp | Gln | Arg | Ala | Leu | Tyr | 195 | 200 | 205 |
| His | Lys | Glu | Asn | Ala | Tyr | Val | Ser | Val | Val | Ser | Ser | His | Tyr | Ser | Arg | 210 | 215 | 220 |
| Lys | Phe | Thr | Pro | Glu | Ile | Ala | Lys | Arg | Pro | Lys | Val | Arg | Asp | Gln | Glu | 225 | 230 | 235 |
| Gly | Arg | Ile | Asn | Tyr | Tyr | Trp | Thr | Leu | Leu | Glu | Pro | Gly | Asp | Thr | Ile | 245 | 250 | 255 |
| Ile | Phe | Glu | Ala | Asn | Gly | Asn | Leu | Ile | Ala | Pro | Arg | Tyr | Ala | Phe | Ala | 260 | 265 | 270 |
| Leu | Ser | Arg | Gly | Phe | Gly | Ser | Gly | Ile | Ile | Asn | Ser | Asn | Ala | Pro | Met | 275 | 280 | 285 |
| Asp | Glu | Cys | Asp | Ala | Lys | Cys | Gln | Thr | Pro | Gln | Gly | Ala | Ile | Asn | Ser | 290 | 295 | 300 |
| Ser | Leu | Pro | Phe | Gln | Asn | Val | His | Pro | Val | Thr | Ile | Gly | Glu | Cys | Pro | 305 | 310 | 315 |
| Lys | Tyr | Val | Arg | Ser | Ala | Lys | Leu | Arg | Met | Val | Thr | Gly | Leu | Arg | Asn | 325 | 330 | 335 |
| Ile | Pro | Ser | Ile | Gln | Ser | Arg | Gly | Leu | Phe | Gly | Ala | Ile | Ala | Gly | Phe | 340 | 345 | 350 |
| Ile | Glu | Gly | Gly | Trp | Thr | Gly | Met | Val | Asp | Gly | Trp | Tyr | Gly | Tyr | His | 355 | 360 | 365 |
| His | Gln | Asn | Glu | Gln | Gly | Ser | Gly | Tyr | Ala | Ala | Asp | Gln | Lys | Ser | Thr | 370 | 375 | 380 |
| Gln | Asn | Ala | Ile | Asn | Gly | Ile | Thr | Asn | Lys | Val | Asn | Ser | Val | Ile | Glu | 385 | 390 | 395 |
| Lys | Met | Asn | Thr | Gln | Phe | Thr | Ala | Val | Gly | Lys | Glu | Phe | Asn | Lys | Leu | 405 | 410 | 415 |
| Glu | Arg | Arg | Met | Glu | Asn | Leu | Asn | Lys | Lys | Val | Asp | Asp | Gly | Phe | Ile | 420 | 425 | 430 |
| Asp | Ile | Trp | Thr | Tyr | Asn | Ala | Glu | Leu | Leu | Val | Leu | Leu | Glu | Asn | Glu | 435 | 440 | 445 |
| Arg | Thr | Leu | Asp | Phe | His | Asp | Ser | Asn | Val | Lys | Asn | Leu | Tyr | Glu | Lys | 450 | 455 | 460 |
| Val | Lys | Ser | Gln | Leu | Lys | Asn | Asn | Ala | Lys | Glu | Ile | Gly | Asn | Gly | Cys | 465 | 470 | 475 |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 480 |     |     |

Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp Glu Cys Met Glu Ser Val Lys  
485 490 495

Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn  
500 505 510

Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln  
515 520 525

Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Val Leu Leu Val  
530 535 540

Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln  
545 550 555 560

Cys Arg Ile Cys Ile  
565

<210> 50

<211> 566

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 776 de A/Brisbane/10/2007

<400> 50

Met Lys Thr Ile Ile Ala Leu Ser Tyr Ile Leu Cys Leu Val Phe Thr  
1 5 10 15

Gln Lys Leu Pro Gly Asn Asp Asn Ser Thr Ala Thr Leu Cys Leu Gly  
20 25 30

His His Ala Val Pro Asn Gly Thr Ile Val Lys Thr Ile Thr Asn Asp  
35 40 45

Gln Ile Glu Val Thr Asn Ala Thr Glu Leu Val Gln Ser Ser Ser Thr  
50 55 60

Gly Glu Ile Cys Asp Ser Pro His Gln Ile Leu Asp Gly Glu Asn Cys  
65 70 75 80

Thr Leu Ile Asp Ala Leu Leu Gly Asp Pro Gln Cys Asp Gly Phe Gln  
85 90 95

Asn Lys Lys Trp Asp Leu Phe Val Glu Arg Ser Lys Ala Tyr Ser Asn  
100 105 110

Cys Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Arg Ser Leu Val  
115 120 125

Ala Ser Ser Gly Thr Leu Glu Phe Asn Asn Glu Ser Phe Asn Trp Thr  
130 135 140

Gly Val Thr Gln Asn Gly Thr Ser Ser Ala Cys Ile Arg Arg Ser Asn  
145 150 155 160

Asn Ser Phe Phe Ser Arg Leu Asn Trp Leu Thr His Leu Lys Phe Lys  
165 170 175

Tyr Pro Ala Leu Asn Val Thr Met Pro Asn Asn Glu Lys Phe Asp Lys  
180 185 190

Leu Tyr Ile Trp Gly Val His His Pro Gly Thr Asp Asn Asp Gln Ile  
 195 200 205  
 Phe Leu Tyr Ala Gln Ala Ser Gly Arg Ile Thr Val Ser Thr Lys Arg  
 210 215 220  
 Ser Gln Gln Thr Val Ile Pro Asn Ile Gly Ser Arg Pro Arg Val Arg  
 225 230 235 240  
 Asn Ile Pro Ser Arg Ile Ser Ile Tyr Trp Thr Ile Val Lys Pro Gly  
 245 250 255  
 Asp Ile Leu Leu Ile Asn Ser Thr Gly Asn Leu Ile Ala Pro Arg Gly  
 260 265 270  
 Tyr Phe Lys Ile Arg Ser Gly Lys Ser Ser Ile Met Arg Ser Asp Ala  
 275 280 285  
 Pro Ile Gly Lys Cys Asn Ser Glu Cys Ile Thr Pro Asn Gly Ser Ile  
 290 295 300  
 Pro Asn Asp Lys Pro Phe Gln Asn Val Asn Arg Ile Thr Tyr Gly Ala  
 305 310 315 320  
 Cys Pro Arg Tyr Val Lys Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly Met  
 325 330 335  
 Arg Asn Val Pro Glu Lys Gln Thr Arg Gly Ile Phe Gly Ala Ile Ala  
 340 345 350  
 Gly Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly  
 355 360 365  
 Phe Arg His Gln Asn Ser Glu Gly Ile Gly Gln Ala Ala Asp Leu Lys  
 370 375 380  
 Ser Thr Gln Ala Ala Ile Asp Gln Ile Asn Gly Lys Leu Asn Arg Leu  
 385 390 395 400  
 Ile Gly Lys Thr Asn Glu Lys Phe His Gln Ile Glu Lys Glu Phe Ser  
 405 410 415  
 Glu Val Glu Gly Arg Ile Gln Asp Leu Glu Lys Tyr Val Glu Asp Thr  
 420 425 430  
 Lys Ile Asp Leu Trp Ser Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Ala Leu Glu  
 435 440 445  
 Asn Gln His Thr Ile Asp Leu Thr Asp Ser Glu Met Asn Lys Leu Phe  
 450 455 460  
 Glu Lys Thr Lys Lys Gln Leu Arg Glu Asn Ala Glu Asp Met Gly Asn  
 465 470 475 480  
 Gly Cys Phe Lys Ile Tyr His Lys Cys Asp Asn Ala Cys Ile Gly Ser  
 485 490 495  
 Ile Arg Asn Gly Thr Tyr Asp His Asp Val Tyr Arg Asp Glu Ala Leu  
 500 505 510  
 Asn Asn Arg Phe Gln Ile Lys Gly Val Glu Leu Lys Ser Gly Tyr Lys  
 515 520 525  
 Asp Trp Ile Leu Trp Ile Ser Phe Ala Ile Ser Cys Phe Leu Leu Cys  
 530 535 540

Val Ala Leu Leu Gly Phe Ile Met Trp Ala Cys Gln Lys Gly Asn Ile  
545 550 555 560

Arg Cys Asn Ile Cys Ile  
565

<210> 51

<211> 566

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 777 de A/Wisconsin/67/2005

<400> 51

Met Lys Thr Ile Ile Ala Leu Ser Tyr Ile Leu Cys Leu Val Phe Thr  
1 5 10 15  
Gln Lys Leu Pro Gly Asn Asp Asn Ser Thr Ala Thr Leu Cys Leu Gly  
20 25 30  
His His Ala Val Pro Asn Gly Thr Ile Val Lys Thr Ile Thr Asn Asp  
35 40 45  
Gln Ile Glu Val Thr Asn Ala Thr Glu Leu Val Gln Ser Ser Ser Thr  
50 55 60  
Gly Gly Ile Cys Asp Ser Pro His Gln Ile Leu Asp Gly Glu Asn Cys  
65 70 75 80  
Thr Leu Ile Asp Ala Leu Leu Gly Asp Pro Gln Cys Asp Gly Phe Gln  
85 90 95  
Asn Lys Lys Trp Asp Leu Phe Val Glu Arg Ser Lys Ala Tyr Ser Asn  
100 105 110  
Cys Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Arg Ser Leu Val  
115 120 125  
Ala Ser Ser Gly Thr Leu Glu Phe Asn Asp Glu Ser Phe Asn Trp Thr  
130 135 140  
Gly Val Thr Gln Asn Gly Thr Ser Ser Ala Cys Lys Arg Arg Ser Asn  
145 150 155 160  
Asn Ser Phe Phe Ser Arg Leu Asn Trp Leu Thr His Leu Lys Phe Lys  
165 170 175  
Tyr Pro Ala Leu Asn Val Thr Met Pro Asn Asn Glu Lys Phe Asp Lys  
180 185 190  
Leu Tyr Ile Trp Gly Val His His Pro Gly Thr Asp Asn Asp Gln Ile  
195 200 205  
Phe Leu His Ala Gln Ala Ser Gly Arg Ile Thr Val Ser Thr Lys Arg  
210 215 220  
Ser Gln Gln Thr Val Ile Pro Asn Ile Gly Ser Arg Pro Arg Ile Arg  
225 230 235 240  
Asn Ile Pro Ser Arg Ile Ser Ile Tyr Trp Thr Ile Val Lys Pro Gly  
245 250 255

Asp Ile Leu Leu Ile Asn Ser Thr Gly Asn Leu Ile Ala Pro Arg Gly  
 260 265 270  
 Tyr Phe Lys Ile Arg Ser Gly Lys Ser Ser Ile Met Arg Ser Asp Ala  
 275 280 285  
 Pro Ile Gly Lys Cys Asn Ser Glu Cys Ile Thr Pro Asn Gly Ser Ile  
 290 295 300  
 Pro Asn Asp Lys Pro Phe Gln Asn Val Asn Arg Ile Thr Tyr Gly Ala  
 305 310 315 320  
 Cys Pro Arg Tyr Val Lys Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly Met  
 325 330 335  
 Arg Asn Val Pro Glu Lys Gln Thr Arg Gly Ile Phe Gly Ala Ile Ala  
 340 345 350  
 Gly Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly  
 355 360 365  
 Phe Arg His Gln Asn Ser Glu Gly Ile Gly Gln Ala Ala Asp Leu Lys  
 370 375 380  
 Ser Thr Gln Ala Ala Ile Asn Gln Ile Asn Gly Lys Leu Asn Arg Leu  
 385 390 395 400  
 Ile Gly Lys Thr Asn Glu Lys Phe His Gln Ile Glu Lys Glu Phe Ser  
 405 410 415  
 Glu Val Glu Gly Arg Ile Gln Asp Leu Glu Lys Tyr Val Glu Asp Thr  
 420 425 430  
 Lys Ile Asp Leu Trp Ser Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Ala Leu Glu  
 435 440 445  
 Asn Gln His Thr Ile Asp Leu Thr Asp Ser Glu Met Asn Lys Leu Phe  
 450 455 460  
 Glu Arg Thr Lys Lys Gln Leu Arg Glu Asn Ala Glu Asp Met Gly Asn  
 465 470 475 480  
 Gly Cys Phe Lys Ile Tyr His Lys Cys Asp Asn Ala Cys Ile Gly Ser  
 485 490 495  
 Ile Arg Asn Gly Thr Tyr Asp His Asp Val Tyr Arg Asp Glu Ala Leu  
 500 505 510  
 Asn Asn Arg Phe Gln Ile Lys Gly Val Glu Leu Lys Ser Gly Tyr Lys  
 515 520 525  
 Asp Trp Ile Leu Trp Ile Ser Phe Ala Ile Ser Cys Phe Leu Leu Cys  
 530 535 540  
 Val Ala Leu Leu Gly Phe Ile Met Trp Ala Cys Gln Lys Gly Asn Ile  
 545 550 555 560  
 Arg Cys Asn Ile Cys Ile  
 565

<210> 52

<211> 585

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

&lt;223&gt; clon 778 de B/Malasia/2506/2004

&lt;400&gt; 52

```

Met Lys Ala Ile Ile Val Leu Leu Met Val Val Thr Ser Asn Ala Asp
1           5           10           15

Arg Ile Cys Thr Gly Ile Thr Ser Ser Asn Ser Pro His Val Val Lys
          20           25           30

Thr Ala Thr Gln Gly Glu Val Asn Val Thr Gly Val Ile Pro Leu Thr
          35           40           45

Thr Thr Pro Thr Lys Ser His Phe Ala Asn Leu Lys Gly Thr Glu Thr
          50           55           60

Arg Gly Lys Leu Cys Pro Lys Cys Leu Asn Cys Thr Asp Leu Asp Val
65           70           75           80

Ala Leu Gly Arg Pro Lys Cys Thr Gly Asn Ile Pro Ser Ala Arg Val
          85           90           95

Ser Ile Leu His Glu Val Arg Pro Val Thr Ser Gly Cys Phe Pro Ile
          100          105          110

Met His Asp Arg Thr Lys Ile Arg Gln Leu Pro Lys Leu Leu Arg Gly
          115          120          125

Tyr Glu His Ile Arg Leu Ser Thr His Asn Val Ile Asn Ala Glu Asn
          130          135          140

Ala Pro Gly Gly Pro Tyr Lys Ile Gly Thr Ser Gly Ser Cys Pro Asn
145          150          155          160

Val Thr Asn Gly Asn Gly Phe Phe Ala Thr Met Ala Trp Ala Val Pro
          165          170          175

Lys Asn Asp Asn Asn Lys Thr Ala Thr Asn Ser Leu Thr Ile Glu Val
          180          185          190

Pro Tyr Ile Cys Thr Glu Gly Glu Asp Gln Ile Thr Val Trp Gly Phe
          195          200          205

His Ser Asp Asn Glu Thr Gln Met Ala Lys Leu Tyr Gly Asp Ser Lys
          210          215          220

Pro Gln Lys Phe Thr Ser Ser Ala Asn Gly Val Thr Thr His Tyr Val
225          230          235          240

Ser Gln Ile Gly Gly Phe Pro Asn Gln Thr Glu Asp Gly Gly Leu Pro
          245          250          255

Gln Ser Gly Arg Ile Val Val Asp Tyr Met Val Gln Lys Ser Gly Lys
          260          265          270

Thr Gly Thr Ile Thr Tyr Gln Arg Gly Ile Leu Leu Pro Gln Lys Val
          275          280          285

Trp Cys Ala Ser Gly Arg Ser Lys Val Ile Lys Gly Ser Leu Pro Leu
          290          295          300

Ile Gly Glu Ala Asp Cys Leu His Glu Lys Tyr Gly Gly Leu Asn Lys
305          310          315          320

```



Ser Lys Pro Tyr Tyr Thr Gly Glu His Ala Lys Ala Ile Gly Asn Cys  
325 330 335  
Pro Ile Trp Val Lys Thr Pro Leu Lys Leu Ala Asn Gly Thr Lys Tyr  
340 345 350  
Arg Pro Pro Ala Lys Leu Leu Lys Glu Arg Gly Phe Phe Gly Ala Ile  
355 360 365  
Ala Gly Phe Leu Glu Gly Gly Trp Glu Gly Met Ile Ala Gly Trp His  
370 375 380  
Gly Tyr Thr Ser His Gly Ala His Gly Val Ala Val Ala Ala Asp Leu  
385 390 395 400  
Lys Ser Thr Gln Glu Ala Ile Asn Lys Ile Thr Lys Asn Leu Asn Ser  
405 410 415  
Leu Ser Glu Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Arg Leu Ser Gly Ala Met  
420 425 430  
Asp Glu Leu His Asn Glu Ile Leu Glu Leu Asp Glu Lys Val Asp Asp  
435 440 445  
Leu Arg Ala Asp Thr Ile Ser Ser Gln Ile Glu Leu Ala Val Leu Leu  
450 455 460  
Ser Asn Glu Gly Ile Ile Asn Ser Glu Asp Glu His Leu Leu Ala Leu  
465 470 475 480  
Glu Arg Lys Leu Lys Lys Met Leu Gly Pro Ser Ala Val Glu Ile Gly  
485 490 495  
Asn Gly Cys Phe Glu Thr Lys His Lys Cys Asn Gln Thr Cys Leu Asp  
500 505 510  
Arg Ile Ala Ala Gly Thr Phe Asp Ala Gly Glu Phe Ser Leu Pro Thr  
515 520 525  
Phe Asp Ser Leu Asn Ile Thr Ala Ala Ser Leu Asn Asp Asp Gly Leu  
530 535 540  
Asp Asn His Thr Ile Leu Leu Tyr Tyr Ser Thr Ala Ala Ser Ser Leu  
545 550 555 560  
Ala Val Thr Leu Met Ile Ala Ile Phe Val Val Tyr Met Val Ser Arg  
565 570 575  
Asp Asn Val Ser Cys Ser Ile Cys Leu  
580 585

<210> 53

<211> 584

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 779 de B/Florida/4/2006

<400> 53

Met Lys Ala Ile Ile Val Leu Leu Met Val Val Thr Ser Asn Ala Asp  
 1 5 10 15  
 Arg Ile Cys Thr Gly Ile Thr Ser Ser Asn Ser Pro His Val Val Lys  
 20 25 30  
 Thr Ala Thr Gln Gly Glu Val Asn Val Thr Gly Val Ile Pro Leu Thr  
 35 40 45  
 Thr Thr Pro Thr Lys Ser Tyr Phe Ala Asn Leu Lys Gly Thr Arg Thr  
 50 55 60  
 Arg Gly Lys Leu Cys Pro Asp Cys Leu Asn Cys Thr Asp Leu Asp Val  
 65 70 75 80  
 Ala Leu Gly Arg Pro Met Cys Val Gly Thr Thr Pro Ser Ala Lys Ala  
 85 90 95  
 Ser Ile Leu His Glu Val Lys Pro Val Thr Ser Gly Cys Phe Pro Ile  
 100 105 110  
 Met His Asp Arg Thr Lys Ile Arg Gln Leu Pro Asn Leu Leu Arg Gly  
 115 120 125  
 Tyr Glu Asn Ile Arg Leu Ser Thr Gln Asn Val Ile Asp Ala Glu Lys  
 130 135 140  
 Ala Pro Gly Gly Pro Tyr Arg Leu Gly Thr Ser Gly Ser Cys Pro Asn  
 145 150 155 160  
 Ala Thr Ser Lys Ser Gly Phe Phe Ala Thr Met Ala Trp Ala Val Pro  
 165 170 175  
 Lys Asp Asn Asn Lys Asn Ala Thr Asn Pro Leu Thr Val Glu Val Pro  
 180 185 190  
 Tyr Ile Cys Thr Glu Gly Glu Asp Gln Ile Thr Val Trp Gly Phe His  
 195 200 205  
 Ser Asp Asn Lys Thr Gln Met Lys Asn Leu Tyr Gly Asp Ser Asn Pro  
 210 215 220  
 Gln Lys Phe Thr Ser Ser Ala Asn Gly Val Thr Thr His Tyr Val Ser  
 225 230 235 240  
 Gln Ile Gly Ser Phe Pro Asp Gln Thr Glu Asp Gly Gly Leu Pro Gln  
 245 250 255  
 Ser Gly Arg Ile Val Val Asp Tyr Met Met Gln Lys Pro Gly Lys Thr  
 260 265 270  
 Gly Thr Ile Val Tyr Gln Arg Gly Val Leu Leu Pro Gln Lys Val Trp  
 275 280 285  
 Cys Ala Ser Gly Arg Ser Lys Val Ile Lys Gly Ser Leu Pro Leu Ile  
 290 295 300  
 Gly Glu Ala Asp Cys Leu His Glu Lys Tyr Gly Gly Leu Asn Lys Ser  
 305 310 315 320  
 Lys Pro Tyr Tyr Thr Gly Glu His Ala Lys Ala Ile Gly Asn Cys Pro  
 325 330 335  
 Ile Trp Val Lys Thr Pro Leu Lys Leu Ala Asn Gly Thr Lys Tyr Arg  
 340 345 350  
 Pro Pro Ala Lys Leu Leu Lys Glu Arg Gly Phe Phe Gly Ala Ile Ala  
 355 360 365

Gly Phe Leu Glu Gly Gly Trp Glu Gly Met Ile Ala Gly Trp His Gly  
 370 375 380  
 Tyr Thr Ser His Gly Ala His Gly Val Ala Val Ala Ala Asp Leu Lys  
 385 390 395 400  
 Ser Thr Gln Glu Ala Ile Asn Lys Ile Thr Lys Asn Leu Asn Ser Leu  
 405 410 415  
 Ser Glu Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Arg Leu Ser Gly Ala Met Asp  
 420 425 430  
 Glu Leu His Asn Glu Ile Leu Glu Leu Asp Glu Lys Val Asp Asp Leu  
 435 440 445  
 Arg Ala Asp Thr Ile Ser Ser Gln Ile Glu Leu Ala Val Leu Leu Ser  
 450 455 460  
 Asn Glu Gly Ile Ile Asn Ser Glu Asp Glu His Leu Leu Ala Leu Glu  
 465 470 475 480  
 Arg Lys Leu Lys Lys Met Leu Gly Pro Ser Ala Val Glu Ile Gly Asn  
 485 490 495  
 Gly Cys Phe Glu Thr Lys His Lys Cys Asn Gln Thr Cys Leu Asp Arg  
 500 505 510  
 Ile Ala Ala Gly Thr Phe Asn Ala Gly Glu Phe Ser Leu Pro Thr Phe  
 515 520 525  
 Asp Ser Leu Asn Ile Thr Ala Ala Ser Leu Asn Asp Asp Gly Leu Asp  
 530 535 540  
 Asn His Thr Ile Leu Leu Tyr Tyr Ser Thr Ala Ala Ser Ser Leu Ala  
 545 550 555 560  
 Val Thr Leu Met Leu Ala Ile Phe Ile Val Tyr Met Val Ser Arg Asp  
 565 570 575  
 Asn Val Ser Cys Ser Ile Cys Leu  
 580

<210> 54

<211> 562

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 780 de A/Singapur/1/57

<400> 54

# ES 2 554 703 T3

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Ala | Ile | Ile | Tyr | Leu | Ile | Leu | Leu | Phe | Thr | Ala | Val | Arg | Gly | Asp |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Gln | Ile | Cys | Ile | Gly | Tyr | His | Ala | Asn | Asn | Ser | Thr | Glu | Lys | Val | Asp |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Thr | Ile | Leu | Glu | Arg | Asn | Val | Thr | Val | Thr | His | Ala | Lys | Asp | Ile | Leu |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Glu | Lys | Thr | His | Asn | Gly | Lys | Leu | Cys | Lys | Leu | Asn | Gly | Ile | Pro | Pro |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Leu | Glu | Leu | Gly | Asp | Cys | Ser | Ile | Ala | Gly | Trp | Leu | Leu | Gly | Asn | Pro |

| 65              |         |     |         |         | 70      |         |         |     |         | 75      |         |     |         |  | 80 |
|-----------------|---------|-----|---------|---------|---------|---------|---------|-----|---------|---------|---------|-----|---------|--|----|
| Glu Cys Asp Arg | Leu 85  | Leu | Ser     | Val     | Pro     | Glu 90  | Trp     | Ser | Tyr     | Ile     | Met 95  | Glu |         |  |    |
| Lys Glu Asn     | Pro 100 | Arg | Asp     | Gly     | Leu     | Cys 105 | Tyr     | Pro | Gly     | Ser     | Phe 110 | Asn | Asp     |  |    |
| Tyr Glu Glu     | Leu 115 | Lys | His     | Leu     | Leu 120 | Ser     | Ser     | Val | Lys     | His 125 | Phe     | Glu | Lys     |  |    |
| Val Lys Ile     | Leu 130 | Pro | Lys     | Asp 135 | Arg     | Trp     | Thr     | Gln | His 140 | Thr     | Thr     | Thr | Gly     |  |    |
| Gly Ser Arg     | Ala 145 | Cys | Ala 150 | Val     | Ser     | Gly     | Asn 155 | Pro | Ser     | Phe     | Phe     | Arg | Asn 160 |  |    |
| Met Val Trp     | Leu 165 | Thr | Lys     | Lys     | Glu     | Ser     | Asn 170 | Tyr | Pro     | Val     | Ala     | Lys | Gly 175 |  |    |
| Ser Tyr Asn     | Asn 180 | Thr | Ser     | Gly     | Glu     | Gln 185 | Met     | Leu | Ile     | Ile     | Trp 190 | Gly | Val     |  |    |
| His His Pro     | Asn 195 | Asp | Glu     | Thr     | Glu 200 | Gln     | Arg     | Thr | Leu     | Tyr 205 | Gln     | Asn | Val     |  |    |
| Gly Thr Tyr     | Val 210 | Ser | Val     | Gly 215 | Thr     | Ser     | Thr     | Leu | Asn 220 | Lys     | Arg     | Ser | Thr     |  |    |
| Pro Asp Ile     | Ala 225 | Thr | Arg     | Pro 230 | Lys     | Val     | Asn 235 | Gly | Leu     | Gly     | Ser     | Arg | Met 240 |  |    |
| Glu Phe Ser     | Trp 245 | Thr | Leu     | Leu     | Asp     | Met     | Trp 250 | Asp | Thr     | Ile     | Asn     | Phe | Glu 255 |  |    |
| Ser Thr Gly     | Asn 260 | Leu | Ile     | Ala     | Pro     | Glu 265 | Tyr     | Gly | Phe     | Lys     | Ile 270 | Ser | Lys     |  |    |
| Arg Gly Ser     | Ser 275 | Gly | Ile     | Met     | Lys 280 | Thr     | Glu     | Gly | Thr     | Leu 285 | Glu     | Asn | Cys     |  |    |
| Glu Thr Lys     | Cys 290 | Gln | Thr     | Pro 295 | Leu     | Gly     | Ala     | Ile | Asn 300 | Thr     | Thr     | Leu | Pro     |  |    |
| Phe His Asn     | Val 305 | His | Pro 310 | Leu     | Thr     | Ile     | Gly 315 | Glu | Cys     | Pro     | Lys     | Tyr | Val 320 |  |    |
| Lys Ser Glu     | Lys 325 | Leu | Val     | Leu     | Ala     | Thr     | Gly 330 | Leu | Arg     | Asn     | Val     | Pro | Gln 335 |  |    |
| Ile Glu Ser     | Arg 340 | Gly | Leu     | Phe     | Gly 345 | Ala     | Ile     | Ala | Gly     | Phe     | Ile 350 | Glu | Gly     |  |    |
| Gly Trp Gln     | Gly 355 | Met | Val     | Asp 360 | Gly     | Trp     | Tyr     | Gly | Tyr     | His 365 | His     | Ser | Asn     |  |    |
| Asp Gln Gly     | Ser 370 | Gly | Tyr     | Ala 375 | Ala     | Asp     | Lys     | Glu | Ser 380 | Thr     | Gln     | Lys | Ala     |  |    |
| Phe Asp Gly     | Ile 385 | Thr | Asn 390 | Lys     | Val     | Asn     | Ser 395 | Val | Ile     | Glu     | Lys     | Met | Asn 400 |  |    |
| Thr Gln Phe     | Glu 405 | Ala | Val     | Gly     | Lys     | Glu     | Phe 410 | Ser | Asn     | Leu     | Glu     | Arg | Arg 415 |  |    |

Leu Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp  
 420 425 430  
 Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu  
 435 440 445  
 Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg Met  
 450 455 460  
 Gln Leu Arg Asp Asn Val Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe  
 465 470 475 480  
 Tyr His Lys Cys Asp Asp Glu Cys Met Asn Ser Val Lys Asn Gly Thr  
 485 490 495  
 Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Glu Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Asn Glu  
 500 505 510  
 Ile Lys Gly Val Lys Leu Ser Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile Leu Ala  
 515 520 525  
 Ile Tyr Ala Thr Val Ala Gly Ser Leu Ser Leu Ala Ile Met Met Ala  
 530 535 540  
 Gly Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln Cys Arg Ile  
 545 550 555 560

# **Cys Ile**

<210> 55

<211> 567

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 781 de A/Anhui/1/2005

<400> 55

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| Met | Glu | Lys | Ile | Val | Leu | Leu | Leu | Ala | Ile | Val | Ser | Leu | Val | Lys | Ser | 1   | 5   | 10  | 15 |
| Asp | Gln | Ile | Cys | Ile | Gly | Tyr | His | Ala | Asn | Asn | Ser | Thr | Glu | Gln | Val | 20  | 25  | 30  |    |
| Asp | Thr | Ile | Met | Glu | Lys | Asn | Val | Thr | Val | Thr | His | Ala | Gln | Asp | Ile | 35  | 40  | 45  |    |
| Leu | Glu | Lys | Thr | His | Asn | Gly | Lys | Leu | Cys | Asp | Leu | Asp | Gly | Val | Lys | 50  | 55  | 60  |    |
| Pro | Leu | Ile | Leu | Arg | Asp | Cys | Ser | Val | Ala | Gly | Trp | Leu | Leu | Gly | Asn | 65  | 70  | 75  | 80 |
| Pro | Met | Cys | Asp | Glu | Phe | Ile | Asn | Val | Pro | Glu | Trp | Ser | Tyr | Ile | Val | 85  | 90  | 95  |    |
| Glu | Lys | Ala | Asn | Pro | Ala | Asn | Asp | Leu | Cys | Tyr | Pro | Gly | Asn | Phe | Asn | 100 | 105 | 110 |    |
| Asp | Tyr | Glu | Glu | Leu | Lys | His | Leu | Leu | Ser | Arg | Ile | Asn | His | Phe | Glu | 115 | 120 | 125 |    |
| Lys | Ile | Gln | Ile | Ile | Pro | Lys | Ser | Ser | Trp | Ser | Asp | His | Glu | Ala | Ser |     |     |     |    |

|                                                                 |     |     |     |     |  |     |     |     |     |     |     |  |     |     |     |  |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|--|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|-----|-----|-----|--|-----|
| 130                                                             | 135 | 140 |     |     |  |     |     |     |     |     |     |  |     |     |     |  |     |
| Ser Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Thr Pro Ser Phe Phe |     |     |     |     |  |     |     |     |     |     |     |  |     |     |     |  |     |
| 145                                                             |     | 150 |     |     |  |     |     |     | 155 |     |     |  |     |     |     |  | 160 |
| Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asn Thr Tyr Pro Thr Ile |     |     |     |     |  |     |     |     |     |     |     |  |     |     |     |  |     |
|                                                                 |     | 165 |     |     |  |     |     |     | 170 |     |     |  |     |     |     |  | 175 |
| Lys Arg Ser Tyr Asn Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Ile Leu Trp |     |     |     |     |  |     |     |     | 185 |     |     |  |     |     |     |  |     |
|                                                                 |     | 180 |     |     |  |     |     |     |     |     |     |  |     |     |     |  | 190 |
| Gly Ile His His Ser Asn Asp Ala Ala Glu Gln Thr Lys Leu Tyr Gln |     |     |     |     |  |     |     |     |     |     |     |  |     |     |     |  |     |
|                                                                 |     | 195 |     |     |  |     |     | 200 |     |     |     |  |     | 205 |     |  |     |
| Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg |     |     |     |     |  |     |     |     |     |     |     |  |     |     |     |  |     |
|                                                                 |     | 210 |     |     |  |     | 215 |     |     |     |     |  |     | 220 |     |  |     |
| Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly |     |     |     |     |  |     |     |     |     |     |     |  |     |     |     |  |     |
|                                                                 |     | 225 |     |     |  | 230 |     |     |     |     | 235 |  |     |     |     |  | 240 |
| Arg Met Asp Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Pro Asn Asp Ala Ile Asn |     |     |     |     |  |     |     |     |     |     |     |  |     |     |     |  |     |
|                                                                 |     |     |     | 245 |  |     |     |     |     |     | 250 |  |     |     |     |  | 255 |
| Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Tyr Ala Tyr Lys Ile |     |     |     |     |  |     |     |     |     |     |     |  |     |     |     |  |     |
|                                                                 |     |     | 260 |     |  |     |     | 265 |     |     |     |  |     |     | 270 |  |     |
| Val Lys Lys Gly Asp Ser Ala Ile Val Lys Ser Glu Val Glu Tyr Gly |     |     |     |     |  |     |     |     |     |     |     |  |     |     |     |  |     |
|                                                                 |     | 275 |     |     |  |     |     | 280 |     |     |     |  |     | 285 |     |  |     |
| Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser |     |     |     |     |  |     |     |     |     |     |     |  |     |     |     |  |     |
|                                                                 |     | 290 |     |     |  |     | 295 |     |     |     |     |  | 300 |     |     |  |     |
| Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys |     |     |     |     |  |     |     |     |     |     |     |  |     |     |     |  |     |
|                                                                 |     | 305 |     |     |  | 310 |     |     |     |     | 315 |  |     |     |     |  | 320 |
| Tyr Val Lys Ser Asn Lys Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser |     |     |     |     |  |     |     |     |     |     |     |  |     |     |     |  |     |
|                                                                 |     |     |     | 325 |  |     |     |     |     | 330 |     |  |     |     |     |  | 335 |
| Pro Leu Arg Glu Arg Arg Arg Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala |     |     |     |     |  |     |     |     |     |     |     |  |     |     |     |  |     |
|                                                                 |     |     | 340 |     |  |     |     | 345 |     |     |     |  |     |     | 350 |  |     |
| Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly |     |     |     |     |  |     |     |     |     |     |     |  |     |     |     |  |     |
|                                                                 |     | 355 |     |     |  |     |     | 360 |     |     |     |  |     | 365 |     |  |     |
| Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys Glu |     |     |     |     |  |     |     |     |     |     |     |  |     |     |     |  |     |
|                                                                 |     | 370 |     |     |  |     | 375 |     |     |     |     |  | 380 |     |     |  |     |
| Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser Ile |     |     |     |     |  |     |     |     |     |     |     |  |     |     |     |  |     |
|                                                                 |     | 385 |     |     |  | 390 |     |     |     |     | 395 |  |     |     |     |  | 400 |
| Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe Asn |     |     |     |     |  |     |     |     |     |     |     |  |     |     |     |  |     |
|                                                                 |     |     |     | 405 |  |     |     |     | 410 |     |     |  |     |     |     |  | 415 |
| Asn Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly |     |     |     |     |  |     |     |     |     |     |     |  |     |     |     |  |     |
|                                                                 |     |     | 420 |     |  |     |     |     | 425 |     |     |  |     |     | 430 |  |     |
| Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu |     |     |     |     |  |     |     |     |     |     |     |  |     |     |     |  |     |
|                                                                 |     | 435 |     |     |  |     |     | 440 |     |     |     |  |     | 445 |     |  |     |
| Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr |     |     |     |     |  |     |     |     |     |     |     |  |     |     |     |  |     |
|                                                                 |     | 450 |     |     |  |     | 455 |     |     |     |     |  | 460 |     |     |  |     |
| Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly Asn |     |     |     |     |  |     |     |     |     |     |     |  |     |     |     |  |     |
|                                                                 |     | 465 |     |     |  | 470 |     |     |     |     | 475 |  |     |     |     |  | 480 |



|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gly | Cys | Phe | Glu | Phe | Tyr | His | Lys | Cys | Asp | Asn | Glu | Cys | Met | Glu | Ser |
|     |     |     | 485 |     |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |
| Val | Arg | Asn | Gly | Thr | Tyr | Asp | Tyr | Pro | Gln | Tyr | Ser | Glu | Glu | Ala | Arg |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |     |
| Leu | Lys | Arg | Glu | Glu | Ile | Ser | Gly | Val | Lys | Leu | Glu | Ser | Ile | Gly | Thr |
|     |     | 515 |     |     |     |     | 520 |     |     |     |     | 525 |     |     |     |
| Tyr | Gln | Ile | Leu | Ser | Ile | Tyr | Ser | Thr | Val | Ala | Ser | Ser | Leu | Ala | Leu |
|     | 530 |     |     |     |     | 535 |     |     |     |     | 540 |     |     |     |     |
| Ala | Ile | Met | Val | Ala | Gly | Leu | Ser | Leu | Trp | Met | Cys | Ser | Asn | Gly | Ser |
| 545 |     |     |     |     | 550 |     |     |     |     | 555 |     |     |     |     | 560 |
| Leu | Gln | Cys | Arg | Ile | Cys | Ile |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     |     | 565 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 56

<211> 568

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 782 de A/Vietnam/1194/2004

<400> 56

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Glu | Lys | Ile | Val | Leu | Leu | Phe | Ala | Ile | Val | Ser | Leu | Val | Lys | Ser | 1   | 5   | 10  | 15  |
| Asp | Gln | Ile | Cys | Ile | Gly | Tyr | His | Ala | Asn | Asn | Ser | Thr | Glu | Gln | Val | 20  | 25  | 30  |     |
| Asp | Thr | Ile | Met | Glu | Lys | Asn | Val | Thr | Val | Thr | His | Ala | Gln | Asp | Ile | 35  | 40  | 45  |     |
| Leu | Glu | Lys | Thr | His | Asn | Gly | Lys | Leu | Cys | Asp | Leu | Asp | Gly | Val | Lys | 50  | 55  | 60  |     |
| Pro | Leu | Ile | Leu | Arg | Asp | Cys | Ser | Val | Ala | Gly | Trp | Leu | Leu | Gly | Asn | 65  | 70  | 75  | 80  |
| Pro | Met | Cys | Asp | Glu | Phe | Ile | Asn | Val | Pro | Glu | Trp | Ser | Tyr | Ile | Val | 85  | 90  | 95  |     |
| Glu | Lys | Ala | Asn | Pro | Val | Asn | Asp | Leu | Cys | Tyr | Pro | Gly | Asp | Phe | Asn | 100 | 105 | 110 |     |
| Asp | Tyr | Glu | Glu | Leu | Lys | His | Leu | Leu | Ser | Arg | Ile | Asn | His | Phe | Glu | 115 | 120 | 125 |     |
| Lys | Ile | Gln | Ile | Ile | Pro | Lys | Ser | Ser | Trp | Ser | Ser | His | Glu | Ala | Ser | 130 | 135 | 140 |     |
| Leu | Gly | Val | Ser | Ser | Ala | Cys | Pro | Tyr | Gln | Gly | Lys | Ser | Ser | Phe | Phe | 145 | 150 | 155 | 160 |
| Arg | Asn | Val | Val | Trp | Leu | Ile | Lys | Lys | Asn | Ser | Thr | Tyr | Pro | Thr | Ile | 165 | 170 | 175 |     |
| Lys | Arg | Ser | Tyr | Asn | Asn | Thr | Asn | Gln | Glu | Asp | Leu | Leu | Val | Leu | Trp | 180 | 185 | 190 |     |
| Gly | Ile | His | His | Pro | Asn | Asp | Ala | Ala | Glu | Gln | Thr | Lys | Leu | Tyr | Gln |     |     |     |     |

| 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asn | Pro | Thr | Thr | Tyr | Ile | Ser | Val | Gly | Thr | Ser | Thr | Leu | Asn | Gln | Arg |
| 210 |     |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Leu | Val | Pro | Arg | Ile | Ala | Thr | Arg | Ser | Lys | Val | Asn | Gly | Gln | Ser | Gly |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Arg | Met | Glu | Phe | Phe | Trp | Thr | Ile | Leu | Lys | Pro | Asn | Asp | Ala | Ile | Asn |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Phe | Glu | Ser | Asn | Gly | Asn | Phe | Ile | Ala | Pro | Glu | Tyr | Ala | Tyr | Lys | Ile |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Val | Lys | Lys | Gly | Asp | Ser | Thr | Ile | Met | Lys | Ser | Glu | Leu | Glu | Tyr | Gly |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Asn | Cys | Asn | Thr | Lys | Cys | Gln | Thr | Pro | Met | Gly | Ala | Ile | Asn | Ser | Ser |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Met | Pro | Phe | His | Asn | Ile | His | Pro | Leu | Thr | Ile | Gly | Glu | Cys | Pro | Lys |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Tyr | Val | Lys | Ser | Asn | Arg | Leu | Val | Leu | Ala | Thr | Gly | Leu | Arg | Asn | Ser |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Pro | Gln | Arg | Glu | Arg | Arg | Lys | Lys | Arg | Gly | Leu | Phe | Gly | Ala | Ile |     |
|     |     |     | 340 |     |     |     | 345 |     |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ala | Gly | Phe | Ile | Glu | Gly | Gly | Trp | Gln | Gly | Met | Val | Asp | Gly | Trp | Tyr |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Gly | Tyr | His | His | Ser | Asn | Glu | Gln | Gly | Ser | Gly | Tyr | Ala | Ala | Asp | Lys |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Glu | Ser | Thr | Gln | Lys | Ala | Ile | Asp | Gly | Val | Thr | Asn | Lys | Val | Asn | Ser |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     | 400 |     |
| Ile | Ile | Asp | Lys | Met | Asn | Thr | Gln | Phe | Glu | Ala | Val | Gly | Arg | Glu | Phe |
|     |     |     | 405 |     |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Asn | Asn | Leu | Glu | Arg | Arg | Ile | Glu | Asn | Leu | Asn | Lys | Lys | Met | Glu | Asp |
|     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Gly | Phe | Leu | Asp | Val | Trp | Thr | Tyr | Asn | Ala | Glu | Leu | Leu | Val | Leu | Met |
|     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Glu | Asn | Glu | Arg | Thr | Leu | Asp | Phe | His | Asp | Ser | Asn | Val | Lys | Asn | Leu |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Tyr | Asp | Lys | Val | Arg | Leu | Gln | Leu | Arg | Asp | Asn | Ala | Lys | Glu | Leu | Gly |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Asn | Gly | Cys | Phe | Glu | Phe | Tyr | His | Lys | Cys | Asp | Asn | Glu | Cys | Met | Glu |
|     |     |     | 485 |     |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |
| Ser | Val | Arg | Asn | Gly | Thr | Tyr | Asp | Tyr | Pro | Gln | Tyr | Ser | Glu | Glu | Ala |
|     |     |     | 500 |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |     |     |
| Arg | Leu | Lys | Arg | Glu | Glu | Ile | Ser | Gly | Val | Lys | Leu | Glu | Ser | Ile | Gly |
|     |     | 515 |     |     |     |     | 520 |     |     |     |     | 525 |     |     |     |
| Ile | Tyr | Gln | Ile | Leu | Ser | Ile | Tyr | Ser | Thr | Val | Ala | Ser | Ser | Leu | Ala |
|     | 530 |     |     |     |     | 535 |     |     |     |     | 540 |     |     |     |     |
| Leu | Ala | Ile | Met | Val | Ala | Gly | Leu | Ser | Leu | Trp | Met | Cys | Ser | Asn | Gly |
| 545 |     |     |     |     | 550 |     |     |     |     | 555 |     |     |     |     | 560 |
| Ser | Leu | Gln | Cys | Arg | Ile | Cys | Ile |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     |     | 565 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 57

&lt;211&gt; 566

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Secuencia artificial

5 &lt;220&gt;

&lt;223&gt; clon 783 de A/Trullo/HongKong/W312/97

&lt;400&gt; 57

```

Met Ile Ala Ile Ile Val Ile Ala Ile Leu Ala Ala Ala Gly Lys Ser
 1           5           10           15

Asp Lys Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Thr Gln Val
 20           25           30

Asp Thr Ile Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Ile Glu Leu
 35           40           45

Leu Glu Asn Gln Lys Glu Glu Arg Phe Cys Lys Ile Leu Asn Lys Ala
 50           55           60

Pro Leu Asp Leu Arg Glu Cys Thr Ile Glu Gly Trp Ile Leu Gly Asn
 65           70           75           80

Pro Gln Cys Asp Leu Leu Leu Gly Asp Gln Ser Trp Ser Tyr Ile Val
 85           90           95

Glu Arg Pro Thr Ala Gln Asn Gly Ile Cys Tyr Pro Gly Thr Leu Asn
100           105           110

Glu Val Glu Glu Leu Arg Ala Leu Ile Gly Ser Gly Glu Arg Val Glu
115           120           125

Arg Phe Glu Met Phe Pro Gln Ser Thr Trp Gln Gly Val Asp Thr Asn
130           135           140

Ser Gly Thr Thr Arg Ser Cys Pro Tyr Ser Thr Gly Ala Ser Phe Tyr
145           150           155           160

Arg Asn Leu Leu Trp Ile Ile Lys Thr Lys Thr Ala Glu Tyr Pro Val
165           170           175

Ile Lys Gly Ile Tyr Asn Asn Thr Gly Thr Gln Pro Ile Leu Tyr Phe
180           185           190

Trp Gly Val His His Pro Pro Asn Thr Asp Glu Gln Asp Thr Leu Tyr
195           200           205

Gly Ser Gly Asp Arg Tyr Val Arg Met Gly Thr Glu Ser Met Asn Phe
210           215           220

Ala Lys Ser Pro Glu Ile Ala Ala Arg Pro Ala Val Asn Gly Gln Arg
225           230           235           240

Gly Arg Ile Asp Tyr Tyr Trp Ser Val Leu Lys Pro Gly Glu Thr Leu
245           250           255

Asn Val Glu Ser Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Tyr Lys

```

| 260 |     |     |     |     |     |     |     | 265 |     |     |     | 270 |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Phe | Val | Asn | Thr | Asn | Ser | Lys | Gly | Ala | Val | Phe | Arg | Ser | Asp | Leu | Pro |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ile | Glu | Asn | Cys | Asp | Ala | Thr | Cys | Gln | Thr | Ile | Ala | Gly | Val | Leu | Arg |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Thr | Asn | Lys | Thr | Phe | Gln | Asn | Val | Ser | Pro | Leu | Trp | Ile | Gly | Glu | Cys |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     | 320 |     |
| Pro | Lys | Tyr | Val | Lys | Ser | Glu | Ser | Leu | Arg | Leu | Ala | Thr | Gly | Leu | Arg |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Asn | Val | Pro | Gln | Ile | Glu | Thr | Arg | Gly | Leu | Phe | Gly | Ala | Ile | Ala | Gly |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Phe | Ile | Glu | Gly | Gly | Trp | Thr | Gly | Met | Ile | Asp | Gly | Trp | Tyr | Gly | Tyr |
|     | 355 |     |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| His | His | Glu | Asn | Ser | Gln | Gly | Ser | Gly | Tyr | Ala | Ala | Asp | Arg | Glu | Ser |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Thr | Gln | Lys | Ala | Val | Asn | Arg | Ile | Thr | Asn | Lys | Val | Asn | Ser | Ile | Ile |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Lys | Met | Asn | Thr | Gln | Phe | Glu | Ala | Val | Asp | His | Glu | Phe | Ser | Asn |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Leu | Glu | Arg | Arg | Ile | Asp | Asn | Leu | Asn | Lys | Arg | Met | Gln | Asp | Gly | Phe |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     |     | 425 |     |     |     | 430 |     |     |
| Leu | Asp | Val | Trp | Thr | Tyr | Asn | Ala | Glu | Leu | Leu | Val | Leu | Leu | Glu | Asn |
|     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Glu | Arg | Thr | Leu | Asp | Met | His | Asp | Ala | Asn | Val | Lys | Asn | Leu | His | Glu |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Lys | Val | Lys | Ser | Gln | Leu | Arg | Asp | Asn | Ala | Thr | Ile | Leu | Gly | Asn | Gly |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Cys | Phe | Glu | Phe | Trp | His | Lys | Cys | Asp | Asn | Glu | Cys | Ile | Glu | Ser | Val |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |
| Lys | Asn | Gly | Thr | Tyr | Asp | Tyr | Pro | Lys | Tyr | Gln | Thr | Glu | Ser | Lys | Leu |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     |     | 505 |     |     |     | 510 |     |     |
| Asn | Arg | Leu | Lys | Ile | Glu | Ser | Val | Lys | Leu | Glu | Asn | Leu | Gly | Val | Tyr |
|     |     | 515 |     |     |     |     | 520 |     |     |     |     | 525 |     |     |     |
| Gln | Ile | Leu | Ala | Ile | Tyr | Ser | Thr | Val | Ser | Ser | Ser | Leu | Val | Leu | Val |
|     | 530 |     |     |     |     | 535 |     |     |     |     | 540 |     |     |     |     |
| Gly | Leu | Ile | Met | Ala | Met | Gly | Leu | Trp | Met | Cys | Ser | Asn | Gly | Ser | Met |
| 545 |     |     |     |     | 550 |     |     |     |     | 555 |     |     |     |     | 560 |
| Gln | Cys | Arg | Ile | Cys | Ile |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     |     | 565 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 58

<211> 570

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

&lt;223&gt; clon 784 de A/Equino/Praga/56

&lt;400&gt; 58

```

Met Asn Thr Gln Ile Leu Ile Leu Ala Thr Ser Ala Phe Phe Tyr Val
1      5      10      15

Arg Ala Asp Lys Ile Cys Leu Gly His His Ala Val Ser Asn Gly Thr
      20      25      30

Lys Val Asp Thr Leu Thr Glu Lys Gly Ile Glu Val Val Asn Ala Thr
      35      40      45

Glu Thr Val Glu Gln Thr Asn Ile Pro Lys Ile Cys Ser Lys Gly Lys
      50      55      60

Gln Thr Val Asp Leu Gly Gln Cys Gly Leu Leu Gly Thr Val Ile Gly
      65      70      75      80

Pro Pro Gln Cys Asp Gln Phe Leu Glu Phe Ser Ala Asn Leu Ile Val
      85      90      95

Glu Arg Arg Glu Gly Asn Asp Ile Cys Tyr Pro Gly Lys Phe Asp Asn
      100     105     110

Glu Glu Thr Leu Arg Lys Ile Leu Arg Lys Ser Gly Gly Ile Lys Lys
      115     120     125

Glu Asn Met Gly Phe Thr Tyr Thr Gly Val Arg Thr Asn Gly Glu Thr
      130     135     140

Ser Ala Cys Arg Arg Ser Arg Ser Ser Phe Tyr Ala Glu Met Lys Trp
      145     150     155     160

Leu Leu Ser Ser Thr Asp Asn Gly Thr Phe Pro Gln Met Thr Lys Ser
      165     170     175

Tyr Lys Asn Thr Lys Lys Val Pro Ala Leu Ile Ile Trp Gly Ile His
      180     185     190

His Ser Gly Ser Thr Thr Glu Gln Thr Arg Leu Tyr Gly Ser Gly Asn
      195     200     205

Lys Leu Ile Thr Val Trp Ser Ser Lys Tyr Gln Gln Ser Phe Val Pro
      210     215     220

Asn Pro Gly Pro Arg Pro Gln Met Asn Gly Gln Ser Gly Arg Ile Asp
      225     230     235     240

Phe His Trp Leu Met Leu Asp Pro Asn Asp Thr Val Thr Phe Ser Phe
      245     250     255

Asn Gly Ala Phe Ile Ala Pro Asp Arg Ala Ser Phe Leu Arg Gly Lys
      260     265     270

Ser Leu Gly Ile Gln Ser Asp Ala Gln Leu Asp Asn Asn Cys Glu Gly
      275     280     285

Glu Cys Tyr His Ile Gly Gly Thr Ile Ile Ser Asn Leu Pro Phe Gln
      290     295     300

Asn Ile Asn Ser Arg Ala Ile Gly Lys Cys Pro Arg Tyr Val Lys Gln
      305     310     315     320

Lys Ser Leu Met Leu Ala Thr Gly Met Lys Asn Val Pro Glu Ala Pro

```

| 325 |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |  |  |  |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|--|--|
| Ala | His | Lys | Gln | Leu | Thr | His | His | Met | Arg | Lys | Lys | Arg | Gly | Leu | Phe |  |  |  |  |
| 340 |     |     |     |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |  |  |  |  |
| Gly | Ala | Ile | Ala | Gly | Phe | Ile | Glu | Asn | Gly | Trp | Glu | Gly | Leu | Ile | Asp |  |  |  |  |
| 355 |     |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |  |  |  |
| Gly | Trp | Tyr | Gly | Tyr | Lys | His | Gln | Asn | Ala | Gln | Gly | Glu | Gly | Thr | Ala |  |  |  |  |
| 370 |     |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     |     | 380 |     |     |     |  |  |  |  |
| Ala | Asp | Tyr | Lys | Ser | Thr | Gln | Ser | Ala | Ile | Asn | Gln | Ile | Thr | Gly | Lys |  |  |  |  |
| 385 |     |     |     | 390 |     |     |     |     |     | 395 |     |     |     | 400 |     |  |  |  |  |
| Leu | Asn | Arg | Leu | Ile | Glu | Lys | Thr | Asn | Gln | Gln | Phe | Glu | Leu | Ile | Asp |  |  |  |  |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     | 410 |     |     |     |     |     | 415 |     |  |  |  |  |
| Asn | Glu | Phe | Asn | Glu | Ile | Glu | Lys | Gln | Ile | Gly | Asn | Val | Ile | Asn | Trp |  |  |  |  |
|     |     | 420 |     |     |     |     |     | 425 |     |     |     | 430 |     |     |     |  |  |  |  |
| Thr | Arg | Asp | Ser | Ile | Ile | Glu | Val | Trp | Ser | Tyr | Asn | Ala | Glu | Phe | Leu |  |  |  |  |
|     |     | 435 |     |     |     | 440 |     |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |  |  |  |
| Val | Ala | Val | Glu | Asn | Gln | His | Thr | Ile | Asp | Leu | Thr | Asp | Ser | Glu | Met |  |  |  |  |
| 450 |     |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     |     | 460 |     |     |     |  |  |  |  |
| Asn | Lys | Leu | Tyr | Glu | Lys | Val | Arg | Arg | Gln | Leu | Arg | Glu | Asn | Ala | Glu |  |  |  |  |
| 465 |     |     |     | 470 |     |     |     |     |     | 475 |     |     |     | 480 |     |  |  |  |  |
| Glu | Asp | Gly | Asn | Gly | Cys | Phe | Glu | Ile | Phe | His | Gln | Cys | Asp | Asn | Asp |  |  |  |  |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     | 490 |     |     |     |     |     | 495 |     |  |  |  |  |
| Cys | Met | Ala | Ser | Ile | Arg | Asn | Asn | Thr | Tyr | Asp | His | Lys | Lys | Tyr | Arg |  |  |  |  |
|     |     | 500 |     |     |     |     |     | 505 |     |     |     | 510 |     |     |     |  |  |  |  |
| Lys | Glu | Ala | Ile | Gln | Asn | Arg | Ile | Gln | Ile | Asp | Ala | Val | Lys | Leu | Ser |  |  |  |  |
|     |     | 515 |     |     |     | 520 |     |     |     |     |     | 525 |     |     |     |  |  |  |  |
| Ser | Gly | Tyr | Lys | Asp | Ile | Ile | Leu | Trp | Phe | Ser | Phe | Gly | Ala | Ser | Cys |  |  |  |  |
| 530 |     |     |     |     |     | 535 |     |     |     |     |     | 540 |     |     |     |  |  |  |  |
| Phe | Leu | Phe | Leu | Ala | Ile | Ala | Met | Gly | Leu | Val | Phe | Ile | Cys | Ile | Lys |  |  |  |  |
| 545 |     |     |     | 550 |     |     |     |     |     | 555 |     |     |     | 560 |     |  |  |  |  |
| Asn | Gly | Asn | Met | Arg | Cys | Thr | Ile | Cys | Ile |     |     |     |     |     |     |  |  |  |  |
|     |     |     |     | 565 |     |     |     | 570 |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |  |

<210> 59

<211> 560

&lt;212&gt; PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> clon 785 de A/HongKong/1073/99

<400> 59

# ES 2 554 703 T3

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Glu | Thr | Ile | Ser | Leu | Ile | Thr | Ile | Leu | Leu | Val | Val | Thr | Ala | Ser |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asn | Ala | Asp | Lys | Ile | Cys | Ile | Gly | His | Gln | Ser | Thr | Asn | Ser | Thr | Glu |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Thr | Val | Asp | Thr | Leu | Thr | Glu | Thr | Asn | Val | Pro | Val | Thr | His | Ala | Lys |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |



|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Glu | Leu | Leu | His | Thr | Glu | His | Asn | Gly | Met | Leu | Cys | Ala | Thr | Ser | Leu | 50  | 55  | 60  |
| Gly | His | Pro | Leu | Ile | Leu | Asp | Thr | Cys | Thr | Ile | Glu | Gly | Leu | Val | Tyr | 65  | 70  | 75  |
| Gly | Asn | Pro | Ser | Cys | Asp | Leu | Leu | Leu | Gly | Gly | Arg | Glu | Trp | Ser | Tyr | 85  | 90  | 95  |
| Ile | Val | Glu | Arg | Ser | Ser | Ala | Val | Asn | Gly | Thr | Cys | Tyr | Pro | Gly | Asn | 100 | 105 | 110 |
| Val | Glu | Asn | Leu | Glu | Glu | Leu | Arg | Thr | Leu | Phe | Ser | Ser | Ala | Ser | Ser | 115 | 120 | 125 |
| Tyr | Gln | Arg | Ile | Gln | Ile | Phe | Pro | Asp | Thr | Thr | Trp | Asn | Val | Thr | Tyr | 130 | 135 | 140 |
| Thr | Gly | Thr | Ser | Arg | Ala | Cys | Ser | Gly | Ser | Phe | Tyr | Arg | Ser | Met | Arg | 145 | 150 | 155 |
| Trp | Leu | Thr | Gln | Lys | Ser | Gly | Phe | Tyr | Pro | Val | Gln | Asp | Ala | Gln | Tyr | 165 | 170 | 175 |
| Thr | Asn | Asn | Arg | Gly | Lys | Ser | Ile | Leu | Phe | Val | Trp | Gly | Ile | His | His | 180 | 185 | 190 |
| Pro | Pro | Thr | Tyr | Thr | Glu | Gln | Thr | Asn | Leu | Tyr | Ile | Arg | Asn | Asp | Thr | 195 | 200 | 205 |
| Thr | Thr | Ser | Val | Thr | Thr | Glu | Asp | Leu | Asn | Arg | Thr | Phe | Lys | Pro | Val | 210 | 215 | 220 |
| Ile | Gly | Pro | Arg | Pro | Leu | Val | Asn | Gly | Leu | Gln | Gly | Arg | Ile | Asp | Tyr | 225 | 230 | 235 |
| Tyr | Trp | Ser | Val | Leu | Lys | Pro | Gly | Gln | Thr | Leu | Arg | Val | Arg | Ser | Asn | 245 | 250 | 255 |
| Gly | Asn | Leu | Ile | Ala | Pro | Trp | Tyr | Gly | His | Val | Leu | Ser | Gly | Gly | Ser | 260 | 265 | 270 |
| His | Gly | Arg | Ile | Leu | Lys | Thr | Asp | Leu | Lys | Gly | Gly | Asn | Cys | Val | Val | 275 | 280 | 285 |
| Gln | Cys | Gln | Thr | Glu | Lys | Gly | Gly | Leu | Asn | Ser | Thr | Leu | Pro | Phe | His | 290 | 295 | 300 |
| Asn | Ile | Ser | Lys | Tyr | Ala | Phe | Gly | Thr | Cys | Pro | Lys | Tyr | Val | Arg | Val | 305 | 310 | 315 |
| Asn | Ser | Leu | Lys | Leu | Ala | Val | Gly | Leu | Arg | Asn | Val | Pro | Ala | Arg | Ser | 325 | 330 | 335 |
| Ser | Arg | Gly | Leu | Phe | Gly | Ala | Ile | Ala | Gly | Phe | Ile | Glu | Gly | Gly | Trp | 340 | 345 | 350 |
| Pro | Gly | Leu | Val | Ala | Gly | Trp | Tyr | Gly | Phe | Gln | His | Ser | Asn | Asp | Gln | 355 | 360 | 365 |
| Gly | Val | Gly | Met | Ala | Ala | Asp | Arg | Asp | Ser | Thr | Gln | Lys | Ala | Ile | Asp | 370 | 375 | 380 |
| Lys | Ile | Thr | Ser | Lys | Val | Asn | Asn | Ile | Val | Asp | Lys | Met | Asn | Lys | Gln |     |     |     |

|                                                                 |                                             |     |     |     |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| 385                                                             |                                             | 390 |     | 395 |     | 400 |
| Tyr Glu Ile Ile Asp                                             | His Glu Phe Ser Glu Val Glu Thr Arg Leu Asn |     |     |     |     |     |
|                                                                 | 405                                         |     |     | 410 |     | 415 |
| Met Ile Asn Asn Lys Ile Asp Asp                                 | Gln Ile Gln Asp Val Trp Ala Tyr             |     |     |     |     |     |
|                                                                 | 420                                         |     | 425 |     | 430 |     |
| Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Lys Thr Leu Asp Glu |                                             |     |     |     |     |     |
|                                                                 | 435                                         |     | 440 |     | 445 |     |
| His Asp Ala Asn Val Asn Asn Leu Tyr Asn Lys Val Lys Arg Ala Leu |                                             |     |     |     |     |     |
|                                                                 | 450                                         |     | 455 |     | 460 |     |
| Gly Ser Asn Ala Met Glu Asp Gly Lys Gly Cys Phe Glu Leu Tyr His |                                             |     |     |     |     |     |
|                                                                 | 465                                         |     | 470 |     | 475 | 480 |
| Lys Cys Asp Asp Gln Cys Met Glu Thr Ile Arg Asn Gly Thr Tyr Asn |                                             |     |     |     |     |     |
|                                                                 | 485                                         |     | 490 |     | 495 |     |
| Arg Arg Lys Tyr Arg Glu Glu Ser Arg Leu Glu Arg Gln Lys Ile Glu |                                             |     |     |     |     |     |
|                                                                 | 500                                         |     | 505 |     | 510 |     |
| Gly Val Lys Leu Glu Ser Glu Gly Thr Tyr Lys Ile Leu Thr Ile Tyr |                                             |     |     |     |     |     |
|                                                                 | 515                                         |     | 520 |     | 525 |     |
| Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Val Leu Ala Met Gly Phe Ala Ala Phe |                                             |     |     |     |     |     |
|                                                                 | 530                                         |     | 535 |     | 540 |     |
| Leu Phe Trp Ala Met Ser Asn Gly Ser Cys Arg Cys Asn Ile Cys Ile |                                             |     |     |     |     |     |
|                                                                 | 545                                         |     | 550 |     | 555 | 560 |

<210> 60

<211> 3111

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción 660 de A/Indonesia/5/2005

<400> 60

|                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------|-----|
| agaggtaccc cgggctggta tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt  | 60  |
| taagttagca agtgtgtaca tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa  | 120 |
| atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt  | 180 |
| tgacaacaat tttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattgggtca | 240 |
| aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga  | 300 |
| gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa  | 360 |
| aagctacaca aataagggtt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg  | 420 |
| taccattaga gaatttttgg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta  | 480 |
| aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaataa attgatgaaa gagttggatt  | 540 |
| aaagttgtat tagtaattag aatttggtgt caaatttaat ttgacatttg atcttttcct  | 600 |
| atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa  | 660 |
| ataacggtat attaatccct ccaaaaaaaa aaaacggtat atttactaaa aaatctaagc  | 720 |

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacaaac | 780  |
| aatcctgatg agataaccca ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa  | 840  |
| atcacacatt ctccacaca tctgagccac acaaaaaacca atccacatct ttatcaccca  | 900  |
| ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag  | 960  |
| agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tggagaaaat agtgcttctt  | 1020 |
| cttgcaatag tcagtcttgt taaaagtgat cagatttgca ttggttacca tgcaaacaat  | 1080 |
| tcaacagagc aggttgacac aatcatggaa aagaacgtta ctggttacaca tgcccaagac | 1140 |
| atactggaaa agacacacaa cggaagctc tgcatctag atggagtga gcctctaatt     | 1200 |
| ttaagagatt gtagttagc tggatggctc ctgggaacc caatgtgtga cgaattcatc    | 1260 |
| aatgtaccgg aatggcttta catagtggag aaggccaatc caaccaatga cctctgttac  | 1320 |
| ccagggagtt tcaacgacta tgaagaactg aaacacctat tgagcagaat aaaccatttt  | 1380 |
| gagaaaattc aaatcatccc caaaagttct tgggtccgac atgaagctc atcaggagtt   | 1440 |
| agctcagcat gtccatacct gggaagctcc tcctttttta gaaatgtggg atggcttacc  | 1500 |
| aaaaagaaca gtacataccc aacaataaag aaaagctaca ataataccaa ccaagaggat  | 1560 |
| cttttggtac tgtggggaat tcaccatcct aatgatgcgg cagagcagac aaggctatat  | 1620 |
| caaaacccaa ccacctatat ttccattggg acatcaacac taaaccagag attggtacca  | 1680 |
| aaaatagcta ctagatccaa agtaaacggg caaagtggaa ggatggagtt cttctggaca  | 1740 |
| attttaaaac ctaatgatgc aatcaacttc gagagtaatg gaaatttcat tgctccagaa  | 1800 |
| tatgcataca aaattgtcaa gaaaggggac tcagcaatta tgaaaagtga attggaatat  | 1860 |
| ggtaactgca acaccaagtg tcaaaactcca atgggggcca taaactctag tatgccattc | 1920 |
| cacaacatac accctctcac catcggggaa tgccccaat atgtgaaatc aaacagatta   | 1980 |
| gtccttgcaa cagggctcag aaatagccct caaagagaga gcagaagaaa aaagagagga  | 2040 |
| ctatttgag ctatagcagg ttttatagag ggaggatggc agggaaatgg agatggttgg   | 2100 |
| tatgggtacc accatagcaa tgagcagggg agtgggtacg ctgcagacaa agaatccact  | 2160 |
| caaaaggcaa tagatggagt caccaataag gtcaactcaa tcattgacaa aatgaacact  | 2220 |
| cagtttgagg ccgttggaag ggaatttaat aacttagaaa ggagaataga gaatttaaac  | 2280 |
| aagaagatgg aagacgggtt tctagatgtc tggacttata atgccgaact tctggttctc  | 2340 |
| atggaaaatg agagaactct agactttcat gactcaaag ttaagaacct ctacgacaag   | 2400 |
| gtccgactac agcttaggga taatgcaaag gagctgggta acggttggtt cgagttctat  | 2460 |
| cacaaatgtg ataataatg tatggaaagt ataagaaacg gaacgtacaa ctatccgcag   | 2520 |
| tattcagaag aagcaagatt aaaaagagag gaaataagtg gggtaaaatt ggaatcaata  | 2580 |
| ggaacttacc aaatactgtc aatttattca acagtggcga gttccctagc actggcaatc  | 2640 |
| atgatggctg gtctatcttt atggatgtgc tccaatggat cgttacaatg cagaatttgc  | 2700 |
| atthaagagc tctaagttaa aatgcttctt cgtctcctat ttataatatg gtttgttatt  | 2760 |
| gttaattttg ttctttaga agagcttaat taatcgttgt tgttatgaaa tactatttgt   | 2820 |
| atgagatgaa ctggtgtaat gtaattcatt tacataagtg gagtcagaat cagaatgttt  | 2880 |
| cctccataac taactagaca tgaagacctg ccgcgtacaa ttgtcttata tttgaacaac  | 2940 |
| taaaattgaa catcttttgc cacaacttta taagtgggta atatagctca aatatatggg  | 3000 |
| caagttcaat agattaataa tggaaatc agttatcgaa attcattaac aatcaactta    | 3060 |
| acgttattaa ctactaattt tatatcatcc cctttgataa atgatagtac a           | 3111 |

<210> 61

<211> 3123

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Construcción 540 de A/Nueva Caledonia/20/1999

<400> 61

|             |             |            |            |            |            |      |
|-------------|-------------|------------|------------|------------|------------|------|
| agaggtagcc  | cgggctggta  | tatttatatg | ttgtcaaata | actcaaaaac | cataaaagtt | 60   |
| taagtttagca | agtgtgtaca  | tttttacttg | aacaaaaata | ttcacctact | actgttataa | 120  |
| atcattatta  | aacattagag  | taaagaaata | tggatgataa | gaacaagagt | agtgatattt | 180  |
| tgacaacaat  | tttgttgcaa  | catttgagaa | aattttgttg | ttctctcttt | tcatttgtca | 240  |
| aaaacaatag  | agagagaaaa  | aggaagagg  | agaataaaaa | cataatgtga | gtatgagaga | 300  |
| gaaagttgta  | caaaagttgt  | acaaaaatag | ttgtacaaat | atcattgagg | aatttgacaa | 360  |
| aagctacaca  | aataaggggt  | aattgctgta | aataaataag | gatgacgcat | tagagagatg | 420  |
| taccattaga  | gaattttttg  | caagtcatta | aaaagaaaga | ataaattatt | tttaaaatta | 480  |
| aaagttgagt  | catttgatta  | aacatgtgat | tatttaatga | attgatgaaa | gagttggatt | 540  |
| aaagttgtat  | tagtaattag  | aatttggtgt | caaatttaat | ttgacatttg | atcttttcct | 600  |
| atatattgcc  | ccatagagtc  | agttaactca | tttttatatt | tcatagatca | aataagagaa | 660  |
| ataacggtat  | attaatccct  | ccaaaaaaa  | aaaacggtat | atttactaaa | aatcctaagc | 720  |
| cacgtaggag  | gataacagga  | tccccgtagg | aggataacat | ccaatccaac | caatcacaac | 780  |
| aatcctgatg  | agataaccca  | ctttaagccc | acgcatctgt | ggcacatcta | cattatctaa | 840  |
| atcacacatt  | cttcacacaca | tctgagccac | acaaaaacca | atccacatct | ttatcaccca | 900  |
| ttctataaaa  | aatcacactt  | tgtgagtcta | cactttgatt | cccttcaaac | acatacaaag | 960  |
| agaagagact  | aattaattaa  | ttaatcatct | tgagagaaaa | tggcgaaaaa | cgttgcgatt | 1020 |
| ttcggcttat  | tgttttctct  | tcttgtgttg | gttccttctc | agatcttcgc | tgacacaata | 1080 |
| tgtataggct  | accatgccaa  | caactcaacc | gacactgttg | acacagtact | tgagaagaat | 1140 |
| gtgacagtga  | cacactctgt  | caacctactt | gaggacagtc | acaatggaaa | actatgtcta | 1200 |
| ctaaaaggaa  | tagccccact  | acaattgggt | aattgcagcg | ttgccggatg | gatcttagga | 1260 |

aaccagaat gcgaattact gatttccaag gaatcatggt cctacattgt agaaacacca 1320  
aatcctgaga atggaacatg ttaccaggg tatttcgccg actatgagga actgagggag 1380  
caattgagtt cagtatcttc atttgagaga ttcgaaatat tccccaaaga aagctcatgg 1440  
cccaaccaca ccgtaaccgg agtatcagca tcatgctccc ataatgggaa aagcagtttt 1500  
tacagaaatt tgctatggct gacggggaag aatggtttgt acccaaacct gagcaagtcc 1560  
tatgtaaaca acaagagaa agaagtcctt gtactatggg gtgttcatca cccgcctaac 1620  
atagggaacc aaagggcact ctatcataca gaaaatgctt atgtctctgt agtgtcttca 1680  
cattatagca gaagattcac ccagaaata gccaaaagac ccaaagtaag agatcaggaa 1740  
ggaagaatca actactactg gactctgctg gaacctgggg atacaataat atttgaggca 1800  
aatggaaatc taatagcgcc atggtatgct tttgactga gtagaggctt tggatcagga 1860  
atcatcacct caaatgcacc aatggatgaa tgtgatgca agtgtcaa acctcaggga 1920  
gctataaaca gcagtcttcc tttccagaat gtacaccag tcacaatagg agagtgtcca 1980  
aagtatgtca ggagtgc aaa attaaggatg gttacaggac taaggaacat cccatccatt 2040  
caatccagag gtttgtttgg agccattgcc ggtttcattg aaggggggtg gactggaatg 2100  
gtagatgggt ggtatggtta tcatcatcag aatgagcaag gatctggcta tgctgcagat 2160  
caaaaaagta cacaaaatgc cattaacggg attacaaaca aggtcaattc tgtaattgag 2220  
aaaatgaaca ctcaattcac agctgtgggc aaagagttca acaaattgga aagaaggatg 2280  
gaaaacttaa ataaaaaagt tgatgatggg tttctagaca tttggacata taatgcagaa 2340  
ttgttggttc tactggaaaa tgaaggact ttggatttcc atgactcaa tgtgaagaat 2400  
ctgtatgaga aagtaaaaag ccaattaaag aataatgcca aagaaatagg aaacgggtgt 2460  
tttgagttct atcacaagtg taacaatgaa tgcattggaga gtgtgaaaaa tggtagctat 2520  
gactatccaa aatattccga agaatacaag ttaaacaggg agaaaattga tggagtga 2580  
ttggaatcaa tgggagtata ccagattctg gcgactact caactgtcg cagttccctg 2640  
gttcttttgg tctccctggg ggcaatcagc ttctggatgt gttccaatgg gtctttgcag 2700  
tgtagaatat gcatctaaga gctctaagtt aaaatgcttc ttcgtctcct atttataata 2760  
tggtttgtta ttgttaattt tgttcttgta gaagagctta attaatcgtt gttgttatga 2820  
aatactattt gtatgagatg aactgggtga atgtaattca tttacataag tggagtca 2880  
atcagaatgt ttcctccata actaactaga catgaagacc tgccgcgtac aattgtctta 2940  
tatttgaaca actaaaattg aacatctttt gccacaactt tataagtggg taatatagct 3000  
caaatatatg gtcaagttca atagattaat aatggaaata tcagttatcg aaattcatta 3060  
acaatcaact taacgttatt aactactaat tttatatcat cccctttgat aaatgatagt 3120  
aca 3123

<210> 62

<211> 3088

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción 774 de A/Brisbane/59/2007

<400> 62

|                                                                     |      |
|---------------------------------------------------------------------|------|
| ctggtatatt tatatgttgt caaataactc aaaaaccata aaagtttaag ttagcaagtg   | 60   |
| tgtacatttt tacttgaaca aaaatattca cctactactg ttataaatca ttattaaaca   | 120  |
| ttagagtaaa gaaatatgga tgataagaac aagagtagtg atattttgac aacaattttg   | 180  |
| ttgcaacatt tgagaaaatt ttgttgttct ctcttttcat tgggtcaaaa caatagagag   | 240  |
| agaaaaagga agagggagaa taaaaacata atgtgagtat gagagagaaa gttgtacaaa   | 300  |
| agttgtacca aaatagttgt acaaatatca ttgaggaatt tgacaaaagc tacacaaata   | 360  |
| agggttaatt gctgtaaata aataaggatg acgcattaga gagatgtacc attagagaat   | 420  |
| ttttggcaag tcattaaaaa gaaagaataa attattttta aaattaaaag ttgagtcatt   | 480  |
| tgattaaaca tgtgattatt taatgaattg atgaaagagt tggattaaag ttgtattagt   | 540  |
| aattagaatt tgggtgtcaa ttttaattga catttgcctt tttcctatat attgccccat   | 600  |
| agagtcagtt aactcatttt tatatttcat agatcaaata agagaaataa cggatatatta  | 660  |
| atccctccaa aaaaaaaaaa cggatatatt actaaaaaat ctaagccacg taggaggata   | 720  |
| acaggatccc cgtaggagga taacatccaa tccaaccaat cacaacaatc ctgatgagat   | 780  |
| aaccactttt aagcccacgc atctgtggca catctacatt atcctaaatca cacattcttc  | 840  |
| cacacatctg agccacacaa aaaccaatcc acatctttat caccatttct ataaaaaatc   | 900  |
| acactttgtg agtctacact ttgattccct tcaaacacat acaaagagaa gagactaatt   | 960  |
| aattaattaa tcatcttgag agaaaatgaa agtaaaacta ctggctcctgt tatgcacatt  | 1020 |
| tacagctaca tatgcagaca caatatgtat aggctaccat gctaaacaact cgaccgacac  | 1080 |
| tgttgacaca gtacttgaaa agaattgtgac agtgacacac tctgtcaacc tgcttgagaa  | 1140 |
| cagtcacaat ggaaaaactat gtctattaaa aggaatagcc ccactacaat tgggtaattg  | 1200 |
| cagcgttgcc ggggtggatct taggaaaccc agaattgcgaa ttactgattt ccaaggagtc | 1260 |
| atggtcctac attgtagaaa aaccaaatcc tgagaatgga acatgttacc cagggcattt   | 1320 |
| cgctgactat gaggaactga gggagcaatt gagttcagta tcttcatttg agaggttcga   | 1380 |
| aatattcccc aaagaaagct catggcccaa ccacaccgta accggagtgt cagcatcatg   | 1440 |
| ctcccataat ggggaaagca gtttttacag aaatttgcta tggctgacgg ggaagaatgg   | 1500 |
| tttgtacca aacctgagca agtcctatgc aaacaacaaa gaaaaagaag tccttgtact    | 1560 |
| atggggtgtt catcaccgcg caaacatagg tgaccaaaaag gccctctatc atacagaaaa  | 1620 |
| tgcttatgtc tctgtagtgt cttcacatta tagcagaaaa ttcaccccag aaatagccaa   | 1680 |

aagacccaaa gtaagagatc aagaaggaag aatcaattac tactggactc tgcttgaacc 1740  
 cggggataca ataatatattg aggcaaatg aaatctaata gcgccaagat atgctttcgc 1800  
 actgagtaga ggctttggat caggaatcat caactcaaat gcaccaatgg ataaatgtga 1860  
 tgcgaagtgc caaacacctc agggagctat aaacagcagt cttcctttcc agaacgtaca 1920  
 cccagtcaca ataggagagt gtccaaagta tgtcaggagt gcaaaattaa ggatggttac 1980  
 aggactaagg aacatcccat ccattcaatc cagaggtttg tttggagcca ttgccggttt 2040  
 cattgaaggg ggggtggactg gaatggtaga tggttggat ggttatcatc atcagaatga 2100  
 gcaaggatct ggctatgctg cagatcaaaa aagcacacaa aatgccatta atgggattac 2160  
 aaacaaggtc aattctgtaa ttgagaaaat gaacactcaa ttcacagcag tgggcaaaga 2220  
 gttcaacaaa ttggaaagaa ggatggaaaa cttgaataaa aaagttgatg atgggtttat 2280  
 agacatttgg acatataatg cagaactgtt ggttctactg gaaaatgaaa ggactttgga 2340  
 tttccatgac tccaatgtga agaactgtga tgagaaagta aaaagccagt taaagaataa 2400  
 tgctaaagaa ataggaaatg ggtgttttga gttctatcac aagtgtaacg atgaatgcat 2460  
 ggagagtgtg aagaatggaa cttatgacta tccaaaatat tccgaagaat caaagttaaa 2520  
 cagggagaaa attgatggag tgaaattgga atcaatggga gtctatcaga ttctggcgat 2580  
 ctactcaaca gtgccagtt ctctggttct tttggtctcc ctgggggcaa tcagcttctg 2640  
 gatgtgttcc aatgggtctt tacagtgtag aatatgcac taagagctct aagttaaaat 2700  
 gcttcttcgt ctctattta taatatggtt tgtattgtt aattttgttc ttgtagaaga 2760  
 gcttaattaa tcgttgttgt tatgaaatac tatttgtatg agatgaactg gtgtaatgta 2820  
 attcatttac ataagtggag tcagaatcag aatgtttcct ccataactaa ctagacatga 2880  
 agacctgccg cgtacaattg tcttatattt gaacaactaa aattgaacat cttttgccac 2940  
 aactttataa gtggttaata tagctcaaat atatggtcaa gttcaataga ttaataatgg 3000  
 aaatatcagt tatcgaaatt cattaacaat caacttaacg ttattaacta ctaattttat 3060  
 atcatcccct ttgataaatg atagtaca 3088

<210> 63

<211> 3102

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción 775 de A/Isas Salomón/3/2006

<400> 63

agaggtaccc cgggctggtg tattttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagt 60  
 taagtttagca agtgtgtaca tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa 120  
 atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt 180  
 tgacaacaat tttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattggtca 240

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga  | 300  |
| gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa  | 360  |
| aagctacaca aataaggggtt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg | 420  |
| taccattaga gaatTTTTGG caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta  | 480  |
| aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaataga attgatgaaa gagttggatt | 540  |
| aaagttgtat tagtaattag aatttggtgt caaatTTAAT ttgacatttg atcttttctt  | 600  |
| atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa  | 660  |
| ataacggtat attaatccct ccaaaaaaaaa aaacggtat atttactaaa aaatctaagc  | 720  |
| cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacaa   | 780  |
| aactctgatg agataaccca ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa  | 840  |
| atcacacatt ctccacaca tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca   | 900  |
| ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaa   | 960  |
| agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tgaaagtaaa actactggtc  | 1020 |
| ctgttatgca catttacagc tacatatgca gacacaatat gtataggcta ccatgccaac  | 1080 |
| aactcaaccg aactgttgca cacagtactt gagaagaatg tgacagtgc acactctgtc   | 1140 |
| aacctgcttg aggacagtc caatggaaaa ttatgtctat taaaaggaa agccccacta    | 1200 |
| caattgggta attgcagcgt tgcgggatgg atcttaggaa acccagaatg cgaattactg  | 1260 |
| atttccaggg aatcatggtc ctacattgta gaaaaaccaa atcctgagaa tggaacatgt  | 1320 |
| taccagggc atttcgccga ctatgaggaa ctgagggagc aattgagttc agtatcttca   | 1380 |
| tttgagagat tcgaaatatt ccccaaagaa agctcatggc ccaaccacac cacaaccgga  | 1440 |
| gtatcagcat catgctccca taatggggaa agcagttttt acaaaaattt gctatggctg  | 1500 |
| acggggaaga atggtttgta cccaaacctg agcaagtctt atgcaaaca caaagagaaa   | 1560 |
| gaagtccttg tactatgggg tgttcacac ccgcctaaca taggtgacca aagggtcttc   | 1620 |
| tatcataaag aaaatgctta tgtctctgta gtgtcttcac attatagcag aaaattcacc  | 1680 |
| ccagaaatag ccaaagacc caaagtaaga gatcaagaag gaagaatcaa ctactactgg   | 1740 |
| actctacttg aacccgggga tacaataata ttgaggcaa atggaaatct aatagcgcca   | 1800 |
| agatatgctt tcgcactgag tagaggcttt ggatcaggaa tcatcaactc aaatgcacca  | 1860 |
| atggatgaat gtgatgcgaa gtgccaaaca cctcaggagg ctataaacag cagtcttcct  | 1920 |
| ttccagaatg tacaccctgt cacaatagga gagtgtccaa agtatgtcag gagtgcacaa  | 1980 |
| ttaaggatgg ttacaggact aaggaacatc ccatccattc aatccagagg tttgtttgga  | 2040 |
| gccattgccg gtttcattga aggggggtgg actggaatgg tagatggttg gtatggttat  | 2100 |
| catcatcaga atgagcaagg atctggctat gctgcagatc aaaaaagcac acaaatgcc   | 2160 |
| attaatggga ttacaaacaa ggtcaattct gtaattgaga aaatgaacac tcaattcaca  | 2220 |



gctgtgggca aagagttcaa caaattggaa agaaggatgg aaaacttaaa taaaaaagtt 2280  
gatgatgggt ttatagacat ttggacatat aatgcagaat tgttggttct actggaaaat 2340  
gaaaggactt tggattttcca tgactccaat gtgaagaatc tgtatgagaa agtaaaaagc 2400  
caattaaaga ataatgccaa agaaatagga aatgggtgtt ttgagttcta tcataagtgt 2460  
aacgatgaat gcatggagag tgtaaaaaat ggaacttatg actatccaaa atattccgaa 2520  
gaatcaaagt taaacaggga gaaaattgat ggagtgaat tggaatcaat gggagtctat 2580  
cagattctgg cgatctactc aacagtcgcc agttctctgg ttcttttgggt ctccctgggg 2640  
gcaatcagct tctggatgtg ttccaatggg tctttgcagt gtagaatatg catctgagag 2700  
ctctaagtta aaatgcttct tcgtctccta ttataatat ggtttggttat tgttaatttt 2760  
gttctttagt aagagcttaa ttaatcgttg ttgttatgaa atactatttg tatgagatga 2820  
actggtgtaa tgtaattcat ttacataagt ggagtcagaa tcagaatgtt tcctccataa 2880  
ctaactagac atgaagacct gccgcgtaca attgtcttat atttgaacaa ctaaaattga 2940  
acatcttttg ccacaacttt ataagtgggt aatatagctc aaatatatgg tcaagttcaa 3000  
tagattaata atggaaatat cagttatcga aattcattaa caatcaactt aacgttatta 3060  
actactaatt ttatatcatc ccctttgata aatgatagta ca 3102

<210> 64

<211> 3093

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción 780 de A/Singapur/1/57

<400> 64

agaggtagcc cgggctggta tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt 60  
taagtttagca agtgtgtaca tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa 120  
atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt 180  
tgacaacaat tttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattggtca 240  
aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga 300  
gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa 360  
aagctacaca aataaggggt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg 420  
taccattaga gaatttttgg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta 480  
aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaatga attgatgaaa gagttggatt 540  
aaagttgtat tagtaattag aatttggtgt caaatttaat ttgacatttg atcttttcct 600  
atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa 660  
ataacggtat attaatccct ccaaaaaaaa aaaacggtat atttactaaa aaatctaagc 720  
cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacaac 780

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| aatcctgatg agataaccca ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa  | 840  |
| atcacacatt ottccacaca tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca  | 900  |
| ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag  | 960  |
| agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tggccatcat ttatctaatt  | 1020 |
| ctcctgttca cagcagtgag aggggaccaa atatgcattg gataccatgc caataattcc  | 1080 |
| acagagaagg tcgacacaat tctagagcgg aacgtcactg tgactcatgc caaggacatt  | 1140 |
| cttgagaaga cccataacgg aaagttatgc aaactaaacg gaatccctcc acttgaacta  | 1200 |
| ggggactgta gcattgccgg atggctcctt ggaaatccag aatgtgatag gcttctaagt  | 1260 |
| gtgccagaat ggtcctatat aatggagaaa gaaaaccga gagacgggtt gtgttatcca   | 1320 |
| ggcagcttca atgattatga agaattgaaa catctcctca gcagcgtgaa acatttcgag  | 1380 |
| aaagtaaaga ttctgcccaa agatagatgg acacagcata caacaactgg aggttcacgg  | 1440 |
| gcctgcgcgg tgtctggtaa tccatcatct ttcaggaaca tggctctggct gacaaagaaa | 1500 |
| gaatcaaatt atccggttgc caaaggatcg tacaacaata caagcggaga acaaatgcta  | 1560 |
| ataatttggg ggggtcacca tcccaatgat gagacagaac aaagaacatt gtaccagaat  | 1620 |
| gtgggaacct atgtttccgt aggcacatca acattgaaca aaagggtcaac cccagacata | 1680 |
| gcaacaaggc ctaaagtga tggactagga agtagaatgg agttctcttg gaccctattg   | 1740 |
| gatatgtggg acaccataaa ttttgagagt actggtaatc taattgcacc agagtatgga  | 1800 |
| ttcaaaatat cgaaaagagg tagttcaggg atcatgaaaa cagaaggaac acttgagaac  | 1860 |
| tgtgagacca aatgccaaac tcccttggga gcaataaata caacattgcc ttttcacaat  | 1920 |
| gtcccccac tgacaatagg tgagtcccc aaatatgtaa aatcggagaa gttggtctta    | 1980 |
| gcaacaggac taaggaaatgt tcccagatt gaatcaagag gattgtttgg ggcaatagct  | 2040 |
| ggtttttatag aaggaggatg gcaaggaatg gttgatggtt ggtatggata ccatcacagc | 2100 |
| aatgaccagg gatcagggta tgcagcagac aaagaatcca ctcaaaaggc atttgatgga  | 2160 |
| atcaccaaca aggtaaattc tgtgattgaa aagatgaaca cccaatttga agctgttggg  | 2220 |
| aaagagtcca gtaacttaga gagaagactg gagaacttga acaaaaagat ggaagacggg  | 2280 |
| tttctagatg tgtggacata caatgctgag cttctagtcc tgatggaaaa tgagaggaca  | 2340 |
| cttgactttc atgattctaa tgtcaagaat ctgtatgata aagtcagaat gcagctgaga  | 2400 |
| gacaacgtca aagaactagg aaatggatgt tttgaatttt atcacaaatg tgatgatgaa  | 2460 |
| tgcatgaata gtgtgaaaaa cgggacgtat gattatccca agtatgaaga agagtctaaa  | 2520 |
| ctaaatagaa atgaaatcaa aggggtaaaa ttgagcagca tgggggttta tcaaatcctt  | 2580 |
| gccatttatg ctacagtagc aggttctctg tcaactggcaa tcatgatggc tgggatctct | 2640 |
| ttctggatgt gctccaacgg gtctctgcag tgcaggatct gcatatgaga gctctaagtt  | 2700 |
| aaaatgcttc ttcgtctcct atttataata tggtttgta ttgttaattt tgttcttgta   | 2760 |
| gaagagctta attaatcgtt gttgttatga aatactattt gtatgagatg aactggtgta  | 2820 |
| atgtaattca tttacataag tggagtcaga atcagaatgt ttcctccata actaactaga  | 2880 |
| catgaagacc tgccgcgtac aattgtctta tatttgaaca actaaaattg aacatctttt  | 2940 |
| gccacaactt tataagtggg taatatagct caaatatatg gtcaagttca atagattaat  | 3000 |
| aatggaaata tcagttatcg aaattcatta acaatcaact taacgttatt aactactaat  | 3060 |
| tttatatcat cccctttgat aaatgatagt aca                               | 3093 |

<210> 65

<211> 3108

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Construcción 781 de A/Anhui/1/2005

<400> 65

```

agaggtagcc cgggctggta tttttatg ttgtcaaata actcaaaac cataaaagtt    60
taagtagca agtgtgtaca tttttacttg acaaaaata ttcacctact actgttataa    120
atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt    180
tgacaacaat tttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattgggtca    240
aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga    300
gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa    360
aagctacaca aataagggtt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg    420
taccattaga gaatTTTTTg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta    480
aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaatga attgatgaaa gaggtaggatt    540
aaagttgtat tagtaattag aatttggtgt caaatTTaat ttgacatttg atcttttcct    600
atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa    660
ataacggtat attaatccct ccaaaaaaaaa aaaacggtat atttactaaa aaatctaagc    720
cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacaac    780
aatcctgatg agataacca cttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa    840
atcacacatt cttccacaca tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca    900
ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag    960
agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tggagaaaat agtgcttctt   1020
cttgcaatag tcagccttgt taaaagtgat cagatttgca ttggttacca tgcaaaacaac   1080
tcgacagagc aggttgacac aataatggaa aagaacgcta ctgttacaca tgcccaagac   1140
atactggaaa agacacacaa cggaagctc tgcgatctag atggagtga gcctctgatt   1200
ttaagagatt gtagttagc tggatggctc ctcggaacc caatgtgtga cgagttcatc   1260

```

aatgtgccg aatggtctta catagtggag aaggccaacc cagccaatga cctctgttac 1320  
ccagggaatt tcaacgacta tgaagaactg aaacacctat tgagcagaat aaaccatttt 1380  
gagaaaattc agatcatccc caaaagtctt tgggccgatc atgaagcctc atcagggggc 1440  
agctcagcat gtccatacca gggaaacgcc tcctttttca gaaatgtggt atggcttata 1500  
aaaaagaaca atacataccc aacaataaag agaagctaca ataataccaa ccaggaagat 1560  
cttttgatac tgtgggggat tcatcattct aatgatgagg cagagcagac aaagctctat 1620  
caaaacccaa ccacctatat ttccgttggg acatcaacac taaaccagag attggtacca 1680  
aaaatagcta ctagatccaa agtaaacggg caaagtggaa ggatggattt cttctggaca 1740  
attttaaaac cgaatgatgc aatcaacttc gagagtaatg gaaatttcat tgctccagaa 1800  
tatgcataca aaattgtcaa gaaaggggac tcagcaattg ttaaaagtga agtgaatat 1860  
ggtaactgca atacaaagtg tcaaaactcca ataggggcga taaactctag tatgccattc 1920  
cacaacatac accctctcac catcggggaa tgccccaat atgtgaaatc aaacaaatta 1980  
gtccttgcca ctgggctcag aaatagtcct ctaagagaaa gaagaagaaa aagaggacta 2040  
tttgagagcta tagcagggtt tatagaggga ggatggcagg gaatggtaga tggttgggat 2100  
gggtaccacc atagcaatga gcaggggagt gggtagcgtg cagacaaaga atccactcaa 2160  
aaggcaatag atggagtcac caataaggtc aactcgatca ttgacaaaat gaacactcag 2220  
tttgaggccg ttggaaggga atttaataac ttagaaagga gaatagagaa tttaaacaag 2280  
aaaatggaag acggattcct agatgtctgg acttataatg ctgaacttct ggttctcatg 2340  
gaaaaatgaga gaactctaga cttccatgat tcaaatgtca agaacttta cgacaaggtc 2400  
cgactacagc ttagggataa tgcaaaggag ctgggtaacg gttgtttcga gttctatcac 2460  
aatgtgata atgaatgtat ggaagtgtga agaaacggaa cgtatgacta cccgcagtat 2520  
tcagaagaag caagattaaa aagagaggaa ataagtggag taaaattgga atcaatagga 2580  
acttaccaaa tactgtcaat ttattcaaca gttgcgagtt ctctagcact ggcaatcatg 2640  
gtggctggtc tatctttgtg gatgtgctcc aatgggtcgt tacaatgcag aatttgcatt 2700  
taagagctct aagttaaaat gcttcttcgt ctctatttta taatatggtt tgttattggt 2760  
aattttgttc ttgtagaaga gcttaattaa tcgttgttgt tatgaaatac tatttgtatg 2820  
agatgaactg gtgtaatgta attcatttac ataagtggag tcagaatcag aatgtttcct 2880  
ccataactaa ctagacatga agacctgccg cgtacaattg tcttatattt gaacaactaa 2940  
aattgaacat cttttgccac aactttataa gtggttaata tagctcaaat atatggtaa 3000  
gttcaataga ttaataatgg aaatatcagt tatcgaaatt cattaacaat caacttaacg 3060  
ttattaacta ctaattttat atcatccct ttgataaatg atagtaca 3108

<210> 66

<211> 3111

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción 782 de A/Vietnam/1194/2004

<400> 66

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| agaggtaccc cgggctggta tttttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt  | 60   |
| taagtttagca agtgtgtaca tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa | 120  |
| atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt  | 180  |
| tgacaacaat tttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattgggtca | 240  |
| aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga  | 300  |
| gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa  | 360  |
| aagctacaca aataagggtt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg  | 420  |
| taccattaga gaatttttgg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta  | 480  |
| aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaatga attgatgaaa gagttggatt  | 540  |
| aaagttgtat tagtaattag aatttggtgt caaatttaat ttgacatttg atcttttcct  | 600  |
| atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa  | 660  |
| ataacggtat attaatccct ccaaaaaaaaa aaaacggtat atttactaaa aaatctaagc | 720  |
| cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacac   | 780  |
| aatcctgatg agataaccca ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa  | 840  |
| atcacacatt ctccacaca tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca   | 900  |
| ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag  | 960  |
| agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tggagaaaat agtgcttctt  | 1020 |
| tttgcaatag tcagtcttgt taaaagtgat cagatttgca ttggttacca tgcaacaac   | 1080 |
| tcgacagagc aggttgacac aataatggaa aagaacgtta ctgttacaca tgcccaagac  | 1140 |
| atactggaaa agacacacaa tgggaagctc tgcgatctag atggagtga gctcttaatt   | 1200 |
| ttgagagatt gtagttagc tggatggctc ctcggaacc caatgtgtga cgagttcatc    | 1260 |
| aatgtgccgg aatggtctta catagtggag aaggccaatc cagtcaatga cctctgttac  | 1320 |
| ccaggggatt tcaatgacta tgaagaattg aaacacctat tgagcagaat aaaccatttt  | 1380 |
| gagaaaattc agatcatccc caaaagttct tgggtccagtc atgaagcctc attgggggtc | 1440 |
| agctcagcat gtccatacca gggaaagtcc tcctttttca gaaatgtggt atggcttacc  | 1500 |
| aaaaagaaca gtacataccc aacaataaag aggagctaca ataataccaa ccaagaagat  | 1560 |
| cttttggtac tgtgggggat tcaccatcct aatgatgagg cagagcagac aaagctctat  | 1620 |
| caaaacccaa ccacctatat ttccgttggg acatctacac taaaccagag attggtacca  | 1680 |
| agaatagcta ctagatccaa agtaaacggg caaagtggaa ggatggagtt cttctggaca  | 1740 |
| attttaaac cgaatgatgc aatcaacttc gagagtaatg gaaatttcat tgctccagaa   | 1800 |

tatgcataca aaattgtcaa gaaaggggac tcaacaatta tgaaaagtga attggaatat 1860  
 ggtaactgca ataccaagtg tcaaactcca atgggggcca taaactctag catgccattc 1920  
 cacaatatac accctctcac catcggggaa tgccccaat atgtgaaatc aaacagatta 1980  
 gtccttgcca ctgggctcag aaatagccct caaagagaga gaagaagaaa aaagagagga 2040  
 ttatttggag ctatagcagg ttttatagag ggaggatggc agggaatggt agatggttgg 2100  
 tatgggtacc accatagcaa cgagcagggg agtgggtacg ctgcagacaa agaatccact 2160  
 caaaaggcaa tagatggagt caccaataag gtcaactcga ttattgacaa aatgaacact 2220  
 cagtttgagg ccgttggag ggaatttaac aacttagaaa ggagaataga gaatttaaac 2280  
 aagaagatgg aagacggggt cctagatgtc tggacttata atgctgaact tctagttctc 2340  
 atggaaaacg agagaactct agactttcat gactcaaatg tcaagaacct ttacgacaag 2400  
 gtccgactac agcttaggga taatgcaaag gagctgggta acggttgttt cgagttctat 2460  
 cataaatgtg ataataaatg tatggaaagt gtaagaaacg gaacgtatga ctaccgcag 2520  
 tattcagaag aagcaagact aaaaagagag gaaataagtg gagtaaaatt ggaatcaata 2580  
 ggaatttacc aaatattgtc aatttattct acagtggcca gctccctagc actggcaatc 2640  
 atggtagctg gtctatcctt atggatgtgc tccaatgggt cgttacaatg cagaatttgc 2700  
 atttaagagc tctaagttaa aatgtctctt cgtctcctat ttataatatg gtttgttatt 2760  
 gttaattttg ttcttgtaga agagcttaat taatcgttgt tgttatgaaa tactatttgt 2820  
 atgagatgaa ctggtgtaat gtaattcatt tacataagtg gagtcagaat cagaatgttt 2880  
 cctccataac taactagaca tgaagacctg ccgctgacaa ttgtcttata tttgaacaac 2940  
 taaaattgaa catcttttgc cacaacttta taagtgggta atatagctca aatatatggt 3000  
 caagttcaat agattaataa tggaaatata agttatcgaa attcattaac aatcaactta 3060  
 acgttattaa ctactaattt tatatcatcc cctttgataa atgatagtac a 3111

<210> 67

<211> 3105

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción 783 de A/Trullo/Hong Kong/W312/97

<400> 67

agaggtaccc cgggctggta tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagt 60  
 taagtttagca agtgtgtaca tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa 120  
 atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt 180  
 tgacaacaat tttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattggtca 240  
 aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga 300  
 gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa 360

|                                                                     |      |
|---------------------------------------------------------------------|------|
| aaagctacaca aataaggggtt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg | 420  |
| taccattaga gaatttttgg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta   | 480  |
| aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaataa attgatgaaa gagttggatt   | 540  |
| aaagttgtat tagtaattag aatttggtgt caaatttaat ttgacatttg atcttttcct   | 600  |
| atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa   | 660  |
| ataacggtat attaatccct ccaaaaaaaaa aaaacggtat atttactaaa aaatctaagc  | 720  |
| cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacaac   | 780  |
| aatcctgatg agataaccca ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa   | 840  |
| atcacacatt cttccacaca tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca   | 900  |
| ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaaag  | 960  |
| agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tgattgcaat cattgtaata   | 1020 |
| gcaatactgg cagcagccgg aaagtcagac aagatctgca ttgggtatca tgccaacaat   | 1080 |
| tcaacaacac aggtagatac gatacttgag aagaatgtga ctgtcacaca ctcaattgaa   | 1140 |
| ttgctggaaa atcagaagga agaagattc tgcaagatat tgaacaaggc ccctctcgac    | 1200 |
| ttaagggaat gtaccataga ggggtggatc ttggggaatc cccaatgcga cctattgctt   | 1260 |
| ggtgatcaaa gctggtcata cattgtggaa agacctactg ctcaaaacgg gatctgctac   | 1320 |
| ccaggaacct taaatgaggt agaagaactg agggcactta ttggatcagg agaaagggtg   | 1380 |
| gagagatttg agatgtttcc ccaaagcacc tggcaaggag ttgacacca cagtggaaca    | 1440 |
| acaagatcct gcccttattc tactgggtcg tctttctaca gaaacctcct atggataata   | 1500 |
| aaaaccaaga cagcagaata tccagtaatt aagggaattt acaacaacac tggaaccagg   | 1560 |
| ccaatcctct atttctgggg tgtgcatcat cctcctaaca ccgacgagca agatactctg   | 1620 |
| tatggctctg gtgatcgata cgttagaatg ggaactgaaa gcatgaattt tgccaagagt   | 1680 |
| ccggaaattg cggcaaggcc tgctgtgaat ggacaaagag gcagaattga ttattattgg   | 1740 |
| tcgggtttta aaccagggga aaccttgaat gtggaatcta atggaaatct aatcgcccct   | 1800 |
| tggtatgcat acaaatttgt caacacaaat agtaaaggag ccgtcttcag gtcagattta   | 1860 |
| ccaatcgaga actgcgatgc cacatgccag actattgcag gggttctaag gaccaataaa   | 1920 |
| acatttcaga atgtgagtc cctgtggata ggagaatgtc ccaaatacgt gaaaagtga     | 1980 |
| agtctgaggc ttgcaactgg actaagaaat gttccacaga ttgaaactag aggactcttc   | 2040 |
| ggagctattg cagggtttat tgaaggagga tggactggga tgatagatgg gtggtatggc   | 2100 |
| tatcaccatg aaaattctca agggtcagga tatgcagcag acagagaaaag cactcaaaag  | 2160 |
| gctgtaaaca gaattacaaa taaggtcaat tccatcatca acaaatgaa cacacaattt    | 2220 |
| gaagctgtcg atcacgaatt ttcaaactcg gagaggagaa ttgacaatct gaacaaaaga   | 2280 |

# ES 2 554 703 T3

atgcaagatg gattttctgga tgttttgaca tacaatgctg aactgttggt ttttcttgaa 2340  
aacgaaagaa cactagacat gcatgacgca aatgtgaaga acctacatga aaaggtaaaa 2400  
tcacaactaa gggacaatgc tacgatctta gggaatgggt gctttgaatt ttggcataag 2460  
tgtgacaatg aatgcataga gtctgtcaaa aatggtacat atgactatcc caaataccag 2520  
actgaaagca aattaaacag gctaaaaata gaatcagtaa agctagagaa ccttggtgtg 2580  
tatcaaattc ttgccattta tagtacggta tgcagcagcc tagtgttggt agggctgac 2640  
atggcaatgg gtctttggat gtgttcaaat ggttcaatgc agtgcaggat atgtatataa 2700  
gagctctaag ttaaaatgct tcttcgtctc ctatttataa tatggtttgt tattgttaat 2760  
tttgttcttg tagaagagct taattaatcg ttgttgttat gaaatactat ttgtatgaga 2820  
tgaactgggt taatgtaatt catctacata agtggagtc gaatcagaat gtttcctcca 2880  
taactaacta gacatgaaga cctgccgcgt acaattgtct tatatttgaa caactaaaat 2940  
tgaacatctt ttgccacaac ttataaagt gttaatatag ctcaaataa tgggtcaagtt 3000  
caatagatta ataattgaaa tatcagttat cgaaattcat taacaatcaa cttaacgtta 3060  
ttaactacta attttatatc atccccttg ataaatgata gtaca 3105

<210> 68

<211> 3087

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción 785 de A/Hong Kong/1073/99

<400> 68

agaggtaacc cgggctggta tttttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt 60  
taagtttagca agtgtgtaca tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa 120  
atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt 180  
tgacaacaat ttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattgggtca 240  
aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga 300  
gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa 360  
aagctacaca aataagggtt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg 420  
taccattaga gaatttttgg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta 480  
aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaatga attgatgaaa gagttggatt 540  
aaagttgtat tagtaattag aatttggtgt caaatttaat ttgacatttg atcttttctt 600  
atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa 660  
ataacggtat attaaccctt ccaaaaaaaaa aaacggtat atttactaaa aaatctaagc 720  
cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacac 780  
aatcctgatg agataaccca cttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa 840



|            |            |            |            |             |             |      |
|------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|------|
| atcacacatt | cttccacaca | tctgagccac | acaaaaacca | atccacatct  | ttatcaccca  | 900  |
| ttctataaaa | aatcacactt | tgtgagtcta | cactttgatt | cccttcaaac  | acatacaaaag | 960  |
| agaagagact | aattaattaa | ttaatcatct | tgagagaaaa | tggaacaat   | atcactaata  | 1020 |
| actatactac | tagtagtaac | agcaagcaat | gcagataaaa | tctgcacogg  | ccaccagtca  | 1080 |
| acaaactcca | cagaaactgt | ggacacgcta | acagaaacca | atgttcctgt  | gacacatgcc  | 1140 |
| aaagaattgc | tccacacaga | gcataatgga | atgctgtgtg | caacaagcct  | gggacatccc  | 1200 |
| ctcattctag | acacatgcac | tattgaagga | ctagtctatg | gcaacccttc  | ttgtgacctg  | 1260 |
| ctgttgggag | gaagagaatg | gtcctacatc | gtcgaaagat | catcagctgt  | aaatggaacg  | 1320 |
| tgttaccctg | ggaatgtaga | aaacctagag | gaactcagga | cacttttttag | ttccgctagt  | 1380 |
| tcctacccaa | gaatccaaat | cttccagac  | acaacctgga | atgtgactta  | cactggaaca  | 1440 |
| agcagagcat | gttcagggtc | attctacagg | agtatgagat | ggctgactca  | aaagagcggg  | 1500 |
| ttttaccctg | ttcaagacgc | ccaatacaca | aataacaggg | gaaagagcat  | tcttttcgtg  | 1560 |
| tggggcatac | atcaccaccc | cacctatacc | gagcaaacaa | atttgtacat  | aagaaacgac  | 1620 |
| acaacaacaa | gcgtgacaac | agaagatttg | aataggacct | tcaaaccagt  | gatagggcca  | 1680 |
| aggcccttg  | tcaatggtct | gcagggaaga | attgattatt | attggtcggg  | actaaaacca  | 1740 |
| ggccaaacat | tgcgagtacg | atccaatggg | aatctaattg | ctccatggta  | tggacacgtt  | 1800 |
| ctttcaggag | ggagccatgg | aagaatcctg | aagactgatt | taaaagggtg  | taattgtgta  | 1860 |
| gtgcaatgtc | agactgaaaa | aggtggctta | aacagtacat | tgccattcca  | caatatcagt  | 1920 |
| aaatatgcat | ttggaacctg | ccccaatat  | gtaagagtta | atagctctca  | actggcagtc  | 1980 |
| ggctcgagga | acgtgcctgc | tagatcaagt | agaggactat | ttggagccat  | agctggattc  | 2040 |
| atagaaggag | gttggccagg | actagtgcct | ggctggtatg | gtttccagca  | ttcaaatgat  | 2100 |
| caagggggtg | gtatggctgc | agatagggat | tcaactcaaa | aggcaattga  | taaaataaca  | 2160 |
| tccaagggtg | ataatatagt | cgacaagatg | aacaagcaat | atgaaataat  | tgatcatgaa  | 2220 |
| tttagtgagg | ttgaaactag | actcaatatg | atcaataata | agattgatga  | ccaaatacaa  | 2280 |
| gacgtatggg | catataatgc | agaattgcta | gtactacttg | aaaatcaaaa  | aacactcgat  | 2340 |
| gagcatgatg | cgaacgtgaa | caatctatat | aacaagggtg | agagggcact  | gggctccaat  | 2400 |
| gctatggaag | atgggaaagg | ctgtttcgag | ctataccata | aatgtgatga  | tcagtgcacg  | 2460 |
| gaaacaattc | ggaacggggc | ctataatagg | agaaagtata | gagaggaatc  | aagactagaa  | 2520 |
| aggcagaaaa | tagagggggg | taagctggaa | tctgagggaa | cttacaaaat  | cctcaccatt  | 2580 |
| tattcgactg | tgcctcctac | tcttgtgctt | gcaatggggg | ttgctgcctt  | cctgttctgg  | 2640 |
| gccatgtcca | atggatcttg | cagatgcaac | atttgtatat | aagagctcta  | agttaaaatg  | 2700 |
| cttcttcgtc | tcctatttat | aatatgggtt | gttattgtta | attttgttct  | tgtagaagag  | 2760 |
| cttaattaat | cgttgttgtt | atgaaatact | atttgtatga | gatgaactgg  | tgtaaatgtaa | 2820 |

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| ttcatttaca taagtggagt cagaatcaga atgtttcctc cataactaac tagacatgaa  | 2880 |
| gacctgccgc gtacaattgt cttatatattg aacaactaaa attgaacatc ttttgccaca | 2940 |
| actttataag tggtaatat agctcaaata tatgggtcaag ttcaatagat taataatgga  | 3000 |
| aatatcagtt atcgaaattc attaacaatc aacttaacgt tattaactac taattttata  | 3060 |
| tcatcccctt tgataaatga tagtaca                                      | 3087 |

<210> 69

<211> 3105

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de A/Brisbane/10/2007

<400> 69

|                                                                      |      |
|----------------------------------------------------------------------|------|
| agaggtagcc cgggctggta tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt    | 60   |
| taagtttagca agtgtgtaca tttttacttg acaaaaaata ttcacctact actgttataa   | 120  |
| atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt    | 180  |
| tgacaacaat tttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattgggtca   | 240  |
| aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga    | 300  |
| gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa    | 360  |
| aagctacaca aataagggtt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg    | 420  |
| taccattaga gaatttttgg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta    | 480  |
| aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaataa attgatgaaa gagttggatt    | 540  |
| aaagttgtat tagtaattag aatttgggtg caaatttaat ttgacatttg atcttttcct    | 600  |
| atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa    | 660  |
| ataacgggtat attaatocct ccaaaaaaaa aaaacgggtat atttaactaaa aaatctaagc | 720  |
| cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacaac    | 780  |
| aatcctgatg agataaccca ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa    | 840  |
| atcacacatt cttccacaca tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca    | 900  |
| ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag    | 960  |
| agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tgaagactat cattgctttg    | 1020 |
| agctacattc tatgtctggt tttcactcaa aaacttcccg gaaatgacaa cagcacggca    | 1080 |
| acgctgtgcc ttgggcacca tgcatgacca aacggaacga tagtgaaaac aatcacgaat    | 1140 |
| gaccaaattg aagtactaa tgctactgag ctggttcaga gttcctcaac aggtgaaata     | 1200 |
| tgcgacagtc ctcatcagat cttgatgga gaaaactgca cactaataga tgctctattg     | 1260 |
| ggagaccctc agtgtgatgg cttccaaaat aagaaatggg acctttttgt tgaacgcagc    | 1320 |
| aaagcctaca gcaactgtta cccttatgat gtgccggatt atgcctccct taggtcacta    | 1380 |

gttgccctcat cccgcacact ggagtttaac aatgaaagtt tcaattggac tggagtcact 1440  
caaaaacggaa caagctctgc ttgcataagg agatctaata acagtttctt tagtagattg 1500  
aattggttga cccacttaaa attcaaatac ccagcattga acgtgactat gccaaacaat 1560  
gaaaaatttg acaaattgta catttggggg gttcaccacc cgggtacgga caatgaccaa 1620  
atcttcctgt atgtcgaagc atcaggaaga atcacagtct ctaccaaag aagccaacaa 1680  
actgtaatcc cgaatatcgg atctagaccc agagtaagga atatccccag cagaataagc 1740  
atctattgga caatagtaaa accgggagac atacttttga ttaacagcac agggaaatcta 1800  
attgctccta ggggttactt caaaatacga agtgggaaaa gctcaataat gagatcagat 1860  
gcaccattg gcaaatgcaa ttctgaatgc atcactccaa acggaagcat tcccaatgac 1920  
aaaccattcc aaaatgtaaa caggatcaca tacggggcct gtcccagata tgtaagcaa 1980  
aacactctga aattggcaac agggatgcga aatgtaccag agaaacaaac tagaggcata 2040  
tttggcgcaa tcgcgggttt catagaaaat ggttgggagg gaatggtgga tggttggtat 2100  
ggtttcaggc atcaaaattc tgagggaata ggacaagcag cagatctcaa aagcactcaa 2160  
gcagcaatcg atcaaatcaa tgggaagctg aataggttga tcgggaaaac caacgagaaa 2220  
ttccatcaga ttgaaaaaga gttctcagaa gtcgaaggga gaatccagga ccttgagaaa 2280  
tatgttgagg acacaaaaat agatctctgg tcatacaacg cggagcttct tgttgccctg 2340  
gagaaccaac atacaattga tctaactgac tcagaaatga acaaactgtt tgaaaaaaca 2400  
aagaagcaac tgagggaaaa tgctgaggat atgggcaatg gttgtttcaa aatataccac 2460  
aatgtgaca atgcctgcat aggatcaatc agaaatggaa cttatgacca cgatgtatac 2520  
agagatgaag cattaaacaa ccggttccag atcaagggcg ttgagctgaa gtcaggatac 2580  
aaagattgga tactatggat ttcctttgcc atatcatgtt ttttgctttg tgttgctttg 2640  
ttggggttca tcatgtgggc ctgccaaaaa ggcaacatta ggtgcaacat ttgcatttga 2700  
gagctctaag ttaaaatgct tcttcgtctc ctatttataa tatggtttgt tattgttaat 2760  
tttgttcttg tagaagagct taattaatcg ttgttggtat gaaatactat ttgtatgaga 2820  
tgaactggtg taatgtaatt catttacata agtggagtca gaatcagaat gtttcctcca 2880  
taactaacta gacatgaaga cctgccgcgt acaattgtct tatatttgaa caactaaaat 2940  
tgaacatctt ttgccacaac ttataagtg gtaatatag ctcaaatata tggtaagtt 3000  
caatagatta ataatggaaa tatcagttat cgaaattcat taacaatcaa cttaacgtta 3060  
ttaactacta attttatatc atcccctttg ataaatgata gtaca 3105

<210> 70

<211> 3105

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de A/Wisconsin/67/2005

<400> 70

# ES 2 554 703 T3

|             |            |            |            |            |             |      |
|-------------|------------|------------|------------|------------|-------------|------|
| agaggtagcc  | cggtctggt  | tatttatatg | ttgtcaaata | actcaaaaac | cataaaagtt  | 60   |
| taagtttagca | agtgtgtaca | tttttacttg | aacaaaaata | ttcacctact | actgttataa  | 120  |
| atcattatta  | aacattagag | taaagaaata | tggatgataa | gaacaagagt | agtgatattt  | 180  |
| tgacaacaat  | ttgttgcaa  | catttgagaa | aattttgttg | ttctctcttt | tcattggtca  | 240  |
| aaaacaatag  | agagagaaaa | aggaagagg  | agaataaaaa | cataatgtga | gtatgagaga  | 300  |
| gaaagttgta  | caaaagttgt | acaaaaatag | ttgtacaaat | atcattgagg | aatttgacaa  | 360  |
| aagctacaca  | aataaggggt | aattgctgta | aataaataag | gatgacgcat | tagagagatg  | 420  |
| taccattaga  | gaattttttg | caagtcatta | aaaagaaaga | ataaattatt | tttaaaatta  | 480  |
| aaagttgagt  | catttgatta | aacatgtgat | tatttaatga | attgatgaaa | gagttggatt  | 540  |
| aaagttgtat  | tagtaattag | aatttggtgt | caaatttaat | ttgacatttg | atcttttcct  | 600  |
| atatattgcc  | ccatagagtc | agttaactca | tttttatatt | tcatagatca | aataagagaa  | 660  |
| ataacggtat  | attaatccct | ccaaaaaaa  | aaaacggtat | atttactaaa | aatctaagc   | 720  |
| cacgtaggag  | gataacagga | tccccgtag  | aggataacat | ccaatccaac | caatcacac   | 780  |
| aatcctgatg  | agataaccca | ctttaagccc | acgcatctgt | ggcacatcta | cattatctaa  | 840  |
| atcacacatt  | cttccacaca | tctgagccac | acaaaaacca | atccacatct | ttatcaccca  | 900  |
| ttctataaaa  | aatcacactt | tgtgagtcta | cactttgatt | cccttcaaac | acatacaaag  | 960  |
| agaagagact  | aattaattaa | ttaatcatct | tgagagaaaa | tgaagactat | cattgctttg  | 1020 |
| agctacattc  | tatgtctggt | tttactcaa  | aaacttccc  | gaaatgacaa | cagcacggca  | 1080 |
| acgctgtgcc  | ttgggcacca | tgagtagcca | aacggaacga | tagtgaaaac | aatcacgaat  | 1140 |
| gaccaaattg  | aagtacttaa | tgctactgag | ctgggtcaga | gttcctcaac | aggtggaata  | 1200 |
| tgcgacagtc  | ctcatcagat | ccttgatgga | gaaaactgca | cactaataga | tgctctattg  | 1260 |
| ggagaccctc  | agtgtgatgg | cttccaaaat | aagaaatggg | acctttttgt | tgaacgcagc  | 1320 |
| aaagcctaca  | gcaactgtta | cccttatgat | gtgccggatt | atgcctccct | taggtcacta  | 1380 |
| gttgccctcat | ccggcacact | ggagttaaac | gatgaaagtt | tcaattggac | tggagtcact  | 1440 |
| caaaatggaa  | caagctctgc | ttgcaaaagg | agatctaata | acagtttctt | tagtagattg  | 1500 |
| aattggttga  | cccacttaa  | attcaaatac | ccagcattga | acgtgactat | gccaaacaat  | 1560 |
| gaaaaatttg  | acaaattgta | catttggggg | gttcaccacc | cggttacgga | caatgaccaa  | 1620 |
| atcttctctgc | atgtcaagc  | atcaggaaga | atcacagtct | ctacaaaaag | aagccaacaa  | 1680 |
| actgtaatcc  | cgaatatcgg | atctagaccc | agaataagga | atatccccag | cagaataagc  | 1740 |
| atctattgga  | caatagtaaa | accgggagac | atacttttga | ttaacagcac | agggaaatcta | 1800 |
| attgctccta  | ggggttactt | caaaatacga | agtgggaaaa | gctcaataat | gagatcagat  | 1860 |

gcacccattg gcaaatgcaa ttctgaatgc atcactccaa atggaagcat tcccaatgac 1920  
 aaacatttc aaaatgtaaa caggatcaca tatggggcct gtccagata tgtaagcaa 1980  
 aacactctga aattggcaac agggatgcga aatgtaccag agaaacaaac tagaggcata 2040  
 tttggcgcaa tcgcggttt catagaaaat ggttgggagg gaatggtgga tggttgttac 2100  
 ggtttcaggc atcaaaattc tgaggaata ggacaagcag cagatctcaa aagcactcaa 2160  
 gcagcaatca atcaaatcaa tgggaagctg aataggttga tcgggaaaac caacgagaaa 2220  
 ttccatcaga ttgaaaaaga gttctcagaa gtagaaggga gaatccagga cctcgagaaa 2280  
 tatgttgagg aactaaaat agatctctgg tcatacaacg cggagcttct tgttgccctg 2340  
 gagaaccaac atacaattga tctaactgac tcagaaatga acaaactggt tgaaagaaca 2400  
 aagaagcaac tgagggaaaa tgctgaggat atgggcaatg gttgtttcaa aatataccac 2460  
 aatgtgaca atgcctgcat aggatcaatc agaaatggaa cttatgacca tgatgtatac 2520  
 agagatgaag cattaacaa cgggttccag atcaaaggcg ttgagctgaa gtcaggatac 2580  
 aaagattgga tactatggat ttcctttgcc atatcatgtt ttttgctttg tgttgctttg 2640  
 ttggggttca tcatgtgggc ctgccaaaaa ggcaacatta ggtgcaacat ttgcatttga 2700  
 gagctctaag ttaaaatgct tcttcgtctc ctatttataa tatggtttgt tattgttaat 2760  
 tttgttcttg tagaagagct taattaatcg ttgttggtat gaaatactat ttgtatgaga 2820  
 tgaactggtg taatgtaatt catttacata agtggagtca gaatcagaat gtttcctcca 2880  
 taactaacta gacatgaaga cctgccgctg acaattgtct tatatttgaa caactaaat 2940  
 tgaacatctt ttgccacaac ttataagtg gttaatatag ctcaaataa tggtaagtt 3000  
 caatagatta ataatggaaa tatkagttat cgaaattcat taacaatcaa cttaacgtta 3060  
 ttaactacta attttatatc atccccttg ataaatgata gtaca 3105

<210> 71

<211> 3117

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de A/Equino/Praga/56

<400> 71

agaggtaccc cgggctggtg tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagt 60  
 taagttagca agtgtgtaca tttttacttg aaaaaaata ttcacctact actgttataa 120  
 atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt 180  
 tgacaacaat tttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattggtca 240  
 aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga 300  
 gaaagtgtga caaagtgtgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa 360  
 aagctacaca aataagggtt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg 420

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| taccattaga gaatttttgg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta  | 480  |
| aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaatga attgatgaaa gagttggatt  | 540  |
| aaagttgat tagtaattag aatttgggtgt caaatttaaat ttgacatttg atcttttcct | 600  |
| atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa  | 660  |
| ataacggtat attaatccct ccaaaaaaaaa aaaacggtat atttactaaa aaatctaagc | 720  |
| cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacaac  | 780  |
| aatcctgatg agataaccca ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa  | 840  |
| atcacacatt cttccacaca tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca  | 900  |
| ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag  | 960  |
| agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tgaacactca aattctaata  | 1020 |
| ttagccactt cggcattctt ctatgtacgt gcagataaaa tctgcctagg acatcatgct  | 1080 |
| gtgtctaagt gaaccaaagt agacaccctt actgaaaaag gaatagaagt tgtcaatgca  | 1140 |
| acagaaacag ttgaacaaac aaacatccct aagatctgct caaaaggaaa acagactggt  | 1200 |
| gaccttggtc aatgtggatt actagggacc gttattggtc ctccccaatg tgaccaattt  | 1260 |
| cttgagttct ctgctaattt aatagttgaa agaagggaag gtaatgacat ttgttatcca  | 1320 |
| ggcaaatttg acaatgaaga aacattgaga aaaatactca gaaaatccgg aggaattaaa  | 1380 |
| aaggagaata tgggattcac atataccgga gtgagaacca atggagagac tagcgcatgt  | 1440 |
| agaaggtaaa gatcttcctt ttatgcagag atgaaatggc ttctatccag cacagacaat  | 1500 |
| gggacatttc cacaatgac aaagtcctac aagaacacta agaaggtaac agctctgata   | 1560 |
| atctggggaa tccaccactc aggatcaact actgaacaga ctagattata tggaagtggg  | 1620 |
| aataaattga taacagtttg gagttccaaa taccaacaat cttttgtccc aaatcctgga  | 1680 |
| ccaagaccgc aaatgaatgg tcaatcagga agaattgact ttcactggct gatgctagat  | 1740 |
| cccaatgata ctgtcacttt cagttttaat ggggccttta tagcacctga ccgcgccagt  | 1800 |
| tttctaagag gtaaatctct aggaatccaa agtgatgcac aacttgacaa taattgtgaa  | 1860 |
| ggtgaatgct atcatattgg aggtactata attagcaact tgccctttca aaacattaat  | 1920 |
| agtagggcaa tcggaaaatg ccccgatagc gtgaagcaga agagcttaat gctagcaaca  | 1980 |
| ggaatgaaaa atgttcctga agctcctgca cataaacaac taactcatca catgcgcaaa  | 2040 |
| aaaagaggtt tatttgggtgc aatagcagga ttcatgaaa atgggtggga aggattaata  | 2100 |
| gacggatggt atggatataa gcatcagaat gcacaaggag aagggactgc tgcagactac  | 2160 |
| aaaagtacac aatctgctat caaccaaata accggaaaat tgaacagact aatagaaaaa  | 2220 |
| accaaccagc aattcgaact aatagataat gagttcaatg aaatagaaaa acaaattggc  | 2280 |
| aatgttatta actggactag agattctatc atcgaagtat ggtcatataa tgcagagtcc  | 2340 |
| ctcgtagcag tggagaatca acacactatt gatttaactg actcagaaat gaacaaacta  | 2400 |

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| tatgaaaagg taagaagaca actgagagaa aatgctgagg aagatggtaa tggctgtttt  | 2460 |
| gaaatattcc accaatgtga caatgattgc atggccagca ttagaaacaa cacatatgac  | 2520 |
| cataaaaaat acagaaaaga ggcaatacaa aacagaatcc agattgacgc agtaaagttg  | 2580 |
| agcagtgggtt acaaagatat aatactttgg tttagcttcg gggcatcatg tttcttattt | 2640 |
| cttgccattg caatgggtct tgttttcata tgtataaaaa atggaaacat gcggtgcact  | 2700 |
| atttgtatat aagagctcta agttaaaatg cttcttcgtc tcctatttat aatatggttt  | 2760 |
| gttattgtta attttgttct tgtagaagag ctttaattaat cgttgttgtt atgaaatact | 2820 |
| atttgtatga gatgaactgg tghtaatgtaa ttcatttaca taagtggagt cagaatcaga | 2880 |
| atgtttcctc cataactaac tagacatgaa gacctgccgc gtacaattgt cttatatttg  | 2940 |
| aacaactaaa attgaacatc ttttgccaca actttataag tggttaatat agctcaaata  | 3000 |
| tatggtcaag ttcaatagat taataatgga aatatcagtt atcgaaattc attaacaatc  | 3060 |
| aacttaacgt tattaactac taattttata tcatcccctt tgataaatga tagtaca     | 3117 |

<210> 72

<211> 3162

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de B/Malasia/2506/2004

<400> 72

|                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------|-----|
| agaggtaccc cgggctggta tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt  | 60  |
| taagtttagca agtgtgtaca tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa | 120 |
| atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgateattt | 180 |
| tgacaacaat tttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattgggtca | 240 |
| aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga  | 300 |
| gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa  | 360 |
| aagctacaca aataagggtt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg  | 420 |
| taccattaga gaatttttgg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta  | 480 |
| aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaataa attgatgaaa gagttggatt  | 540 |
| aaagttgtat tagtaattag aatttggtgt caaatttaat ttgacatttg atcttttcct  | 600 |
| atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa  | 660 |
| ataacggtat attaatccct ccaaaaaaaa aaacggtat atttactaaa aaatctaagc   | 720 |
| cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacaac  | 780 |
| aatcctgatg agataaccca ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa  | 840 |
| atcacacatt cttccacaca tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca  | 900 |
| ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag  | 960 |

# ES 2 554 703 T3

agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tgaaggcaat aattgtacta 1020  
 ctcatggttag taacatccaa tgcagatcga atctgcactg ggataacatc gtcaaaactca 1080  
 ccacatgttg tcaaaactgc tactcaaggg gaggtcaatg tgactgggtg aataccactg 1140  
 acaacaacac ccaccaaactc tcattttgca aatctcaaag gaacagaaac cagagggaaa 1200  
 ctatgcccac aatgcctcaa ctgcacagat ctggacgtgg ccttgggcag accaaaatgc 1260  
 acggggaaca taccctcggc aagagtttca atactccatg aagtcagacc tgttacatct 1320  
 ggggtgctttc ctataatgca cgacagaaca aaaattagac agctgcctaa acttctcaga 1380  
 ggatacgaac atatcaggtt atcaactcat aacgttatca atgcagaaaa tgcaccagga 1440  
 ggaccctaca aaattggaac ctgaggtct tgcctaacg ttaccaatgg aaacggattt 1500  
 ttcgcaacaa tggtctgggc cgtcccaaaa aacgacaaca acaaaacagc aacaaattca 1560  
 ttaacaatag aagtaccata cattttgtaca gaaggagaag accaaattac cgtttggggg 1620  
 ttccactctg ataacgaaac ccaaattggca aagctctatg gggactcaa gcccagaag 1680  
 ttcacctcat ctgccaacgg agtgaccaca cattacgttt cacagattgg tggcttcca 1740  
 aatcaaacag aagacggagg actaccacaa agcggtagaa ttgttgttga ttacatggtg 1800  
 caaaaatctg ggaacacagg aacaattacc tatcaaagag gtattttatt gcctcaaaaa 1860  
 gtgtggtgag caagtggcag gagcaaggta ataaaaggat cgttgccttt aattggagaa 1920  
 gcagattgcc tccacgaaaa atacggtgga ttaaacaata gcaagcctta ctacacaggg 1980  
 gaacatgcaa aggccatagg aaattgcca atatgggtga aaacaccctt gaagctggcc 2040  
 aatggaacca aatatagacc tcctgcaaaa ctattaaagg aaaggggttt cttcggagct 2100  
 attgctggtt tcttagaagg aggatgggaa ggaatgattg caggttggca cggatacaca 2160  
 tcccatgggg cacatggagt agcgggtgga gcagacctta agagcactca agagccata 2220  
 aacaagataa caaaaaatct caactctttg agtgagctgg aagtaaagaa tcttcaaaga 2280  
 ctaagcggtg ccatggatga actccacaac gaaatactag aactagacga gaaagtggat 2340  
 gatctcagag ctgatacaat aagctcaca atagaactcg cagtcctgct ttccaatgaa 2400  
 ggaataataa acagtgaaga tgagcatctc ttggcgcttg aaagaaagct gaagaaaatg 2460  
 ctgggcccct ctgctgtaga gatagggaa ggatgctttg aaaccaaaca caagtgaac 2520  
 cagacctgtc tcgacagaat agctgctggt acctttgatg caggagaatt ttctctccc 2580  
 acttttgatt cactgaatat tactgtgca tctttaaatg acgatggatt ggataatcat 2640  
 actatactgc ttactactc aactgctgcc tccagtgttg ctgtaacatt gatgatagct 2700  
 atcctttgtt tttatatggt tccagagac aatgtttctt gctccatctg tctataagag 2760  
 ctctaagtta aaatgcttct tcgtctccta ttataatat ggtttgttat tgttaatttt 2820  
 gttctttag aagagcttaa ttaatcgtt ttgttatgaa atactatttg tatgagatga 2880  
 actggtgtaa tgtaattcat ttacataagt ggagtcagaa tcagaatgtt tcctccataa 2940  
 ctaactagac atgaagacct gccgcgtaca attgtcttat atttgaacaa ctaaaattga 3000  
 acatcttttg ccacaacttt ataagtgtt aatatagctc aaatatatgg tcaagttcaa 3060  
 tagattaata atggaaatat cagttatcga aattcattaa caatcaactt aacgttatta 3120  
 actactaatt ttatatcatc ccttttgata aatgatagta ca 3162

<210> 73

<211> 3159



<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de B/Florida/4/2006

5 <400> 73

```

agaggtaccc cgggctggtg tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt    60
taagtttagca agtgtgtaca tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa    120
atcattatta aacattagag taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt    180
tgacaacaat tttgttgcaa catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattgggtca    240
aaaacaatag agagagaaaa aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga    300
gaaagttgta caaaagttgt accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa    360
aagctacaca aataaggggt aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg    420
taccattaga gaatttttgg caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta    480
aaagttgagt catttgatta aacatgtgat tatttaatga attgatgaaa gagttggatt    540
aaagttgtat tagtaattag aatttggtgt caaatttaat ttgacatttg atcttttcct    600
atatattgcc ccatagagtc agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa    660
ataacggtat attaatccct ccaaaaaaaaa aaaaagggtat atttactaaa aaatctaagc    720
cacgtaggag gataacagga tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacaaac    780
aatcctgatg agataaccca cttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa    840
atcacacatt cttccacaca tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca    900
ttctataaaa aatcacactt tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag    960
agaagagact aattaattaa ttaatcatct tgagagaaaa tgaaggcaat aattgtacta   1020
ctcatggtag taacatccaa tgcagatcga atctgcactg gaataacatc ttcaaactca   1080
cctcatgtgg tcaaaacagc cactcaaggg gaggtcaatg tgactggtgt gataccacta   1140
acaacaacac caacaaaatc ttattttgca aatctcaaag gaacaaggac cagagggaaa   1200
ctatgccagc actgtctcaa ctgcacagat ctggatgtgg ctttgggcag accaatgtgt   1260
gtggggacca caccttcggc gaaggcttca atactccacg aagtcaaacc tgttacatcc   1320
gggtgctttc ctataatgca cgacagaaca aaaatcaggc aactaccaa tcttctcaga   1380

```

```

ggatatgaaa atatacaggct atcaacccaa aacgtcatcg atgcggaaaa ggcaccagga 1440
ggaccctaca gacttggaac ctcaggatct tgcctaacg ctaccagtaa gagcggattt 1500
ttcgcacaaa tggcttgggc tgtcccaaag gacaacaaca aaaatgcaac gaaccacta 1560
acagtagaag taccatacat ttgtacagaa ggggaagacc aaatcactgt ttgggggttc 1620
cattcagata acaaaaccca aatgaagaac ctctatggag actcaaatcc tcaaaagtcc 1680
acctcatctg ctaatggagt aaccacacac tatgtttctc agattggcag cttcccagat 1740
caaacagaag acggaggact accacaaagc ggcaggattg ttgttgatta catgatgcaa 1800
aaacctggga aaacaggaac aattgtctac caaagaggtg ttttgttgcc tcaaaaggtg 1860
tgggtgcgca gtggcaggag caaagtaata aaagggtcct tgcctttaat tggatgaagca 1920
gattgccttc atgaaaaata cggtggatta aacaaaagca agccttacta cacaggagaa 1980
catgcaaaag ccataggaaa ttgcccaata tgggtgaaaa cacctttgaa gctcgccaat 2040
ggaaccaa atagacctcc tgcaaaacta ttaaaggaaa ggggtttctt cggagctatt 2100
gctggtttcc tagaaggagg atgggaagga atgattgcag gctggcacgg atacacatct 2160
cacggagcac atggagtggc agtggcgggc gaccttaaga gtacgcaaga agctataaac 2220
aagatacaa aaaatctcaa ttctttgagt gagctagaag taaagaatct tcaaagacta 2280
agtgtgcca tggatgaact ccacaacgaa atactcgagc tggatgagaa agtggatgat 2340
ctcagagctg acactataag ctcgcaaata gaacttcgag tcttgctttc caacgaagga 2400
ataataaaca gtgaagatga gcactctattg gcacttgaga gaaaactaaa gaaaatgctg 2460
ggtccctctg ctgtagagat aggaaatgga tgcttcgaaa ccaaacacaa gtgcaaccag 2520
acctgcttag acaggatagc tgctggcacc ttaatgcag gagaattttc tctccccact 2580
tttgattcac tgaacattac tgctgcatct ttaaattgat atggattgga taaccatact 2640
atactgctct attactcaac tgctgcttct agtttggtg taacattgat gctagctatt 2700
tttattgttt atatggtctc cagagacaac gtttcattg ccatctgtct ataagagctc 2760
taagttaaaa tgcttcttcg tctcctatct ataatatggt ttgttattgt taattttgtt 2820
ctttagaag agcttaatta atcgttggtg ttatgaaata ctatttgat gagatgaact 2880
ggtgtaatgt aattcattta cataagtga gtcagaatca gaatgtttcc tccataacta 2940
actagacatg aagacctgcc gcgtacaatt gtcttatatt tgaacaacta aaattgaaca 3000
tcttttgcca caactttata agtggttaat atagctcaa tatatggtca agttcaatag 3060
attaataatg gaaatatcag ttatcgaat tcattaacaa tcaacttaac gttattaact 3120
actaattta tatcatcccc tttgataaat gatagtaca 3159

```

<210> 74

<211> 565

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Consenso de SEQ ID NO: 33, 48, 49 y 9

<220>

<221> característica\_misc

<222> (3)..(3)

<223> Xaa puede ser Ala o Val

<220>

<221> característica\_misc

5 <222> (52)..(52)

<223> Xaa puede ser Asp o Asn

<220>

<221> característica\_misc

<222> (90)..(90)

10 <223> Xaa puede ser Lys o Arg

<220>

<221> característica\_misc

<222> (99)..(99)

<223> Xaa puede ser Lys o Thr

15 <220>

<221> característica\_misc

<222> (111)..(111)

<223> Xaa puede ser Tyr o His

<220>

20 <221> característica\_misc

<222> (145)..(145)

<223> Xaa puede ser Val o Thr

<220>

<221> característica\_misc

25 <222> (157)..(157)

<223> Xaa puede ser Glu o Lys

<220>

<221> característica\_misc

<222> (162)..(162)

30 <223> Xaa puede ser Arg o Lys

<220>

<221> característica\_misc  
 <222> (182)..(182)  
 <223> Xaa puede ser Arg o Lys  
 <220>

5     <221> característica\_misc  
 <222> (203)..(203)  
 <223> Xaa puede ser Asp o Asn  
 <220>

<221> característica\_misc  
 10     <222> (205)..(205)  
 <223> Xaa puede ser Arg o Lys  
 <220>

<221> característica\_misc  
 <222> (210)..(210)  
 15     <223> Xaa puede ser Thr o Lys  
 <220>

<221> característica\_misc  
 <222> (225)..(225)  
 <223> Xaa puede ser Arg o Lys  
 20     <220>

<221> característica\_misc  
 <222> (268)..(268)  
 <223> Xaa puede ser Trp o Arg  
 <220>

25     <221> característica\_misc  
 <222> (283)..(283)  
 <223> Xaa puede ser Thr o Asn  
 <220>

<221> característica\_misc  
 30     <222> (290)..(290)  
 <223> Xaa puede ser Gly o Lys

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; característica\_misc

&lt;222&gt; (432)..(432)

&lt;223&gt; Xaa puede ser Ile o Leu

5 &lt;220&gt;

&lt;221&gt; característica\_misc

&lt;222&gt; (489)..(489)

&lt;223&gt; Xaa puede ser Asn o Asp

&lt;400&gt; 74

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Lys | Xaa | Lys | Leu | Leu | Val | Leu | Leu | Cys | Thr | Phe | Thr | Ala | Thr | Tyr | 1   | 5   | 10  | 15  |
| Ala | Asp | Thr | Ile | Cys | Ile | Gly | Tyr | His | Ala | Asn | Asn | Ser | Thr | Asp | Thr | 20  | 25  | 30  |     |
| Val | Asp | Thr | Val | Leu | Glu | Lys | Asn | Val | Thr | Val | Thr | His | Ser | Val | Asn | 35  | 40  | 45  |     |
| Leu | Leu | Glu | Xaa | Ser | His | Asn | Gly | Lys | Leu | Cys | Leu | Leu | Lys | Gly | Ile | 50  | 55  | 60  |     |
| Ala | Pro | Leu | Gln | Leu | Gly | Asn | Cys | Ser | Val | Ala | Gly | Trp | Ile | Leu | Gly | 65  | 70  | 75  | 80  |
| Asn | Pro | Glu | Cys | Glu | Leu | Leu | Ile | Ser | Xaa | Glu | Ser | Trp | Ser | Tyr | Ile | 85  | 90  | 95  |     |
| Val | Glu | Xaa | Pro | Asn | Pro | Glu | Asn | Gly | Thr | Cys | Tyr | Pro | Gly | Xaa | Phe | 100 | 105 | 110 |     |
| Ala | Asp | Tyr | Glu | Glu | Leu | Arg | Glu | Gln | Leu | Ser | Ser | Val | Ser | Ser | Phe | 115 | 120 | 125 |     |
| Glu | Arg | Phe | Glu | Ile | Phe | Pro | Lys | Glu | Ser | Ser | Trp | Pro | Asn | His | Thr | 130 | 135 | 140 |     |
| Xaa | Thr | Gly | Val | Ser | Ala | Ser | Cys | Ser | His | Asn | Gly | Xaa | Ser | Ser | Phe | 145 | 150 | 155 | 160 |
| Tyr | Xaa | Asn | Leu | Leu | Trp | Leu | Thr | Gly | Lys | Asn | Gly | Leu | Tyr | Pro | Asn | 165 | 170 | 175 |     |
| Leu | Ser | Lys | Ser | Tyr | Xaa | Asn | Asn | Lys | Glu | Lys | Glu | Val | Leu | Val | Leu | 180 | 185 | 190 |     |

10

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Trp | Gly | Val | His | His | Pro | Pro | Asn | Ile | Gly | Xaa | Gln | Xaa | Ala | Leu | Tyr | 195 | 200 | 205 |
| His | Xaa | Glu | Asn | Ala | Tyr | Val | Ser | Val | Val | Ser | Ser | His | Tyr | Ser | Arg | 210 | 215 | 220 |
| Xaa | Phe | Thr | Pro | Glu | Ile | Ala | Lys | Arg | Pro | Lys | Val | Arg | Asp | Gln | Glu | 225 | 230 | 235 |
| Gly | Arg | Ile | Asn | Tyr | Tyr | Trp | Thr | Leu | Leu | Glu | Pro | Gly | Asp | Thr | Ile | 245 | 250 | 255 |
| Ile | Phe | Glu | Ala | Asn | Gly | Asn | Leu | Ile | Ala | Pro | Xaa | Tyr | Ala | Phe | Ala | 260 | 265 | 270 |
| Leu | Ser | Arg | Gly | Phe | Gly | Ser | Gly | Ile | Ile | Xaa | Ser | Asn | Ala | Pro | Met | 275 | 280 | 285 |
| Asp | Xaa | Cys | Asp | Ala | Lys | Cys | Gln | Thr | Pro | Gln | Gly | Ala | Ile | Asn | Ser | 290 | 295 | 300 |
| Ser | Leu | Pro | Phe | Gln | Asn | Val | His | Pro | Val | Thr | Ile | Gly | Glu | Cys | Pro | 305 | 310 | 315 |
| Lys | Tyr | Val | Arg | Ser | Ala | Lys | Leu | Arg | Met | Val | Thr | Gly | Leu | Arg | Asn | 325 | 330 | 335 |
| Ile | Pro | Ser | Ile | Gln | Ser | Arg | Gly | Leu | Phe | Gly | Ala | Ile | Ala | Gly | Phe | 340 | 345 | 350 |
| Ile | Glu | Gly | Gly | Trp | Thr | Gly | Met | Val | Asp | Gly | Trp | Tyr | Gly | Tyr | His | 355 | 360 | 365 |
| His | Gln | Asn | Glu | Gln | Gly | Ser | Gly | Tyr | Ala | Ala | Asp | Gln | Lys | Ser | Thr | 370 | 375 | 380 |
| Gln | Asn | Ala | Ile | Asn | Gly | Ile | Thr | Asn | Lys | Val | Asn | Ser | Val | Ile | Glu | 385 | 390 | 395 |
| Lys | Met | Asn | Thr | Gln | Phe | Thr | Ala | Val | Gly | Lys | Glu | Phe | Asn | Lys | Leu | 405 | 410 | 415 |
| Glu | Arg | Arg | Met | Glu | Asn | Leu | Asn | Lys | Lys | Val | Asp | Asp | Gly | Phe | Xaa | 420 | 425 | 430 |
| Asp | Ile | Trp | Thr | Tyr | Asn | Ala | Glu | Leu | Leu | Val | Leu | Leu | Glu | Asn | Glu | 435 | 440 | 445 |
| Arg | Thr | Leu | Asp | Phe | His | Asp | Ser | Asn | Val | Lys | Asn | Leu | Tyr | Glu | Lys | 450 | 455 | 460 |
| Val | Lys | Ser | Gln | Leu | Lys | Asn | Asn | Ala | Lys | Glu | Ile | Gly | Asn | Gly | Cys | 465 | 470 | 475 |
| Phe | Glu | Phe | Tyr | His | Lys | Cys | Asn | Xaa | Glu | Cys | Met | Glu | Ser | Val | Lys | 485 | 490 | 495 |
| Asn | Gly | Thr | Tyr | Asp | Tyr | Pro | Lys | Tyr | Ser | Glu | Glu | Ser | Lys | Leu | Asn | 500 | 505 | 510 |
| Arg | Glu | Lys | Ile | Asp | Gly | Val | Lys | Leu | Glu | Ser | Met | Gly | Val | Tyr | Gln | 515 | 520 | 525 |
| Ile | Leu | Ala | Ile | Tyr | Ser | Thr | Val | Ala | Ser | Ser | Leu | Val | Leu | Leu | Val |     |     |     |

|                     |                     |                         |
|---------------------|---------------------|-------------------------|
| 530                 | 535                 | 540                     |
| Ser Leu Gly Ala Ile | Ser Phe Trp Met Cys | Ser Asn Gly Ser Leu Gln |
| 545                 | 550                 | 555 560                 |

Cys Arg Ile Cys Ile  
565

<210> 75

<211> 565

<212> PRT

5 <213> Virus Influenza A

<400> 75

|                                                                 |  |
|-----------------------------------------------------------------|--|
| Met Lys Ala Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr |  |
| 1 5 10 15                                                       |  |
| Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr |  |
| 20 25 30                                                        |  |
| Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn |  |
| 35 40 45                                                        |  |
| Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Leu Leu Lys Gly Ile |  |
| 50 55 60                                                        |  |
| Ala Pro Leu Gln Leu Gly Asn Cys Ser Val Ala Gly Trp Ile Leu Gly |  |
| 65 70 75 80                                                     |  |
| Asn Pro Glu Cys Glu Leu Leu Ile Ser Lys Glu Ser Trp Ser Tyr Ile |  |
| 85 90 95                                                        |  |
| Val Glu Thr Pro Asn Pro Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Tyr Phe |  |
| 100 105 110                                                     |  |
| Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe |  |
| 115 120 125                                                     |  |
| Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Ser Ser Trp Pro Asn His Thr |  |
| 130 135 140                                                     |  |
| Val Thr Gly Val Ser Ala Ser Cys Ser His Asn Gly Lys Ser Ser Phe |  |
| 145 150 155 160                                                 |  |
| Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Gly Lys Asn Gly Leu Tyr Pro Asn |  |
| 165 170 175                                                     |  |
| Leu Ser Lys Ser Tyr Val Asn Asn Lys Glu Lys Glu Val Leu Val Leu |  |
| 180 185 190                                                     |  |
| Trp Gly Val His His Pro Pro Asn Ile Gly Asn Gln Arg Ala Leu Tyr |  |
| 195 200 205                                                     |  |
| His Thr Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser His Tyr Ser Arg |  |
| 210 215 220                                                     |  |
| Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Lys Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln Glu |  |
| 225 230 235 240                                                 |  |
| Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr Ile |  |
| 245 250 255                                                     |  |
| Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Phe Ala |  |
| 260 265 270                                                     |  |

Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr Ser Asn Ala Pro Met  
 275 280 285  
 Asp Glu Cys Asp Ala Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn Ser  
 290 295 300  
 Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys Pro  
 305 310 315 320  
 Lys Tyr Val Arg Ser Ala Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn  
 325 330 335  
 Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe  
 340 345 350  
 Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His  
 355 360 365  
 His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr  
 370 375 380  
 Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu  
 385 390 395 400  
 Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys Leu  
 405 410 415  
 Glu Arg Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe Leu  
 420 425 430  
 Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu  
 435 440 445  
 Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys  
 450 455 460  
 Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys  
 465 470 475 480  
 Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Lys  
 485 490 495  
 Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn  
 500 505 510  
 Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln  
 515 520 525  
 Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Val Leu Leu Val  
 530 535 540  
 Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln  
 545 550 555 560  
 Cys Arg Ile Cys Ile  
 565

<210> 76

<211> 252

<212> PRT

5 <213> Virus Influenza A

<400> 76



Met Ser Leu Leu Thr Glu Val Glu Thr Tyr Val Leu Ser Ile Ile Pro  
1 5 10 15  
Ser Gly Pro Leu Lys Ala Glu Ile Ala Gln Arg Leu Glu Asp Val Phe  
20 25 30  
Ala Gly Lys Asn Thr Asp Leu Glu Val Leu Met Glu Trp Leu Lys Thr  
35 40 45  
Arg Pro Ile Leu Ser Pro Leu Thr Lys Gly Ile Leu Gly Phe Val Phe  
50 55 60  
Thr Leu Thr Val Pro Ser Glu Arg Gly Leu Gln Arg Arg Arg Phe Val  
65 70 75 80  
Gln Asn Ala Leu Asn Gly Asn Gly Asp Pro Asn Asn Met Asp Lys Ala  
85 90 95  
Val Lys Leu Tyr Arg Lys Leu Lys Arg Glu Ile Thr Phe His Gly Ala  
100 105 110  
Lys Glu Ile Ser Leu Ser Tyr Ser Ala Gly Ala Leu Ala Ser Cys Met  
115 120 125  
Gly Leu Ile Tyr Asn Arg Met Gly Ala Val Thr Thr Glu Val Ala Phe  
130 135 140  
Gly Leu Val Cys Ala Thr Cys Glu Gln Ile Ala Asp Ser Gln His Arg  
145 150 155 160  
Ser His Arg Gln Met Val Thr Thr Thr Asn Pro Leu Ile Arg His Glu  
165 170 175  
Asn Arg Met Val Leu Ala Ser Thr Thr Ala Lys Ala Met Glu Gln Met  
180 185 190  
Ala Gly Ser Ser Glu Gln Ala Ala Glu Ala Met Glu Val Ala Ser Gln  
195 200 205  
Ala Arg Gln Met Val Gln Ala Met Arg Thr Ile Gly Thr His Pro Ser  
210 215 220  
Ser Ser Ala Gly Leu Lys Asn Asp Leu Leu Glu Asn Leu Gln Ala Tyr  
225 230 235 240  
Gln Lys Arg Met Gly Val Gln Met Gln Arg Phe Lys  
245 250

<210> 77

<211> 24

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> pBinPlus.2613.c

<400> 77

aggaagggaa gaaagcgaaa ggag 24

10 <210> 78

<211> 56

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Mut-ATG115.r

5 <400> 78

gtgccgaagc acgatctgac aacgttgaag atcgctcacg caagaaagac aagaga 56

<210> 79

<211> 52

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Mut-ATG161.c

<400> 79

gtgtcagat cgtgcttcgg caccagtaca acgtttctt tcactgaagc ga 52

15 <210> 80

<211> 25

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> LC-C5-1.110r

<400> 80

tctcctggag tcacagacag ggtgg 25

<210> 81

<211> 2065

25 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> cassette 828 de PacI a AscI

<400> 81

```

ttaaattaaga attcgagctc caccgcggaa acctcctcgg attccattgc ccagctatct      60
gtcactttat tgagaagata gtggaaaagg aaggtggctc ctacaaatgc catcattgcg      120
ataaaggaaa ggccatcggt gaagatgcct ctgccgacag tggccccaaa gatggacccc      180
caccacagag gagcatcggt gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca aagcaagtgg      240
attgatgtga tatctccact gacgtaaggg atgacgcaca atcccactat ccttcgcaag      300
acccttcctc tatataagga agttcatttc atttggagag gtattaaaat cttaataggt      360
tttgataaaa gcgaacgtgg ggaacccga accaaacctt cttctaaact ctctctcatc      420
tctcttaaag caaacttctc tcttgtcttt cttgctgag cgatcttcaa cgttgtcaga      480
tcgtgcttcg gcaccagtac aacgttttct ttcactgaag cgaaatcaaa gatctctttg      540
tggacacgta gtgcggcgcc attaaataac gtgtacttgt cctattcttg tcggtgtggg      600
cttgggaaaa gaaagcttgc tggaggctgc tgttcagccc catacattac ttgttacgat      660
tctgctgact ttcggcggtt gcaatatctc tacttctgct tgacgaggtg ttgttgcttg      720
tacttcttct ttcttcttct tctgtatttg ttctataaga aatctagtat tttctttgaa      780
acagagtttt cccgtgggtt tcgaacttgg agaaagattg ttaagcttct gtatattctg      840
cccaaatttg tcgggcccat ggttttcaca cctcagatac ttggacttat gcttttttgg      900

atttcagcct ccagaggtga tattgtgcta actcagctctc cagccacctt gtctgtgact      960
ccaggagata gtgtcagctc ttcctgcagg gccagccaaa gtattagcaa caacctacac     1020
tggtttcaac aaaaatcgca tgagtctcca aggtcttctc tcaagtatgc ttcccagtcc     1080
atatctggga tcccctccag gttcagtggc agtggatctg ggacagattt cactctcagt     1140
atcaacagtg tgaagactga agatttttga atgttttctc gtcaacagag taacagctgg     1200
cctctcacgt tcggtgatgg gacaaagctg gagctgaaac gggctgatgc tgcaccaact     1260
gtatccatct tcccaccatc cagtgcagag ttaacatctg gaggtgcctc agtcgtgtgc     1320
ttcttgaaca acttctaccc caaagacatc aatgtcaagt ggaagattga tggcagtga     1380
cgacaaaatg gcgtcctgaa cagttggact gatcaggaca gcaaagacag cacctacagc     1440
atgagcagca ccctcacgtt gaccaaggac gagtatgaac gacataacag ctatacctgt     1500
gaggccactc acaagacatc aacttcaccc attgtcaaga gcttcaacag gaatgagtgt     1560
tagaggccta ttttcttttag tttgaattta ctgttattcg gtgtgcattt ctatgtttgg     1620
tgagcgggtt tctgtgctca gagtgtgttt attttatgta atttaatttc tttgtgagct     1680
cctgttttag aggtcgtccc ttcagcaagg acacaaaaag attttaattt tattaaaaaa     1740
aaaaaaaaaa aagacoggga attcgatata aagcttatcg acctgcagat cgttcaaaca     1800
tttggaataa aagtttctta agattgaatc ctgttgccgg tcttgcgatg attatcatat     1860
aatttctggt gaattacgtt aagcatgtaa taattaacat gtaatgcatg acgttattta     1920
tgagatgggt ttttatgatt agagtccgcg aattatacat ttaatacgcg atagaaaaca     1980
aatatagcgc cgcaaaactag gataaattat cgcgcgcggg gtcactctatg ttactagatt     2040
ctagagtctc aagcttcggc gcgcc                                     2065

```

<210> 82

<211> 48

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> SpPDI-HA(Ind).c

<400> 82

5 gttccttctc agatcttcgc tgatcagatt tgcattgggt accatgca 48

<210> 83

<211> 3218

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> Construcción 663 desde HindIII hasta EcoRI

<400> 83

**aagcttgcta gcggcctcaa tggccctgca ggtcgactct agaggtaccc cgggctggta 60**

**tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt taagtttagca agtgtgtaca 120**

|             |            |            |            |             |            |      |
|-------------|------------|------------|------------|-------------|------------|------|
| tttttacttg  | aacaaaaata | ttcacctact | actgttataa | atcattatta  | aacattagag | 180  |
| taaagaaata  | tggatgataa | gaacaagagt | agtgatattt | tgacaacaat  | tttgttgcaa | 240  |
| catttgagaa  | aattttgttg | ttctctcttt | tcattggtca | aaaacaatag  | agagagaaaa | 300  |
| aggaagaggg  | agaataaaaa | cataatgtga | gtatgagaga | gaaagttgta  | caaaagttgt | 360  |
| accaaataag  | ttgtacaaat | atcattgagg | aatttgacaa | aagctacaca  | aataagggtt | 420  |
| aattgctgta  | aataaataag | gatgacgcat | tagagagatg | taccattaga  | gaatttttgg | 480  |
| caagtcatta  | aaaagaaaga | ataaattatt | tttaaaatta | aaagttgagt  | catttgatta | 540  |
| aacatgtgat  | tatttaatga | attgatgaaa | gagttggatt | aaagttgtat  | tagtaattag | 600  |
| aatttgggtg  | caaatttaat | ttgacatttg | atcttttcct | atatattgcc  | ccatagagtc | 660  |
| agttaactca  | tttttatatt | tcatagatca | aataagagaa | ataacggtat  | attaatccct | 720  |
| ccaaaaaaa   | aaaacggtat | atttactaaa | aaatctaagc | cacgtaggag  | gataacagga | 780  |
| tccccgtagg  | aggataacat | ccaatccaac | caatcacaac | aatcctgatg  | agataaccca | 840  |
| ctttaagccc  | acgcatctgt | ggcacatcta | cattatctaa | atcacacatt  | cttcacaca  | 900  |
| tctgagccac  | acaaaaacca | atccacatct | ttatcaccca | ttctataaaa  | aatcacactt | 960  |
| tgtgagtcta  | cactttgatt | cccttcaaac | acatacaaag | agaagagact  | aattaattaa | 1020 |
| ttaatcatct  | tgagagaaaa | tggcgaaaaa | cgttgcgatt | ttcggcttat  | tgttttctct | 1080 |
| tcttgtgttg  | gttccttctc | agatcttcgc | tgatcagatt | tgcattggtt  | accatgcaaa | 1140 |
| caattcaaca  | gagcagggtg | acacaatcat | ggaaaagaac | gttactgtta  | cacatgcccc | 1200 |
| agacatactg  | gaaaagacac | acaacgggaa | gctctgcgat | ctagatggag  | tgaagcctct | 1260 |
| aattttaaga  | gattgtagtg | tagctggatg | gctcctcggg | aacccaatgt  | gtgacgaatt | 1320 |
| catcaatgta  | ccggaatggt | cttacatagt | ggagaaggcc | aatccaacca  | atgacctctg | 1380 |
| ttaccagggg  | agtttcaacg | actatgaaga | actgaaacac | ctattgagca  | gaataaacca | 1440 |
| ttttgagaaa  | attcaaatca | tccccaaaag | ttcttgggtc | gatcatgaag  | cctcatcagg | 1500 |
| agtttagctca | gcatgtccat | acctgggaag | tccctccttt | tttagaaatg  | tggtatggct | 1560 |
| tatcaaaaag  | aacagtacat | acccaacaat | aaagaaaagc | tacaataata  | ccaaccaaga | 1620 |
| ggatcttttg  | gtactgtggg | gaattcacca | tcctaataat | gcggcagagc  | agacaaggct | 1680 |
| atatcaaaac  | ccaaccacct | atatttccat | tgggacatca | acactaaacc  | agagattggt | 1740 |
| acaaaaaata  | gctactagat | ccaaagtaaa | cgggcaaagt | ggaaggatgg  | agttcttctg | 1800 |
| gacaatttta  | aaacctaata | atgcaatcaa | cttcgagagt | aatggaaatt  | tcattgctcc | 1860 |
| agaatatgca  | tacaaaattg | tcaagaaagg | ggactcagca | attatgaaaa  | gtgaattgga | 1920 |
| atatggtaac  | tgcaacacca | agtgtcaaac | tccaatgggg | gcgataaaact | ctagtatgcc | 1980 |
| attccacaac  | atacaccctc | tcaccatcgg | ggaatgcccc | aaatatgtga  | aatcaaacag | 2040 |
| attagtcctt  | gcaacagggc | tcagaaatag | ccctcaaaga | gagagcagaa  | gaaaaaagag | 2100 |

aggactatatt ggagctatag cagggttttat agagggagga tggcagggaa tggtagatgg 2160  
 ttggtatggg taccaccata gcaatgagca ggggagtggg tacgctgcag acaaagaatc 2220  
 cactcaaaag gcaatagatg gagtcaccaa taaggccaac tcaatcattg acaaatgaa 2280  
 cactcagttt gaggccgttg gaagggaatt taataactta gaaaggagaa tagagaattt 2340  
 aaacaagaag atggaagacg ggtttctaga tgtctggact tataatgccg aacttctggt 2400  
 tctcatggaa aatgagagaa ctctagactt tcatgactca aatgttaaga acctctacga 2460  
 caaggctccga ctacagctta gggataatgc aaaggagctg ggtaacgggtt gtttcgagtt 2520  
 ctatcacaaa tgtgataatg aatgtatgga aagtataaga aacggaacgt acaactatcc 2580  
 gcagtattca gaagaagcaa gattaaaaag agaggaaata agtggggtaa aattggaatc 2640  
 aataggaact taccaaatac tgtcaattta ttcaacagtg gcgagttccc tagcactggc 2700  
 aatcatgatg gctgggtctat ctttatggat gtgctccaat ggatcggtac aatgcagaat 2760  
 ttgcatttaa gagctctaag ttaaaatgct tcttcgtctc ctatttataa tatggtttgt 2820  
 tattgttaat tttgttcttg tagaagagct taattaatcg ttgttggtat gaaatactat 2880  
 ttgtatgaga tgaactggtg taatgtaatt catttacata agtggagtca gaatcagaat 2940  
 gtttcctcca taactaacta gacatgaaga cctgccgcgt acaattgtct tatatttgaa 3000  
 caactaaaat tgaacatctt ttgccacaac ttataagtg gttaatatag ctcaaata 3060  
 tggccaagtt caatagatta ataatggaaa tatcagttat cgaaattcat taacaatcaa 3120  
 cttaacgtta ttaactacta attttatatc atcccccttg ataaatgata gtacaccaat 3180  
 taggaaggag catgctcgag gcctggctgg ccgaattc 3218

<210> 84

<211> 49

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> SpPDI-H1B.c

<400> 84

ttctcagatc ttgctgaca caatatgtat aggctacat gctaacaac 49

10 <210> 85

<211> 47

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> SacI-H1B.r

<400> 85

cttagagctc ttagatgcat attctacact gtaaagaccc attggaa 47

<210> 86

<211> 3206

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Construcción 787 desde HindIII hasta EcoR1

<400> 86

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| aagcttgcta gcgccctcaa tggccctgca ggtcgactct agaggtaccc cgggctggta  | 60   |
| tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt taagtttagca agtgtgtaca | 120  |
| tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa atcattatta aacattagag  | 180  |
| taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt tgacaacaat tttgttgcaa  | 240  |
| catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattggta aaaacaatag agagagaaaa   | 300  |
| aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga gaaagttgta caaaagttgt  | 360  |
| acaaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa aagctacaca aataagggtt  | 420  |
| aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg taccattaga gaatttttgg  | 480  |
| caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta aaagttgagt catttgatta  | 540  |
| aacatgtgat tatttaatga attgatgaaa gagttggatt aaagttgtat tagtaattag  | 600  |
| aatttgggtg caaatttaat ttgacatttg atcttttcct atatatggcc ccatagagtc  | 660  |
| agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa ataacggtat attaatccct  | 720  |
| ccaaaaaaaa aaaacggtat atttactaaa aaatctaagc cacgtaggag gataacagga  | 780  |
| tccccgtagg aggataacat ccaatccaac caatcacac aatcctgatg agataaccca   | 840  |
| ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa atcacacatt cttccacaca  | 900  |
| tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca ttctataaaa aatcacactt  | 960  |
| tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag agaagagact aattaattaa  | 1020 |
| ttaatcatct tgagagaaaa tggcgaaaa cgttgcgatt ttcggttat tgttttctct    | 1080 |
| tcttgtgttg gttccttctc agatcttcgc tgacacaata tgtataggct accatgctaa  | 1140 |
| caactcgacc gacactgttg acacagtact tgaaaagaat gtgacagtga cacactctgt  | 1200 |
| caacctgctt gagaacagtc acaatggaaa actatgtcta ttaaaggaa tagccccact   | 1260 |
| acaattgggt aattgcagcg ttgccgggtg gatcttagga aaccagaat gcgaattact   | 1320 |
| gatttccaag gagtcatggt cctacattgt agaaaaacca aatcctgaga atggaacatg  | 1380 |
| ttaccagggt catttcgctg actatgagga actgaggag caattgagtt cagtatcttc   | 1440 |
| atttgagagg ttcgaaatat tccccaaaga aagctcatgg cccaaccaca ccgtaaccgg  | 1500 |
| agtgtcagca tcatgctccc ataatgggga aagcagtttt tacagaaatt tgctatggct  | 1560 |
| gacggggaag aatgggttgt acccaaacct gagcaagtc tatgcaaaaca acaaagaaaa  | 1620 |
| agaagtcctt gtactatggg gtgttcatca cccgccaaac ataggtgacc aaaaggccct  | 1680 |
| ctatcataca gaaaatgctt atgtctctgt agtgtcttca cattatagca gaaaattcac  | 1740 |
| cccagaaata gccaaaagac ccaaagtaag agatcaagaa ggaagaatca attactactg  | 1800 |

gactctgctt gaacccgggg atacaataat atttgaggca aatggaaatc taatagcgcc 1860  
aagatatgct ttgcgactga gtagaggctt tggatcagga atcatcaact caaatgcacc 1920  
aatggataaa tgtgatgcga agtgccaaac acctcagga gctataaaca gcagtcttcc 1980  
tttccagaac gtacaccag tcacaatagg agagtgtcca aagtatgtca ggagtgcaaa 2040  
attaaggatg gttacaggac taaggaacat cccatccatt caatccagag gtttgtttgg 2100  
agccattgcc ggtttcattg aaggggggtg gactggaatg gtagatggtt ggtatggtta 2160  
tcatcatcag aatgagcaag gatctggcta tgcctgcagat caaaaaagca cacaaaatgc 2220  
cattaatggg attacaaaca aggtcaattc tgtaattgag aaaatgaaca ctcaattcac 2280  
agcagtgggc aaagagttca acaaattgga aagaaggatg gaaaacttga ataaaaaagt 2340  
tgatgatggg tttatagaca tttggacata taatgcagaa ctgttggttc tactggaaaa 2400  
tgaaaggact ttggatttcc atgactccaa tgtgaagaat ctgtatgaga aagtaaaaag 2460  
ccagttaaag aataatgcta aagaaatagg aaatgggtgt tttgagttct atcacaagtg 2520  
taacgatgaa tgcatggaga gtgtaaagaa tggaaactat gactatccaa aatattccga 2580  
agaatcaaag ttaaacaggg agaaaattga tggagtgaat ttggaatcaa tgggagtcta 2640  
tcagattctg gcgatctact caacagtcgc cagttctctg gttcttttgg tctccctggg 2700  
ggcaatcagc ttctggatgt gttccaatgg gtctttacag tgtagaatat gcatctaaga 2760  
gctctaagtt aaaatgcttc ttcgtctcct atttataata tggtttgtta ttgttaattt 2820  
tgttcttgta gaagagctta attaatcgtt gttgttatga aatactattt gtatgagatg 2880  
aactggtgta atgtaattca tttacataag tggagtcaga atcagaatgt ttcctccata 2940  
actaactaga catgaagacc tgccgcgtac aattgtctta tatttgaaca actaaaattg 3000  
aacatctttt gccacaactt tataagtggg taatatagct caaatatatg gtcaagttca 3060  
atagattaat aatggaaata tcagttatcg aaattcatta acaatcaact taacgttatt 3120  
aactactaat tttatatcat cccctttgat aaatgatagt acaccaatta ggaaggagca 3180  
tgctcgaggc ctggctggcc gaattc 3206

<210> 87

<211> 45

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> H3B-SpPDI.r

<400> 87

tgtcattcc gggaagtttt tgagcgaaga tctgagaagg aacca 45

10 <210> 88

<211> 45

<212> ADN

<213> Secuencia artificial



<220>

<223> SpPDI-H3B.c

<400> 88

tctcagatct tcgctcaaaa acttcccgga aatgacaaca gcacg 45

5 <210> 89

<211> 23

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> H3(A-Bri).982r

<400> 89

ttgcttaaca tatctgggac agg 23

<210> 90

<211> 3212

15 <212> ADN

<213> Secuencia artificial'

<220>

<223> Construcción 790 desde HindIII hasta EcoRI

<400> 90

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| aagcttgcta gcgccctcaa tggccctgca ggtcgactct agaggtaccc cgggctggta  | 60   |
| tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagtt taagtttagca agtgtgtaca | 120  |
| tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa atcattatta aacattagag  | 180  |
| taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt tgacaacaat tttgttgcaa  | 240  |
| catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattggtca aaaacaatag agagagaaaa  | 300  |
| aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga gaaagttgta caaaagttgt  | 360  |
| accaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa aagctacaca aataaggggt  | 420  |
| aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg taccattaga gaatttttgg  | 480  |
| caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta aaagttgagt catttgatta  | 540  |
| aacatgtgat tatttaatga attgatgaaa gagttggatt aaagttgtat tagtaattag  | 600  |
| aatttggtgt caaatttaat ttgacatttg atcttttcct atatattgcc ccatagagtc  | 660  |
| agttaactca tttttatatt tcatagatca aataagagaa ataacggtat attaatccct  | 720  |
| ccaaaaaaa aaaacggtat atttactaaa aaatctaagc cacgtaggag gataacagga   | 780  |
| tcccogtagg aggataacat ccaatccaac caatcacac aatcctgatg agataaccca   | 840  |
| ctttaagccc acgcatctgt ggcacatcta cattatctaa atcacacatt cttccacaca  | 900  |
| tctgagccac acaaaaacca atccacatct ttatcaccca ttctataaaa aatcacactt  | 960  |
| tgtgagtcta cactttgatt cccttcaaac acatacaaag agaagagact aattaattaa  | 1020 |
| ttaatcatct tgagagaaaa tggcgaaaaa cgttgcgatt ttcggcttat tgttttctct  | 1080 |
| tcttgtgttg gttccttctc agatcttcgc tcaaaaactt cccggaaatg acaacagcac  | 1140 |
| ggcaacgctg tgccttgggc accatgcagt accaaacgga acgatagtga aaacaatcac  | 1200 |

gaatgaccaa attgaagtta ctaatgctac tgagctggtt cagagttcct caacaggtga 1260  
 aatatgcgac agtcctcatc agatccttga tggagaaaaac tgcacactaa tagatgctct 1320  
 attgggagac cctcagtggt atggcttcca aaataagaaa tgggaccttt ttgttgaacg 1380  
 cagcaaagcc tacagcaact gttaccctta tgatgtgccg gattatgcct cccttaggtc 1440  
 actagttgcc tcatccggca cactggagtt taacaatgaa agtttcaatt ggactggagt 1500  
 cactcaaaac ggaacaagct ctgcttgcat aaggagatct aataacagtt tctttagtag 1560  
 attgaattgg ttgaccact taaaattcaa ataccagca ttgaacgtga ctatgccaaa 1620  
 caatgaaaaa ttgacaaat tgtacatttg gggggttcac caccgggtta cggacaatga 1680  
 ccaaatcttc ctgtatgctc aagcatcagg aagaatcaca gtctctacca aaagaagcca 1740  
 aaaaactgta atccogaata tcggatctag acccagagta aggaatatcc ccagcagaat 1800  
 aagcatctat tggacaatag taaaaccggg agacatactt ttgattaaca gcacagggaa 1860  
 tctaattgct cctaggggtt acttcaaaat acgaagtggg aaaagctcaa taatgagatc 1920  
 agatgcaccc attggcaaat gcaattctga atgcatcact ccaaacggaa gcattcccaa 1980  
 tgacaaacca ttccaaaatg taaacaggat cacatacggg gcctgtccca gatatgttaa 2040  
 gcaaaacact ctgaaattgg caacagggtt gcgaaatgta ccagagaaac aaactagagg 2100  
 catatttggt gcaatcgctg gtttcataga aaatggttgg gagggaaatgg tggatggttg 2160  
 gtatgggttc aggcatacaa attctgaggg aataggacaa gcagcagatc tcaaagcac 2220  
 tcaagcagca atcgatacaa tcaatgggaa gctgaatagg ttgatcgga aaaccaacga 2280  
 gaaattccat cagattgaaa aagagttctc agaagtcgaa gggagaatcc aggaccttga 2340  
 gaaatatggt gaggacacca aaatagatct ctggtcatatc aacgcggagc ttcttgttgc 2400  
 cctggagaac caacatacaa ttgatctaac tgactcagaa atgaacaaac tgtttgaaaa 2460  
 aacaaagaag caactgaggg aaaatgctga ggatattggc aatggttgtt tcaaatata 2520  
 ccacaaatgt gacaatgcct gcataggatc aatcagaaat ggaacttatg accacgatgt 2580  
 atacagagat gaagcattaa acaaccggtt ccagatcaag ggcgttgagc tgaagtcagg 2640  
 atacaagat tggatactat ggatttcctt tgccatatca tgttttttgc tttgtgttgc 2700  
 tttgttggg ttcatcatgt gggcctgccaa aaaaggcaac attaggtgca acatttgcac 2760  
 ttgagagctc taagttaaaa tgcttcttcg tctcctatct ataatatggt ttgttattgt 2820  
 taattttgtt cttgtagaag agcttaatta atcggtgttg ttatgaaata ctatttgcac 2880  
 gagatgaact ggtgtaattg aattcattta cataagtga gtcagaatca gaatgtttcc 2940  
 tccataacta actagacatg aagacctgcc gcgtacaatt gtcttatatt tgaacaacta 3000  
 aaattgaaca tcttttgcca caactttata agtgggtta atagctcaaa tatatggtca 3060  
 agttcaatag attaataatg gaaatatcag ttatcgaaat tcattaacaa tcaacttaac 3120  
 gttattaact actaatttta tatcatcccc ttgataaat gatagtacac caattaggaa 3180  
 ggagcatgct cgaggcctgg ctggccgaat tc 3212

<210> 91

<211> 50

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> HBF-SpPDI.r

<400> 91

gttattccag tgcagattcg atcagcgaag atctgagaag gaaccaacac 50

5 <210> 92

<211> 50

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> SpPDI-HBF.c

<400> 92

cagatcttcg ctgatcgaat ctgcactgga ataacatctt caaactcacc 50

<210> 93

<211> 28

15 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Plaster80r

<400> 93

20 caaatagtat ttcataacaa caacgatt 28

<210> 94

<211> 3269

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Construcción 798 desde HindIII hasta EcoRI

<400> 94

# ES 2 554 703 T3

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| aagcttgcta gcggcctcaa tggccctgca ggtcgactct agaggtaccc cgggctggta | 60  |
| tatttatatg ttgtcaaata actcaaaaac cataaaagt taagtttagca agtgtgtaca | 120 |
| tttttacttg aacaaaaata ttcacctact actgttataa atcattatta aacattagag | 180 |
| taaagaaata tggatgataa gaacaagagt agtgatattt tgacaacaat tttgttgcaa | 240 |
| catttgagaa aattttgttg ttctctcttt tcattggtca aaaacaatag agagagaaaa | 300 |
| aggaagaggg agaataaaaa cataatgtga gtatgagaga gaaagttgta caaaagttgt | 360 |
| acaaaaatag ttgtacaaat atcattgagg aatttgacaa aagctacaca aataagggtt | 420 |
| aattgctgta aataaataag gatgacgcat tagagagatg taccattaga gaatttttgg | 480 |
| caagtcatta aaaagaaaga ataaattatt tttaaaatta aaagttgagt catttgatta | 540 |
| aacatgtgat tatttaatga attgatgaaa gagttggatt aaagttgtat tagtaattag | 600 |

# ES 2 554 703 T3

|             |             |            |             |             |             |      |
|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|------|
| aatttgggtg  | caaatttaaat | ttgacatttg | atcttttcct  | atatattgcc  | ccatagagtc  | 660  |
| agttaactca  | tttttatatt  | tcatagatca | aataagagaa  | ataacggtat  | attaatccct  | 720  |
| ccaaaaaaaa  | aaaacggtat  | atttactaaa | aaatctaagc  | cacgtaggag  | gataacagga  | 780  |
| tcccgcgtagg | aggataacat  | ccaatccaac | caatcacaa   | aatcctgatg  | agataaccca  | 840  |
| ctttaagccc  | acgcattctgt | ggcacatcta | cattatctaa  | atcacacatt  | cttcacaca   | 900  |
| tctgagccac  | acaaaaacca  | atccacatct | ttatcaccca  | ttctataaaa  | aatcacactt  | 960  |
| tgtgagtcta  | cactttgatt  | cccttcaaac | acatacaaag  | agaagagact  | aattaattaa  | 1020 |
| ttaatcatct  | tgagagaaaa  | tggcgaaaaa | cggtgcgatt  | ttcggtctat  | tgttttctct  | 1080 |
| tcttgtgttg  | gttccttctc  | agatcttcgc | tgatcgaatc  | tgcaactggaa | taacatcttc  | 1140 |
| aaactcacct  | catgtggtca  | aaacagccac | tcaaggggag  | gtcaatgtga  | ctggtgtgat  | 1200 |
| accactaaca  | acaacaccaa  | caaatctta  | ttttgcaaat  | ctcaaaggaa  | caaggaccag  | 1260 |
| agggaaacta  | tgcccagact  | gtctcaactg | cacagatctg  | gatgtggctt  | tgggcagacc  | 1320 |
| aatgtgtgtg  | gggaccacac  | cttcggcgaa | ggcttcaata  | ctccacgaag  | tcaaacctgt  | 1380 |
| tacatccggg  | tgctttccta  | taatgcacga | cagaacaaaa  | atcaggcaac  | taccaatct   | 1440 |
| tctcagagga  | tatgaaaata  | tcaggctatc | aacccaaaa   | gtcatcgatg  | cggaaaaggc  | 1500 |
| accaggagga  | ccctacagac  | ttggaacctc | aggatcttgc  | cctaacgcta  | ccagtaagag  | 1560 |
| cggatttttc  | gcaacaatgg  | cttgggctgt | cccaaaggac  | aacaacaaaa  | atgcaacgaa  | 1620 |
| cccactaaca  | gtagaagtac  | catacatctg | tacagaaggg  | gaagaccaa   | tcactgtttg  | 1680 |
| ggggttccat  | tcagataaca  | aaacccaaat | gaagaacctc  | tatggagact  | caaatcctca  | 1740 |
| aaagttcacc  | tcattctgta  | atggagtaac | cacacactat  | gtttctcaga  | ttggcagctt  | 1800 |
| cccagatcaa  | acagaagacg  | gaggactacc | acaaagcggc  | aggattgttg  | ttgattacat  | 1860 |
| gatgcaaaaa  | cctgggaaaa  | caggaacaat | tgtctaccaa  | agaggtgttt  | tgttgccctca | 1920 |
| aaaggtgtgg  | tgcgcgagtg  | gcaggagcaa | agtaataaaa  | gggtccttgc  | ctttaattgg  | 1980 |
| tgaagcagat  | tgcttctatg  | aaaaatacgg | tggattaaac  | aaaagcaagc  | cttactacac  | 2040 |
| aggagaacat  | gcaaaagcca  | taggaaattg | cccaatatgg  | gtgaaaacac  | ctttgaagct  | 2100 |
| cgccaatgga  | accaaataata | gacctcctgc | aaaactatta  | aaggaaaggg  | gtttcttcgg  | 2160 |
| agctattgct  | ggtttcctag  | aaggaggatg | ggaaggaaatg | attgcaggct  | ggcacggata  | 2220 |
| cacatctcac  | ggagcacatg  | gagtggcagt | ggcggcggac  | cttaagagta  | cgcaagaagc  | 2280 |
| tataaacaag  | ataacaaaaa  | atctcaattc | tttgagttag  | ctagaagtaa  | agaatcttca  | 2340 |
| aagactaagt  | ggtgccatgg  | atgaactcca | caacgaaata  | ctcgagctgg  | atgagaaagt  | 2400 |
| ggatgatctc  | agagctgaca  | ctataagctc | gcaaatagaa  | cttgacgtct  | tgctttccaa  | 2460 |
| cgaaggaata  | ataaacagtg  | aagatgagca | tctattggca  | cttgagagaa  | aactaaagaa  | 2520 |
| aatgctgggt  | ccctctgctg  | tagagatagg | aatggatgc   | ttcgaaacca  | aacacaagtg  | 2580 |

caaccagacc tgettagaca ggatagctgc tggcaccttt aatgcaggag aattttctct 2640  
 ccccaactttt gattcactga acattactgc tgcactctta aatgatgatg gattggataa 2700  
 ccatactata ctgctctatt actcaactgc tgcttctagt ttggctgtaa cattgatgct 2760  
 agctatTTTT attgtttata tggctctccag agacaacggt tcatgctcca tctgtctata 2820  
 agagctctaa gttaaaatgc ttcttcgtct cctatttata atatggtttg ttattgttaa 2880  
 ttttgttctt gtagaagagc ttaattaatc gttgttggtt tgaaatacta tttgtatgag 2940  
 atgaactggt gtaatgtaat tcatttacat aagtggagtc agaatacagaa tgtttcctcc 3000  
 ataactaact agacatgaag acctgccgcg tacaattgtc ttatatattga acaactaaaa 3060  
 ttgaacatct tttgccacaa ctttataagt ggtaatatata gctcaaatat atggtcaagt 3120  
 tcaatagatt aataatggaa atatcagtta tcgaaattca ttaacaatca acttaacggt 3180  
 attaactact aattttatat catcccttt gataaatgat agtacaccaa ttaggaagga 3240  
 gcatgctcga ggcctggctg gccgaattc 3269

<210> 95

<211> 45

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Apal-SpPDI.c

<400> 95

ttgtcgggcc catggcgaaa aacgttgcca tttcggctt attgt 45

10 <210> 96

<211> 42

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Stul-H1(A-NC).r

<400> 96

aaaataggcc ttagatgca tattctacac tgcaaagacc ca 42

<210> 97

<211> 3079

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción 580 desde PacI hasta AscI

<400> 97

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| ttaattaaga attcgagctc caccgcggaa acctcctcgg attccattgc ccagctatct  | 60   |
| gtcactttat tgagaagata gtggaaaagg aaggtggctc ctacaaatgc catcattgcg  | 120  |
| ataaaggaaa ggccatcgtt gaagatgcct ctgccgacag tggteccaaa gatggacccc  | 180  |
| caccacagag gagcatcgtg gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca aagcaagtgg  | 240  |
| attgatgtga tatctccact gacgtaaggg atgacgcaca atcccactat ccttcgcaag  | 300  |
| acccttcctc tatataagga agttcatttc atttgagag gtattaaaat cttaataggt   | 360  |
| tttgataaaa gcgaacgtgg ggaaccgga accaaacctt cttctaact ctctctcatc    | 420  |
| tctcttaaag caaacttctc tcttgctttt ctgtcgtgag cgatcttcaa cgttgtcaga  | 480  |
| tcgtgcttcg gcaccagtac aacgttttct ttcactgaag cgaaatcaaa gatctctttg  | 540  |
| tggacacgta gtggggcgcc attaaataac gtgtacttgt cctattcttg tcggtgtggg  | 600  |
| cttgggaaaa gaaagcttgc tggaggtgc tgttcagccc catacattac ttgttacgat   | 660  |
| tctgctgact ttggcggtg gcaatatctc tacttctgct tgacgaggta ttgttgctg    | 720  |
| tacttcttct tcttcttctc tctgattgg ttctataaga aatctagtat tttctttgaa   | 780  |
| acagagtttt cccgtggttt tcgaacttgg agaaagattg ttaagcttct gtatattctg  | 840  |
| cccaaatttg tcgggcccat gcgcaaaaac gttgcgattt tcggcttatt gttttctctt  | 900  |
| cttgtgttgg ttccttctca gatcttcgct gacacaatat gtataggcta ccatgccaac  | 960  |
| aactcaaccg aactgttga cacagtactt gagaagaatg tgacagtgc acactctgtc    | 1020 |
| aacctacttg aggacagtca caatggaaaa ctatgtctac taaaaggaat agccccacta  | 1080 |
| caattgggta attgcagcgt tgccggatgg atcttaggaa acccagaatg cgaattactg  | 1140 |
| atttccaagg aatcatggtc ctacattgta gaaacaccaa atcctgagaa tggaacatgt  | 1200 |
| taccaggggt atttcgccga ctatgaggaa ctgagggagc aattgagttc agtatcttca  | 1260 |
| tttgagagat tcgaaatatt ccccaaagaa agctcatggc ccaaccacac cgtaaccgga  | 1320 |
| gtatcagcat catgctccca taatgggaaa agcagttttt acagaaattt gctatggctg  | 1380 |
| acggggaaga atggtttcta cccaaacctg agcaagtcct atgtaacaa caaagagaaa   | 1440 |
| gaagtccttg tactatgggg tgttcattcac ccgcctaaca tagggaacca aagggcactc | 1500 |
| tatcatacag aaaatgctta tgtctctgta gtgtcttcac attatagcag aagattcacc  | 1560 |
| ccgaaatag ccaaagacc caaagtaaga gatcaggaag gaagaatcaa ctactactgg    | 1620 |
| actctgctgg aacctgggga tacaataata tttgaggcaa atggaaatct aatagcgcca  | 1680 |
| tggtatgctt ttgcactgag tagaggcttt ggatcaggaa tcatcacctc aaatgcacca  | 1740 |
| atggatgaat gtgatgcgaa gtgtcaaaca cctcaggag ctataaacag cagtcttctc   | 1800 |
| ttccagaatg tacacccagt cacaatagga gagtgtccaa agtatgtcag gagtgcacaa  | 1860 |
| ttaaggatgg ttacaggact aaggaacatc ccatccattc aatccagagg tttgtttgga  | 1920 |
| gccattgccg gtttcattga aggggggtgg actggaatgg tagatgggtg gtatggttat  | 1980 |
| catcatcaga atgagcaagg atctggctat gctgcagatc aaaaaagtac acaaatgcc   | 2040 |
| attaacggga ttacaaacaa ggtcaattct gtaattgaga aaatgaacac tcaattcaca  | 2100 |
| gctgtgggca aagagttcaa caaattggaa agaaggatgg aaaacttaaa taaaaaagtt  | 2160 |
| gatgatgggt ttctagacat ttggacatat aatgcagaat tgttggttct actggaaaat  | 2220 |



gaaaggactt tggattttcca tgactccaat gtgaagaatc tgtatgagaa agtaaaaagc 2280  
 caattaaaga ataatgcca agaaatagga aacgggtgtt ttgagttcta tcacaagtgt 2340  
 aacaatgaat gcatggagag tgtgaaaaat ggtacctatg actatccaaa atattccgaa 2400  
 gaatcaaagt taaacaggga gaaaattgat ggagtgaat tggaatcaat gggagtatac 2460  
 cagattcttg cgatctactc aactgtcgcc agttccctgg ttcttttggg ctccctgggg 2520  
 gcaatcagct tctggatgtg ttccaatggg tctttgcagt gtagaatatg catctaaagg 2580  
 cctattttct ttagtttgaa ttactgtta ttcggtgtgc atttctatgt ttggtgagcg 2640  
 gttttctgtg ctgagagtgt gtttatttta tgtaatttaa tttctttgtg agctcctgtt 2700  
 tagcagggtcg tcccttcagc aaggacacaa aaagatttta attttattaa aaaaaaaaaa 2760  
 aaaaaagacc gggaattcga tatcaagctt atcgacctgc agatcgttca aacatttggc 2820  
 aataaagttt ctttaagattg aatcctgttg ccggtcttgc gatgattatc atataatttc 2880  
 tgttgaatta cgtaagcat gtaataatta acatgtaatg catgacgtta tttatgagat 2940  
 gggtttttat gattagagtc ccgcaattat acatttaata cgcgatagaa aacaaaatat 3000  
 agcgcgcaaa ctaggataaa ttatcgcgcg cgggtgtcatc tatgttacta gattctagag 3060  
 tctcaagctt cggcgcgcc 3079

<210> 98

<211> 39

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Apal-H5 (A-Indo).1c

<400> 98

tgtcggggcc atggagaaaa tagtgcttct tcttgaat 39

10 <210> 99

<211> 37

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> H5 (A-Indo)-Stul.1707r

<400> 99

aaataggcct ttaaatgcaa attctgcatt gtaacga 37

<210> 100

<211> 3067

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción 685 desde Pacl hasta Ascl

<400> 100

|   |                                                                    |     |
|---|--------------------------------------------------------------------|-----|
|   | tttaattaaga attcgagctc cacggggaa acctctcgg attccattgc ccagctatct   | 60  |
| 5 | gtcactttat tgagaagata gtggaaaagg aagggtggctc ctacaaatgc catcattgog | 120 |

|             |             |            |            |            |            |      |
|-------------|-------------|------------|------------|------------|------------|------|
| ataaaggaaa  | ggccatcggt  | gaagatgctt | ctgcogacag | tggtcccaaa | gatggacccc | 180  |
| caccacagag  | gagcatcggt  | gaaaaagaag | acgttccaac | cacgtcttca | aagcaagtgg | 240  |
| attgatgtga  | tatctccact  | gacgtaaggg | atgacgcaca | atcccactat | ccttcgcaag | 300  |
| acccttctct  | tatataagga  | agttcatttc | atttgagag  | gtattaaaat | cttaataggt | 360  |
| tttgataaaa  | gogaaogtgg  | ggaaaaccca | accaaaccct | cttctaaaat | ctctctcacc | 420  |
| tctcttaaag  | caaacttctc  | tcttgtcttt | cttgogtgag | cgatcttcaa | cgttgtcaga | 480  |
| togtgcttgg  | gcaccagtac  | aacgttttct | ttcactgaag | cgaatcaaaa | gatctcttgg | 540  |
| tggacacgta  | gtgcggcgcc  | attaaataac | gtgtacttgt | cctattcttg | toggtgtggt | 600  |
| cttgggaaaa  | gaaagcttgc  | tggaggtgc  | tggtcagccc | catacattac | ttgttaogat | 660  |
| tctgtcgact  | ttcggcggtg  | gcaatatctc | tacttctgct | tgacgaggtg | ttgttgcttg | 720  |
| tacttcttct  | ttcttcttct  | tgctgattgg | ttctataaga | aatctagtat | tttctttgaa | 780  |
| acagagtttt  | cccggtggtt  | togaacttgg | agaaagattg | ttaagcttct | gtatattctg | 840  |
| cccaaatgtg  | togggcccac  | ggagaaaata | gtgcttcttc | ttgcaatagt | cagtcttggt | 900  |
| aaaagtgatc  | agatttgcat  | tggttaccat | gcaacaatt  | caacagagca | ggttgacaca | 960  |
| atcatggaaa  | agaacgttac  | tggtacacat | gccaagaca  | tactggaaaa | gacacacaac | 1020 |
| gggaagctct  | gcgatctaga  | tggagtgaag | cctctaattt | taagagattg | tagtgtagct | 1080 |
| ggatggctcc  | togggaaccc  | aatgtgtgac | gaattcatca | atgtaccgga | atggtcttac | 1140 |
| atagtggaga  | aggccaatcc  | aaccaatgac | ctctgttacc | cagggagtgt | caacgactat | 1200 |
| gaagaactga  | aacacctatt  | gagcagaata | aaccattttg | agaaaattca | aatcatcccc | 1260 |
| aaaagtctct  | ggtccgatca  | tgaagctcca | tcaggagtta | gctcagcatg | tcataacctg | 1320 |
| ggaagtccct  | ccttttttag  | aatgtggta  | tggttatcca | aaaagaacag | tacataccca | 1380 |
| acaataaaga  | aaagctacaa  | taataccaac | caagaggatc | ttttggtact | gtggggaatt | 1440 |
| caccatccta  | atgatgoggc  | agagcagaca | aggctatatc | aaaacccaac | cacctatatt | 1500 |
| tcatttggga  | catcaacact  | aaaccagaga | ttggtaccaa | aaatagctac | tagatecaaa | 1560 |
| gtaaacgggc  | aaagtgggaag | gatggagtgc | ttctggacaa | ttttaaaacc | taatgatgca | 1620 |
| atcaacttcg  | agagtaatgg  | aatttcatt  | gctccagaat | atgcatacaa | aattgtcaag | 1680 |
| aaaggggact  | cagcaattat  | gaaaagtga  | ttggaatatg | gtaactgcaa | caccaagtgt | 1740 |
| caactccaa   | tgggggggat  | aaactctagt | atgccattcc | acaacataca | ccctctcacc | 1800 |
| atcgggggaat | gccccaaata  | tgtgaaatca | aacagattag | tccttgcaac | agggctcaga | 1860 |
| aatagccctc  | aaagagagag  | cagaagaaaa | aagagaggac | tatttgagag | tatagcaggt | 1920 |
| tttatagagg  | gaggatggca  | gggaatggta | gatggttggt | atgggtacca | ccatagcaat | 1980 |
| gagcagggga  | gtgggtacgc  | tgacagacaa | gaatccactc | aaaaggcaat | agatggagtc | 2040 |
| accaataaag  | tcaactcaat  | cattgacaaa | atgaacactc | agtttgaggc | cgttggaagg | 2100 |

```

gaatttaata acttagaaag gagaatagag aatttaaaca agaagatgga agacgggttt 2160
ctagatgtct ggacttataa tgccgaactt ctggttctca tggaaatga gagaactcta 2220
gactttcatg actcaaatgt taagaacctc tacgacaagg tccgactaca gcttagggat 2280
aatgcaaagg agctgggtaa cggttgttct gagttctatc acaaatgtga taatgaatgt 2340
atggaaagta taagaaacgg aacgtacaac tatccgcagt attcagaaga agcaagatta 2400
aaaagagagg aaataagtgg ggtaaaattg gaatcaatag gaacttacca aatactgtca 2460
atttattcaa cagtggcgag ttccctagca ctggcaatca tgatggctgg tctatcttta 2520
tggtgtgtct ccaatggatc gttacaatgc agaatttgca tttaaaggcc tattttcttt 2580
agtttgaatt tactgttatt cgggtgtgat ttctatgttt ggtgagcggg tttctgtgtc 2640
cagagtgtgt ttattttatg taatttaatt tctttgtgag ctctgttta gcaggctgtc 2700
ccttcagcaa ggacacaaaa agattttaat ttatttaaaa aaaaaaaaaa aaaagaccgg 2760
gaattcgata tcaagcttat cgacctgcag atcgttcaaa catttggcaa taaagtttct 2820
taagattgaa tctgtttgcc ggtcttgcca tgattatcat ataatttctg ttgaattacg 2880
ttaagcatgt aataattaac atgtaatgca tgacgttatt tatgagatgg gtttttatga 2940
ttagagtccc gcaattatac atttaatacg cgatagaaaa caaatatag cgcgcaact 3000
aggataaatt atcgcgcgcg gtgtcatcta tgttactaga ttctagagtc tcaagcttcg 3060
gcgcgcc 3067

```

<210> 101

<211> 3091

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción 686 desde PacI hasta AscI

<400> 101

```

ttaattaaga attcgagctc caccgcggaa acctcctcgg attccattgc ccagctatct 60
gtcactttat tgagaagata gtggaaaagg aagggtggctc ctacaaatgc catcattgcg 120
ataaaggaaa ggccatcgtt gaagatgcct ctgccgacag tggtcctcaa gatggacccc 180
caccacgag gagcatcgtg gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca aagcaagtgg 240
attgatgtga tatctccact gacgtaaggg atgacgcaca atcccactat ccttcgcaag 300
acccttcctc tatataagga agttcatttc atttgagagag gtattaaaat cttaataggt 360
tttgataaaa gcgaacgtgg ggaacccga accaaacctt cttctaaaact ctctctcatc 420
tctcttaaag caaacttctc tcttgtcttt cttgcgtgag cgatcttcaa cgttgtcaga 480
tcgtgcttcg gcaccagtac aacgttttct ttactgaag cgaaatcaaa gatctctttg 540
tggacacgta gtgcggcgcc attaaataac gtgtacttgt cctattcttg tcggtgtggg 600
cttgggaaaa gaaagcttgc tggaggctgc tgttcagccc catacattac ttgttacgat 660

```

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| tctgctgact ttcggcgggt gcaatatctc tacttctgct tgacgaggta ttgttgcttg  | 720  |
| tacttctttc ttcttcttct tgctgatttg ttctataaga aatctagtat tttctttgaa  | 780  |
| acagagtttt cccgtgggtt tcgaacttgg agaaagattg ttaagcttct gtatattctg  | 840  |
| cccaaatttg tcgggcccat ggcgaaaaac gttgcgattt tcggcttatt gttttctctt  | 900  |
| cttgtgttg ttcttctca gatcttcgct gatcagattt gcattgggta ccatgcaaac    | 960  |
| aattcaacag agcaggttga cacaatcatg gaaaagaacg ttactgttac acatgcccaa  | 1020 |
| gacatactgg aaaagacaca caacgggaag ctctgcgac tagatggagt gaagcctcta   | 1080 |
| attttaagag attgtagtgt agctggatgg ctctcggga acccaatgtg tgacgaattc   | 1140 |
| atcaatgtac cggaatggtc ttacatagtg gagaaggcca atccaacca tgacctctgt   | 1200 |
| taccagggga gtttcaacga ctatgaagaa ctgaaacacc tattgagcag aataaaccat  | 1260 |
| tttgagaaaa ttcaaatcat ccccaaaagt tcttggtccg atcatgaagc ctcatcagga  | 1320 |
| gtagctcag catgtccata cctgggaagt ccctcctttt ttagaaatgt ggtatggctt   | 1380 |
| atcaaaaaga acagtacata cccaacaata aagaaaagct acaataatac caaccaagag  | 1440 |
| gatcttttgg tactgtgggg aattcacctat cctaagatg cggcagagca gacaaggcta  | 1500 |
| tatcaaaacc caaccaccta tatttccatt gggacatcaa cactaaacca gagattggta  | 1560 |
| ccaaaatag ctactagatc caaagtaaac gggcaaagtg gaaggatgga gttcttcttg   | 1620 |
| acaattttaa aacctaata tgcaatcaac ttcgagagta atggaaattt cattgctcca   | 1680 |
| gaatatgcat acaaaattgt caagaaagg gactcagcaa ttatgaaaag tgaattggaa   | 1740 |
| tatggtaact gcaacaccaa gtgtcaaact ccaatggggg cgataaactc tagtatgcca  | 1800 |
| ttccacaaca tacaccctct caccatcggg gaatgcccc aatatgtgaa atcaaacaga   | 1860 |
| ttagtccttg caacagggtc cagaaatagc cctcaaagag agagcagaag aaaaaagaga  | 1920 |
| ggactatttg gagctatagc aggttttata gagggaggat ggcagggaat ggtagatgg   | 1980 |
| tggtatgggt accaccatag caatgagcag gggagtgggt acgctgcaga caaagaatcc  | 2040 |
| actcaaaagg caatagatgg agtcaccaat aaggccaact caatcattga caaatgaac   | 2100 |
| actcagtttg aggccgttg aagggaattt aataacttag aaaggagaat agagaattta   | 2160 |
| aacaagaaga tggaagacgg gtttctagat gtctggactt ataatgccga acttctggtt  | 2220 |
| ctcatggaaa atgagagAAC tctagacttt catgactcaa atggttaagaa cctctacgac | 2280 |
| aaggccgac tacagcttag ggataatgca aaggagctgg gtaacggttg tttcgagtgc   | 2340 |
| tatcacaat gtgataatga atgtatggaa agtataagaa acggaacgta caactatccg   | 2400 |
| cagtattcag aagaagcaag attaaaaaga gaggaataa gtggggtaaa attggaatca   | 2460 |
| ataggaactt accaaatact gtcaatttat tcaacagtgg cgagttccct agcactggca  | 2520 |
| atcatgatgg ctggtctatc tttatggatg tgctccaatg gatcggtaca atgcagaatt  | 2580 |

tgcattttaa ggcctatatt ctttagtttg aatttactgt tattcggtgt gcatttctat 2640  
 gtttggtgag cggttttctg tgctcagagt gtgtttattt tatgtáattt aatttctttg 2700  
 tgagctcctg tttagcaggt cgtcccttca gcaaggacac aaaaagattt taattttatt 2760  
 aaaaaaaaaa aaaaaaaga ccgggaattc gatatcaagc ttatcgacct gcagatcgtt 2820  
 caaacatttg gcaataaagt ttcttaagat tgaatcctgt tgccggtctt gcgatgatta 2880  
 tcatataatt tctgttgaat tacgttaagc atgtaataat taacatgtaa tgcattgacgt 2940  
 tatttatgag atgggttttt atgattagag tcccgcaatt atacatttaa tacgcgatag 3000  
 aaaacaaaat atagcgcgca aactaggata aattatcgcg cgcggtgtca tctatgttac 3060  
 tagattctag agtctcaagc ttcggcgcgc c 3091

<210> 102

<211> 45

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Apal-H1B.c

<400> 102

tgtcgggccc atgaaagtaa aactactggt cctgttatgc acatt 45

10 <210> 103

<211> 46

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Stul-H2B.r

<400> 103

aaataggcct ttgatgcat attctacact gtaaagaccc attgga 46

<210> 104

<211> 3058

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción 732 desde Pacl hasta Ascl

<400> 104

# ES 2 554 703 T3

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| ttaattaaga attcgagctc caccgcggaa acctcctcgg attccattgc ccagctatct | 60  |
| gtcactttat tgagaagata gtggaaaagg aaggaggctc ctacaaatgc catcattgcg | 120 |
| ataaaggaaa ggccatcgtt gaagatgcct ctgccgacag tggccccaaa gatggacccc | 180 |
| caccacgag gagcatcgtg gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca aagcaagtgg  | 240 |
| attgatgtga tatctccact gacgtaaggg atgacgcaca atcccactat ccttcgcaag | 300 |
| acccttcctc tatataagga agttcatttc atttggagag gtattaaaat cttaataggt | 360 |
| tttgataaaa gcgaacgtgg ggaaaccgga accaaacctt cttctaaact ctctctcatc | 420 |
| tctcttaaag caaacttctc tcttgtcttt cttgcgtgag cgatcttcaa cgttgtcaga | 480 |

# ES 2 554 703 T3

|                                                                     |      |
|---------------------------------------------------------------------|------|
| tctgtgcttcg gcaccagtac aacgttttct ttcactgaag cgaaatcaaa gatctctttg  | 540  |
| tggacacgta gtgcggcgcc attaaataac gtgtacttgt cctattcttg tcggtgtggt   | 600  |
| cttgggaaaa gaaagcttgc tggaggctgc tgttcagccc catacattac ttgttacgat   | 660  |
| tctgctgact ttcggggggt gcaatatctc tacttctgct tgacgaggta ttgttgctg    | 720  |
| tacttctttc ttcttcttct tgcgtattgg ttctataaga aatctagtat tttctttgaa   | 780  |
| acagagtttt cccgtgggtt tcgaacttgg agaagattg ttaagcttct gtatattctg    | 840  |
| cccaaatttg tcgggcccat gaaagtaaaa ctactgggtcc tgttatgcac atttacagct  | 900  |
| acatatgcag acacaatatg tataggctac catgctaaca actcgaccga cactgttgac   | 960  |
| acagtacttg aaaagaatgt gacagtgaca cactctgtca acctgcttga gaacagtcac   | 1020 |
| aatggaaaac tatgtctatt aaaaggaata gcccactac aattgggtaa ttgcagcgtt    | 1080 |
| gccgggtgga tcttaggaaa ccagaaatgc gaattactga tttccaagga gtcattgggtcc | 1140 |
| tacattgtag aaaaaccaa tcttgagaat ggaacatgtt acccagggca tttcgtgac     | 1200 |
| tatgaggaac tgaggagca attgagttca gtatcttcat ttgagaggtt cgaaatattc    | 1260 |
| cccaaagaaa gtcattggcc caaccacacc gtaaccggag tgcagcatc atgctcccat    | 1320 |
| aatggggaaa gcagttttta cagaaatttg ctatggctga cggggaagaa tggtttgtac   | 1380 |
| ccaaacctga gcaagtctta tgcaaacac aaagaaaaag aagtccttgt actatggggt    | 1440 |
| gttcacaccc cgccaaacat aggtgaccaa aaggccctct atcatacaga aaatgcttat   | 1500 |
| gtctctgtag tgccttcaca ttatagcaga aaattcacc cagaaatagc caaaagacc     | 1560 |
| aaagtaagag atcaagaag aagaatcaat tactactgga ctctgcttga acccggggat    | 1620 |
| acaataatat ttgaggcaaa tggaaatcta atagcgcaa gatatgcttt cgcactgagt    | 1680 |
| agaggctttg gatcaggaat catcaactca aatgcaccaa tggataaatg tgatgcgaag   | 1740 |
| tgccaaacac ctcagggagc tataaacagc agtcttcctt tccagaacgt acaccagtc    | 1800 |
| acaataggag agtgtccaaa gtatgtcagg agtgcaaat taaggatggt tacaggacta    | 1860 |
| aggaacatcc catccattca atccagaggt ttgtttggag ccattgccgg tttcattgaa   | 1920 |
| gggggggtgga ctggaatggt agatgggttg tatggttatc atcatcagaa tgagcaagga  | 1980 |
| tctggctatg ctgcagatca aaaaagcaca caaatgcc aataatggat tacaacaag      | 2040 |
| gtcaattctg taattgagaa aatgaacact caattcacag cagtgggcaa agagttcaac   | 2100 |
| aaattggaaa gaaggatgga aaacttgaat aaaaaagttg atgatgggtt tatagacatt   | 2160 |
| tggacatata atgcagaact gttggttcta ctggaaaatg aaaggacttt ggatttccat   | 2220 |
| gactccaatg tgaagaatct gtatgagaaa gtaaaaagcc agttaagaa taatgctaaa    | 2280 |
| gaaataggaa atgggtgttt tgagttctat cacaagtga acgatgaatg catggagagt    | 2340 |
| gtaagaatg gaacttatga ctatccaaa tattccgaag aatcaaagt aaacaggag       | 2400 |
| aaaattgatg gagtgaatt ggaatcaatg ggagtctatc agattctggc gatctactca    | 2460 |



acagtgcgcca gttctctggt tcttttggtc tccctggggg caatcagctt ctggatgtgt 2520  
 tccaatgggt ctttacagtg tagaatatgc atctaaaggc ctattttctt tagtttgaat 2580  
 ttactgttat tcggtgtgca tttctatggt tgggtgagcg ttttctgtgc tcagagtgtg 2640  
 tttattttat gtaatttaaat ttctttgtga gctcctgttt agcaggtcgt cccttcagca 2700  
 aggacacaaa aagattttta ttttattaaa aaaaaaaaaa aaaaagaccg ggaattcgat 2760  
 atcaagctta tcgacctgca gatcgttcaa acatttggca ataaagtttc ttaagattga 2820  
 atcctgttgc cggctctgcg atgattatca tataatttct gttgaattac gttaagcatg 2880  
 taataattaa catgtaatgc atgacgttat ttatgagatg ggtttttatg attagagtcc 2940  
 cgcaattata catttaatac gcgatatgaa acaaaatata gcgcgcaaac taggataaat 3000  
 tatcgcgcgc ggtgtcatct atgttactag attctagagt ctcaagcttc ggcgcgcc 3058

<210> 105

<211> 3079

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción 733 desde Pacl hasta Ascl

<400> 105

ttaattaaga attcgagctc caccgcggaa acctcctcgg attccattgc ccagctatct 60  
 gtcactttat tgagaagata gtggaaaagg aagggtggctc ctacaaatgc catcattgcg 120  
 ataaaggaaa ggccatcgtt gaagatgcct ctgccgacag tgggtccaaa gatggacccc 180  
 caccacagag gagcatcgtg gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca aagcaagtgg 240  
 attgatgtga tatctccact gacgtaaggg atgacgcaca atcccactat ccttcgcaag 300  
 acccttcctc tatataagga agttcatttc atttgagagag gtattaaaat cttaataggt 360  
 tttgataaaa gcgaacgtgg ggaaacccga accaaacctt cttctaaact ctctctcatc 420  
 tctcttaaag caaacttctc tcttgtcttt cttgcgtgag cgatcttcaa cgttgtcaga 480  
 tcgtgcttcg gcaccagtac aacgttttct ttcactgaag cgaaatcaa gatctctttg 540  
 tggacacgta gtgcggcgcc attaaataac gtgtacttgt cctattcttg tcggtgtggt 600  
 cttgggaaaa gaaagcttgc tggaggctgc tgttcagccc catacattac ttgttacgat 660  
 tctgctgact ttcggcggtt gcaatatctc tacttctgct tgacgaggta ttgttgctg 720  
 tacttcttct tcttcttctc tgctgattgg ttctataaga aatctagtat tttctttgaa 780  
 acagagtttt cccgtgggtt tcgaacttgg agaaagattg ttaagcttct gtatattctg 840  
 cccaaatttg tcgggcccat ggcgaaaaac gttgcgattt tcggcttatt gttttctctt 900  
 cttgtgttgg ttccttctca gatcttcgct gacacaatat gtataggcta ccatgctaac 960  
 aactcgaccg acactgttga cacagtactt gaaaagaatg tgacagtgc acactctgtc 1020  
 aacctgcttg agaacagtca caatggaaaa ctatgtctat taaaaggaa agccccacta 1080

caattgggta attgcagcgt tgccgggtgg atcttaggaa acccagaatg cgaattactg 1140  
 atttccaagg agtcatggtc ctacattgta gaaaaaccaa atcctgagaa tggaacatgt 1200  
 taccagggc atttcgctga ctatgaggaa ctgagggagc aattgagttc agtatcttca 1260  
 tttgagaggt tcgaaatatt ccccaaagaa agctcatggc ccaaccacac cgtaaccgga 1320  
 gtgtcagcat catgctcca taatggggaa agcagttttt acagaaattt gctatggctg 1380  
 acggggaaga atggtttgta cccaaacctg agcaagtcct atgcaaacia caaagaaaaa 1440  
 gaagtccttg tactatgggg tgttcacac ccgcaaaaca taggtgacca aaaggccctc 1500  
 tatcatagag aaaaatgctta tgtctctgta gtgtcttcac attatagcag aaaattcacc 1560  
 ccagaaatag ccaaagacc caaagtaaga gatcaagaag gaagaatcaa ttactactgg 1620  
 actctgcttg aaccggggga tacaataata tttgaggcaa atggaaatct aatagcgcca 1680  
 agatatgctt tcgcactgag tagaggcttt ggatcaggaa tcatcaactc aatgcacca 1740  
 atggataaat gtgatgcgaa gtgccaaa cctcaggagg ctataaacag cagtcttctc 1800  
 ttccagaacg tacaccagc cacaatagga gagtgtcaa agtatgtcag gagtgcacaa 1860  
 ttaaggatgg ttacaggact aaggaacatc ccatccattc aatccagagg tttgtttgga 1920  
 gccattgccg gtttcattga aggggggtgg actggaatgg tagatgggtg gtatggttat 1980  
 catcatcaga atgagcaagg atctggctat gctgcagatc aaaaagcac acaaatgcc 2040  
 attaatggga ttacaaacia ggtcaattct gtaattgaga aatgaacac tcaattcaca 2100  
 gcagtgaggc aagagttcaa caaattggaa agaaggatgg aaaacttgaa taaaaagtt 2160  
 gatgatgggt ttatagacat ttggacatat atgcagaaac tgttggttct actggaaaat 2220  
 gaaaggactt tggatttcca tgactccaat gtgaagaatc tgtatgagaa agtaaaaagc 2280  
 cagttaaaga ataattgctaa agaaatagga aatgggtgtt ttgagttcta tcacaagtgt 2340  
 aacgatgaat gcatggagag tgtaagaat ggaacttatg actatccaaa atattccgaa 2400  
 gaatcaaagt taaacaggga gaaaattgat ggagtgaat tggaatcaat gggagtctat 2460  
 cagattcttg cgatctactc aacagtcgcc agttctctgg ttcttttgggt ctccctgggg 2520  
 gcaatcagct tctggatgtg ttccaatggg tctttacagt gtagaatatg catctaaagg 2580  
 cctattttct ttagtttgaa tttactgtta ttcggtgtgc atttctatgt ttggtgagcg 2640  
 gttttctgtg ctacagagtgt gtttatttta tgtaatttaa tttctttgtg agctcctgtt 2700  
 tagcaggtcg tcccttcagc aaggacacaa aaagatttta atttatttaa aaaaaaaaaa 2760  
 aaaaaagacc gggaattcga tatcaagctt atcgacctgc agatcggtca aacatttggc 2820  
 aataaagttt cttaagattg aatcctgttg ccggtcttgc gatgattatc atataatttc 2880  
 tgttgaatta cgtaagcat gtaataatta acatgtaatg catgacgtta tttatgagat 2940  
 gggtttttat gattagagtc ccgcaattat acatttaata cgcgatagaa aacaaaatat 3000  
 agcgcgcaaa ctaggataaa ttatcgcgcg cgggtgtcatc tatgttacta gattctagag 3060  
 tctcaagctt cggcgcgcc 3079

<210> 106

<211> 48

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Apal-H3B.c

<400> 106

ttgtcgggcc catgaagact atcattgctt tgagctacat tctatgtc 48

5 <210> 107

<211> 44

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Stul-H3B.r

<400> 107

aaaataggcc ttcaaatgca aatgttgac ctaatgtgc cttt 44

<210> 108

<211> 3061

15 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción 735 desde Pacl hasta Ascl

<400> 108

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| ttaattaaga attcgagctc caccgcggaa acctcctcgg attccattgc ccagctatct | 60  |
| gtcactttat tgagaagata gtggaaaagg aaggtggctc ctacaaatgc catcattgcg | 120 |
| ataaaggaaa ggccatcgtt gaagatgcct ctgccgacag tgggtcccaa gatggacccc | 180 |
| caccacagag gagcatcgtg gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca aagcaagtgg | 240 |
| attgatgtga tatctccact gacgtaaggg atgacgcaca atccactat ccttcgcaag  | 300 |
| acccttcctc tatataagga agttcatttc atttgagag gtattaaaat cttaataggt  | 360 |
| tttgataaaa gcgaacgtgg ggaacccga accaaacctt cttctaaact ctctctcatc  | 420 |
| tctcttaaag caaacttctc tcttgtcttt cttgcgtgag cgatcttcaa cgttgtcaga | 480 |
| tcgtgcttcg gcaccagtac aacgttttct ttactgaag cgaatcaaa gatctctttg   | 540 |
| tggacacgta gtgcggcgcc attaaataac gtgtacttgt cctattcttg tcggtgtggt | 600 |
| cttgggaaaa gaaagcttgc tggaggtgc tgttcagccc catacattac ttgttacgat  | 660 |
| tctgctgact ttcggcggtt gcaatatctc tacttctgct tgacgaggtt ttgttgctg  | 720 |
| tacttcttct ttcttcttct tgctgattgg ttctataaga aatctagtat tttctttgaa | 780 |
| acagagtttt cccgtggttt tcgaacttgg agaaagattg ttaagcttct gtatattctg | 840 |
| cccaaatttg tcgggcccac gaagactatc attgctttga gctacattct atgtctggtt | 900 |

20

# ES 2 554 703 T3

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| ttcactcaaa aacttcccgg aaatgacaac agcacggcaa cgctgtgcct tgggcacccat | 960  |
| gcagtaccaa acggaacgat agtgaaaaca atcacgaatg accaaattga agttactaat  | 1020 |
| gctactgagc tggttcagag ttcctcaaca ggtgaaatat gcgacagtcc tcatcagatc  | 1080 |
| cttgatggag aaaactgcac actaatagat gctctattgg gagaccctca gtgtgatggc  | 1140 |
| ttccaaaata agaatggga cttttttgtt gaacgcagca aagcctacag caactgttac   | 1200 |
| ccttatgatg tgccggatta tgccctccctt aggtcactag ttgcctcatc cggcacactg | 1260 |
| gagtttaaca atgaaagttt caattggact ggagtcactc aaaacggaac aagctctgct  | 1320 |
| tgcataagga gatctaataa cagtttcttt agtagattga attgggtgac ccacttaaaa  | 1380 |
| ttcaaatacc cagcattgaa cgtgactatg ccaaacaatg aaaaatttga caaattgtac  | 1440 |
| atttgggggg ttcaccaccg ggttacggac aatgaccaa tcttcctgta tgctcaagca   | 1500 |
| tcaggaagaa tcacagtctc taccaaaaaga agccaacaaa ctgtaatccc gaatatcgga | 1560 |
| tctagaccca gagtaaggaa tatccccagc agaataagca tctattggac aatagtaaaa  | 1620 |
| cggggagaca tacttttgat taacagcaca gggaatctaa ttgctcctag gggttacttc  | 1680 |
| aaaatacgaa gtgggaaaaag ctcaataatg agatcagatg caccatttgg caaatgcaat | 1740 |
| tctgaatgca tcactccaaa cggaagcatt cccaatgaca aaccattcca aaatgtaaac  | 1800 |
| aggatcacat acggggcctg tcccagatat gttaagcaaa acactctgaa attggcaaca  | 1860 |
| gggatgcgaa atgtaccaga gaaacaaact agaggcatat ttggcgcaat cgcgggtttc  | 1920 |
| atagaaaatg gttgggaggg aatggtggat ggttggtatg gtttcaggca tcaaaattct  | 1980 |
| gagggaatag gacaagcagc agatctcaaa agcactcaag cagcaatcga tcaaatcaat  | 2040 |
| gggaagctga ataggttgat cgggaaaacc aacgagaaat tccatcagat tgaaaaagag  | 2100 |
| ttctcagaag tcgaaggag aatccaggac cttgagaaat atgttgagga caccaaaata   | 2160 |
| gatctctggt catacaacgc ggagcttctt gttgccctgg agaaccaaca tacaattgat  | 2220 |
| ctaactgact cagaaatgaa caaactgttt gaaaaaaca agaagcaact gagggaaaat   | 2280 |
| gctgaggata tgggcaatgg ttgtttcaaa atataccaca aatgtgacaa tgccctgcata | 2340 |
| ggatcaatca gaaatggaac ttatgaccac gatgtataca gagatgaagc attaaacaac  | 2400 |
| cgggtccaga tcaagggcgt tgagctgaag tcaggataca aagattggat actatggatt  | 2460 |
| tccttttgcca tatcatgttt tttgctttgt gttgctttgt tggggttcat catgtgggcc | 2520 |
| tgccaaaaag gcaacattag gtgcaacatt tgcatttgaa ggccattttt ctttagtttg  | 2580 |
| aatttactgt tattcgggtg gcatttctat gtttggtgag cggttttctg tgctcagagt  | 2640 |
| gtgtttattt tatgtaattt aatttctttg tgagctcctg tttagcaggt cgtcccttca  | 2700 |
| gcaaggacac aaaaagattt taattttatt aaaaaaaaa aaaaaaaga ccgggaattc    | 2760 |
| gatatcaagc ttatcgacct gcagatcggt caaacatttg gcaataaagt ttcttaagat  | 2820 |
| tgaatcctgt tgccggtctt gcgatgatta tcatataatt tctgttgaat tacgttaagc  | 2880 |
| atgtaataat taacatgtaa tgcattgacgt tatttatgag atgggttttt atgattagag | 2940 |
| tcccgcaatt atacatttaa tacgcgatag aaaacaaaat atagcgcgca aactaggata  | 3000 |
| aattatcgcg cgcggtgtca tctatgttac tagattctag agtctcaagc ttcggcgcgc  | 3060 |
| c                                                                  | 3061 |

<210> 109

<211> 3085

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción 736, desde PacI hasta AscI

5 <400> 109

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| ttaattaaga attcgagctc caccgcgga acctcctcgg attccattgc ccagctatct   | 60   |
| gtcactttat tgagaagata gtggaaaagg aaggaggctc ctacaaatgc catcattgcg  | 120  |
| ataaaggaaa ggccatcgtt gaagatgcct ctgcccagag tggccccaaa gatggacccc  | 180  |
| caccacagag gagcatcgtg gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca aagcaagtgg  | 240  |
| attgatgtga tatctccact gacgtaaggg atgacgcaca atcccactat ccttcgcaag  | 300  |
| acccttcctc tatataagga agttcatttc atttgagagag gtattaaaat cttaataggt | 360  |
| tttgataaaa gcgaacgtgg ggaaccgga accaaacctt cttctaaact ctctctcatc   | 420  |
| tctcttaaag caaacttctc tcttgtcttt cttgcgtgag cgatcttcaa cgttgtcaga  | 480  |
| tcgtgcttcg gcaccagtac aacgttttct ttcactgaag cgaaatcaa gatctctttg   | 540  |
| tggacacgta gtgcggcgcc attaaataac gtgtacttgt cctattcttg tcggtgtggt  | 600  |
| cttgggaaaa gaaagcttgc tggaggctgc tgttcagccc catacattac ttgttacgat  | 660  |
| tctgctgact ttcggggggt gcaatatctc tacttctgct tgacgaggta ttgttgctg   | 720  |
| tacttcttct tcttcttctc tgctgattgg ttctataaga aatctagtat tttctttgaa  | 780  |
| acagagtttt cccgtgggtt tcgaacttgg agaaagattg ttaagcttct gtatattctg  | 840  |
| cccaaatttg tcgggcccat ggcgaaaaac gttgcgattt tcggcttatt gttttctctt  | 900  |
| cttgtgttgg ttccttctca gatcttcgct caaaaacttc ccggaaatga caacagcacg  | 960  |
| gcaacgctgt gccttgggca ccatgcagta ccaaaccgga cgatagtga aacaatcacg   | 1020 |
| aatgacaaaa ttgaagttac taatgctact gagctgggtc agagttcctc aacaggtgaa  | 1080 |
| atatgcgaca gtcctcatca gatccttgat ggagaaaact gcacactaat agatgctcta  | 1140 |
| ttgggagacc ctcaagtgtg tggcttccaa aataagaaat gggacctttt tgttgaacgc  | 1200 |
| agcaaagcct acagcaactg ttacccttat gatgtgccgg attatgcctc ccttaggtca  | 1260 |
| ctagttgcct catccggcac actggagttt aacaatgaaa gtttcaattg gactggagtc  | 1320 |
| actcaaaacg gaacaagctc tgcttgcata aggagatcta ataacagttt ctttagtaga  | 1380 |
| ttgaattggt tgaccactt aaaattcaaa taccagcat tgaacgtgac tatgccaaac    | 1440 |

aatgaaaaat ttgacaaatt gtacatttgg ggggttcacc acccgggtac ggacaatgac 1500  
 caaatcttcc tgtatgctca agcatcagga agaatacacag tctctaccaa aagaagccaa 1560  
 caaactgtaa tcccgaatat cggatctaga ccagagtaa ggaatatccc cagcagaata 1620  
 agcatctatt ggacaatagt aaaaccggga gacatacttt tgattaacag cacagggaat 1680  
 ctaattgctc ctagggttga cttcaaaata cgaagtggga aaagctcaat aatgagatca 1740  
 gatgcacca ttggcaaatg caattctgaa tgcactc caaacggaag cattcccaat 1800  
 gacaaacat tccaaatgt aaacaggatc acatacgggg cctgtccag atatgttaag 1860  
 caaaacactc tgaaattggc aacagggtg cgaatgtac cagagaaaca aactagaggc 1920  
 atatttggcg caatcgccggg tttcatagaa aatgggtggg agggaatggt ggatgggtgg 1980  
 tatggtttca ggcataaaaa ttctgaggga ataggacaag cagcagatct caaaagcact 2040  
 caagcagcaa tcgatcaa caatgggaag ctgaataggt tgatcgggaa aaccaacgag 2100  
 aaattccatc agattgaaaa agagtctca gaagtcgaag ggagaatcca ggaccttgag 2160  
 aaatatgttg aggacaccaa aatagatctc tggcataca acgcggagct tcttgttgcc 2220  
 ctggagaacc aacatacaat tgatctaact gactcagaaa tgaacaaact gtttgaaaaa 2280  
 acaaagaagc aactgaggga aaatgctgag gatatgggca atgggtgttt caaaatatac 2340  
 cacaatgtg acaatgcctg cataggatca atcagaaatg gaacttatga ccacgatgta 2400  
 tacagagatg aagcattaaa caaccggttc cagatcaagg gcgttgagct gaagtcagga 2460  
 tacaagatt ggatactatg gatttccttt gccatatcat gttttttgct ttgtgttgct 2520  
 ttgttgggtg tcatcatgtg ggcctgcaa aaaggcaaca ttaggtgcaa catttgcatt 2580  
 tgaaggccta ttttctttag ttgaattta ctgttattcg gtgtgcattt ctatgtttgg 2640  
 tgagcgggtt tctgtgctca gagtgtgttt attttatgta atttaatttc tttgtgagct 2700  
 cctgtttagc aggtcgctcc ttcagcaagg acacaaaaag attttaattt tattaaaaaa 2760  
 aaaaaaaaaa aagaccggga attcgatctc aagcttatcg acctgcagat cgttcaaaca 2820  
 tttggcaata aagtttctta agattgaatc ctgttgccgg tcttgcgatg attatcatat 2880  
 aatttctgtt gaattacgtt aagcatgtaa taattaacat gtaatgcatg acgttattta 2940  
 tgagatgggt ttttatgatt agagtcgccg aattatacat ttaatacgcg atagaaaaca 3000  
 aaatatagcg cgcaaacatg gataaattat cgcgcgcggt gtcactctatg ttactagatt 3060  
 ctagagtctc aagcttcggc gcgcc 3085

<210> 110

<211> 46

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Apl-HBF.c

<400> 110

ttgtcgggcc catgaaggca ataattgtac tactcatggt agtaac 46

10 <210> 111

<211> 46

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Stul-HBF.r

<400> 111

aaaataggcc ttatagaca gatggagcat gaaacgttgt ctctgg 46

<210> 112

<211> 3115

10 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción 738 desde PacI hasta AscI

<400> 112

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| ttaattaaga attcgagctc caccgaggaa acctcctcgg attccattgc ccagctatct  | 60   |
| gtcactttat tgagaagata gtggaaaagg aaggtggctc ctacaaatgc catcattgcg  | 120  |
| ataaaggaaa ggccatcgtt gaagatgcct ctgccgacag tggccccaaa gatggacccc  | 180  |
| caccacagag gagcatcgtg gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca aagcaagtgg  | 240  |
| attgatgtga tatctccact gacgtaaggg atgacgcaca atcccactat ccttcgcaag  | 300  |
| acccttcctc tatataagga agttcatttc atttggagag gtattaaaat cttaataggt  | 360  |
| tttgataaaa gcgaacgttg ggaacccga accaaacctt cttctaaact ctctctcatc   | 420  |
| tctcttaaag caaacttctc tcttgtcttt cttgcgtgag cgatcttcaa cgttgtcaga  | 480  |
| tcgtgcttcg gcaccagtac aacgttttct ttactgaag cgaaatcaaa gatctctttg   | 540  |
| tggacacgta gtgcggcgcc attaaataac gtgtacttgt cctattcttg tcggtgtggt  | 600  |
| cttgggaaaa gaaagcttgc tggaggctgc tgttcagccc catacattac ttgttacgat  | 660  |
| tctgctgact ttcggcggtt gcaatatctc tacttctgct tgacgaggta ttgttgacct  | 720  |
| tacttctttc ttcttcttct tgcgtattgg ttctataaga aatctagtat tttctttgaa  | 780  |
| acagagtttt cccgtgggtt tcgaacttgg agaaagattg ttaagcttct gtatattctg  | 840  |
| cccaaatttg tcgggcccat gaaggcaata attgtactac tcatggtagt aacatccaat  | 900  |
| gcagatcgaa tctgcactgg aataacatct tcaaactcac ctcattgtgt caaacagcc   | 960  |
| actcaagggg aggtcaatgt gactgggtgtg ataccactaa caacaacacc aacaaaatct | 1020 |
| tattttgcaa atctcaaagg aacaaggacc agagggaac tatgccaga ctgtctcaac    | 1080 |
| tgcacagatc tggatgtggc tttgggcaga ccaatgtgtg tggggaccac accttcggcg  | 1140 |
| aaggcttcaa tactccacga agtcaaacct gttacatccg ggtgctttcc tataatgcac  | 1200 |
| gacagaacaa aaatcaggca actaccaat cttctcagag gatatgaaaa tatcaggcta   | 1260 |

15

tcaacccaaa acgtcatcga tgcggaaaag gcaccaggag gaccctacag acttgaacc 1320  
 tcaggatctt gccctaacgc taccagtaag agcggatctt tcgcaacaat ggcttgggct 1380  
 gtcccaaagg acaacaacaa aaatgcaacg aaccactaa cagtagaagt accatacatt 1440  
 tgtacagaag ggaagacca aatcactgtt tgggggttcc attcagataa caaaacccaa 1500  
 atgaagaacc tctatggaga ctcaaatcct caaaagttca cctcatctgc taatggagta 1560  
 accacacact atgtttctca gattggcagc ttcccagatc aaacagaaga cggaggacta 1620  
 ccacaaagcg gcaggattgt tgttgattac atgatgcaaa aacctgggaa aacaggaaca 1680  
 attgtctacc aaagaggtgt tttgttcct caaaaggtgt ggtgcgcgag tggcaggagc 1740  
 aaagtaataa aagggtcctt gcctttaatt ggtgaagcag attgccttca tgaaaaatac 1800  
 ggtggattaa acaaaagcaa gccttactac acaggagaac atgcaaaagc cataggaaat 1860  
 tgcccaatat gggtgaaaac acctttgaag ctgcgcaatg gaaccaaata tagacctcct 1920  
 gcaaaactat taaaggaaag gggtttcttc ggagctattg ctggtttcct agaaggagga 1980  
 tgggaaggaa tgattgcagg ctggcacgga tacacatctc acggagcaca tggagtggca 2040  
 gtggcggcgg accttaagag tacgcaagaa gctataaaca agataacaaa aaatctcaat 2100  
 tctttgagtg agctagaagt aaagaatctt caaagactaa gtggtgccat ggatgaactc 2160  
 cacaacgaaa tactcgagct ggatgagaaa gtggatgatc tcagagctga cactataagc 2220  
 tcgcaaatag aacttcagct cttgctttcc aacgaaggaa taataaacag tgaagatgag 2280  
 catctatttg cacttgagag aaaactaaag aaaatgctgg gtccctctgc tgtagagata 2340  
 ggaaatggat gcttcgaaac caaacacaag tgcaaccaga cctgcttaga caggatagct 2400  
 gctggcacct ttaatgcagg agaattttct ctcccactt ttgattcact gaacattact 2460  
 gctgcatctt taaatgatga tggattggat aaccatacta tactgctcta ttactcaact 2520  
 gctgcttcta gtttggctgt aacattgatg ctagctatctt ttattgttta tatggtctcc 2580  
 agagacaacg tttcatgctc catctgtcta taaaggccta tttcttttag tttgaattta 2640  
 ctgttattcg gtgtgcattt ctatgtttgg tgagcgggtt tctgtgctca gagtgtgttt 2700  
 attttatgta atttaatttc tttgtgagct cctgttttagc aggtcgtccc ttcagcaagg 2760  
 acacaaaaag attttaattt tattaataaa aaaaaaaaaa aagaccggga attcgatatc 2820  
 aagcttatcg acctgcagat cgttcaaaca tttggcaata aagtttctta agattgaatc 2880  
 ctgttgccgg tcttgcgatg attatcatat aatttctgtt gaattacgtt aagcatgtaa 2940  
 taattaacat gtaatgcagc acgttattta tgagatgggt ttttatgatt agagtccgcg 3000  
 aattatacat ttaatacgcg atagaaaaca aaatatagcg cgcaaactag gataaattat 3060  
 cgcgcgcggt gtcacatag ttactagatt ctagagtctc aagcttcggc gcgcc 3115

<210> 113

<211> 3142

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción 739 desde Pacl hasta Ascl

<400> 113



|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| ttaattaaga attcgagctc caccgcgga acctcctcgg attccattgc ccagctatct   | 60   |
| gtcactttat tgagaagata gtggaaaagg aaggtggctc ctacaaatgc catcattgcg  | 120  |
| ataaaggaaa ggccatcggt gaagatgcct ctgccgacag tggccccaaa gatggacccc  | 180  |
| caccacagag gagcatcgtg gaaaaagaag acgttccaac cacgtcttca aagcaagtgg  | 240  |
| attgatgtga tatctccact gacgtaaggg atgacgcaca atcccactat ccttcgcaag  | 300  |
| acccttcctc tatataagga agttcatttc atttgagag gtattaaaat cttaataggt   | 360  |
| tttgataaaa gcgaacgtg ggaacccga accaaacctt cttctaaact ctctctcatc    | 420  |
| tctcttaaag caaacttctc tcttgtcttt cttgcgtgag cgatcttcaa cgttgtcaga  | 480  |
| tcgtgcttcg gcaccagtac aacgttttct ttcactgaag cgaaatcaaa gatctctttg  | 540  |
| tggaacagta gtgcggcgcc attaaataac gtgtacttgt cctattcttg tcggtgtggt  | 600  |
| cttgggaaaa gaaagcttgc tggaggtgc tgttcagccc catacattac ttgttacgat   | 660  |
| tctgctgact ttcggcgggt gcaatatctc tacttctgct tgacgaggtt ttgttgctg   | 720  |
| tacttcttct ttcttcttct tgctgattgg ttctataaga aatctagtat tttctttgaa  | 780  |
| acagagtttt cccgtggttt tcgaacttgg agaaagattg ttaagcttct gtatattctg  | 840  |
| cccaaatttg tcgggcccat ggcgaaaaac gttgcgattt tcggcttatt gtttctctt   | 900  |
| cttgtgttgg ttcttctca gatcttcgct gatcgaatct gcactggaat aacatcttca   | 960  |
| aactcacctc atgtggtcaa aacagccact caaggggagg tcaatgtgac tgggtgtgata | 1020 |
| ccactaacia caacaccaac aaaatcttat ttgcaaata tcaaaggaa aaggaccaga    | 1080 |
| gggaaactat gccagactg tctcaactgc acagatctgg atgtggcttt gggcagacca   | 1140 |
| atgtgtgtgg ggaccacacc ttcggcgaag gcttcaatac tccacgaagt caaacctgtt  | 1200 |
| acatccgggt gcttctctat aatgcacgac agaacaaaaa tcaggcaact acccaatctt  | 1260 |
| ctcagaggat atgaaaatat caggctatca acccaaacg tcatcgatgc ggaaaaggca   | 1320 |
| ccagaggagc cctacagact tggaacctca ggatcttgcc ctaacgctac cagtaagagc  | 1380 |
| ggatttttgc caacaatggc ttgggctgtc ccaaaggaca acaacaaaaa tgcaacgaac  | 1440 |
| ccactaacag tagaagtacc atacatttgt acagaagggg aagaccaaat cactgttttg  | 1500 |
| gggttccatt cagataacia aacccaaatg aagaacctct atggagactc aaatcctcaa  | 1560 |
| aagttcacct catctgctaa tggagtaacc acacactatg tttctcagat tggcagcttc  | 1620 |
| ccagatcaaa cagaagacgg aggactacca caaagcggca ggattgttgt tgattacatg  | 1680 |
| atgcaaaaac ctgggaaaac aggaacaatt gtctacaaa gaggtgtttt gttgcctcaa   | 1740 |
| aaggtgtggt gcgcgagtgg caggagcaaa gtaataaaag ggtccttgcc ttttaattggt | 1800 |

gaagcagatt gccttcatga aaaatacggg ggattaaaca aaagcaagcc ttactacaca 1860  
ggagaacatg caaaagccat aggaaattgc ccaatatggg tgaaaacacc tttgaagctc 1920  
gccaatggaa ccaaatatag acctcctgca aaactattaa aggaaagggg tttcttcgga 1980  
gctattgctg gtttcctaga aggaggatgg gaaggaatga ttgcaggctg gcacggatac 2040  
acatctcacg gagcacatgg agtggcagtg gcggcggacc ttaagagtac gcaagaagct 2100  
ataacaaga taacaaaaaa tctcaattct ttgagtggc tagaagtaa gaatcttcaa 2160  
agactaagtg gtgccatgga tgaactccac aacgaaatac tcgagctgga tgagaaagtg 2220  
gatgatctca gagctgacac tataagctcg caaatagaac ttgcagctctt gctttccaac 2280  
gaaggaataa taaacagtga agatgagcat ctattggcac ttgagagaaa actaaagaaa 2340  
atgctgggtc cctctgctgt agagatagga aatggatgct tcgaaaccaa acacaagtgc 2400  
aaccagacct gcttagacag gatagctgct ggcaccttta atgcaggaga attttctctc 2460  
cccacttttg attcactgaa cattactgct gcatctttaa atgatgatgg attggataac 2520  
catactatac tgctctatta ctcaactgct gcttctagtt tggctgtaac attgatgcta 2580  
gctattttta ttgtttatat ggtctccaga gacaacgttt catgctccat ctgtctataa 2640  
aggcctattt tctttagttt gaatttactg ttattcgggtg tgcatttcta tgtttggtga 2700  
gcggttttct gtgctcagag tgtgtttatt ttatgtaatt taatttcttt gtgagctcct 2760  
gtttagcagc tcgtcccttc agcaaggaca caaaaagatt ttaattttat taaaaaaaaa 2820  
aaaaaaaaag accgggaatt cgatatcaag cttatcgacc tgcagatcgt tcaaacattt 2880  
ggcaataaag tttcttaaga ttgaatcctg ttgccgggtct tgcgatgatt atcatataat 2940  
ttctgttgaa ttacgttaag catgtaataa ttaacatgta atgcatgacg ttatttatga 3000  
gatgggtttt tatgattaga gtcccgaat tatacattta atacgcgata gaaaacaaaa 3060  
tatagcgcgc aaactaggat aaattatcgc gcgcgggtgc atctatgtta ctagattcta 3120  
gagtctcaag cttcggcgcg cc 3142

<210> 114

<211> 1272

<212> ADN

5 <213> *Medicago sativa*

<400> 114

atgtttgggc gcggaccaac aaggaagagt gataacacca aatattacga tattcttggg 60  
gtttcaaaaa gtgctagtga agatgaaatc aagaaagcct atagaaaggc agcgatgaag 120  
aaccatccag ataaggggtg ggatcctgag aagtccaagg agttgggcca agcatatgaa 180  
gtgttgagcg atcctgaaaa gaaagaactg tatgatcaat atggtgaaga tgcccttaa 240  
gaaggaatgg ggggaggcgc aggaagctca tttcataatc cgtttgatat tttcgaatca 300  
ttttttggtg caggcttttg tgggtggtgt ccttcacgcg caagaagaca gaagcaagga 360

# ES 2 554 703 T3

gaagatgtgg tgcattctat aaagggtttcc ttggaggatg tgtataacgg cactacaaag 420  
aagctatcac ttcttaggaa tgcactgtgc tcaaatgta aagggaagg ttcaaaaagt 480  
ggaactgctg gaagggtgtt ttgatgccag ggcacaggta tgaagattac cagaaggcaa 540  
attggactgg gcatgattca acaaatgcaa cacgtctgtc ctgactgcaa aggaacaggc 600  
gaggtcatta gtgagagaga tagatgccct caatgcaagg gaaacaagat tactcaagaa 660  
aagaagggtgc tggagggtgca tgtggaaaag gggatgcagc agggtcacaa gattgtattc 720  
gaaggacaag ctgatgaagc tcctgatata atcacaggag acatagtttt tgtcttgcaa 780  
gtaaagggac atccgaagtt tcggaggagg cgtgatgacc tccacattga acacaatttg 840  
agcttaactg aggtctcttg ttgcttccag ttaaatgtca cacatcttga tggaaggcaa 900  
ctattggtca aatcgaaccc cggcgaagtc atcaagccag gtcaacataa agctataaat 960  
gatgagggaa tgcacacaaca tggtaggccg ttcatgaagg gacgcctata catcaagttt 1020  
agtgttgatt tcccgatttc gggttttctt tccccaagcc aaagcctgga attagaaaag 1080  
atattacctc aaaagacaag caagaacttg tcccaaaagg aggtagatga ttgtgaggag 1140  
accaccctgc atgatgtcaa tattgcagag gagatgagtc gaaagaagca acaataccgt 1200  
gaggcatatg atgacgatga tgatgaagat gatgagcact cgcagcctcg ggtgcaatgc 1260  
gctcaacagt ag 1272

<210> 115

<211> 20

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Hsp-40Luz.1c

<400> 115

atgtttgggc gcggaccaac 20

10 <210> 116

<211> 31

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Hsp40Luz-Sacl.1272r

<400> 116

agctgagctc ctactgttga gcgcattgca c 31

<210> 117

<211> 36

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Hsp40Luz-Plasto.r

5 <400> 117

gttgggtccgc gcccaaacat tttctctcaa gatgat 36

<210> 118

<211> 21

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Hsp70Ara.1c

<400> 118

atgtcgggta aaggagaagg a 21

15 <210> 119

<211> 33

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Hsp70Ara-Sacl.1956r

<400> 119

agctgagctc ttagtcgacc tcctcgatct tag 33

<210> 120

<211> 37

25 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Hsp70Ara-Plasto.r

<400> 120

30 tccttctcct ttacccgaca ttttctctca agatgat 37

<210> 121

<211> 4402

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Construcción R850 desde HindIII hasta EcoRI

<400> 121

```

aagcttgcat gctgcaggc cgactctaga ggatcccggt gctggtctgt acattcatct    60
tgccgccttt gcattcactt ggcacaaaag agtagagaga aggaagagaa gagccagac    120
ttcaagaagc gaccttgcaa gtgcactoga gggtcagaaa ctgtatatca tatctatgtg    180
agagaaaggg gaacatttga gatggagtcg atttacttga ggtatactta ttattttgat    240
caataaattt gtatacttct tatttagatc aataaatttg tcattaagct ataatccaaa    300
ataaattacg atcaaatatg caaatgttag ccagtacttg tgttaaactt gatggcatct    360
cttggtttct ttggcaatca catgcctaag aaataaatag tatcatatga ttgtgtttgg    420
tcagacttca gagtcagatg actctgtttg gataaacagc ttaattaagc gottatagaa    480
tatcatatga ttgtgtttgg tcagacttca gagcatctct tggtttctct ggcaatcata    540
tgctaagaa ataaatagta tcatatgatt gtgtttggtc agacttcaga gtcagatgac    600
cctgtttggg taacacagctt aattaagtgc ttatagaata agcgcttata atataagtgc    660
tttgttacag ttatttctat gaaagtagaa gaaatagtca tattgtttta atataagcta    720

```

|             |            |             |            |            |            |      |
|-------------|------------|-------------|------------|------------|------------|------|
| tcttgagag   | cttgtgaaa  | taaccagaaa  | agaacttatg | gacacgtcat | gagctgttta | 780  |
| cataagatct  | ccctaacagt | ctcaaaagt   | tttatgccag | tagataaatt | caaataagtc | 840  |
| aatctaaaca  | gaccctaaat | ccattatggt  | acctatcatt | ttagcttatt | ccatctttat | 900  |
| taagaatgtc  | atgagataac | ataatgataa  | cacattat   | tgacacaaat | gggcagatct | 960  |
| agcaatttaa  | ctctggagtc | cttcaagact  | gctgttctta | cgaagttcac | gtccctgaat | 1020 |
| catgttctgt  | tatggaagcc | tgaaagacot  | caaattctaa | aaggtggcga | taaattgaag | 1080 |
| gtttacaaaa  | tataccctgc | gggcttgaca  | cagaggcaag | ctctttatac | cttcagttc  | 1140 |
| aacggggatg  | ttgatttcag | aagtcacttg  | gagagcaatc | cttgtgcaa  | gtttgaagta | 1200 |
| atTTTTgtgt  | agcatatgtt | gagctaccta  | caatttacat | gatcacctag | cattagctct | 1260 |
| ttcaacttaac | tgagagaatg | aagtttttagg | aatgagtatg | accatggagt | cggcatggct | 1320 |
| ttgtaatgcc  | tacctaactt | tgccaactc   | atcggggatt | tacattcaga | aaatatacat | 1380 |
| gacttcaacc  | atacttaaac | ccctttttgt  | aagataactg | aatgttcata | tttaattgtg | 1440 |
| ggttgtagt   | tttttacttg | attatatcca  | gacagttaca | agttggacaa | caagattgtg | 1500 |
| ggtctgtact  | gttatttatt | tatttttttt  | ttagcagaaa | caccttatct | tttgtttcgt | 1560 |
| ttgaatgtag  | aatgaasata | aaagaasgaa  | aatataacat | catcggccgc | gcttgtctaa | 1620 |
| tttcgggcag  | ttaggatcct | ctcgggtcac  | cggaaagttt | cagtagaaga | aacaaaacac | 1680 |
| cgtgactaaa  | atgatactat | tattttat    | attgtgtttt | tctttttct  | accggaactt | 1740 |
| tttagaacgg  | atcccaactc | gttcggggc   | cgtacaaact | gaacaaaaag | aagatatttt | 1800 |
| ctctctcttc  | agaaatgtaa | gttttccttt  | acagataccc | attcaccatt | tgattcagat | 1860 |
| gtggtgacta  | gagataaagc | atactaattt  | gactcttgga | aaccataaa  | gtttatgtta | 1920 |
| tcogtgttct  | ggaccaatcc | acttgggggc  | ataacctgtg | tctatgtgtg | gtttggttct | 1980 |
| cattctgatt  | tatgcggcga | cttgtaattt  | aaaatctagg | aggggcagac | attgaacaat | 2040 |
| cccaatattt  | taataactta | tgcaagattt  | ttttatttaa | tgagatgatg | tgtttgtgac | 2100 |
| tgagattgag  | tcatacat   | cactaagaaa  | tggttccaag | taccaaacta | tcatgaccca | 2160 |
| gttgcaaaaca | tgacgttcgg | gagtggtcac  | tttgatagtt | caatttcac  | ttggcttctt | 2220 |
| attcctttta  | taattcta   | tcttctgtg   | taaaactatt | catgtattat | ttttctttaa | 2280 |
| aatttacatg  | tcatttat   | tgctcacta   | actcaatttt | gcataataca | atgataagtg | 2340 |
| atattttgac  | tcacaaaatt | tacatcaaat  | ttcgacatcg | tttattatgt | tcattggatg | 2400 |
| attaacaaat  | ataacaaact | ttgcaactaa  | ttaaccacca | actgaatata | attaactata | 2460 |
| actgtgaaag  | tagttaactc | atTTTTtat   | ttcatagatc | aaataagaga | aataacggta | 2520 |
| tattaatccc  | tcacaaaaaa | aaaaacggta  | tatttactaa | aaaatctaag | ccacgtagga | 2580 |
| ggataacagg  | atccccgtag | gaggataaca  | tcacatccaa | ccaatcaca  | caatcctgat | 2640 |

gagataaacc actttaagcc caccgatctg tggcacatct acattatcta aatcacacat 2700  
tcttccacac atctgagcca cacaanaacc aatccacatc tttatcacc attctataaa 2760  
aatcacact ttgtgagtct acactttgat tcccttcaaa cacatacaaa gagaagagac 2820  
taattaatta attaatcacc ttgagagaaa atgtttgggc ggggaccaac aaggaagagt 2880  
gataaaccca aatattacga tttcttgggt gtttcaaaaa gtgctagtga agatgaaac 2940  
aagaaagcct atagaaaggc agcagatgaag aaccatccag ataagggtgg ggcctctgag 3000  
aagttcaagg agttgggcca agcatatgaa gtgttgagcg atcctgaaa gaaagaactg 3060  
tatgatcaat atggtgaaga tgccttataa gaaggaatgg ggggagggcg aggaagctca 3120  
tttcataatc cgtttgatat tttcgaatca ttttttgggt caggcttttg tgggtggtgg 3180  
ccttcacggc caagaagaca gaagcaagga gaagatgtgg tgcattctat aaaggtttcc 3240  
ttggaggatg tgtataacgg cactacaaag aagctatcac tttctagaa tgcactgtgc 3300  
tcaaatgta aagggaagg ttcaaaaagt ggaactgctg gaaggtgttt tggatgccag 3360  
ggcacaggta tgaagattac cagaaggcaa attggactgg gcatgattca acaaatgcaa 3420  
cacgtctgtc ctgactgcaa aggaacaggc gaggtcatta gtgagagaga tagatgccct 3480  
caatgcaagg gaaacaagat tactcaagaa aagaagggtc tggagggtca tgtggaag 3540  
gggatgcagc agggtcacaa gattgtattc gaaggacaag ctgatgaagc tccatgataca 3600  
atcacaggag acatagtttt tgtcttgcaa gtaaaggagc atccgaagtt tccgaggag 3660  
cgtgatgacc tccacattga acacaattg agcttaactg aggtctctg tggcttccag 3720  
tttaattgca cacatcttga tgggaaggcaa ctattggtca aatcgaacc cggcgaagtc 3780  
atcaagccag gtcaacataa agctataaat gatgaggga tgcacacaa tggtaggccg 3840  
ttcatgaagg gacgcctata catcaagttt agtgttgatt tcccggtatc gggttttctt 3900  
tccccagcc aaagcctgga attagaaaag atattacctc aaagacaag caagaacttg 3960  
tccccaaagg aggtagatga ttgtgaggag accacctgct atgatgtcaa tattgcagag 4020  
gagatgagtc gaaagaagca acaataccgt gaggcataat atgacgatga tgatgaagat 4080  
gatgagcact cgcagcctcg ggtgcaatgc gctcaacagt aggagctcag ctogaatttc 4140  
cccgatcgtt caaacatttg gcaataaagt ttcttaagat tgaatcctgt tgcgggtctt 4200  
gogatgatta tcatataatt tctgttgaa tacgttaagc atgtaataat taacatgtaa 4260  
tgcatgagc tatttatgag atgggttttt atgattagag tcccgcaatt atacatttaa 4320  
tacgcgatag aaacaaaaat atagcgcga aactaggata aattatcgcg cggggtgtca 4380  
tctatgttac tagatgaat tc 4402

<210> 122

<211> 5086

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción R860 desde Hind III hasta EcoRI

<400> 122

# ES 2 554 703 T3

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| aagcttgcat gcctgcaggt cgactctaga ggatccccgg gctgggtctgt acattcatct | 60   |
| tgcgcgcttt gcattcactt ggccacaaa agtagagaga aggaagagaa gagcccagac   | 120  |
| ttcaagaagc gaccttgcaa gtgcactcga gggtcagaaa ctgtatatca tatctatgtg  | 180  |
| agagaaaggg gaacatttga gatggagtcc atttacttga ggtatactta ttattttgat  | 240  |
| caataaattt gtatacttct tatttagatc aataaatttg tcattaagct ataatccaaa  | 300  |
| ataaattacg atcaaatatg caaatgtag ccagtacttg tgttaaactt gatggcatct   | 360  |
| cttggtttct ttggcaatca catgcctaag aaataaata tagtatatga ttgtgtttgg   | 420  |
| tcagacttca gagtcatatg actctgtttg gataaacagc ttaattaagc gcttatagaa  | 480  |
| tatcatatga ttgtgtttgg tcagacttca gagcatctct tggtttctct ggcaatcata  | 540  |
| tgcctaagaa ataaatagta tcatatgatt gtgtttggtc agacttcaga gtcagatgac  | 600  |
| cctgtttggg taaacagctt aattaagtgc ttatagaata agcgttatc atataagtgc   | 660  |
| ttttgtacag ttatttctat gaaagtagaa gaaatagtc tattgtttta atataagcta   | 720  |
| tcctggagag cttgtggaaa taaccagaaa agaacttatg gacacgtcat gagctgttta  | 780  |
| cataagatct ccctaacagt ctcaaaagtg tttatgccag tagataaatt caaataagtc  | 840  |
| aatctaaaca gaccctaaat ccattatggt acctatcatt ttagcttatt ccactttat   | 900  |
| taagaatgtc atgagataac ataatgataa cacattattt tgacacaaat gggcagatct  | 960  |
| agcaatttaa ctctggagtc cttcaagact gctgttctta cgaagttcac gtccctgaat  | 1020 |
| catgttcctg tatggaagcc tgaagacct caaattctaa aagggtggcg taaattgaag   | 1080 |
| gtttacaaaa tataccctgc gggcttgaca cagaggcaag ctotttatac cttccagttc  | 1140 |
| aacggggatg ttgatttcag aagtcacttg gagagcaatc cttgtgcca gtttgaagta   | 1200 |
| atttttgtgt agcatatgtt gagctaccta caatttacat gatcacctag cattagctct  | 1260 |
| ttcacttaac tgagagaatg aagttttagg aatgagtatg accatggagt cggcatggct  | 1320 |
| ttgtaatgcc taccctactt tggccaactc atcggggatt tacattcaga aaatatacat  | 1380 |
| gacttcaacc atacttaaac ccctttttgt aagataactg aatgttcata tttaatgttg  | 1440 |
| ggttgtagtg tttttacttg attatatcca gacagttaca agttggacaa caagattgtg  | 1500 |
| ggtctgtact gttatttatt tatttttttt ttagcagaaa caccctatct tttgtttcgt  | 1560 |
| ttgaatgtag aatgaaaata aaagaaagaa aatataacat catcgccgc gcttgtctaa   | 1620 |
| tttcgggcag ttaggatcct ctccggtcac cggaaagttt cagtagaaga aacaaaacac  | 1680 |
| cgtgactaaa atgatactat tattttatct attgtgtttt tctttttct accggaactt   | 1740 |
| tttagaacgg atcccaactc gttccggggc cgctacaact gaacaaaaag aagatatttt  | 1800 |
| ctctctcttc agaaatgtaa gttttccttt acagataccc attcaccatt tgattcagat  | 1860 |



gtggtgacta gagataaagc atactaattt gactcttgga aaccataaa gtttatgtta 1920  
tccgtgttct ggaccaatcc acttgggggc ataacctgtg tctatgtgtg gtttggtttc 1980  
cattctgatt tatgcggcga cttgtaattt aaaatctagg aggggcagac attgaacaat 2040  
cccaatattt taataactta tgcaagattt tttttattaa tgagatgatg tgtttgtgac 2100  
tgagattgag tcatacattt cactaagaaa tggttccaag taccaaaacta tcatgacca 2160  
gttgcaaaaca tgacgttcgg gagtggtcac tttgatagtt caatttcac ttggcttctt 2220  
attcctttta taattctaatt tcttcttggt taaactattt catgtattat ttttcttta 2280  
aatttacatg tcatttattt tgcctcacta actcaatttt gcatataaca atgataagt 2340  
atattttgac tcacaaaatt tacatcaaat ttcgacatcg tttattatgt tcattggatg 2400  
attaacaaat ataacaaact ttgcaactaa ttaaccacca actgaatata attaaactata 2460  
actgtgaaag tagttaactc atttttatat ttcatagatc aaataagaga aataacggta 2520  
tattaatccc tccaaaaaaa aaaaacggta tatttactaa aaaatctaag ccacgtagga 2580  
ggataacagg atccccgtag gaggataaca tccaatccaa ccaatcacia caatcctgat 2640  
gagataaccc actttaagcc cagcatctg tggcacatct acattatcta aatcacacat 2700  
tcttccacac atctgagcca cacaaaaacc aatccacatc tttatcacc attctataaa 2760  
aatcacact ttgtgagct acactttgat tcccttcaaa cacatacaa gagaagagac 2820  
taattaatta attaatcatc ttgagagaaa atgtcgggta aaggagaagg accagctatc 2880  
ggtatogac ttggtaccac ttactcttgc gtcggagtat ggcaacacga ccgtgttgag 2940  
atcattgcta atgatcaagg aaacagaacc acgccatctt acgttgcttt caccgactcc 3000  
gagaggttga tcggtgacgc agctaagaat caggtcgcca tgaaccccg taacaccgtt 3060  
ttcgacgcta agaggttgat cggtcgtcgt ttctctgaca gctctgttca gagtgcacatg 3120  
aaattgtggc cattcaagat tcaagccgga cctgccgata agccaatgat ctacgtcgaa 3180  
tacaaggggtg aagagaaaga gttcgcagct gaggagattt cttccatggt tcttattaag 3240  
atgcgtgaga ttgctgaggc ttaccttgggt gtcacaaatca agaacgccgt tgttaccgtt 3300  
ccagcttact tcaacgactc tcagcgtcag gctacaaagg atgctggtgt catcgtggt 3360  
ttgaacgtta tgcgaatcat caacgagcct acagccgccg ctattgccta cggctctgac 3420  
aaaaaggcta ccagcgttgg agagaagaat gttcttatct tcgatcttgg tgggtggcact 3480  
tttgatgtct ctctcttac cattgaagag ggtatctttg aggtgaaggc aactgctggt 3540  
gacacccatc ttggtgggga agattttgac aacagaatgg ttaaccactt tgtccaagag 3600  
ttcaagagga agagtaagaa ggatatcacc ggtaacccaa gagctcttag gaggttgaga 3660  
acttcctgtg agagagcgaa gaggactctt tcttccactg ctacagaccac catcgagatt 3720  
gactctctat acgaggggtat cgacttctac tccaccatca cccgtgctag atttgaggag 3780

ctcaacatgg atctcttcag gaagtgtatg gagccagttg agaagtgtct tcgtgatgct 3840  
aagatggaca agagcactgt tcatgatgtt gtccttgttg gtggttctac ccgtatccct 3900  
aaggttcagc aattgctcca ggacttcttc aacggcaaag agctttgcaa gtctattaac 3960  
cctgatgagg ctgttgcta cgggtgctgt gtccaggag ctattctcag cgggtgaagga 4020  
aacgagaagg ttcaagatct tctattgctc gatgtcactc ctctctccct tggtttgaa 4080  
actgccggtg gtgtcatgac cactttgatc ccaaggaaca caaccatccc aaccaagaag 4140  
gaacaagtct tctccacctc ctcagacaac caaccgggtg tgtgatcca ggtgtacgaa 4200  
ggagagagag ccagaaccaa ggacaacaac cttcttggtg aatttgagct ctccggaatt 4260  
cctccagctc ctctgggtgt cccccagatc acagtctgct ttgacattga tgccaatggt 4320  
atcctcaatg tctctgctga ggacaagacc accggacaga agaacaagat caccatcacc 4380  
aatgacaagg gtcgtctctc caaggatgag attgagaaga tggttcaaga ggctgagaag 4440  
tacaagtccg aagacgagga gcacaagaag aaggttgaag ccaagaacgc tctcgagaac 4500  
tacgcttaca acatgaggaa caccatcaa gacgagaaga ttggtgagaa gctcccggct 4560  
gcagacaaga agaagatcga ggattctatt gagcaggcga ttcaatggct cgagggtaac 4620  
cagttggctg aggtgatga gttcgaagac aagatgaagg aattggagag catctgcaac 4680  
ccaatcattg ccaagatgta ccaaggagct ggtggtgaag ccggtggtcc aggtgcctct 4740  
ggtatggacg atgatgctcc ccctgcttca ggcggtgctg gacctaagat cgaggaggtc 4800  
gactaagagc tcagctcgaa tttccccgat cgttcaaaca tttggcaata aagtttctta 4860  
agattgaatc ctgttgccgg tcttgcatg attatcatat aatttctgtt gaattacgtt 4920  
aagcatgtaa taattaacat gtaatgcatg acgttattta tgagatgggt ttttatgatt 4980  
agagtccgcg aattatacat ttaatacgcg atagaaaaca aaatatagcg cgcaaactag 5040  
gataaattat cgcgcgcggt gtcactatg ttactagatc gaattc 5086

<210> 123

<211> 9493

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción R870 desde Hind III hasta Eco RI

<400> 123

aagcttgcat gcctgcaggt cgactctaga ggatccccgg gctggtctgt acattcatct 60  
tgccgccttt gcattcactt ggccacaaag agtagagaga aggaagagaa gagcccagac 120  
ttcaagaagc gaccttgcaa gtgcactcga gggtcagaaa ctgtatatca tatctatgtg 180  
agagaaaggg gaacatttga gatggagtcc atttacttga ggtatactta ttattttgat 240  
caataaattt gtatacttct tatttagatc aataaatttg tcattaagct ataatccaaa 300  
ataaattacg atcaaatatg caaatgttag ccagtacttg tgttaaactt gatggcatct 360

|                                                                   |      |
|-------------------------------------------------------------------|------|
| cttggtttct ttggcaatca catgcctaag aaataaatag tatcatatga ttgtgtttgg | 420  |
| tcagacttca gagtcagatg actctgtttg gataaacagc ttaattaagc gcttatagaa | 480  |
| tatcatatga ttgtgtttgg tcagacttca gagcatctct tggtttctct ggcaatcata | 540  |
| tgcctaagaa ataaatagta tcatatgatt gtgtttggtc agacttcaga gtcagatgac | 600  |
| cctgtttggg taaacagctt aattaagtgc ttatagaata agcgcttctc atataagtgc | 660  |
| ttttgtacag ttatttctat gaaagtagaa gaaatagtca tattgtttta atataagcta | 720  |
| tcctggagag cttgtggaaa taaccagaaa agaacttatg gacacgtcat gagctgttta | 780  |
| cataagatct ccctaacagt ctcaaaagtg tttatgccag tagataaatt caaataagtc | 840  |
| aatctaaaca gaccctaaat ccattatggt acctatcatt ttagcttatt ccatctttat | 900  |
| taagaatgac atgagataac ataataataa cacattatct tgacacaaat gggcagatct | 960  |
| agcaatttaa ctctggagtc cttcaagact gctgttctta cgaagttcac gtccctgaat | 1020 |
| catgttctct tatggaagcc tgaagacct caaattctaa aaggtggcga taaattgaag  | 1080 |
| gtttacaaaa tataccctgc gggcttgaca cagaggcaag ctctttatac cttccagtcc | 1140 |
| aacggggatg ttgatttcag aagtcacttg gagagcaatc cttgtgccaa gtttgaagta | 1200 |
| atttttgtgt agcatatgtt gagctaccta caatttacat gatcacctag cattagctct | 1260 |
| ttcacttaac tgagagaatg aagttttagg aatgagtatg accatggagt cggcatggct | 1320 |
| ttgtaatgcc taccctactt tggccaactc atcggggatt tacattcaga aaatatacat | 1380 |
| gacttcaacc atacttaaac ccctttttgt aagataactg aatgttcata tttaatgttg | 1440 |
| ggttgtagtg tttttacttg attatatcca gacagttaca agttggacaa caagattgtg | 1500 |
| ggctctgact gttatttatt tttttttttt ttagcagaaa caccttatct tttgttctgt | 1560 |
| ttgaatgtag aatgaaaata aaagaaagaa aatataacat catcgccgcg gcttgtctaa | 1620 |
| tttcgggcag ttaggatcct ctccggtcac cggaaagttt cagtagaaga aacaaaacac | 1680 |
| cgtgactaaa atgatactat tttttatctt attgtgtttt tcttttttct accggaactt | 1740 |
| tttagaacgg atcccaactc gttccggggc cgctacaact gaaacaaaag aagatatctt | 1800 |
| ctctctcttc agaaatgtaa gttttccttt acagataccc attcaccatt tgattcagat | 1860 |
| gtggtgacta gagataaagc atactaatct gactcttggg aaccataaaa gtttatgtta | 1920 |
| tccgtgttct ggaccaatcc acttgggggc ataacctgtg tctatgtgtg gtttggttcc | 1980 |
| cattctgatt tatgcggcga cttgtaattt aaaatctagg aggggcagac attgaacaat | 2040 |
| cccaatattt taataactta tgcaagattt tttttattaa tgagatgatg tgtttgtgac | 2100 |
| tgagattgag tcatacattt cactaagaaa tggttccaag taccaacta tcatgacca   | 2160 |
| gttgcaaaca tgacgttcgg gagtggtcac tttgatagtt caatttcac ttggcttctt  | 2220 |
| attcctttta taattctaatt tcttctgtg taaactattt catgtattat ttttctttaa | 2280 |
| aatttacatg tcatttattt tgcctcacta actcaatttt gcatataaca atgataagtg | 2340 |

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| atattttgac tcacaaaatt tacatcaaat ttcgacatcg tttattatgt tcattggatg  | 2400 |
| attaacaaat ataacaaact ttgcaactaa ttaaccacca actgaatata attaaactata | 2460 |
| actgtgaaag tagttaactc atttttatat ttcatagatc aaataagaga aataacggta  | 2520 |
| tattaatccc tccaaaaaaa aaaaacggta tatttactaa aaaatctaag ccaogtagga  | 2580 |
| ggataacagg atccccgtag gaggataaca tccaatccaa ccaatcaca caatectgat   | 2640 |
| gagataaccc actttaagcc cagcatctg tggcacatct acattatcta aatcacacat   | 2700 |
| tottccacac atctgagcca cacaaaaacc aatccacatc tttatcacc attctataaa   | 2760 |
| aatcacact ttgtgagtot acactttgat tcccttcaa cacatacaaa gagaagagac    | 2820 |
| taattaatta attaatcatc ttgagagaaa atgtcgggta aaggagaagg accagctatc  | 2880 |
| ggtatcgatc ttggtaccac ttactcttgc gtccggagtat ggcaacacga ccgtgttgag | 2940 |
| atcattgcta atgatcaagg aacagaaacc acgccatctt acgttgcttt caccgactcc  | 3000 |
| gagaggttga tcggtgacgc agctaagaat caggtcgcca tgaaccccggt taacaccgtt | 3060 |
| ttcgacgcta agaggttgat cggtcgtcgt ttctctgaca gctctgttca gagtgcacg   | 3120 |
| aaattgtggc cattcaagat tcaagccgga cctgccgata agccaatgat ctacgtcgaa  | 3180 |
| tacaagggtg aagagaaaaga gttcgcagct gaggagattt cttccatggt tcttattaag | 3240 |
| atgcgtgaga ttgctgaggc ttaccttggt gtcacaatca agaaccgcgt tgttacccgt  | 3300 |
| ccagcttact tcaacgactc tcagcgtcag gctacaaagg atgctggtgt catcgtcgtt  | 3360 |
| ttgaacgtta tgcgaatcat caacgagcct acagccgcog ctattgccta cggctctgac  | 3420 |
| aaaaaggcta ccagcgttgg agagaagaat gttcttatct tcgatcttgg tgggtggcact | 3480 |
| tttgatgtct ctctctctac cattgaagag ggtatctttg aggtgaaggc aactgctggt  | 3540 |
| gacacccatc ttggtgggga agattttgac aacagaatgg ttaaccactt tgtccaagag  | 3600 |
| ttcaagagga agagtaagaa ggatataccc ggtaacccaa gagctcttag gaggttgaga  | 3660 |
| acttctgtg agagagcgaa gaggaactct tcttccactg ctacagaccac catcgagatt  | 3720 |
| gactctctat acgagggtat cgacttctac tccaccatca cccgtgctag atttgaggag  | 3780 |
| ctcaacatgg atctcttcag gaagtgtatg gagccagttg agaagtgtct tcgtgatgct  | 3840 |
| aagatggaca agagcactgt tcatgatgtt gtccttggtg gtggttctac ccgtatccct  | 3900 |
| aaggttcagc aattgctcca ggacttcttc aacggcaag agctttgcaa gtctattaac   | 3960 |
| cctgatgagg ctgttgcta cgggtcgtct gtccagggag ctattctcag cggatgaagga  | 4020 |
| aacgagaagg ttcaagatct tctattgtc gatgtcactc ctctctccct tggtttgaa    | 4080 |
| actgcgggtg gtgtcatgac cactttgatc ccaaggaaca caaccatccc aaccaagaag  | 4140 |
| gaacaagtct tctccacctc ctacagacaac caacccggtg tgttgatcca ggtgtacgaa | 4200 |
| ggagagagag ccagaaccaa ggacaacaac cttcttggtg aatttgagct ctccggaatt  | 4260 |

cctccagctc ctctgtgtgt cccccagatc acagtctgtt ttgacattga tgccaatggt 4320  
 atcctcaatg tctctgtctg ggacaagacc accggacaga agaacaagat caccatcacc 4380  
 aatgacaagg gtctgtctct caaggatgag attgagaaga tgggtcaaga ggctgagaag 4440  
 tacaagtcog aagacgagga gcacaagaag aaggttgaag ccaagaacgc tctcgagaac 4500  
 tacgcttaca acatgaggaa caccatccaa gacgagaaga ttggtgagaa gctcccggtc 4560  
 gcagacaaga agaagatcga ggattctatt gagcaggcga ttcaatggct cgagggtaac 4620  
 cagttggctg aggtgatga gttogaagac aagatgaagg aattggagag catctgcaac 4680  
 ccaatcattg ccaagatgta ccaaggagct ggtggtgaag ccggtggtcc aggtgcctct 4740  
 ggtatggaog atgatgtccc cctgtcttca ggcggtgctg gacctaatat cgaggaggtc 4800  
 gactaagagc tcagctcgaa ttccccgat cgttcaaaca ttggcaata aagtttctta 4860  
 agattgaatc ctgttgcggg tcttgcgatg attatcatat aatttctgtt gaattacgtt 4920  
 aagcatgtaa taattaacat gtaatgcctg acgttattta tgagatgggt ttttatgatt 4980  
 agagtccegc aattatacat ttaatacgcg atagaaaaca aaatatagcg cgcaactag 5040  
 gataaattat cgcgcgcggg gtcctctatg ttactagatc gaattcgtaa tcatggctcat 5100  
 agctgtttcc tgtgtgaaat tgttatccgg ggctggtctg tacattcctc ttgcgcctt 5160  
 tgcattcact tggccacaaa gactagagag aaggaagaga agagcccaga cttcaagaag 5220  
 cgaccttgca agtgcaactc agggtcagaa actgtatctc atatctatgt gagagaaagg 5280  
 ggaacatttg agatggagtc catttacttg aggtatactt attattttga tcaataaatt 5340  
 tgtatacttc ttatttagat caataaattt gtcattaagc tataatccaa aataaattac 5400  
 gatcaaatat gcaaatgtta gccagtaact gtgttaaact tgatggcctc tcttggtttc 5460  
 ttggcaatc acatgcctaa gaataaata gtatcatatg attgtgtttg gtcagacttc 5520  
 agagtcagat gactctgttt ggataaacag cttaattaag cgcttataga atatcatatg 5580  
 attgtgtttg gtcagacttc agagcatctc ttggtttctc tggcaatcat atgctaaga 5640  
 aataaatagt atcatatgat tgtgtttggg cagacttcag agtcagatga cctgttttg 5700  
 gtaaacagct taattaagtg cttatagaat aagcgcttat catataagtg cttttgtaca 5760  
 gttatttcta tgaagtaga agaaatagtc atattgtttt aatataagct atcctggaga 5820  
 gcttgtggaa ataaccagaa aagaacttat ggacacgtca tgagctgttt acataagatc 5880  
 tccctaacag tctcaaaagt gtttatgcca gtagataaat tcaataagt caatctaaac 5940  
 agaccctaaa tccattatgg tacctatcat tttagcttat tccatcttta ttaagaatgt 6000  
 catgagataa cataatgata acacattatt ttgacacaaa tgggcagatc tagcaattta 6060  
 actctggagt ccttcaagac tgcgtttctt aogaagttca cgtccctgaa tcatgttcc 6120  
 gtatggaagc ctgaaagacc tcaaatctta aaaggtggcg ataaattgaa ggtttacaaa 6180  
 atataccctg cgggcttgac acagaggcaa gctctttata ccttccagtt caacggggat 6240

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| gttgatttca gaagtcactt ggagagcaat ccttgtgcc agtttgaagt aatttttgtg   | 6300 |
| tagcatatgt tgagctacct acaattttaca tgatcaccta gcattagctc tttcacttaa | 6360 |
| ctgagagaat gaagtttttag gaatgagtat gaccatggag tcggcatggc tttgtaatgc | 6420 |
| ctaccctact ttggccaact catcggggat ttacattcag aaaatatata tgacttcaac  | 6480 |
| catacttaaa cccctttttg taagataact gaatgttcat atttaatgtt gggttgtagt  | 6540 |
| gtttttactt gattatatcc agacagttac aagttggaca acaagattgt gggctctgtac | 6600 |
| tgttatttat ttattttttt tttagcagaa acaccttacc ttttgtttog tttgaatgta  | 6660 |
| gaatgaaaat aaaagaaaaga aaatataaca tcatcgcccg cgtttgtcta atttcgggca | 6720 |
| gttaggatcc tctcgggtca cgggaaagt ttcatagaag aaacaaaaca cgtgactaa    | 6780 |
| aatgatacta ttattttatt tatttgtttt ttcttttttc taccggaact ttttagaacg  | 6840 |
| gatcccaact cgttcggggg ccgctacaac tgaacaaaa gaagatattt tctctctctt   | 6900 |
| cagaaatgta agttttcctt tacagatacc cattcaccat ttgattcaga tgtggtgact  | 6960 |
| agagataaag catactaatt tgactcttgg aaaccataa agtttatgtt atccgtgttc   | 7020 |
| tggaccaatc cacttggggg cataacctgt gtctatgtgt ggtttggtt ccattctgat   | 7080 |
| ttatgoggcg acttgtaatt taaaatctag gaggggcaga cattgaacaa tcccaatatt  | 7140 |
| ttaataactt atgcaagatt ttttttatta atgagatgat gtgtttgtga ctgagattga  | 7200 |
| gtcatacatt tcaactaagaa atggttccaa gtacaaaact atcatgaccc agttgcaaac | 7260 |
| atgacgttgc ggagtgggtca ctttgatagt tcaatttcat cttggcttct tattcctttt | 7320 |
| ataattctaa ttcttcttgt gtaaaactatt tcatgtatta ttttcttta aaatttacct  | 7380 |
| gtcattttatt ttgcctcact aactcaattt tgcataaac aatgataagt gatattttga  | 7440 |
| ctcacaaaat ttacatcaaa ttctgacatc gtttattatg ttcatggat gattaacaaa   | 7500 |
| tataacaaad tttgcaacta attaacaccc aactgaatat aattaactat aactgtgaaa  | 7560 |
| gtagttaact cttttttata ttcatagat caaataagag aaataacggt atattaatcc   | 7620 |
| ctccaaaaaa aaaaaacggt atatttacta aaaaatctaa gccacgtagg aggataacag  | 7680 |
| gatcccgta ggagataaac atccaatcca accaatcaca acaatcctga tgagataacc   | 7740 |
| cactttaagc ccacgcctct gtggcacatc tacattatct aaatcacaca ttcttcacac  | 7800 |
| catctgagcc acacaaaaac caatccacat ctttatcacc cattctataa aaatcacac   | 7860 |
| tttgtgagtc tacactttga ttcccttcaa acacatacaa agagaagaga ctaattaatt  | 7920 |
| aattaatcat cttgagagaa aatgtttggg cgcggaccaa caaggaagag tgataacacc  | 7980 |
| aaatattacg atattcttgg tgtttcaaaa agtgctagtg aagatgaaat caagaaagcc  | 8040 |
| tatagaaagg cagogatgaa gaaccatcca gataagggtg gggatcctga gaagttcaag  | 8100 |
| gagttgggcc aagcatatga agtgttgagc gatcctgaaa agaaagaact gtatgatcaa  | 8160 |

tatggtgaag atgcccttaa agaaggaatg gggggaggcg caggaagctc atttcataat 8220  
 ccgtttgata ttttogaate attttttggt gcaggccttg gtggtggtgg tccttcacgc 8280  
 gcaagaagac agaagcaagg agaagatgtg gtgcattcta taaaggtttc cttggaggat 8340  
 gtgtataacg gcactacaaa gaagctatca ctttctagga atgcactgtg ctcaaatgt 8400  
 aaagggaag gttcaaaaag tggaaactgt ggaagggtgt ttggatgccg ggcacagggt 8460  
 atgaagatta ccagaaggca aattggactg ggcattgtc aacaaatgca acacgtctgt 8520  
 cctgactgca aaggaacagg cgaggtcatt agtgagagag atagatgcc tcaatgcaag 8580  
 ggaacaaga ttactcaaga aaagaagggt ctggagggtc atgtggaaaa ggggatgcag 8640  
 cagggtcaca agattgtatt cgaaggacaa gctgatgaag ctctgatac aatcacagga 8700  
 gacatagttt ttgtcttgca agtaaaaggga catccgaagt ttggaggga gcgtgatgac 8760  
 ctccacattg aacacaattt gagcttaact gaggtctct gtggttcca gtttaattgc 8820  
 acacatcttg atggaaggca actattggtc aaatogaacc ccggcgaagt catcaagcca 8880  
 ggtcaacata aagctataaa tgatgaggga atgccacaac atggtaggcc gttcatgaag 8940  
 ggacgcctat acatcaagtt tagtggtgat ttcccgatt cgggttttct ttccccaagc 9000  
 caaagcctgg aattagaaaa gatattacct caaagacaa gcaagaactt gtcccaaaag 9060  
 gaggtagatg attgtgagga gaccacctg catgatgtca atattgcaga ggagatgagt 9120  
 cgaaagaagc aacaataccg tgaggcatat gatgacgatg atgatgaaga tgatgagcac 9180  
 tcgcagctc ggggtcaatg cgtccaacag taggagctca gctogaattt ccccgatcgt 9240  
 tcaaacattt ggcaataaag tttcttaaga ttgaatcctg ttgccgtct tcgatgatt 9300  
 atcatataat ttctgttgaa ttacgttaag catgtaataa ttaacatgta atgcatacg 9360  
 ttatttatga gatgggtttt tatgattaga gtcccgcaat tatacattta atacgcgata 9420  
 gaaaacaaaa tatagcgcgc aaactaggat aaattatcgc gcgcggtgtc atctatgtta 9480  
 ctagatcgaa ttc 9493

<210> 124

<211> 34

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> supP19-plasto.r

<400> 124

cctgtatag ctggttccat ttctctcaa gatg 34

10 <210> 125

<211> 20

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> supP19-1c

<400> 125

atggaacgag ctatacaagg 20

<210> 126

5 <211> 32

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> SupP19-Sacl.r

10 <400> 126

agtcgagctc ttactcgctt tcttttcga ag 32

#### Referencias:

Aymard, H. M., M. T. Coleman, W. R. Dowdle, W. G. Laver, G. C. Schild, and R. G. Webster. 1973. Influenza virus neuraminidase-inhibition test procedures. Bull. W.H.O. 48: 199-202.

15 Bollag, D.M., Rozycki, M.D., and Edelstein, S.J. (1996) Protein methods (2nd edition). Wiley-Liss, New York, USA.

Bligh, E.G., & Dyer, W.J. Can. J. Med. Sci. 37, 911-917 (1959).

Chen, B.J., Leser, G.P., Morita, E., and Lamb R.A. (2007) Influenza virus hemagglutinin and neuraminidase, but not the matrix protein, are required for assembly and budding of plasmid-derived virus-like particles. J. Virol. 81, 7111-7123.

20 Chen Z, Aspelund A, Jin H. 2008 Stabilizing the glycosylation pattern of influenza B hemagglutinin following adaptation to growth in eggs. Vaccine vol 26 p 361-371

Crawford, J., Wilkinson, B., Vosnesensky, A., Smith, G. , Garcia, M. , Stone, H. , and Perdue, M. L. (1999). Baculovirus-derived hemagglutinin vaccines protect against lethal influenza infections by avian H5 and H7 subtypes. Vaccine 17,2265-2274.

25 Darveau, A., Pelletier, A. & Perreault, J. PCR-mediated synthesis of chimeric molecules. Methods Neurosc. 26, 77-85(1995).

Grgacic EVL, Anderson DA. Virus-like particles: passport to immune recognition. Methods 2006; 40: 60-65.

Gillim-Ross, L., and Subbarao, K. (2006) Emerging respiratory viruses: challenges and vaccine strategies. Clin. Microbiol. Rev. 19, 614-636.

30 Gomez-Puertas, P., Mena, I., Castillo, M., Vivo, A., Perez-Pastrana, E. and Portela, A. (1999) Efficient formation of influenza virus-like particles: dependence on the expression level of viral proteins. J. Gen. Virol. 80, 1635-1645.

Gomez-Puertas, P., Albo, C., Perez-Pastrana, E., Vivo, A., and Portela, A. (2000) Influenza Virus protein is the major driving force in virus budding. J Virol. 74, 11538-11547.

35 Hamilton, A., Voinnet, O., Chappell, L. & Baulcombe, D. Two classes of short interfering RNA in RNA silencing. EMBO J. 21,4671-4679 (2002).

Höfgen, R. & Willmitzer, L. Storage of competent cells for Agrobacterium transformation. Nucleic Acid Res. 16, 9877 (1988).



- Harbury PB, Zhang T, Kim PS, Alber T. (1993) A switch between two-, three-, and four-stranded coiled coils in GCN4 leucine zipper mutants. *Science*; 262: 1401-1407).
- Horimoto T., Kawaoka Y. Strategies for developing vaccines against h5N1 influenza a viruses. *Trends in Mol. Med.* 2006; 12(11):506-514.
- 5 Huang Z, Elkin G, Maloney BJ, Beuhner N, Arntzen CJ, Thanavala Y, Mason HS. Virus-like particle expression and assembly in plants: hepatitis B and Norwalk viruses. *Vaccine*. 2005 Mar 7;23(15):1851-8.
- Johansson, B. E. (1999). Immunization with influenza A virus hemagglutinin and neuraminidase produced in recombinant baculovirus results in a balanced and broadened immune response superior to conventional vaccine. *Vaccine* 17, 2073-2080.
- 10 Latham, T., and Galarza, J. M. (2001). Formation of wild-type and chimeric influenza virus-like particles following simultaneous expression of only four structural proteins. *J. Virol*, 75,6154-6165. Lefebvre, B. et al. *Plant Physiol.* 144, 402-418 (2007).
- Leutwiler LS et al 1986. *Nucleic Acid Sresearch* 14910):4051-64
- Liu, L & Lomonosoff, G.P. Agroinfection as a rapid method for propagating Cowpea mosaic virus-based constructs. *J. Virol. Methods* 105, 343-348 (2002).
- 15 Macala, L.J., Yo, R.K. & Ando, S. *J Lipid Res.* 24, 1243-1250 (1983)
- Mattanovich, D., Rüker, F., da Câmara Machado, A., Laimer, M., Regner, F., Steinkellner, H., Himmler, G., and Katinger, H. (1989) Efficient transformation of *Agrobacterium* spp. By electroporation. *Nucl. Ac. Res.* 17, 6747.
- Mena, I., Vivo, A., Perez, E., and Portela, A. (1996) Rescue of synthetic chloramphenicol acetyltransferase RNA into influenza virus-like particles obtained from recombinant plasmids. *J. Virol.* 70, 5016-5024.
- 20 Mongrand S, Morel J, Laroche J, Claverol S, Carde JP, Hartmann MA et al.. Lipid rafts in higher plant cells. *The Journal of Biological Chemistry* 2004; 279(35): 36277-36286.
- Neumann, G., Watanabe, T., and Kawaoka, Y. (2000) Plasmid-driven formation of virus-like particles. *J. Virol.* 74, 547-551.
- 25 Nayak DP, Reichl U. (2004) Neuraminidase activity assays for monitoring MDCK cell culture derived influenza virus. *J Virol Methods* 122(1):9-15.
- Olsen, C. W., McGregor, M. W., Dybdahl-Sissoko, N., Schram, B. R. , Nelson, K. M., Lunn, D., Macklin, M. D., and Swain, W. F. (1997). Immunogenicity and efficacy of baculovirus-expressed and DNA-based equine influenza virus hemagglutinin vaccines in mice. *Vaccine* 15, 1149-1156.
- 30 Quan FS, Huang C, Compans RW, Kang SM. Virus-like particle vaccine induces protective immunity against homologous and heterologous strains of influenza virus. *Journal of Virology* 2007; 81(7): 3514-3524.
- Rowe, T. et al. 1999. Detection of antibody to avian influenza a (h5N1) virus in human serum by using a cmbiation of serologic assays. *J. Clin Microbiol* 37(4):937-43.
- Saint-Jore-Dupas C et al. 2007. From planta to pharma with glycosylation in the toolbox. *Trends in Biotechnology* 25(7):317-23
- 35 Sambrook J, and Russell DW. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor, N.Y. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
- Stockhaus J et al 1987. Analysis of cis-active sequences involved in the leaf-specific expression of a potato gene in transgenic plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.S.* 84(22):7943-7947.
- 40 Stockhaus J et al 1989. Identification of enhancer elements in the upstream region of the nuclear photosynthetic gene ST-LS1. *Plant Cell.* 1(8):805-13.
- Suzuki, Y. (2005) Sialobiology of influenza. Molecular mechanism of host range variation of influenza viruses. *Biol. Pharm. Bull* 28, 399-408.

Tsuji M., Cell. Mol. Life Sci., 63 (2006); 1889-1898

Wakefield L., G.G. Brownlee Nuc Acid Res. 17 (1989); 8569-8580.

Kendal, AP, Pereira MS, Skehel J. Concepts and procedures for laboratory-based influenza surveillance. Atlanta: CDC; 1982. p.B17-B35

- 5 WHO. Manual on animal influenza diagnosis and surveillance. Department of communicable disease surveillance and response. World Health Organisation Global Influenza Program. 2002.

Skehel JJ and Wildy DC Ann Rev Biochem 2000 69:531-69

Vaccaro L et al 2005. Biophysical J. 88:25-36.

- 10 Gamblin, S.J., Haire, L.F., Russell, R.J., Stevens, D.J., Xiao, B., Ha, Y., Vasisht, N., Steinhauer, D.A., Daniels, R.S., Elliot, A., Wiley, D.C., Skehel, J.J. (2004) The structure and receptor binding properties of the 1918 influenza hemagglutinin. Science 303: 1838-1842.

## REIVINDICACIONES

1. Un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una hemaglutinina de influenza (HA) en donde la secuencia de nucleótidos comprende un elemento regulador que es operativo en un vegetal, el elemento regulador comprende una región reguladora del Virus del Mosaico del Cauquí (CPMV).
- 5 2. El ácido nucleico de la reivindicación 1, en donde el HA comprende un péptido de señal natural o no natural.
3. El ácido nucleico de la reivindicación 2, en donde el péptido de señal no natural es un Péptido de señal de isomerasa de disulfuro de proteína.
4. El ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el HA es una influenza tipo A, una influenza tipo B, o es un subtipo de la influenza tipo A, seleccionado del grupo que consiste de H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 y H16, preferiblemente H1, H2, H3, H5, H6, H7 y H9.
- 10 5. El ácido nucleico de la reivindicación 1, en donde la secuencia de nucleótidos que codifica la hemaglutinina de influenza (HA) tiene 70%-100% de identidad de secuencia con la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46 o SEQ ID NO: 47.
- 15 6. Un método para producir partículas semejantes al virus de la influenza (VLP) en una planta que comprende:
  - a) introducir el ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en una planta, o parte de una planta, o
  - 20 a) proporcionar una planta, o una parte de una planta, que comprende el ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, y
  - b) incubar la planta o parte de la planta bajo condiciones que permiten la expresión del ácido nucleico, produciendo por lo tanto el VLP y opcionalmente,
  - c) cosechar la planta y purificar los VLP.
- 25 7. El método de la reivindicación 6, en donde en la etapa a), el ácido nucleico:
  - a) se expresa transitoriamente en la planta; o
  - b) se expresa establemente en la planta.
8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 7, en donde, en la etapa a), un segundo ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una o más de una de las proteínas chaperonas que se introducen en la planta, preferiblemente una o más de una de las proteínas chaperonas se selecciona del grupo que consiste de Hsp40 y Hsp70.
- 30 9. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 6-8, en donde el rango VLP tiene un tamaño de 80-300 nm.
10. Una planta que comprende el ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.
11. La planta de la reivindicación 10, que comprende adicionalmente un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una o más de una de las proteínas chaperonas ligadas operativamente a una región reguladora activa en una planta, preferiblemente una o más de una de las proteínas chaperonas se selecciona del grupo que consiste de Hsp40 y Hsp70.
- 35 12. Una partícula semejante a virus (VLP) producida por el método de una cualquiera de las reivindicaciones 6-8, que comprende una proteína de hemaglutinina (HA) del virus de influenza, el VLP varía en tamaño de 80-300 nm y
  - 40 a) uno o más de uno de los lípidos derivados de una planta; o

b) N-glucanos específicos de planta, o N-glucanos modificados.

13. Una composición que comprende una dosis efectiva del VLP de la reivindicación 12 para inducir inmunidad a un virus de influenza en un sujeto y un portador farmacéuticamente aceptable.

5 14. Una partícula semejante a virus como se reivindica en la reivindicación 12 o una composición como se reivindica en la reivindicación 13, para uso en inducción de inmunidad de una infección por virus de influenza en un sujeto.

15. La partícula semejante a virus o la composición de la reivindicación 14, en donde la partícula semejante a virus se prepara para administración al sujeto oralmente, intradérmicamente, intranasalmente, intramuscularmente, intraperitonealmente, intravenosamente, o subcutáneamente.

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATA  
 AAAGTTTAAGTTAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTAC  
 TACTGTTATAAATCATTATTAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAAC  
 AAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGTTGCAACATTTGAGAAAATTTTGTT  
 GTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAGAAAAAGGAAGAGGGAG  
 AATAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAA  
 ATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTT  
 AATTGCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAAT  
 TTTTGGCAAGTCATTA AAAAGAAAGAATAAATTATTTTTAAAATTAAAAGTTGAG  
 TCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAG  
 TTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCCT  
 ATATATTGCCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTCATAGATCAAATAA  
 GAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAA AAAAAACGGTATATTTACTAAA  
 AAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATAACATCCA  
 ATCCAACCAATCACAACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGCATC  
 TGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATTCTTCCACACATCTGAGCCACA  
 CAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAG  
 TCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAAT  
 TAATCATCTTGAGAGAAAATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTT  
ICTCTTCTTGTTGGTTCCTTCTCAGATCT

GAGCTCTAAGTTAAATGCTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTTATTG  
 TTAATTTTGTTCTTG TAGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATT  
 TGTATGAGATGAACTGGTGTAAATGTAATTCATTTACATAAGTGGAGTCAGAATC  
 AGAATGTTTCCTCCATAACTAACTAGACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTGTC  
 TTATATTTGAACAACATAAAATTGAACATCTTTTGCCACAACTTTATAAGTGGTTA  
 ATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTA  
 TCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAATACTACTAATTTTATATCATCCC  
 CTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 1A

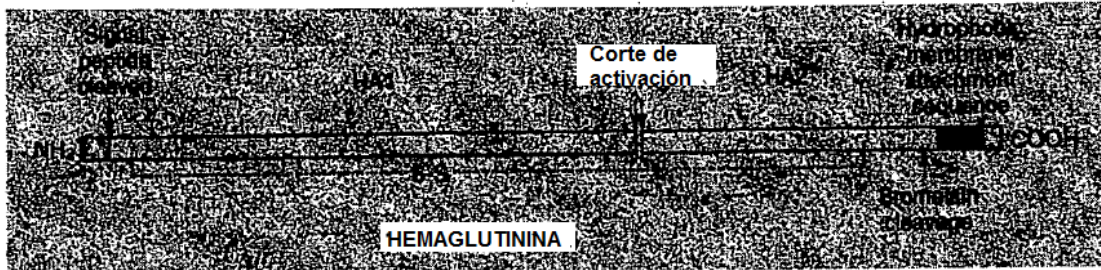


Fig. 1B

Fig. 2A

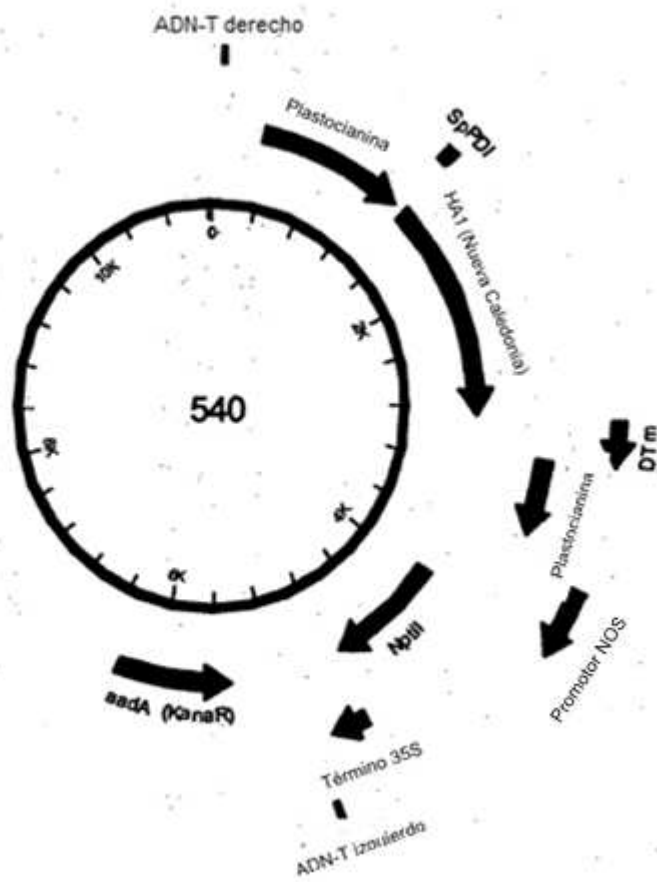


Fig. 2B

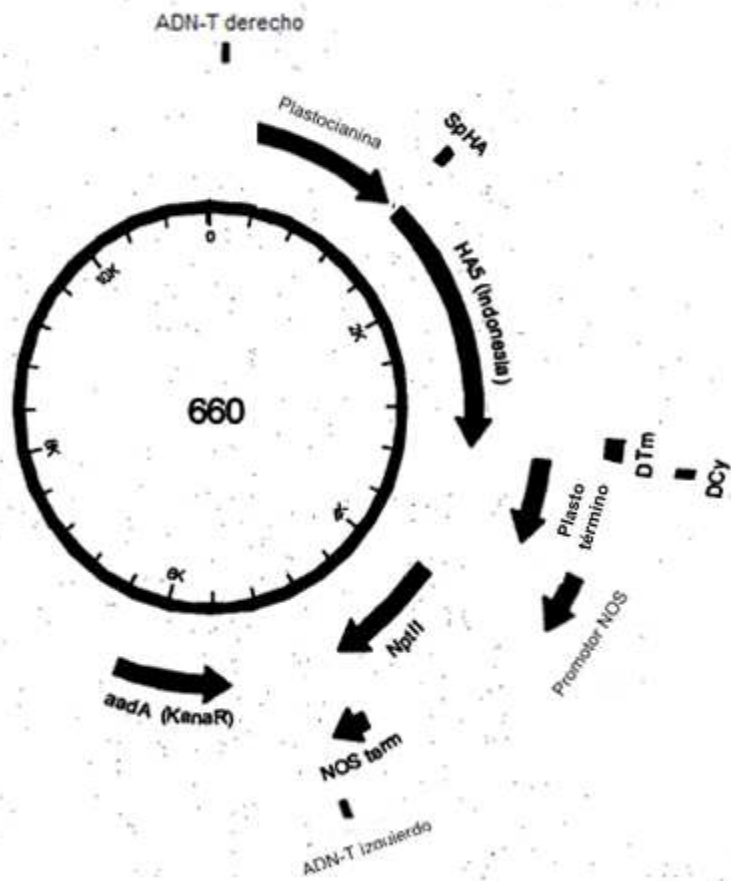




**Fig. 3A**

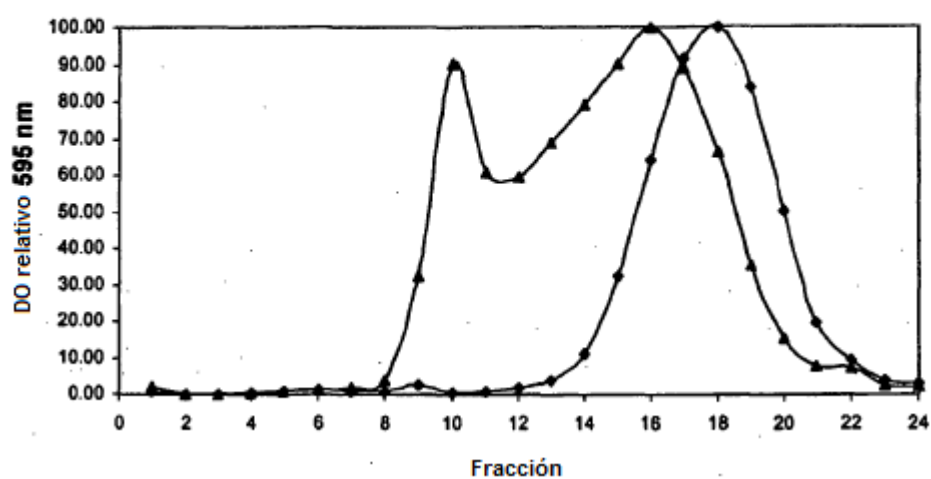


**Fig. 3B**

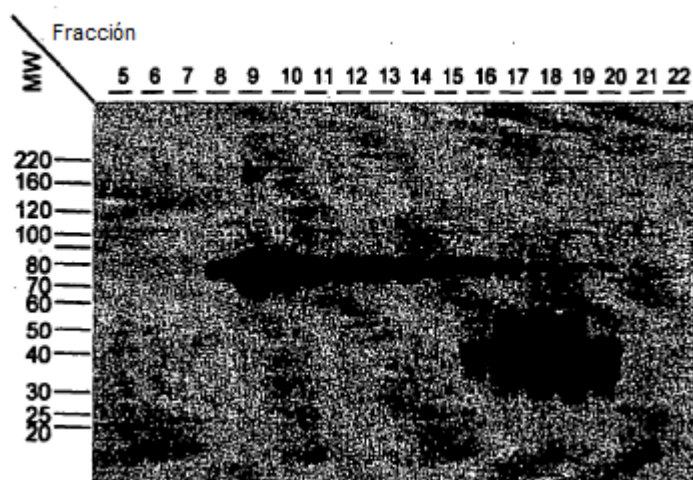


**Fig. 3C**

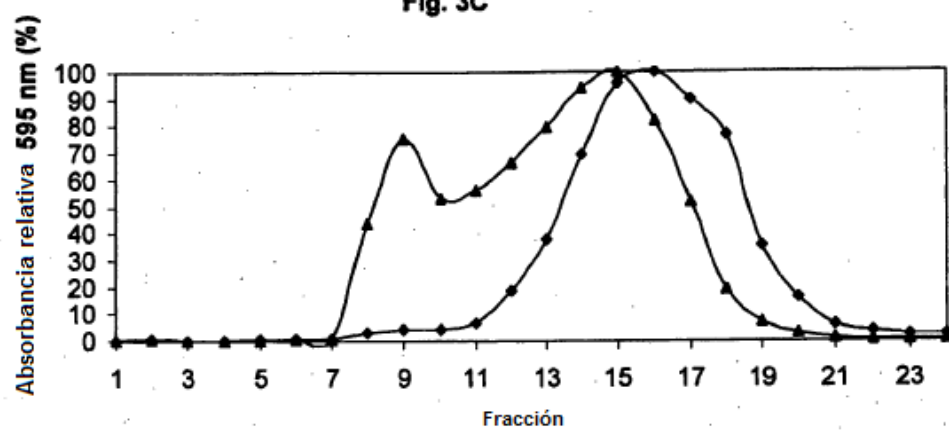


**Fig. 3D**

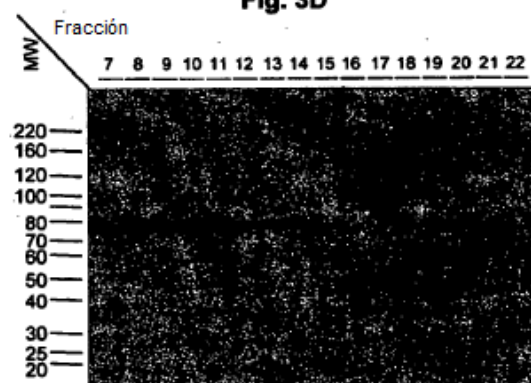


**Fig. 4A**

SEC ID NO.1

AGATCTTCGCTGACACAATATGTATAGGCTACCATGCCAACAACTCAACCGACACTGTTGACACAGTAC  
TTGAGAAGAATGTGACAGTGACACACTCTGTCAACCTACTTGAGGACAGTCACAATGGAAAACTATGTCT  
ACTAAAAGGAATAGCCCCACTACAATTGGGTAAATTGCAGCGTTGCCGGATGGATCTTAGGAAACCCAGA  
ATGCGAATTAAGTATTTCCAAGGAATCATGGTCCTACATTGTAGAAACACCAAATCCTGAGAATGGAACA  
TGTTACCCAGGGTATTTGCGCGACTATGAGGAAGTGAAGGAGCAATTGAGTTCAGTATCTTCATTTGAG  
AGATTGCGAAATATTTCCCAAAGAAAGCTCATGGCCCAACACACCGTAACCGGAGTATCAGCATCATGC  
TCCCATATGGGAAAAAGCAGTTTTTACAGAAATTTGCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTTGTACCCA  
AACCTGAGCAAGTCCTATGTAAACAACAAAGAGAAAGAAAGTCCTTGACTATGGGGTGTTCATCACCCG  
CCTAACATAGGGAACCAAAGGGCACTCTATCATACAGAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATT  
ATAGCAGAAGATTCACCCAGAAATAGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAGGAAGGAAGAATCAACT  
ACTACTGGACTCTGCTGGAACCTGGGGATACAATAATTTGAGGCAAATGGAAATCTAATAGCGCCAT  
GGTATGCTTTTGCACTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCACCTCAAATGCACCAATGGATGAAT  
GTGATGCGAAGTGTCAAACACCTCAGGGAGCTATAAACAGCAGTCTTCCTTTCCAGAATGTACACCCAG  
TCACAATAGGAGAGTGTCAAAGTATGTCAGGAGTGCAAAATTAAGGATGGTTACAGGACTAAGGAACA  
TCCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGGTTGGAGCCATTGCCGTTTCATTGAAGGGGGGTGGACTGGAA  
TGGTAGATGGGTGGTATGGTTATCATCATCAGAATGAGCAAGGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAA  
GTACACAAAATGCCATTAACGGGATTACAAACAAGGTCAATTCTGTAATTGAGAAAATGAACACTCAATT  
CACAGCTGTGGGCAAAGAGTTCAACAAATTTGAAAGAAGGATGGAAAACCTTAAATAAAAAAGTTGATGAT  
GGGTTTCTAGACATTTGGACATATAATGCAGAATTGTTGGTTCTACTGGAAAATGAAAGGACTTTGGATT  
TCCATGACTCCAATGTGAAGAATCTGTATGAGAAAAGTAAAAAGCCAATTAAAGAATAATGCCAAAGAAAT  
AGGAAACGGGTGTTTTGAGTTCTATCACAAGTGAACAATGAATGCATGGAGAGTGTGAAAAATGGTAC  
CTATGACTATCCAAATATTTCCGAAGAATCAAAGTTAAACAGGGAGAAAATTGATGGAGTGAAATTGGAA  
TCAATGGGAGTATACTAAGAGCTCAGGCCT

**Fig. 4B**

SEC ID NO. 2

GGTACCTATGACTATCCAAAATATTTCCGAAGAATCAAAGTTAAACAGGGAGAAAATTGATGGAGTGAAAT  
TGGAATCAATGGGAGTATACCAGATTCTGGCGATCTACTCAACTGTCGCCAGTTCCTGGTTCTTTGGT  
CTCCCTGGGGGCAATCAGCTTCTGGATGTGTTCCAATGGGTCTTTGCAGTGTAGAATATGCATCTAAGA  
GCTCAGGCCT

**Fig. 5**

HA0 de H1 (SEC ID NO:28)

AGATCTTCGCTGACACAATATGTATAGGCTACCATGCCAACAACTCAACCGACACTGTTGACA  
 CAGTACTTGAGAAGAATGTGACAGTGACACACTCTGTCAACCTACTTGAGGACAGTCACAATG  
 GAAACTATGTCTACTAAAAGGAATAGCCCCACTACAATTGGGTAATTGCAGCGTTGCCGGAT  
 GGATCTTAGGAAACCCAGAATGCGAATTACTGATTTCCAAGGAATCATGGTCCTACATTGTAG  
 AAACACCAAATCCTGAGAATGGAACATGTTACCCAGGGTATTTGCCGACTATGAGGAACTGA  
 GGGAGCAATTGAGTTCAGTATCTTCATTTGAGAGATTGAAATATTCCCCAAAGAAAGCTCAT  
 GGCCCAACCCACACCGTAACCGGAGTATCAGCATCATGCTCCCATAAATGGGAAAAGCAGTTTTT  
 ACAGAAATTTGCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTTGTACCCAAACCTGAGCAAGTCCTATG  
 TAAACAACAAAGAGAAAGAAGTCCTTGTACTATGGGGTGTTTCATCACCCGCCTAACATAGGGA  
 ACCAAAGGGCACTCTATCATACAGAAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATTATAGCAG  
 AAGATTCACCCAGAAATAGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAGGAAGGAAGAATCAACTA  
 CTACTGGACTCTGCTGGAACCTGGGGATACAATAATTTGAGGCAAATGGAAATCTAATAGC  
 GCCATGGTATGCTTTTGAAGTACAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCACCTCAAATGCACC  
 AATGGATGAATGTGATGCGAAGTGTCAAACACCTCAGGGAGCTATAAACAGCAGTCTTCCTTT  
 CCAGAATGTACACCCAGTCACAATAGGAGAGTGTCCAAAGTATGTCAGGAGTGCAAAATTAAG  
 GATGGTTACAGGACTAAGGAACATCCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGGAGCCATTGC  
 CGGTTTCATTGAAGGGGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGGTGGTATGGTTATCATCATCAGA  
 ATGAGCAAGGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAAGTACACAAAATGCCATTAACGGGATTA  
 CAAACAAGGTCAATTCTGTAATTGAGAAAATGAACACTCAATTCACAGCTGTGGGCAAGAGT  
 TCAACAAATTGGAAAGAAGGATGGAAAACCTAAATAAAAAAGTTGATGATGGGTTTCTAGACAT  
 TTGGACATATAATGCAGAATTGTTGGTTCTACTGGAAAATGAAAGGACTTTGGATTTCCATGAC  
 TCCAATGTGAAGAATCTGTATGAGAAAAGTAAAAAGCCAATTAAGAATAATGCCAAAGAAATAG  
 GAAACGGGTGTTTTGAGTTCTATCACAGTGTAACAATGAATGCATGGAGAGTGTGAAAAATG  
GTACCTATGACTATCCAAAATATTCCGAAGAATCAAAGTTAAACAGGGAGAAAAATTGATGGAG  
 TGAATTGGAATCAATGGGAGTATACCAGATTCTGGCGATCTACTCAACTGTCGCCAGTTCCC  
 TGGTTCTTTTGGTCTCCCTGGGGGCAATCAGCTTCTGGATGTGTTCCAATGGGTCTTGCAGT  
 GTAGAATATGCATCTAAGAGCTCAGGCCT

**Fig. 6**

SEC ID NO. 3

AAGCTTATGGAGAAAATAGTGCTTCTTCTTGCAATAGTCAGTCTTGTTAAAAGTGATCAGATTTGCATTGG  
 TTACCATGCAAACAATTCAACAGAGCAGGTTGACACAATCATGGAAAAGAACGTTACTGTTACACATGCC  
 CAAGACATACTGGAAAAGACACACAACGGGAAGCTCTGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTAATTTTA  
 AGAGATTGTAGTGTAGCTGGATGGCTCCTCGGGAACCCAATGTGTGACGAATTCATCAATGTACCGGAA  
 TGGTCTTACATAGTGGAGAAGGCCAATCCAACCAATGACCTCTGTTACCCAGGGAGTTTCAACGACTAT  
 GAAGAACTGAAACACCTATTGAGCAGAATAAACCATTTTGAGAAAATTCAAATCATCCCCAAAAGTTCTTG  
 GTCCGATCATGAAGCCTCATCAGGAGTTAGCTCAGCATGTCCATACCTGGGAAGTCCCTCCTTTTTTAGA  
 AATGTGGTATGGCTTATCAAAAAGAACAGTACATACCCAACAATAAAGAAAAGCTACAATAATACCAACCA  
 AGAGGATCTTTTGGTACTGTGGGGAATTCACCATCCTAATGATGCGGCAGAGCAGACAAGGCTATATCA  
 AAACCCAACCACCTATATTTCCATTGGGACATCAACACTAAACCAGAGATTGGTACCAAAAATAGCTACT  
 AGATCCAAAGTAAACGGGCAAAGTGGGAAGGATGGAGTTCTTCTGGACAATTTTAAACCTAATGATGCAA  
 TCAACTTCGAGAGTAATGGAAATTTCAATTGCTCCAGAATATGCATACAAAATTGTCAAGAAAGGGGACTC  
 AGCAATTATGAAAAGTGAATTGGAATATGGTAACTGCAACACCAAGTGTCAAACCTCAATGGGGGCGATA  
 AACTCTAGTATGCCATTCCACAACATACACCCTCTCACCATCGGGGAATGCCCAAATATGTGAAATCAA  
 ACAGATTAGTCCTTGCAACAGGGCTCAGAAATAGCCCTCAAAGAGAGAGCAGAAGAAAAAGAGAGGAC  
 TATTTGGAGCTATAGCAGGTTTTATAGAGGGAGGATGGCAGGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGGTACC  
 ACCATAGCAATGAGCAGGGGAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAATCCACTCAAAGGCAATAGATGGA  
 GTCACCAATAAGGTCAACTCAATCATTGACAAAATGAACACTCAGTTTGAGGCCGTTGGAAGGGAATTTA  
 ATAACCTTAGAAAGGAGAATAGAGAATTTAAACAAGAAGATGGAAGACGGGTTTCTAGATGTCTGGACTTA  
 TAATGCCGAACCTTCTGGTTCTCATGGAAAATGAGAGAATCTAGACTTTTCTGACTCAAATGTTAAGAAC  
 CTCTACGACAAGGTCCGACTACAGCTTAGGGATAATGCAAAGGAGCTGGGTAACGGTTGTTTCGAGTTC  
 TATCACAATGTGATAATGAATGTATGGAAAGTATAAGAAACGGAACGTACAACCTATCCGCAGTATTGAG  
 AAGAAGCAAGATTAAAAAGAGAGGAAATAAGTGGGGTAAATTTGGAATCAATAGGAACTTACCAAATACT  
 GTCAATTTATTCAACAGTGGCGAGTTCCTAGCACTGGCAATCATGATGGCTGGTCTATCTTTATGGATG  
 TGCTCCAATGGATCGTTACAATGCAGAATTTGCATTTAAGAGCTC

**Fig. 7A**

SEC ID NO. 4

5'-GTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTC-3'

**Fig. 7B**

SEC ID NO. 5

5'-GCAAGAAGAAGCACTATTTTCTCCATTTTCTCTCAAGATGATTA-3'

**Fig. 7C**

SEC ID NO. 6

5'-TTAATCATCTTGAGAGAAAATGGAGAAAATAGTGCTTCTTCTTGC-3'

**Fig. 7D**

SEC ID NO. 7

5'-ACTTTGAGCTCTTAAATGCAAATTCTGCATTGTAACGA-3'



**Fig. 8A**

HA1 secuencia peptidica (SEC ID NO:9)

**MKAKLLVLLCTFTATYADTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLED SHNGKLC LLKGIAPLQ  
LGNC SVAGWILGNPECELLISKESWSYIVETPNPENGTCYPGYFADYEELREQLSSVSSFERFEIFPK  
ESSWPNHVTGVSASCSHNGKSSFYRNLLWLTGKNGLYPNLSKSYVNNKEEVLVLWG VHHPPNI  
GNQRALYHTENAYVSVSSHYSRRFTPEIAKRPKVRDQEGRINYWTLEPGDTIIFEANGNLIAPWY  
AFALSRGFGSGIITSNAPMDECDKQTPQGAINSSLPFQNVHPVTIGECPKYVRS AKLRMVTGLRNI  
PSIQSRGLFGAIAGFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGSYAADQKSTQNAINGITNKVNSVIEKMN  
TQFTAVGKEFNKLERRMENLNKKVDDGFLDWTYNAELLVLENER TLD FHD SNVKNLYEKVKSQ LK  
NNAKEIGNGC FE FYHKCNNECMESVKNGT YDYPKYSEESKLNREKIDGVKLES MG VYQILAIYSTVA  
SSLVLLVSLGAISFWMC SNGSLQCRIC I\***

**Fig. 8B**

HA5 secuencia peptidica (SEC ID No: 10)

**MEKIVLLLAIVSLVKSDQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVTHAQDILEKTHNGKLC DLDGVKPLILR  
DCSVAGWLLGNPMCDEFINVPEWSYIVEKANPTNDLCYPGSFNDYEELKHLLSRINHF EKIQIIPKSS  
WSDHEASSGVSSACPYLGSPSFFRNVVWLIKKNSTYPTIKKSYNNTNQEDLLVLWG IHPNDAAEQ  
TRLYQNPTTYISIGTSTLNQRLVPKIATRSKVNGQSGRMEFFWTILKPNDAINFESNGNFIAP EYAYKI  
VKKGDSAIMKSELEYGNCNTKCQTPMGAINSSMPFHNIHPLTIGECPKYVKS NRVLATGLRNSPQR  
ESRRKKRGLFGAIAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQSGSYAADKESTQK AIDGVTNKVNSIIDK  
MNTQFEAVGREFNLERRIENLNKKMEDGFLDWVWTYNAELLVLMENERTLD FHD SNVKNLYDKVRL  
QLRDNAKELGNGCFE FYHKCDNECMESIRNGTYNYPQYSEEARLKREEISGVKLESIGTYQILSIYST  
VASSLALAIMMAGLSLWMCSNGSLQCRIC I\***

**Fig. 9****Subtipo H7 (SEC ID NO:11)**

>BHB940420 | gb:AF071776 | Símbolo: HA | Nombre: precursor de  
hemaglutinina | Organismo: Virus de la influenza A A/ pollo/Nueva  
York/1995 | Cromosoma: 4 | Subtipo: H7 | Huésped: Aviar

GACAAAATATGTCTTGGGCACCATGCTGTGGCAAATGGAACAAAAGTGAACACATTAACAGAGAGGGGGA  
TTGAAGTAGTGAACGCCACAGAGACGGTGGAACTGCGAATATCAAGAAAATATGTATTCAAGGGAAAAG  
GCCAACAGATCTGGGACAATGTGGACTTCTAGGAACCTAATAGGACCTCCCAATGTGATCAATTCCCTG  
GAGTTTTACTCTGATTGATAATTGAGCGAAGAGAAGGAACCGATGTGTGCTATCCCGGTAAATTCACAA  
ATGAAGAATCACTGAGGCAGATCCTTCGAGGGTCAGGAGGAATTGATAAGGAGTCAATGGGTTTCACCTA  
TAGTGGAATAAGAACCAATGGAGCGACAAGTGCCTGCAAAAGATCAGGTTCTTCTTCTATGCAGAGATG  
AAGTGGTTGCTGTGCAATTCAGACAATGCGGCATTCCCTCAAATGACAAAGTCGTATAGAAATCCCAGAA  
ACAAACCAGCTCTGATAATTGGGGAGTTTATCACTCTGGATCGGTTAGCGAGCAGACCAACTCTATGG  
AAGTGGAAACAAGTTGATAACAGTAGGAAGCTCAAAATACCAGCAATCATTACCCCAAGTCCGGGAGCA  
CGGCCACAAGTGAATGGACAATCAGGGAGAATCGATTTTCACTGGCTACTCCTTGATCCCAATGACACAG  
TGACCTTCACTTTCAATGGGGCATTATAGCCCTGACAGGGCAAGTTTCTTTAGAGGAGAATCACTAGG  
AGTCCAGAGTGATGTTCCCTCTGGATTCTAGTTGTGGAGGGGATTGCTTTCACAGTGGGGGTACGATAGTC  
AGTTCCTGCCATTCCAAAACATCAACCCTAGAACTGTGGGGAGATGCCCTCGGTATGTCAAACAGACAA  
GCCTCCTTTTGGCTACAGGAATGAGAAATGTTCCAGAGAATCCAAAGCCCAGAGGCCTTTTGGAGCAAT  
TGCTGGATTATAGAGAATGGATGGGAGGGTCTCATCGATGGATGGTATGGTTTCAGACATCAAAATGCA  
CAAGGGGAAGGAACTGCAGCTGACTACAAAAGCAGCAATCTGCAATAGATCAGATCACAGGCAAAATTGA  
ATCGTCTGATTGACAAAACAAATCAGCAGTTTGTAGCTGATAGACAATGAGTTCAATGAGATAGAACAAACA  
AATAGGAAATGTCAATTAATTGGACACGAGACGCAATGACTGAGGTATGGTCGTATAATGCTGAGCTGTTG  
GTGGCAATGAAAATCAGCATACAATAGATCTTGCAGGACTCAGAAATGAACAACTTTATGAGCGTGTC  
GAAAACAATAAGGGAGAATGCTGAAGAAGATGGAAGTGGATGTTTGTAGATATTCCATAAGTGTGATGA  
TCAGTGCATGGAGAGCATAAGGAACAACACTTATGACCATACTCAATACAGAACAGAGTCATTGCAGAAT  
AGAATACAGATAGACCCAGTGAATTTAGTAGTGGATACAAAGACATAATCTTATGGTTTAGCTTCGGGG  
CATCATGTTTCTTCTTCTAGCCGTTGTAATGGGATTGGTTTTTCATTTGCATAAAGAATGGAAACATGCG  
GTGCACCATTTGTATATAA



Fig. 10A

**Subtipo H2 (SEC ID NO:12)**

>gi|408516|gb|L11132.1|FLADE88HA Virus de la influenza A (A/arenque gaviota/DE/677/88 (H2N8)) gen de hemaglutinina (HA), cds completos

```

AGCAAAAGCAGGGGTTATACCATAGACAACCAAAGGCAAGACAATGGCCATCATTATCTAATTCTTCTG
TTCACAGCAGTGAGAGGGGACCAAATATGCATTGGATACCATTCCAACAATCCACAGAAAAGGTTGACA
CAATCCTAGAGAGAAATGTCACTGTGACTCAGCTGAGGACATTCTTGAGAAGACTACAATGGGAAGTT
ATGCAAACTAAATGGAATCCCTCCACTTGAATTAAGGGATTGCAGCATTGCCGGATGGCTCCTTGGAAT
CCAGAATGTGATATACTTCTAACTGTGCCAGAATGGTCATACATAATAGAAAAAGAAAATCCAAGGAACG
GCTTGTGCTACCCAGGCAGTTTCAATGATTATGAAGAATTGAAGCATCTTATCAGCAGCGTGACACATTT
TGAGAAAGTAAAGATTCTGCCAGAAATGAATGGACACAGCATAACAACACTGGAGGTTACAGGCTTGC
GEAGACTATGGTGGTCCGTCAATTCTCCGGAACATGGTCTGGTTGACAAAGAAAGGGTCGAATTATCCAA
TTGCCAAAAGATCTTACAACAATACAAGTGGGGAACAAATGCTGATCATTGGGGGATACATCACCCCAA
TGATGAAAGTGAACAAAGAGCATTGTATCAGAATGTGGGGACCTATGTGTGTCAGTAGGAACATCAACACTG
AACAAAAGATCATCCCCAGAAATAGCAACAAGACCTAAAGTGAATGGACAAGGAGGCAGAATGGAATTCT
CGTGGACTATCTTAGATATATGGGACACAATAAATTTTGAGAGTACTGGCAATCTAATTGCACCAGAATA
TGGTTTCAAATATCCAAACGAGGTAGTTTCAGGGATCATGAAAACAGAAGGAAAACCTTGAAAACCTGCGAG
ACCAAGTGCCAAACTCCTTTGGGAGCAATAAATACAACATTACCCTTTACAATATCCACCCACTGACCA
TTGGTGAGTGCCCCAAATATGTAAATCGGAAAGATTAGTCTTAGCAACAGGACTAAGAAACGTCCCTCA
GATTGAGTCAAGGGGATTGTTTGGGGCAATAGCTGGTTTTATAGAGGGTGGATGGCAAGGAATGGTTGAT
GGTTGGTATGGGTATCATCACAGCAATGACCAGGGATCTGGGTATGCAGCAGACAAAGAATCCACTCAAA
AGGCAATTGATGGAATCACCAACAAGGTAAATCTGTGATCGAAAAGATGAACACCCAATTCGGAGCTGT
TGGAAGAAGATTGAGTAACCTGGAGAGAAGACTGGAGAACCTGAATAAAAAGATGGAGGACGGATTTCTA
GATGTGTGGACATACAATGCCGAGCTCCTAGTTCTAATGGAAAATGAGAGGACACTTGACTTTCATGATT
CTAATGTCAAGAATCTATATGATAAAGTCAGAATGCAACTGAGAGACAATGCAAAAGAACTAGGGAATGG
ATGTTTTGAATTTTATCACAAATGTGATGATGAATGCATGAACAGTGTGAAGAATGGGACATATGATTAT
TCCAAGTATGAAGAGGAGTCTAACTAAACAGGACTGAAATCAAAGGGGTTAAATTGAGCAATATGGGGG
TTTATCAATCCTTGCCATCTATGCTACAGTAGCAGGTTCCCTGTCACTGGCAATCATGATAGCTGGGAT
TTCTATATGGATGTGCTCCAACGGGTCTCTGCAATGCAGAATCTGCATATGATCATCAGTCATTTGTAA
TTAAAAACACCCTTGTTTCTACT

```

**Fig. 10B****Subtipo H3 (SEC ID NO:13)**

>BHB2107299|gb:EF473574| Simbolo: HA|Nombre: hemagglutina| Organismo: Virus de la  
 influenza A A/Texas/32/2003|Segmento: 4|Subtipo: H3|Huésped: Humano

CAAAAACCTCCCGGAAATGACAACAGCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGGAA  
 CGATAGTGAAAACAATCACGAATGACCAAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTACAGAGTTCCTC  
 AACAGGTGGAATATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTTGATGGAGAAAACCTGCACACTAATAGATGCTCTA  
 TTGGGAGACCCCTCAGTGTGATGGCTTCCAAAATAAGAAATGGGACCTTTTTGTTGAACGCAGCAAAGCCT  
 ACAGCAACTGTTACCCTTATGATGTGCCGATTATGCCTCCCTTAGGTCACTAGTTGCCTCATCCGGCAC  
 ACTGGAGTTTAAACAATGAAAGCTTCGATTGGACTGGAGTCACTCAGAATGGAACAAGCTCTGCTTGCAAA  
 AGGAGATCTAATAAAAAGTTTCTTTAGTAGATTGAATTGGTTGACCCACTTAAAATACAAATACCCAGCAT  
 TGAACGTGACTATGCCAAACAATGAAAAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTTACCACCCGGGTAC  
 GGACAGTGACCAAATCAGCCTATATGCTCAAGCATCAGGAAGAATCACAGTCTCTACCAAAAAGAAGCCAA  
 CAACTGTAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGGGTAAGGGATGTCTCCAGCCGAATAAGCATCTATT  
 GGACAATAGTAAAACCGGGAGACATACTTTTGATTAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTCGGGGTTA  
 CTTCAAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAATTCCGAA  
 TGCATCACTCCAAATGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTTCAAAATGTAAACAGGATCACATATGGGG  
 CCTGTCCCAGATATGTTAAGCAAAACACTCTGAAATTGGCAACAGGGATGCGAAATGTACCAGAGAAACA  
 AACTAGAGGCATATTTGGCGCAATCGCGGGTTTCATAGAAAATGGTTGGGAGGGGAATGGTGGACGGTTGG  
 TACGGTTTCAGGCATCAAAATTCTGAGGGCACAGGA

**Fig. 10C**

**Subtipo H4 (SEC ID NO:14)**

>BHB1050162|gb:DQ021859|Símbolo:HA|Nombre: hemaglutinina|Organismo: Virus de la Influenza A A/ánade real /MN/33/00|Segmento: 4|Subtipo: H4|Huésped: Aviar

ATGCTATCAATCACGATTCTGTTTCTGCTCATAGCAGAGGGTTCCTCTCAGAATTACACAGGGAATCCCG  
TGATATGCCTGGGACATCATGCCGTATCCAATGGGACAATGGTGAAAACCTGACTGATGACCAAGTAGA  
AGTTGTCACTGCCCCAAGAATTAGTGGAATCGCAACATCTACCGGAGTTGTGTCTAGCCCTTTAAGATTA  
GTAGATGGACAACTTGTGACATCGTCAATGGTGCCTTGGGGAGTCCAGGCTGTGATCACTTGAATGGTG  
CAGAAATGGGATGTCTTCATAGAACGACCCACTGCTGTGGACACTTGTTATCCATTTGATGTGCCGGATTA  
CCAGAGCCTACGGAGTATCCTAGCAAACAATGGGAAATTTGAGTTCATTGCTGAGGAATCCAATGGAAC  
ACAGTCAAACAAAATGGGAAATCCGGAGCATGCAAAAGAGCAAATGTGAATGACTTTTTCAACAGATTGA  
ACTGGCTGACCAAATCTGATGGGAATGCATACCCACTTCAAAACCTGACAAAGGTTAACAACGGGGACTA  
TGCAAGACTTTACATATGGGGAGTTCATCATCCTTCAACTGACACAGAACAACCAACTTGTATAAGAAC  
AACCCTGGGAGAGTAACGTGTTCCACCAAAACAGTCAAACAAGTGTGGTACCAAACATTGGCAGTAGAC  
CATGGGTAAGAGGCCAAAGCGGCAGGATTAGCTTCTATTGGACAATTGTGGAGCCAGGAGACCTCATAGT  
CTTCAACACCATAGGGAATTTAATTGCTCCGAGAGGTCATTACAAGCTTAACAGTCAAAGAAGAGCACA  
ATTCTGAATACTGCAATCCCATAGGATCTTGTGTTAGTAAATGTCACACAGATAGGGGTTCAATCTCTA  
CAACCAAACCTTTTCAGAACATCTCAAGAATATCAATTGGGGACTGTCCCAAGTATGTCAAACAGGGATC  
CTTGAAACTAGCTACAGGAATGAGGAATATCCCTGAGAAAGCAACCAGAGGCCTGTTTGGTGCAATTG

**Fig. 10D**

**Subtipo H5 (SEC ID NO:15)**

>BHB950029|gb:AF501235|Simbolo :HA|Nombre: hemaglutinina| Organismo: Virus de la Influenza A  
A/pato /Shanghai/1/2000|Segmento :4| Subtipo :H5| Huésped: Aviar

ATGGAGAAAATAGTGCTTCTTCTTGCAATAGTCAGTCTTGTTAAAAGTGATCAGATTGCAATTGGTTACC  
ATGCAAAACAACTCGACAGAGCAGGTTGACACAATAATGGAAAAGAACGTTACTGTTACACATGCCCAAGA  
CATACTGGAAAAGACACACAACGGGAACTCTGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTAATTTTGAGAGAT  
TGTAAGTGTAGCTGGATGGCTCCTCGGAAACCTATGTGTGACGAATT CATCAATGTGCCGGAATGGTCTT  
ACATAGTGGAGAAGGCCAGTCCAGCCAATGACCTCTGTTACCCAGGGGATTTCACGACTATGAAGAACT  
GAAACACCTATTGAGCAGAATAAACCACTTTGAGAAAATTCAGATCATCCCCAAAAGTTCTTGGTCCAAT  
CATGAAGCCTCATCAGGGGTGAGCGCAGCATGTCCATACCATGGGAAGCCCTCCTTTTTCAGAAATGTGG  
TATGGCTTATCAAAAAGAACAGTGCATACCCAACAATAAAGAGGAGCTACAATAATACCAACCAAGAAGA  
TCTTTTGGTACTGTGGGGGATTACCATCCTAATGATGCGGCAGAGCAGACAAAGCTCTATCAAAACCCA  
ACCACCTATATTTCCGTTGGAACATCAACACTAAACAGAGATTGGTCCCCAAAATAGCTACTAGATCCA  
AAGTAAACGGGCAAAGTGAAGAATGGAGTTCTTCTGGACAATTTTAAAGCCGAATGATGCCATAAATTT  
CGAGAGTAATGGAAATTTCAATTGCTCCAGAATATGCATACAAAATTTGTCAGAAAAGGGGACTCAGCAATT  
ATGAAAAGTGAATTGGAATATGGTAACTGCAACACCAAGTGTCAAACCTCCAATGGGGCGGATAAACTCTA  
GTATGCCATTCCACAACATACACCTCTCACAAATCGGGGAATGCCCAATATGTGAAATCAAACAGATT  
AGTCCTTGCGACTGGACTCAGAAATACCCCTCAAAGAGATAGAAGAAGAAAAAGAGAGGACTATTTGGA  
GCTATAGCAGGTTTTATAGAGGGAGGATGGCAAGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGGTACCACCATAGCA  
ATGAGCAGGGGAGTGGATACGCTGCAGACAAAGAAATCCAATCAAAGGCAATAGATGGAGTCAACCAATAA  
GGTCAACTCGATCATTGACAAAATGAACACTCAGTTTGAGGCCGTTGGAAGGGAATTTAATAACTTAGAA  
AGGAGGATAGAAAATTTAAACAAGAAGATGGAAGACGGATTCTTAGATGTCTGGACTTATAATGCTGAAC  
TTCTGGTTCTCATGAAAATGAGAGAACTCTAGACTTTTATGATTCAAATGTCAAGAACCTTTACAACAA  
GGTCCGACTACAGCTTAGGGATAATGCAAGGAGCTGGGTAATGGTTGTTTTCGAGTTCTATCAGAAATGT  
GATAATGAATGTATGGAAAGTGTAAAAACGGGACGTATGACTACCCGAGTATTCAGAAGAAGCAAGAC  
TAAACAGAGAGGAAATAAGTGGAGTAAATTTGGAATCAATGGGAACCTTACCAATACTGTCAATTTATTC  
AACAGTGGCGAGTTCCCTAGCACTGGCAATCATGGTAGCTGGTCTATCTTTATGGATGTGCTCCAATGGG  
TCGTTACAATGCAGAAATTTGCATTTAA



**Fig. 10E**

**Subtipo H6 (SEC ID NO:16)**

>BHB1049778|gb:DQ021667| Símbolo :HA|Nombre: hemaglutinina| Organismo: Virus de la Influenza  
A Virus A/ánade rabudo /TX/828189/02|. Segmento : 4 |Subtipo : H6| Huésped: Aviar

ATGATTGCAATCATTGTAATAGCGATACTGGCAGCAGCCGGAAAGTCAGACAAGATCTGCATTGGGTATC  
ATGCCAACAATTCAACAACACAGGTGGATACGATACTTGAGAAGAATGTAACCGTCACACACTCAGTTGA  
ATTGCTGGAGAATCAGAAGGAAGAAAGATTCTGCAAGATCTTGAACAAGGCCCTCTCGACCTAAAGGGA  
TGCACCATAGAGGGTTGGATCTTGGGGAATCCCAATGCGATCTGTTGCTTGGTGACCAAAGCTGGTCAT  
ATATAGTGGAAGACCTACTGCCAAAATGGGATATGCTACCCAGGAGCTTTGAATGAGGTAGAAGAACT  
GAAAGCATTATCGGATCAGGAGAAAGGGTAGAGAGATTTGAGATGTTTCCCAAAGCACATGGGCAGGG  
GTAGACACCAGCAGTGGGGTAACAAAAGCTTGTCCTTATAATAGTGGTTCATCTTTCTACAGAAACCTCC  
TATGGATAATAAAGACCAAGTCAGCAGCGTATCCAGTAATTAAGGGAACTTACAGCAACACTGGAAACCA  
GCCAATCCTCTATTTCTGGGGTGTGCACCATCCTCCTGACACCAATGAGCAAAATACTCTGTATGGCTCT  
GGCGATCGGTATGTTAGGATGGGAACTGAGAGCATGAATTTTGCCAAGAGCCCAGAAATTGCGGCAAGAC  
CCGCTGTGAATGGCCAAAGAGGTGGAATTGATTATTACTGGTCTGTTTTAAACCAGGAGAAACCTTGAA  
TGTGGAATCTAATGGAAATCTAATCGCTCCTTGGTATGCATACAAATTTGTCAACACAAATAATAAGGGA  
GCCGTCTTCAAGTCAAATTTACCAATCGAGAATTGCGATGCCACATGCCAGACTATTGCAGGAGTCTTAA  
GGACCAATAAAACATTTAGAAATGTGAGCCCTCTGTGGATAGGAGAATGCCCAAGTATGTGAAAAGTGA  
AAGTCTAAGGCTTGCTACTGGACTAAGAAATGTTCCACAGATTGAAACCAAGAGGGCTTTTCGGAGCTATC

**Fig. 10F**

**Subtipo H8 (SEC ID NO:17)**

>gi|221317|dbj|D90304.1|FLAH8N4 Virus de la Influenza A  
(A/Pavo/Ontario/6118/68 (H8N4)) gen para precursor de hemaglutinina, cds completos

```

ATGGA AAAATTCATCGCAATAGCAACCTTGGCGAGCACAAATGCATACGATAGGATATGCATTGGGTACC
AATCAAACAACTCCACAGACACAGTGAACACTCTCATAGAACAGAATGTACCAGTCACCCAAACAATGGA
GCTCGTGGAAACAGAGAAACATCCCGCTTATTGTAACACTGATTTAGGTGCCCCATTGGAACTGCGAGAC
TGCAAGATTGAGGCAGTAATCTATGGGAACCCCAAGTGTGACATCCATCTGAAGGATCAAGGTTGGTCAT
ACATAGTGGAGAGGCCAGCGCACCAGAAAGGGATGTGTTACCCTGGATCTGTGGAAAATCTAGAAGAACT
GAGGTTTGTCTTCTCCAGTGCATCTTACAAGAGAATAAGACTATTTGACTATTCCAGGTGGAATGTG
ACTAGATCTGGAACGAGTAAAGCATGCAATGCATCAACAGGTGGCCAATCCTTCTATAGGAGCATCAATT
GGTTGACCAAAAAGGAACAGACACTTATGACTTCAATGAAGGAGCTTATGTTAATAATGAAGATGGAGA
CATCATTTTCTTATGGGGGATCCATCATCCGCCGGACACAAAAGAGCAGACAACACTATATAAAAAATGCA
AACACTTTGAGTAGTGTACTACTAACACTATAAACAGAAGCTTTCAACCAATATTGGTCCCAGACCAT
TAGTAAGAGGACAGCAAGGGAGGATGGATTACTATTGGGGCATTCTGAAAAGAGGGGAGACTCTGAAGAT
CAGGACCAACGGAAATTTAATCGCACCTGAATTTGGCTATCTGCTCAAAGGTGAAAGCTACGGCAGAATA
ATTCAAATGAGGATATACCCATCGGGAAGTGTAACACAAAATGTCAAACATATGCGGGAGCAATCAATA
GCAGCAAAACCTTTTCAAGATGCAAGTAGGCATTACATGGGAGAATGTCCCAATATGTGAAGAAGGCAAG
CTTGCGACTTGCAAGTTGGGCTTAGGAATACGCCTTCTGTTGAACCCAGAGGACTGTTTGAGGCCATTGCT
GGTTTCATTGAAGGAGGATGGTCTGGAATGATTGATGGGTGGTATGGATTTTCATCACAGCAATTCAGAGG
GAACAGGAATGGCAGCTGACCAGAAATCAACACAAGAAGCCATCGATAAGATCACCAATAAAGTCAACAA
TATAGTTGACAAGATGAACAGGGAGTTTGAAGTTGTGAATCATGAGTTCTCTGAAGTTGAAAAAGAATA
AACATGATAAACGATAAAATAGATGACCAAATTGAAGATCTTTGGGCTTACATGCAGAGCTCCTTGTGC
TCTTAGAGAACCGAAAAACGCTAGACGAACATGATTCCAATGTCAAAAACCTTTTGTGTAAGTGAAGAG
GAGACTGTCAGCCAATGCAATAGATGCTGGGAACGGTTGCTTTGACATACTTCACAAATGCGACAAATGAG
TGTATGGAACCTATAAAGAACGGAACCTTACGATCATAAGGAATATGAAGAGGAGGCTAAACTAGAAAGGA
GCAAGATAAATGGAGTAAACTAGAAAGAGAACACCACTTACAAAATTTCTAGCATTTACAGTACAGTGGC
GGCCAGTCTTTGCTTGGCAATCCTGATTGCTGGAGGTTTAAATCCTGGGCATGCAAAATGGATCTTGTAGA
TGCATGTTCTGTATTGA

```

**Fig. 10G****Subtipo H9 (SEC ID NO:18)**

>BHB954830|gb:AM087218|Simbolo: HA|Nombre: hemaglutinina|Organismo: Virus de la Influenza A  
A/pato cuchara/Irán./G54/03|Segmento: 4|Subtipo: H9|Huésped: Aviar

ATGGAAACAGTATCACTAATGACTATACTACTAGTAGCAACAGCAAGCAATGCAGACAAAATCTGCATCG  
GCCACCAAGTCAACAACTCCACAGAACTGTGGACACGCTAACAGAAACCAATGTTCCCTGTGACACATGC  
CAAAGAATTGCTCCACACAGAGCACAAATGGAATGCTGTGTGCAACAAATCTGGGACATCCCCTAATCTTA  
GACACGTGCACTATTGAAGGACTGATCTATGGTAACCCCTTCTTGTGACTTGCTGTTGGGAGGAAGAGAAT  
GGTCCTACATCGTCGAAAGGTCATCAGCTGTAATGGAACGTGTTACCCTGGGAATGTAGAGAACCTAGA  
GGAAGTCAAGGACACTTTTTAGTTCGCTAGTTCCTACCGAAGAATCCAAATCTTCCCAGACACAATCTGG  
AATGTGACTTACACTGGAACAAGCAAAGCATGTTCAAGATTCACTTCTACAGGAGTATGAGATGGCTGACTC  
AAAAAAGCGGGTCTTACCCTGTTCAAGACGCTCAATACACAAATAATATGGGAAAGAGCATTCTTTTCGT  
GTGGGGCATACATCACCCACCCACTGAAGCTGCACAGACAAATTTGTACACAAGAACCAGACACAACAACA  
AGCGTGACAACAGAAAGACTTAAATAGGATCTTCAAACCGATGGTAGGGCCAGGCCCTTGTCAATGGTC  
TGCAGGGAAGAATTAATTATTATTGGTCGGTACTAAAACCAGGCCAGACACTGCGAGTAAGATCCAATGG  
GAATCTAATTGCTCCATGGTATGGACACATTCTTTCGGGAGGGAGCCATGGAAGAATCCTGAAGACTGAT  
TTAAAAAGTAGTAATTGCGTAGTGCAATGTCAGACTGAAAAAGGCGGCTTAAACAGTACATTGCCGTTCC  
ACAATATCAGTAAATATGCATTTGGAACTGTCCCAAATATGTTAGAGTTAAAAGTCTCAAAGTGGCAGT  
AGGGTTGAGGAACGTGCCTGCTAGATCAAGTAGAGGACTATTCGGAGCCATAGCTGGATTATAGAAAGGA  
GGTTGGCCAGGACTAGTCGCTGGTGGTATGGTTTCCAGCATTCAAATGATCAAGGGGTGGTATTGCGG  
CAGATAGGGATTCAACTCAAAAGGCAATTGATAGAATAACAACCAAGGTGAATAATATAGTCGACAAAAT  
GAACAAACAATATGAAATAATTGATCATGAATCAGTGAGGTTGAACTAGGCTCAACATGATCAATAAT  
AAGATTGATGACCAAATACAAGACATATGGGCATATAATGCAGAGTTGCTAGTACTACTTGAACCAGA  
AAACACTCGATGAGCATGACGCAATGTGAAGA

**Fig. 10H****Subtipo H10 (SEC ID NO:19)**

>gi|324365|gb|M21647.1|FLAMS84HA Virus de la influenza A  
(A/pollo/Alemania/N/1949 (H10N7)) precursor de hemagglutinina,  
gen, cds completos

```
AGCAAAAGCAGGGGTCACAATGTACAAAGTAGTAGTAATAATTGCGCTCCTTGGAGCAGTGAAAGGTCTT
GACAGAATCTGCCTAGGACACCATGCGGTTGCCAATGGAACCATTGTGAAGACCCCTACAAATGAACAAG
AGGAAGTGACCAATGCTACTGAGACGGTAGAGAGCACAAATTTGAATAAATTGTGTATGAAAGGAAGAAG
CTACAAGGACTTGGGCAATTGTCAACCCGGTAGGAATGTTGATAGGAACACCTGTTTGTGATCCGCACTTG
ACCGGGACCTGGGACACTCTCATTGAGCGAGAGAATGCCATTGCCCACTGTTATCCAGGGGCAACCATAA
ATGAAGAAGCATTGAGGCAGAAAATAATGGAAAGTGGAGGAATCAGCAAGATGAGCACTGGCTTCACTTA
TGGGTCTTCCATCACCTCAGCTGGGACCACTAAGGCATGCATGAGAAATGGAGGAGATAGTTTCTATGCA
GAGCTCAAATGGCTAGTGTCAAAGACAAAGGGACAAAATTTCCCTCAGACAACAAACACCTATCGGAATA
CGGACACAGCAGAACATCTCATAATATGGGGAATTCATCACCCCTTCCAGCACACAGGAAAAGAATGACTT
ATACGGAACCTCAGTCACTATCTATATCAGTTGAGAGTTCTACATATCAGAACAACCTTTGTTCCAGTTGTT
GGGGCAAGACCTCAGGTCAATGGACAAAGTGGGCGAATTGACTTTCACTGGACACTAGTACAGCCGGGTG
ACAACATAACCTTCTCAGACAATGGAGGTCTAATAGCACCAGTCGAGTTAGCAAATTAAGTGAAGGGA
TTTGGGAATCCAATCAGAAGCGTTGATAGACAACAGTTGTGAATCCAAATGCTTTTGGAGAGGGGGTTCT
ATAAATACAAAGCTCCCTTTTCAAATCTGTCAACCCAGAACAGTAGGTCAATGCCCCAAATACGTAAATC
AGAGGAGTTTACTGCTTGCAACAGGGATGAGGAATGTGCCAGAAGTGGTGCAGGGAAGGGGTCTGTTTGG
TGCAATAGCAGGGTTTCATAGAAAACGGATGGGAAGGAATGGTAGACGGCTGGTATGGTTTCAGACACCAA
AATGCCCAGGGCACAGGCCAAGCTGCTGATTACAAGAGTACTCAAGCAGCTATTGACCAAAATCACAGGGA
AACTGAACAGGTTGATTGAGAAGACCAACACTGAGTTTGAGTCAATAGAATCTGAATTCAGTGAGACTGA
GCATCAAATTGGTAACGTCATTAATTGGACCAAAGATTCAATAACCGACATTTGGACTTACAACGCAGAG
CTATTAGTGGCAATGGAGAATCAGCACACAATTGACATGGCTGATTGAGAGATGCTAAATCTGTATGAAA
GGGTAAAGAAAGCAACTCAGACAGAATGCAGAAGAAGACGGAAAGGGATGTTTTGAGATATATCATACTTG
TGATGATTTCGTGCATGGAGAGTATAAGGAACAATACTTATGACCATTACAATAACAGAGAGGAGGCTCTT
CTGAATAGACTGAACATCAACCCAGTGAACTTTCTTCGGGGTACAAAGACATCATACTTTGGTTTAGCT
TCGGGGAATCATGCTTTTGTCTTCTAGCCGTTGTTATGGGTCTTGTTTTCTTCTGCCTGAAAAATGGAAA
CATGCGATGCACAATCTGTATTTAGTTAAAAACACCTTGTTTCTACT
```



**Fig. 10I****Subtipo H11 (SEC ID NO:20)**

>g|221307|db|D90306.1|FLAH11N Virus de la influenza A (A/pato/Inglaterra/56(H11N6)) gen para precursor de hemaglutinina, cds completos

```

ATGGAGAAAACACTGCTATTTGCAGCTATTTTCCTTTGTGTGAAAGCAGATGAGATCTGTATCGGGTATT
TAAGCAACAACCTCGACAGACAAAGTTGACACAATAATTGAGAACAAATGTCACGGTCACTAGCTCAGTGGA
ACTGGTTGAGACAGAACACACTGGATCATTCTGTTCAATCAATGGAAAAACAACCAATAAGCCTTGGAGAT
TGTTCAATTTGCTGGATGGATATTAGGAAACCCATGTGTGATGAACTAATTGGAAAGACTTCATGGTCTT
ACATTGTGGAAAAACCAATCCAACAAATGGAATCTGTTACCCAGGAACTTTAGAGAGTGAAGAAGAACT
AAGACTGAAATTCAGTGGAGTTTGTAGAAATTTAACAAATTCGAAGTATTCACATCAAATGGATGGGGTGCT
GTAAATTCAGGAGTAGGAGTAACCGCTGCATGCAAATTCGGGGGTTCTAATTCTTTCTTTTGGAAACATGG
TATGGCTGATACACCAATCAGGAACATATCCTGTAATAAAGAGAACCTTTAAACAACACCAAAGGGAGAGA
TGTAATGATTGTTTGGGGGAATTCATCATCTGCTACACTGACAGAACATCAAGATCTGTATAAAAAGGAC
AGCTCCTATGTAGCAGTGGGTTGAGAGACCTACAACAGAAGATTCACCTCAGAAATCAACACTAGGCCCA
GAGTCAATGGACAGGCCGGACGGATGACATTCTACTGGAAGATAGTCAAACCAGGAGAATCAATAACATT
CGAATCTAATGGGGCGTTCCCTAGCTCCTAGATATGCTTTTGAGATTGTCTCTGTTGGAAATGGGAACTG
TTCAGGAGCGAACTGAACATTGAATCATGCTCTACCAAATGTCAAACAGAAATAGGAGGAATTAATACGA
ACAAAAGCTTCCACAATGTTACAGAAACACTATCGGGGATTGCCCAAGTATGTGAATGTCAAATCCTT
AAAGCTTGCAACAGGACCTAGAAATGTCCCAGCAATAGCATCGAGAGGCTTGTTTGGAGCAATAGCTGGA
TTCATAGAAGGGGGATGGCCTGGACTGATCAATGGATGGTATGGGTTCCAACACAGGGACGAAGAAGGAA
CAGGCATTGCAGCAGACAAGGAGTCAACTCAAAGGCAATAGACCAGATAACATCCAAGGTAATTAACAT
CGTTGACAGGATGAATACAACTTTGAGTCTGTGCAACACGAATTCAGTGAAATAGAGGAAAGAAATAAT
CAATTATCAAAACACGTAGATGATTCTGTGGTTGACATCTGGTCATATAATGCACAGCTTCTCGTTTAC
TTGAAAATGAGAAGACACTGGACCTCCATGACTCAAATGTGAGGAACCTCCATGAGAAAGTCAGAAGAAT
GCTAAAGGACAATGCCAAAGATGAGGGGAACGGATGCTTCACCTTTTACCATAAGTGTGACAATAAATGC
ATTGAACGAGTTAGAAACGGAACATATGATCATAAAGAATTCGAGGAGGAATCAAAAATCAATCGCCAGG
AGATTGAAGGGGTGAACTAGATTCTAGTGGGAATGTGTATAAAATACTGTCAATTTACAGCTGCATTGC
AAGCAGTCTTGATTGGCAGCACTCATCATGGGTTTCATGTTTGGGCATGCAGTAATGGATCATGTAGA
TGTAACATTTGCATTTAG

```

**Fig. 10J**

**Subtipo H12 (SEC ID NO:21)**

>gi|221309|dbj|D90307.1|FLAH12N Virus de la influenza A (A/pato/Alberta/60/76(H12N5)) gen para precursor de hemaglutinina , cds completos

ATGGAAAATTCATCATTTTGAGTACTGTCTTGGCAGCAAGCTTTGCATATGACAAAATTTGCATTGGAT  
ACCAAACAACAACTCGACTGAAACGGTAAACACACTAAGTGAACAAAACGTTCCGGTGACGCAGGTGGA  
AGAACTTGATACATCGTGGGATTGATCCGATCCTGTGTGGAACGGAAGTAGGATCACCAGTAGTGCTTGAT  
GACTGTTTCATTAGAGGGTCTAATCCTAGGCAATCCCAAATGTGATCTTTATTTGAATGGCAGGGAATGGT  
CATACATAGTAGAGAGGCCCAAAGAGATGGAAGGAGTTTGCTATCCAGGGTCAATTGAAAACAGGAAGA  
GCTAAGATCTCTGTTTTCTTCCATCAAAAAATATGAAAGAGTGAAGATGTTTGATTTACCAAATGGAAT  
GTCACATACACTGGGACAGCAAGGCCTGCAATAATACATCAAACCAAGGCTCATTCTATAGGAGCATGA  
GATGGTTGACCTTAAATCAGGACAATTTCCAGTCCAAACAGATGAGTACAAGAACCAGAGATTCAGA  
CATTGTATTACCTGGGCCATTACCAACCCACCAACATCTGATGAACAAGTAAATTTATACAAAAATCCT  
GATACTCTCTCTTTCAGTCACCACCGTAGAAATCAATAGGAGCTTCAAGCCTAATATAGGGCCAAGACCAC  
TCGTGAGAGGACAACAAGGGAGAATGGATTACTACTGGGCTGTTCTTAAACCTGGACAAACAGTCAAAAT  
ACAAACCAATGGTAATCTTATTGCACCTGAATATGGTCACTTAATCACAGGGAAATCACATGGCAGGATA  
CTCAAGAATAATTTGCCCATGGGACAGTGTGTGACTGAATGTCAATTGAACGAGGGGTGAATGAACACAA  
GCAAACCTTTCCAGAACACTAGTAAGCACTATATTGGGAAATGCCCCAAATACATACCATCAGGGAGTTT  
AAAATTGGCAATAGGGCTCAGGAATGTCCACAAGTTCAAGATCGGGGGCTCTTTGGAGCAATTGCAGGT  
TTCATAGAAGGCGGATGGCCAGGGCTAGTGGCTGGTTGGTACGGATTTTACGATCAAAATGCGGAGGGGA  
CAGGCATAGCTGCAGACAGAGACAGCACCCAAAGGGCAATAGACAATATGCAAAACAACTCAACAATGT  
CATCGACAAAATGAATAAACAATTTGAAGTGGTGAATCATGAGTTTTTCAGAAGTGGAAAGCAGAATAAAC  
ATGATTAATTCAAAATGATGATCAGATAACTGACATATGGGCATACAATGCTGAATTGCTTGCTCTAT  
TGGAAAATCAGAAGACATTAGATGAGCATGACGCTAATGTAAGGAATCTACATGATCGGGTCAGAAGAGT  
CCTGAGGGAAAATGCAATTGACACAGGAGACGGCTGCTTTGAGATTTTACATAAATGTGACAACAATTGT  
ATGGACACGATTAGAAACGGGACATACAATCACAAAGAGTATGAGGAAGAAAGCAAAATCGAACGACAGA  
AAGTCAATGGTGTGAACTTGAGGAGAATTCTACATATAAAATTTCTGAGCATCTACAGCAGTGTTCCTC  
AAGCTTAGTTCTACTGCTCATGATTATGGGGGTTTCATTTTCGGGTGTCAAAATGGAAATGTTTCGTTGT  
ACTTTCTGTATTTAA

**Fig. 10K****Subtipo H13 (SEC ID NO:22)**

>gi|221311|db1|D90308.1|FLAH13N Virus de la influenza A  
 (A/Gaviota/Maryland/704/77 (H13N6)) gen para precursor de hemaglutinina , cds completos

ATGGCTCTAAATGTCATTGCAACTTTGACACTTATAAGTGTATGTGTACATGCAGACAGAATATGCGTGG  
 GGTATCTGAGCACCAATTCATCAGAAAGGGTCGACACGCTCCTTGAAAATGGGGTCCCAGTCACCAGCTC  
 CATTGATCTGATTGAGACAAACCACACAGGAACATACTGTTCTCTAAATGGAGTCAGTCCAGTGCATTG  
 GGAGATTGCAGCTTTGAAGGATGGATTGTAGGAAACCCAGCCTGCACCAGCAACTTTGGGATCAGAGAGT  
 GGTCATACCTGATTGAGGACCCCGCGGCCCTCATGGGCTTTGCTACCCTGGAGAATTAACAACAATGG  
 TGAAGTCAGACACTTGTTTCAGTGGGAATCAGGTCAATTCAGTAGAACGGAATTGATCCCACCTACCTCCTGG  
 GGGGAAGTACTTGACGGTACAACATCTGCTTGCAGAGATAACACGGGAACCAACAGCTTCTATCGAAATT  
 TAGTTTGGTTTATAAAGAAGAATACTAGATATCCAGTTATCAGTAAGACCTACAACAATACAACGGGAAG  
 GGATGTTTTAGTTTTATGGGGAATACATCACCCAGTGTCTGTGGATGAGACAAAGACTCTGTATGTCAAT  
 AGTGATCCATACACACTGGTTTCCACCAAGTCTTGGAGCGAGAAATATAAACTAGAAACGGGAGTCCGAC  
 CTGGCTATAATGGACAGAGGAGCTGGATGAAAATTTATTGGTCTTTGATACATCCAGGGGAGATGATTAC  
 TTTTCGAGAGTAATGGTGGATTTTTAGCCCCAAGATATGGGTACATAATTGAAGAATATGGAAAAGGAAGG  
 ATTTTCCAGAGTCGCATCAGAATGTCTAGGTGCAACACCAAGTGCCAGACTTCGGTTGGAGGGATAAACA  
 CAAACAGAACGTTCCAAAACATCGATAAGAATGCTCTTGGTGACTGTCCCAAATACATAAAGTCTGGCCA  
 ACTCAAGCTAGCCACTGGACTCAGAAATGTGCCAGCTATATCGAATAGAGGATTGTTTCGGAGCAATTGCA  
 GGGTTCATAGAAGGAGGCTGGCCAGGTTTAATCAATGGTTGGTACGGTTTTTCAGCATCAAAATGAACAGG  
 GAACAGGAATAGCTGCAGACAAAGAATCAACACAGAAAGCTATAGACCAGATAACAACCAAAATAAATAA  
 CATTATTGATAAAATGAATGGGAATATGATTCAATTAGGGGTGAATTCAATCAAGTTGAGAAGCGTATA  
 AACATGCTTGCAGACAGAATAGATGATGCCGTGACGGACATTTGGTCATACAATGCCAAACTTCTTGTAT  
 TGCTGGAAAATGATAAACTTTAGATATGCATGATGCTAATGTAAAGAATTTACATGAGCAAGTACGAAG  
 AGAATTGAAGGACAATGCAATTGACGAAGGAAATGGCTGTTTTGAACTCCTTCATAAATGCAATGACTCC  
 TGCATGGAAACTATAAGAAATGGAACGTATGACCACACTGAGTATGCAGAGGAGTCAAAGTTAAAGAGGC  
 AAGAAATCGATGGGATCAAATCAAATCAGAAGCAACGTTTACAAAGCATTATCAATATACAGTTGCAT  
 TGCAAGTAGTGTGTACTAGTAGGACTCATACICTCTTTTCATCATGTGGGCCTGTAGTAGTGGGAATTGC  
 CGATTCAATGTTTGTATATAA



Fig. 10L

**Subtipo H14 (SEC ID NO:23)**

>gi|324045|gb|M35997.1|FLAH1424 Influenza A/Pato real/Gurjev/263/82  
gen de hemaglutinina subtipo H14

AGCAAAAGCAGGGGAAAATGATTGCACTCATATTGGTTGCACTGGCTCTGAGCCACACTGCTTATTCTCA  
GATCACAAATGGGACAACAGGAAACCCCATTTATATGCTTGGGGCATCATGCAGTGGAACCGGCACATCT  
GTTAAACACTAACAGACAATCACGTAGAAGTTGTGTGAGCTAAAGAATTAGTTGAGACGAACCACTG  
ATGAACTGTGCCAAGCCCCCTGAAGCTTGTGACGGGCAAGACTGCCACCTCATCAATGGTGCATTGGG  
GAGTCCAGGCTGTGACCGTTTGCAGGACACCACTTGGGATGTCTTCATTGAAAGGCCCACTGCAGTAGAC  
ACATGTTATCCATTCGACGTCCAGATTACCAGAGTCTCAGAAGCATCCTAGCAAGCAGTGGGAGTTTGG  
AGTTCATCGCCGAACAATTCACCTGGAATGGTGTCAAAGTTGACGGATCAAGCAGTGCTTGTGAGGGG  
CGGTGCGAACAGCTTCTTCTCCGACTAACTGGCTAACCAGCAACAATGGAACTATGGACCTATT  
AACGTCACTAAAGAAAATACGGGCTCTTATGTCAGGCTCTATCTCTGGGGAGTGCATCACCCTCAAGCG  
ATAATGAGCAAACGGATCTCTACAAGGTGGCAACAGGGAGAGTAACAGTATCTACCCGCTCGGACCAAT  
CAGTATTGTTCCCAATATAGGAAGTAGACCGAGGGTAAGGAATCAGAGCGGCAGGATAAGCATCTACTGG  
ACCCTAGTAAACCCAGGGGACTCCATCATTTTCAACAGTATTGGGAATTTGATTGCACCAAGAGGCCACT  
ACAAAATAAGCAAATCTACTAAGAGCACAGTGCTTAAAAGTGACAAAAGGATTGGGTCTATGCACAAGCCC  
TTGCTTAACTGATAAAGGTTTCGATCCAAAGTGACAAACCTTTTCAGAATGTATCAAGGATTGCTATAGGA  
AACTGCCCCGAAATATGTAAAGCAAGGGTCCCTGATGTTAGCAACTGGAATGCGCAACATCCCTGGCAAAC  
AGGCAAAGGGCTTATTTGGGGCAATTGCTGGATTCAATTGAAAATGGTTGGCAAGGCCTGATTGATGGGTG  
GTATGGATTTCAGGCACCAAAATGCTGAAGGAACAGGAAGTCTGCAGACCTGAAGTCAACTCAGGCAGCC  
ATTGATCAGATAAATGGCAAGCTGAACAGATTGATAGAGAAGACAAATGAAAAATATCACCAAATAGAAA  
AGGAATTCGAACAGGTGGAAGGAAGAATACAAGACCTTGAGAAGTACGTTGAGGACACTAAGATTGATTT  
GTGGTCATACAATGCTGAATTGCTAGTAGCACTAGAGAATCAGCACACAATAGATGTACAGACTCCGAA  
ATGAACAAGCTTTTGAAGAGTAAGAAGGCAATTAAGAGAGAATGCAGAAGATCAAGGCAACGGTTGTT  
TCGAGATATTCCATCAGTGTGACAACAATTGTATAGAAAGCATTAGAAACGGAACCTTATGACCACAACAT  
CTACAGGGATGAAGCCATCAACAATCGAATCAAATAAATCCTGTCACTTTGACGATGGGGTACAAGGAC  
ATAATCCTGTGGATTTCTTTCTCCATGTCATGCTTTGTCTTCGTGGCACTGATTCTGGGATTTGTTCTAT  
GGGCTTGTCAAACGGGAATATCCGATGCCAAATCTGTATATAAAGAAAAAACACCCTTGTCTTACTC

**Fig. 10M****Subtipo H15 (SEC ID NO:24)**

>gi|1226068|gb|L43916.1|FLAHEMAC Influenza A/pato./Australia/341/83 (H15N8) ARNm de  
hemaglutinina, cds completos

AGCAAAAGCAGGGGATACAAAATGAACACTCAAATCATCGTCATTCTAGTCCTCGGACTGTCGATGGTGA  
GATCTGACAAGATTTGTCTCGGGCACCATGCCGTAGCAAATGGGACAAAAGTCAACACACTAACTGAGAA  
AGGAGTGGAAGTGGTCAATGCCACGGAGACAGTGGAGATTACAGGAATAAATAAAGTGTGCACAAAAGGG  
AAGAAAGCGGTGGACTTGGGATCTTGTGGAATACTGGGAATCATATTGGGCCTCCACAATGTGACTCTC  
ATCTTAAATTCAAAGCTGATCTGATAATAGAAAGAAGAAATCAAGTGACATCTGTTACCCAGGGAAATT  
CACTAATGAGGAAGCACTGAGACAAATAATCAGAGAATCTGGTGAATTGACAAAGAGCCAATGGGATTT  
AGATATTCAGGAATAAAACAGACGGGGCAACCACTGCGTGTAAAGAGAACAGTGTCTCTTTCTACTCAG  
AAATGAAATGGCTTTTATCCAGCAAGGCTAACCAGGTGTTCCCACTGAATCAGACATACAGGAACAA  
CAGAAAAGAACCAGCCCTAATTGTTTGGGGAGTACATCATTCAAGTTCCTTGGATGAGCAAAATAAGCTA  
TATGGAGCTGGGAACAAGCTGATAACAGTAGGAAGCTCAAAATACCAACAATCGTTTTACCAAGTCCAG  
GGGACAGGCCCAAAGTGAATGGTCAGGCCGGGAGGATCGACTTTCATTGGATGCTATTGGACCCAGGGGA  
TACAGTCACTTTTACCTTCAATGGTGCATTATAGCCCCAGATAGAGCCACCTTTCTCCGCTCTAATGCC  
CCATCGGGAGTTGAGTACAATGGGAAGTCACTGGGAATACAGAGTGATGCACAAATTGATGAATCATGTG  
AAGGGGAATGCTTCTACAGTGGAGGGACAATAAACAGCCCTTTGCCATTTCAAACATCGATAGTTGGGC  
TGTCGGAAGGTGCCCCAGATATGTAAAGCAATCAAGCCTGCCGCTGGCCTTAGGAATGAAAAATGTACCA  
GAGAAAATACATACTAGGGGACTGTTCCGGTCAATTGCAGGATTCATCGAGAATGGATGGGAAGGACTCA  
TTGATGGATGGTATGGATTTAGGCATCAAAATGCACAGGGGCAGGGAACAGCTGCTGACTACAAGAGTAC  
TCAGGCTGCAATTGACCAGATAACAGGGAACTTAATAGATTAAATTGAAAAAACCAACACACAGTTTGAA  
CTCATAGACAATGAGTTCAGTGAAGTGGAGCAGCAGATAGGCAATGTAATAAACTGGACAAGGGACTCCT  
TGACTGAGATCTGGTCATACAATGCTGAACCTTAGTAGCAATGGAAAATCAGCATACAATTGACCTTGC  
AGATTCTGAAATGAACAACTCTATGAGAGAGTGAGAAGACAGCTAAGGGAGAATGCCGAGGAGGATGGA  
ACTGGATGTTTTGAGATTTCCACCGATGTGACGATCAATGTATGGAGAGCATACGAAATAATACTTACA  
ATCACACTGAATATCGACAGGAAGCCTTACAGAATAGGATAATGATCAATCCGGTAAAGCTTAGTGGTGG  
GTACAAAGATGTGATACTATGGTTTAGCTTCGGGGCATCATGTGTAATGCTTCTAGCCATTGCTATGGGT  
CTTATTTTCATGTGTGTGAAAAACGGGAATCTGCGGTGCACTATCTGTATATAATTATTTGAAAAACACC  
CTTGTCTTCTACT

**Fig. 10N****Subtipo H16 (SEC ID NO:25)**

>gi|56425020|gb|AY684891.1| Virus de la influenza A (A/Gaviota cabecinegra/Suecia/5/99(H16N3)) gen de hemaglutinina (HA), cds completos

```

AGCAAAAGCAGGGGATATTGTCAAAACAACAGAATGGTGATCAAAGTGCTCTACTTTCTCATCGTATTGT
TAAGTAGGTATTTCGAAAGCAGACAAAATATGCATAGGATATCTAAGCAACAACGCCACAGACACAGTAGA
CACACTGACAGAGAACGGAGTTCCAGTGACCAGCTCAGTTGATCTCGTTGAAACAAACCACACAGGAACA
TACTGCTCACTGAATGGAATCAGCCCAATTCATCTGGTGACTGCAGCTTTGAGGGATGGATCGTAGGAA
ACCCCTTCCTGTGCCACCAACATCAACATCAGAGAGTGGTCGTATCTAATTGAGGACCCCAATGCCCCCAA
CAAACCTCTGCTTCCCAGGAGAGTTAGATAATAATGGAGAATTACGACATCTCTTCAGCGGAGTGAACCTCT
TTTAGCAGAACAGAATTAATAAGTCCCAACAAATGGGGAGACATTCTGGATGGAGTCACCGCTTCTTGCC
GCGATAATGGGGCAAGCAGTTTTTACAGAAATTTGGTCTGGATAGTGAAGAATAAAAATGGAAAATACCC
TGTCATAAAGGGGGATTACAATAACACAACAGGCAGAGATGTTCTAGTACTCTGGGGCATTACCATCCG
GATACAGAAACAACAGCCATAAACTTGTACGCAAGCAAAAACCCCTACACATTAGTATCAACAAAGGAAT
GGAGCAAAAGATATGAACTAGAAATTGGCACCAGAATAGGTGATGGACAGAGAAGTTGGATGAACTATA
TTGGCACCTCATGCGCCCTGGAGAGAGGATAATGTTTGAAAGCAACGGGGGCCTTATAGCGCCCAGATAC
GGATACATCATTGAGAAGTACGGTACAGGACGAATTTCCAAAGTGGAGTGAGAATGGCCAAATGCAACA
CAAAGTGTCAAACATCATTAGGTGGGATAAACACCAACAAAACCTTTCCAAAACATAGAGAGAAATGCTCT
TGGAGATTGCCCAAAGTACATAAAGTCTGGACAGCTGAAGCTTGCAACTGGGCTGAGAAATGTCCCATCC
GTTGGTGAAAGAGGTTTGTGTTGGTGCAATTGCAGGCTTCATAGAAGGAGGGTGGCCTGGGCTAATTAATG
GATGGTATGGTTTCCAGCATCAGAATGAACAGGGGACTGGCATTGCTGCAGACAAAGCCTCCACTCAGAA
AGCGATAGATGAAATAACAACAAAAATTAACAATATAATAGAGAAGATGAACGGAAACTATGATTCAATA
AGAGGGGAATTCAATCAAGTAGAAAAGAGGATCAACATGCTCGCTGATCGAGTTGATGATGCAGTAACTG
ACATATGGTCGTACAATGCTAACTTCTTGTACTGCTTGAAAATGGGAGAACATTGGACTTACACGACGC
AAATGTCAGGAACCTTACACGATCAGGTCAAGAGAATATTGAAAAGTAATGCTATTGATGAAGGAGATGGT
TGCTTCAATCTTCTTCAAAATGTAATGACTCATGCATGGAACTATTAGAAATGGGACCTACAATCATG
AAGATTACAGGGAAGAATCACAACGAAAAGGCAGGAAATTGAGGGAAATAAATGAAGTCTGAAGACAA
TGTGTATAAAGTACTGTGATTTATAGCTGCATTGCAAGCAGTATTGTGCTGGTAGGTCTCATACTTGCG
TTCATAATGTGGGCATGCAGCAATGGAATTTGCCGGTTTAATGTTTGTATATAGTCGGAAAAAATACCCCT
TGTTTCTACT

```



Fig. 100

**Influenza B (SEC ID NO:26)**

>gi|325175|gb|K00423.1|FLBHAZO Influenza B/Sotavento/40, hemagglutinin(seg 4), segmento completo

```

AGCAGAAGCGTTGCATTTTCTAATATCCACAAAATGAAGGCAATAATTGTACTACTCATGGTAGTAACAT
CCAATGCAGATCGAATCTGCACTGGGATAACATCGTCAAACCTCACCTCATGTGGTTAAACTGCCACTCA
AGGGGAAGTCAATGTGACTGGTGTGATACCACTAACAAACACCTACCAAATCTCATTTTGCAAATCTC
AAAGGAACACAGACCAGAGGAAAATATGCCCAAATGTTTTAACTGCACAGATCTGGACGTGGCCCTAG
GCAGACCAAAATGCATGGGGAACACACCCTCCGCAAAGTCTCAATACTCCATGAAGTCAAACCTGCTAC
ATCTGGATGCTTTCTATAATGCACGACAGAACAAAATCAGACAACTACCTAATCTTCTCAGAGGATAT
GAAAACATCAGGTTATCAACCAGTAATGTTATCAATACAGAGACGGCACCAGGAGGACCCTACAAGGTGG
GGACCTCAGGATCTTGCCCTAACGTTGCTAATGGGAACGGCTTCTTCAACACAATGGCTTGGGTTATCCC
AAAAGACAACAAGACAGCAATAAATCCAGTAACAGTAGAAGTACCATAACATTGTTTCAAGAGGGGAA
GACCAAATTACTGTTTGGGGGTCCACTCTGATGACAAAACCCAAATGGAAAGACTCTATGGAGACTCAA
ATCCTCAAAAGTTCACCTCATCTGCCAATGGAGTAACACACATTATGTTTCTCAGATTGGTGGCTTCCC
AAATCAAAACAGAAGACGAAGGGCTAAAACAAAGCGGCAGAATTGTTGTTGATTACATGGTACAAAAACCT
GGAAAAACAGGAACAATTGTTTATCAAAGAGGCATTTTATTGCCTCAAAAAGTGTGGTGGCAAGTGCCA
GGAGCAAGGTAATAAAAGGGTCCTTGCCCTTTAATTGGTGAAGCAGATTGCCTCCACGAAAAGTACGGTGG
ATTAAATAAAAGCAAGCCTTACTACACAGGAGAGCATGCAAAGGCCATAGGAAATTGCCCAATATGGGTG
AAAACACCCTTGAAGCTGGCCAATGGAACCAAATATAGACCGCCTGCAAACTATTAAAGGAAAGAGGTT
TCTTCGGAGCTATTGCTGGTTTCTTGAAGGAGGATGGGAAGGAATGATTGCAGGTTGGCACGGATACAC
ATCTCATGGAGCACATGGAGTGGCAGTGGCAGCAGACCTTAAGAGTACACAAGAAGCTATAACAAGATA
ACAAAAATCTCAACTATTTAAGTGAGCTAGAAGTAAAAAACCTTCAAAGACTAAGCGGAGCAATGAATG
AGCTTCACGACGAAATACTCGAGCTAGACGAAAAAGTGGATGATCTAAGAGCTGATACAATAAGCTCACA
AATAGAGCTTGCACTCTTGCTTTCCAACGAAGGGATAATAAACAGTGAAGATGAGCATCTCTTGGCACTT
GAAAGAAAATGAAGAAAATGCTTGGCCCTCTGCTGTAGAAAATAGGGAATGGGTGCTTTGAAACCAAAC
ACAAATGCAACCAGACTTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAGGAGATTTTCTCTTCC
CACTTTTGATTCATTAAACATTACTGCTGCATCTTTAAATGATGATGGCTTGATAATCATACTATACTG
CTCTACTACTCAACTGCTGCTTCTAGCTTGGCTGTAACATTAATGATAGCTATCTTCATTGTCTACATGG
TCTCCAGAGACAATGTTTCTTGTTCCATCTGTCTGTGAGGGAGATTAAGCCCTGTGTTTTCCCTTACTGT
AGTGCTCATTTGCTTGTCAACATTACAAAGAAACGTTATTGAAAAATGCTCTTGTTACTACT

```

**Fig. 10P****Influenza C (SEC ID NO:27)**

>gi|325317|gb|M17868.1|FLCHAJ0 Influenza C/Johannesburgo/66

ARN de hemaglutinina esterasa (seg 4), cds completos

AGCAGAAGCAGGGGGTTAATAATGTTTTTCTCATTACTCTTGGTGTGGGCCTCACAGAGGCTGAAAAAA  
TAAAGATATGCCTTCAAAGCAAGTGAACAGTAGCTTCAGCCTACACAATGGCTTCGGAGGAAATTTGTA  
TGCCACAGAAGAAAAAGAATGTTTGAGCTTGTTAAGCCCAAAGCTGGAGCCTCTGTCTTGAATCAAAGT  
ACATGGATTGGCTTTGGAGATTCAAGGACTGACAAAAGCAATTCAGCTTTTCCTAGGTCTGCTGATGTTT  
CAGCAAAAACCTGCTGATAAGTTTCGTTTTTTGTCTGGTGGATCCTTAATGTTGAGTATGTTTGGCCACC  
TGGGAAGGTAGACTACCTTTACCAAGGATGTGGAAAACATAAAGTTTTTATGAAGGAGTTAACTGGAGT  
CCACATGCTGCTATAAATTGTTACAGAAAAAATTGGACTGATATCAAAGTGAATTTCCAGAAAAACATTT  
ATGAATTGGCTTCACAATCACATTGCATGAGCTTGTTGAATGCCTTGGACAAAACATTTCCCTTTACAAGT  
GACTGCTGGGACTGCAGGAAATTGCAACAACAGCTTCTTAAAAAATCCAGCATTGTACACACAAGAAGTC  
AAGCCTTCAGAAAACAAATGTGGGAAAGAAAACTTGCTTTCTTCACACTTCCAACCCAATTTGGAACCT  
ATGAGTGCAAACTGCATCTTGTGGCTTCTTGCTATTTTATCTATGATAGTAAAGAAGTGTACAATAAAAG  
AGGATGTGACAACTACTTTCAAGTGATCTATGATTCATTTGGAAAAGTCGTTGGAGGACTAGATAACAGG  
GTATCACCTTACACAGGGAATCTGGAGACACCCCAACAATGCAATGTGACATGCTCCAGCTGAAACCTG  
GAAGATATTCAGTAAGAAGCTCTCCAAGATTCCTTTAATGCCTGAAAGAAGTTATTGCTTTGACATGAA  
AGAAAAAGGACCAGTCACTGCTGTCCAATCCATTTGGGGAAAAGGCAGAGAATCTGACTATGCAGTGGAT  
CAAGCTTGCTTGAGCACTCCAGGGTGCATGTTGATCCAAAAGCAAAAGCCATACATTGGAGAAGCTGATG  
ATCACCATGGAGATCAAGAAATGAGGGAGTTGCTGTCAGGACTGGACTATGAAGCTAGATGCATATCACA  
ATCAGGGTGGGTGAATGAAACCAAGTCCTTTTACGGAGAAATACCTCCTTCCCTCCCAAATTTGGAAGATGC  
CCTTTGGCTGCAAGGAAGAATCCATTCCAAAAATCCCAGATGGCCTTCTAATTCCCACCAGTGGAACCG  
ATACCCTGTAACCAAACCTAAGAGCAGAATTTTTGGAATCGATGACCTCATTATTGGTGTGCTCTTTGT  
TGCAATCGTTGAAACAGGAATTTGGAGGCTATCTGCTTGGAAGTAGAAAAGAATCAGGAGGAGGTGTGACA  
AAAGAAATCAGCTGAAAAAGGGTTTGAGAAAATTGGAATGACATACAAATTTTAAATCTTCTATAAATA  
TCGCAATAGAAAACTAAATGACAGAATTTCTCATGATGAGCAAGCCATCAGAGATCTAAGTTTAGAAAT  
TGAAAATGCAAGATCTGAAGCTTTATTGGGAGAATTGGGAATAATAAGAGCCTTATTGGTAGGAAATATA  
AGCATAGGATTACAGGAATCTTTATGGGAACTAGCTTCAGAAATAACAAATAGAGCAGGAGATCTAGCAG  
TTGAAGTCTCCCCAGGTTGCTGGATAATTGACAATAACATTTGTGATCAAAGCTGTCAAAATTTTATTTT  
CAAGTTCAACGAACTGCACCTGTTCCAACCATTTCCCCCTCTTGACACAAAAATTGATCTGCAATCAGAT  
CCTTTTTACTGGGGAAGCAGCTTGGGCTTAGCAATAACTGCTACTATTTTATTGGCAGCTTTGGTGATCT  
CTGGGATCGCCATCTGCAGAACTAAATGATTGAGACAATTTTGAAAAATGGATAATGTGTTGGTCAATAT  
TTTGTACAGTTTTATAAAAAACAAAAATCCCCCTTGCTACTGCT



**Fig. 10Q**

SEC ID NO: 29

5'-AGTTCCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTC-3'

**Fig. 10 R**

SEC ID NO: 30

5'-AATAGGAGCTCCATTTTCTCTCAAGATGATTAATTAATTAATTAGTC-3

**Fig. 10S**

SEC ID NO: 31

5'-AATAGGAGCTCGTAAATGCTTCTTCGTCTCCTATTATAATATGG-3'

**Fig. 10T**

SEC ID NO: 32

5'-  
TTACGAAATCTCCTTCCTAATTGGTGTACTATCATTTATCAAAGGGGA-3'

**Fig. 11**

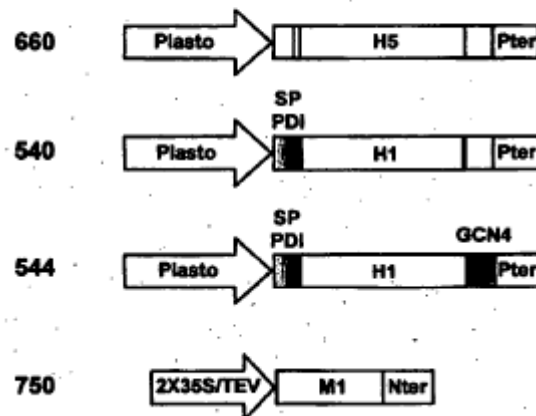
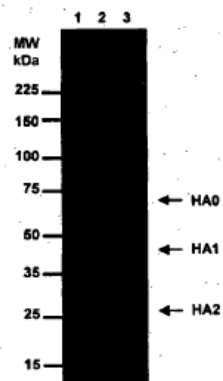


**Fig. 12**



- 1- H5 comercial (A/Vietnam/1203/2004) (750 ng)
- 2- Extracto de hoja de proteína de imitación (37.5 µg)
- 3- Extracto de hoja de proteína de planta R880 infiltrada (37.5 µg)

**Fig. 13A**

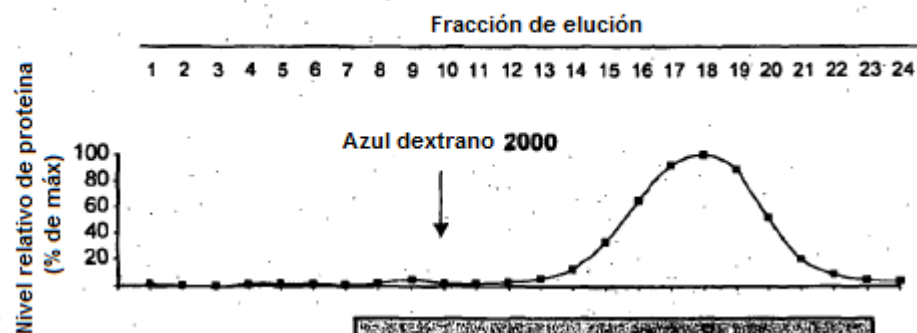


**Fig. 13B**

H5

**Fig. 13C**

H1

**Fig. 13D**

H1 soluble

**Fig. 13E**

H1 roseta

**Fig. 13F**

H1+M1

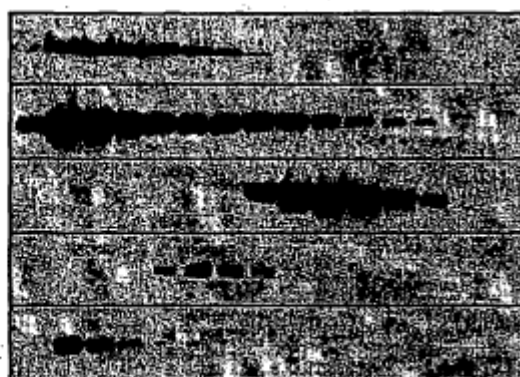


**Fig.14A**

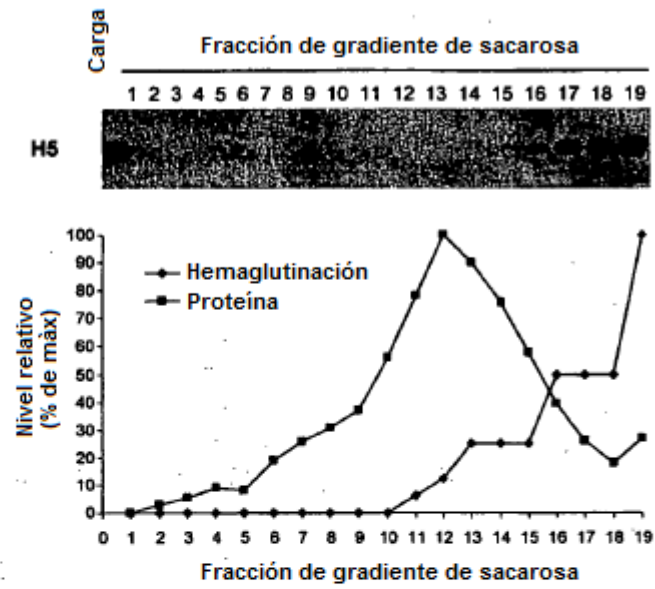


**Fig. 14B**

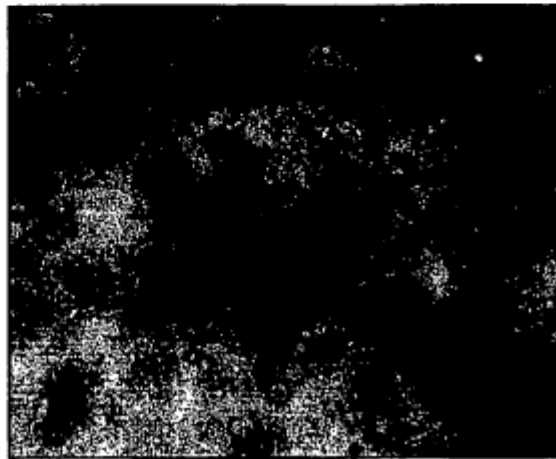


**Fig. 15A**

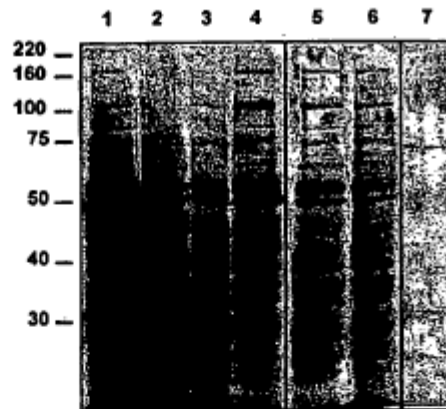


**Fig. 15B**

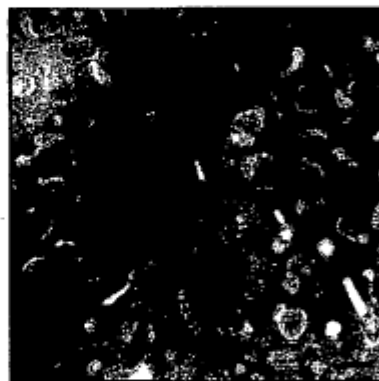


**Fig. 15C**



**Fig. 15D**

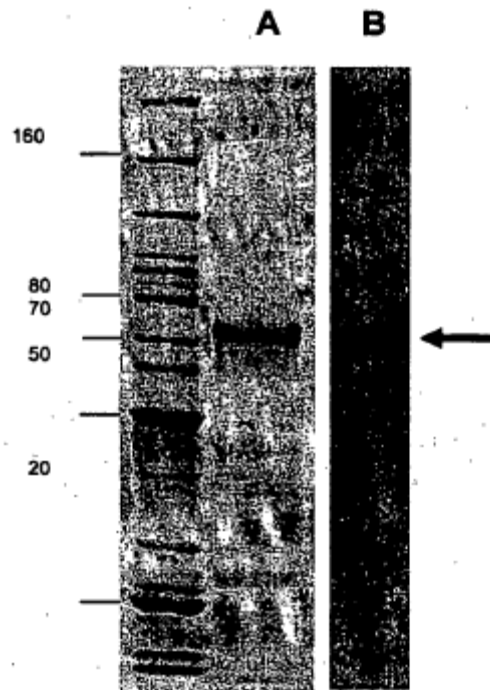


**Fig. 16**

SEC ID NO: 33

ATGAAAGCAAACTACTGGTCCTGTTATGTACATTTACAGCTACATATGCAGA  
 CACAATATGTATAGGCTACCATGCCAACAACCTCAACCGACACTGTTGACACAG  
 TACTTGAGAAGAATGTGACAGTGACACACTCTGTCAACCTACTTGAGGACAGT  
 CACAATGGAAAACCTATGTCTACTAAAAGGAATAGCCCCACTACAATTGGGTAA  
 TTGCAGCGTTGCCGGATGGATCTTAGGAAACCCAGAATGCGAATTACTGATTT  
 CCAAGGAATCATGGTCCTACATTGTAGAAACACCAAATCCTGAGAATGGAACA  
 TGTTACCCAGGGTATTTGCGCCGACTATGAGGAACTGAGGGAGCAATTGAGTTC  
 AGTATCTTCATTTGAGAGATTTCGAAATATTCCCCAAAGAAAGCTCATGGCCCA  
 ACCACACCGTAACCGGAGTATCAGCATCATGCTCCCATATGGGAAAAGCAGT  
 TTTTACAGAAAATTTGCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTTGTACCCAAACCT  
 GAGCAAGTCCTATGTAAACAACAAAGAGAAAGAAGTCCTTGTACTATGGGGTG  
 TTCATCACCCGCCTAACATAGGGAACCAAAGGGCCCTCTATCATACAGAAAAT  
 GCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATTATAGCAGAAGATTCACCCAGAAAT  
 AGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAGGAAGGAAGAATCAACTACTACTGGA  
 CTCTGCTGGAACCTGGGGATACAATAATTTTGGAGCAAATGGAAATCTAATA  
 GCGCCATGGTATGCTTTTGCCTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCAC  
 CTCAAATGCACCAATGGATGAATGTGATGCGAAGTGTCAAACACCTCAGGGAG  
 CTATAAACAGCAGTCTTCCTTTCCAGAATGTACACCCAGTCACAATAGGAGAG  
 TGTCCAAAGTATGTCAGGAGTGCAAAATTAAGGATGGTTACAGGACTAAGGAA  
 CATCCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGTTGGAGCCATTGCCGGTTTCATTG  
 AAGGGGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGGTGGTATGGTTATCATCATCAGAAT  
 GAGCAAGGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAAGTACACAAAATGCCATTAA  
 CGGGATTACAAACAAGGTGAATTCTGTAATTGAGAAAATGAACACTCAATTCA  
 CAGCTGTGGGCAAAGAATTCAACAAATTGGAAAGAAGGATGGAAAACCTAAAT  
 AAAAAAGTTGATGATGGGTTTCTAGACATTTGGACATATAATGCAGAATTGTT  
 GGTTCTACTGGAAAATGAAAGGACTTTGGATTTCCATGACTCCAATGTGAAGA  
 ATCTGTATGAGAAAGTAAAAAGCCAATTAAAGAATAATGCCAAAGAAATAGGA  
 AACGGGTGTTTTGAATTCTATCACAAGTGTAACAATGAATGCATGGAGAGTGT  
 GAAAAATGGAACCTTATGACTATCCAAAATATTCCGAAGAATCAAAGTTAAACA  
 GGGAGAAAATTGATGGAGTGAAATTGGAATCAATGGGAGTCTATCAGATTCTG  
 GCGATCTACTCAACTGTCGCCAGTTCCTTGGTTCTTTTGGTCTCCCTGGGGGC  
 AATCAGCTTCTGGATGTGTTCCAATGGGTCTTTGCAGTGTAGAATATGCATCT  
 GAGACCAGAATTTCA



Fig. 17

## SEC ID NO: 34

CCAAATCCTTAACATTCTTTCAACACCAACAATGGCGAAAAACGTTGCGATT  
 TTCGGTTTATTGTTTTCTCTTCTTCTGTTGGTTCCTTCT**CAGATCT**TCGCTG  
 AGGAATCATCAACTGACGCTAAGGAATTTGTTCTTACATTGGATAACACTAA  
 TTTCCATGACACTGTTAAGAAGCACGATTTTCATCGTCGTTGAATTCTACGCA  
 CCTTGGTGTGGACACTGTAAGAAGCTAGCCCCAGAGTATGAGAAGGCTGCTT  
 CTATCTTGAGCACTCACGAGCCACCAGTTGTTTTGGCTAAAGTTGATGCCAA  
 TGAGGAGCACAACAAAGACCTCGCATCGGAAAATGATGTTAAGGGATTCCCA  
 ACCATTAAGATTTTTAGGAATGGTGGAAGAACATTCAAGAATACAAAGGTC  
 CCCGTGAAGCTGAAGGTATTGTTGAGTATTTGAAAAACAAAGTGGCCCTGC  
 ATCCACAGAAATTAATCTGCTGATGATGCGACCGCTTTTGTGGTGACAAC  
 AAAGTTGTTATTGTCGGAGTTTTCCCTAAATTTTCTGGTGAGGAGTACGATA  
 ACTTCATTGCATTAGCAGAGAAGTTGCGTTCTGACTATGACTTTGCTCACAC  
 TTTGAATGCCAAACACCTTCCAAAGGGAGACTCATCAGTGTCTGGGCCTGTG  
 GTTAGGTTATTTAAGCCATTTGACGAGCTCTTTGTTGACTCAAAGGATTTCA  
 ATGTAGAAGCTCTAGAGAAATTCATTGAAGAATCCAGTACCCCAATTGTGAC  
 TGTCTTCAACAATGAGCCTAGCAATCACCTTTTGTGTCAAATTCTTTAAC  
 TCTCCCAACGCAAAGGCTATGTTGTTTCATCAACTTTACTACCGAAGGTGCTG  
 AATCTTTCAAACAAAATACCATGAAGTGGCTGAGCAATACAAACAACAGGG  
 AGTTAGCTTTCTTGTGGAGATGTTGAGTCTAGTCAAGGTGCCTTCCAGTAT  
 TTTGGACTGAAGGAAGAACAAGTACCTCTAATTATTATTTCAGCATAATGATG  
 GCAAGAAGTTTTTCAAACCCAATTTGGAACCTTGATCAACTCCCAACTTGTT  
 GAAGGCATACAAGGATGGCAAGGTTGAACCATTTGTCAAGTCTGAACCTATT  
 CCTGAAACTAACAACGAGCCTGTTAAAGTGGTGGTTGGGCAAACCTCTTGAGG  
 ACGTTGTTTTCAAGTCTGGGAAGAATGTTTTGATAGAGTTTATGCTCCTTG  
 GTGTGGTCACTGCAAGCAGTTGGCTCCAATCTTGGATGAAGTTGCTGTCTCA  
 TTCCAAAGCGATGCTGATGTTGTTATTGCAAACTGGATGCAACTGCCAACG  
 ATATCCCAACCGACACCTTTGATGTCCAAGGCTATCCAACCTTGTAATTCAG  
 GTCAGCAAGTGGAAAACATCACAAATACGACGGTGGTAGGACAAAGGAAGAC  
 ATCATAGAATTCATTGAAAAGAACAAGGATAAACTGGTGCTGCTCATCAAG  
 AAGTAGAACAACCAAAAGCTGCTGCTCAGCCAGAAGCAGAACAACCAAAAGA  
 TGAGCTTTGAAAAGTTCCGCTTGGAGGATATCGGCACACAGTCATCTGCGGG  
 CTTTACAACCTCTTTGTATCTCAGAATCAGAAGTTAGGAAATCTTAGTGCCA  
 ATCTATCTATTTTTGCGTTTCATTTTATCTTTTGGTTTACTCTAATGTATT  
 ACTGAATAATGTGAGTTTTGGCGGAGTTTAGTACTGGAACTTTTGTTTCTGT  
 AAAAAAAAAAAAAA

**Fig. 18**

SEC ID NO: 35

AGCGAAAGCAGGTAGATATTGAAAGATGAGTCTTCTAACCGAGGTCGAAACGTAC  
 GTTCTCTCTATCATCCCGTCAGGCCCCCTCAAAGCCGAGATCGCACAGAGACTTG  
 AAGATGTCTTTGCAGGGAAGAACACCGATCTTGAGGTTCTCATGGAATGGCTAAA  
 GACAAGACCAATCCTGTACCTCTGACTAAGGGGATTTTAGGATTTGTGTTACG  
 CTCACCGTGCCAGTGAGCGAGGACTGCAGCGTAGACGCTTTGTCCAAAATGCCC  
 TTAATGGGAACGGGGATCCAAATAACATGGACAAAGCAGTTAAACTGTATAGGAA  
 GCTCAAGAGGGAGATAACATTCCATGGGGCCAAAGAAATCTCACTCAGTTATTCT  
 GCTGGTGCACCTTGCCAGTTGTATGGGCCTCATATACAACAGGATGGGGGCTGTGA  
 CCACTGAAGTGGCATTGTGGCCTGGTATGTGCAACCTGTGAACAGATTGCTGACTC  
 CCAGCATCGGTCTCATAGGCAAATGGTGACAAACAACCAACCCACTAATCAGACAT  
 GAGAACAGAATGGTTTTAGCCAGCACTACAGCTAAGGCTATGGAGCAAATGGCTG  
 GATCGAGTGAGCAAGCAGCAGAGGCCATGGAGGTTGCTAGTCAGGCTAGGCAAAT  
 GGTGCAAGCGATGAGAACCATTGGGACTCATCCTAGCTCCAGTGCTGGTCTGAAA  
 AATGATCTTCTTGAAAATTTGCAGGCCTATCAGAAACGAATGGGGGTGCAGATGC  
 AACGGTTCAAGTGATCCTCTCGCTATTGCCGCAAATATCATTGGGATCTTGCACT  
 TGATATTGTGGATTCTTGATCGTCTTTTTTTCAAATGCATTTACCGTCGCTTTAA  
 ATACGGACTGAAAGGAGGGCCTTCTACGGAAGGAGTGCCAAAGTCTATGAGGGAA  
 GAATATCGAAAGGAACAGCAGAGTGCTGTGGATGCTGACGATGGTCATTTTGTCA  
 GCATAGAGCTGGAGTAAAAAACTACCTTGTTTCTACT

**Fig. 19**

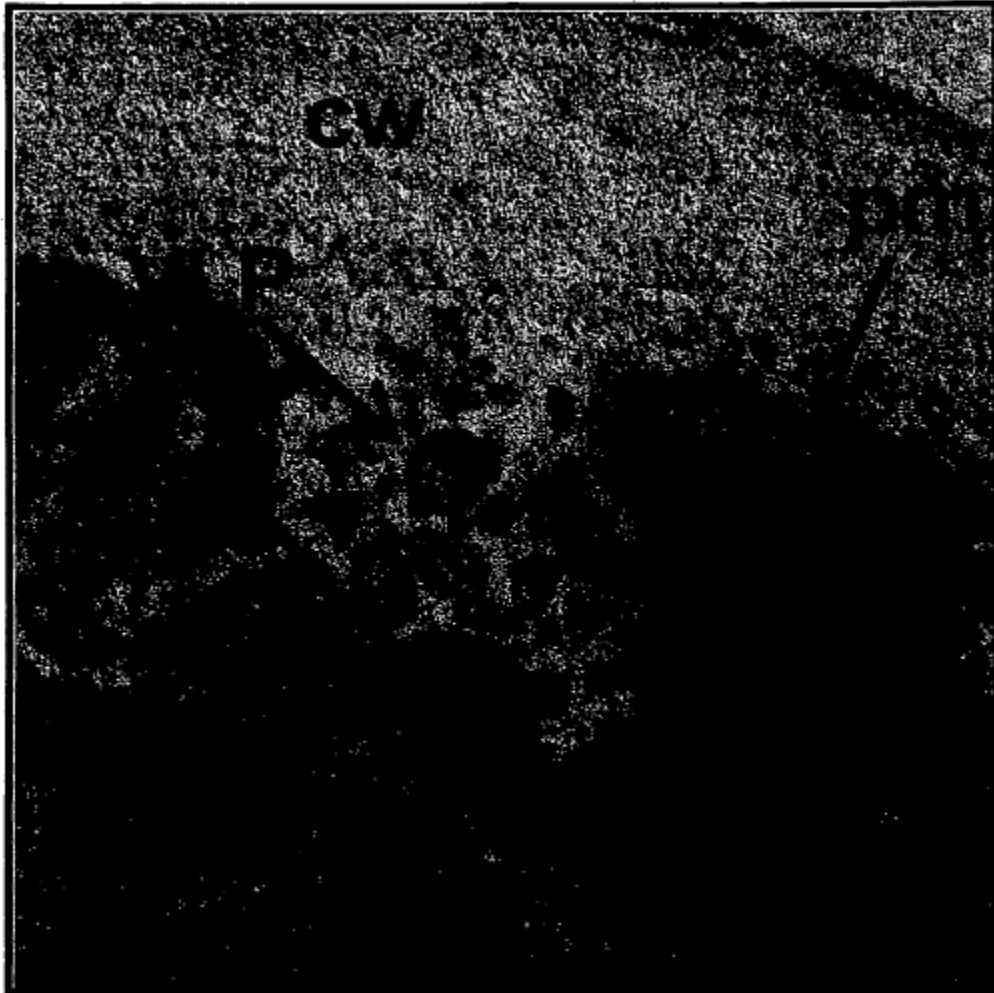


Fig. 20A

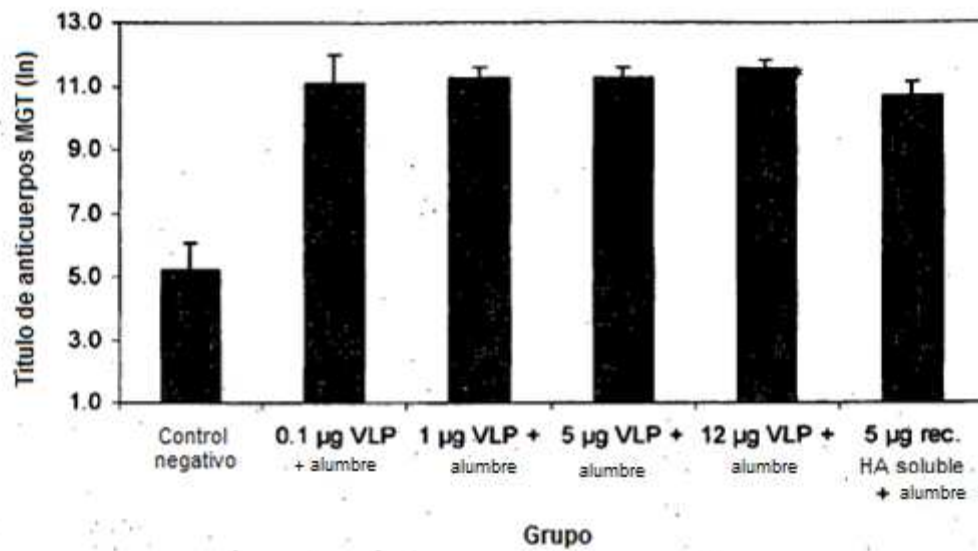


Fig. 20B

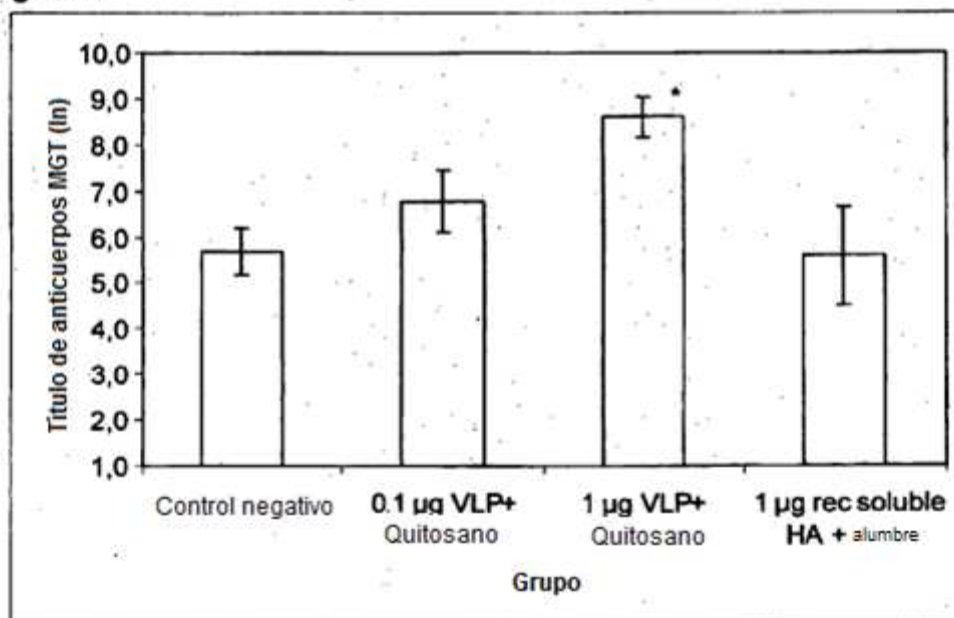


Fig. 21A

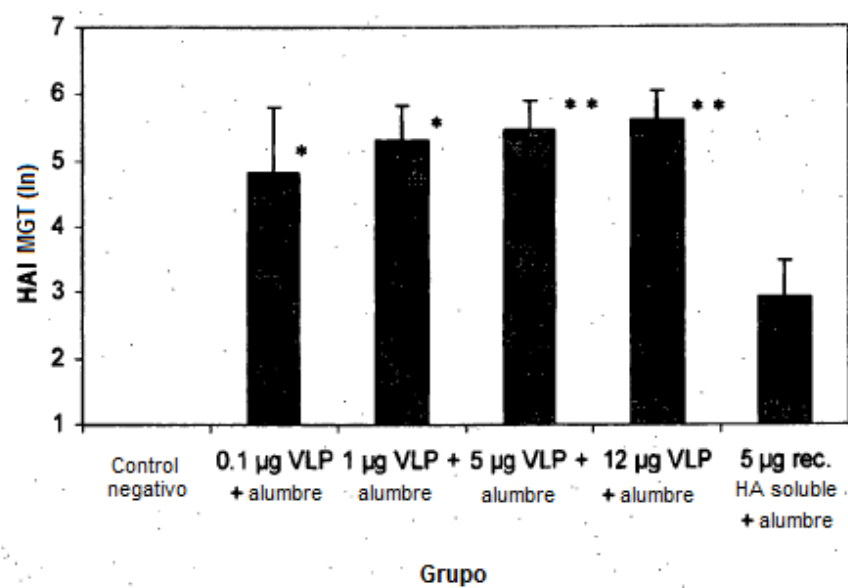


Fig. 21B

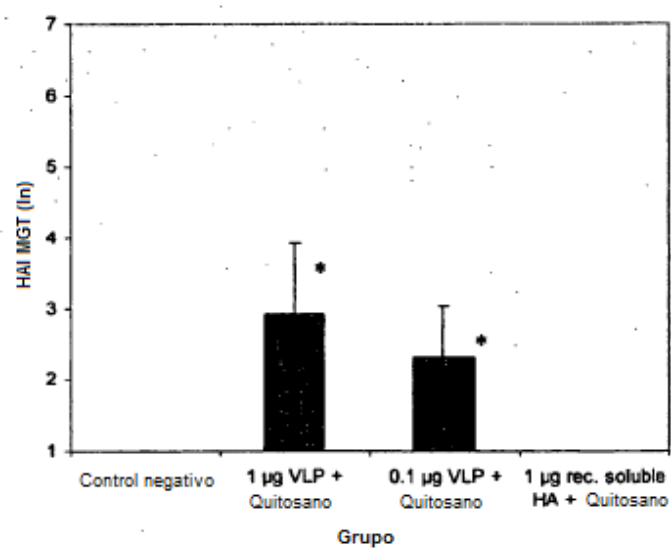


Fig. 22A

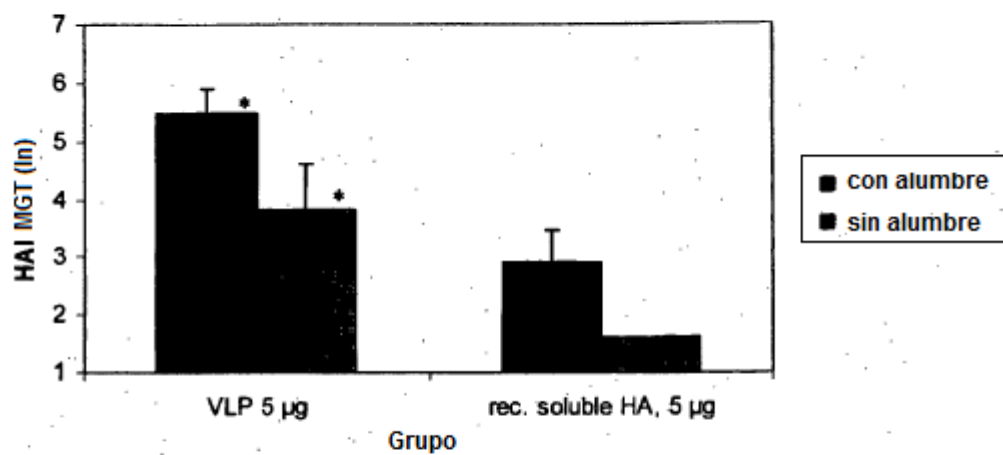


Fig. 22B

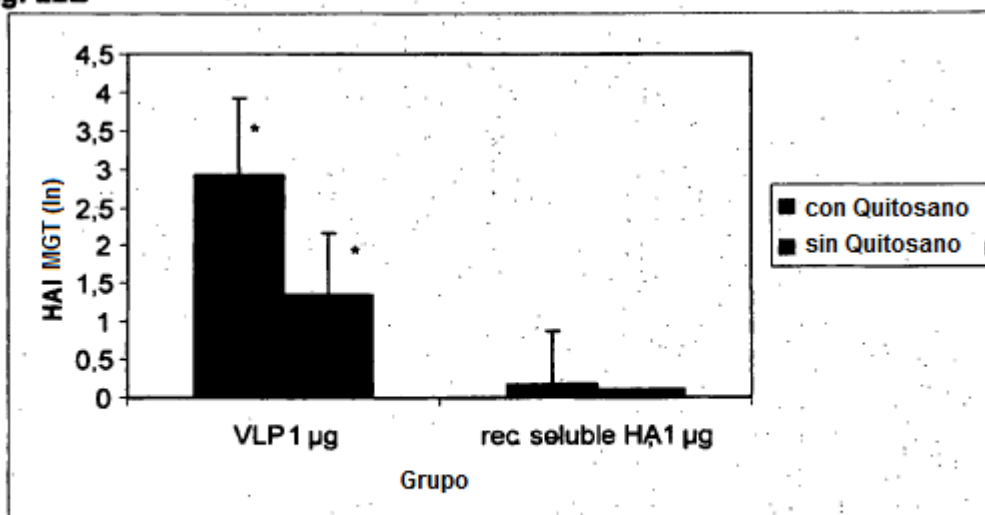


Fig. 23A

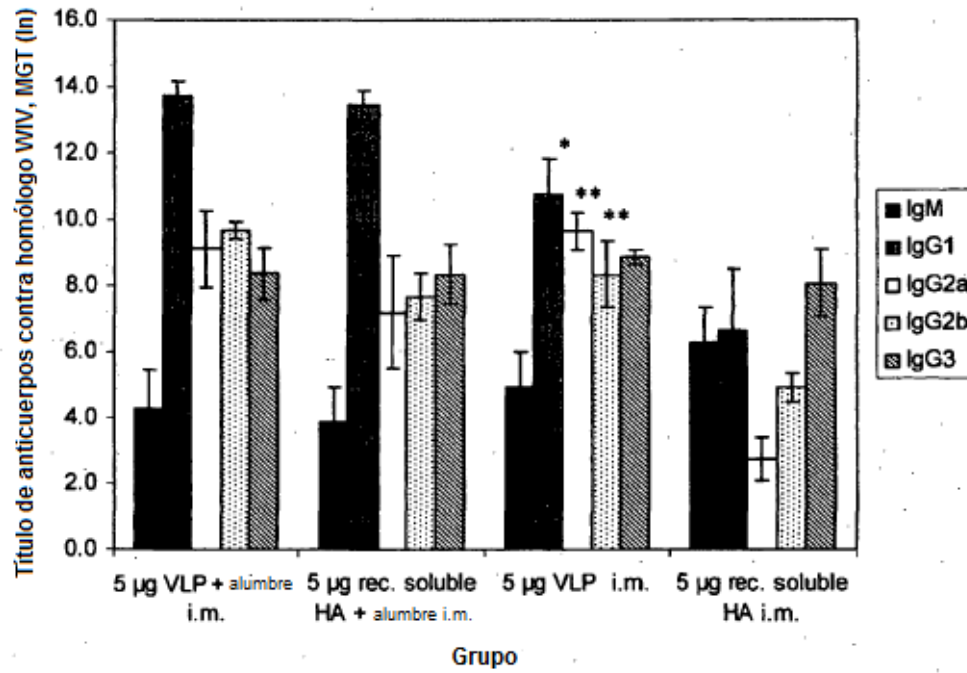


Fig. 23B

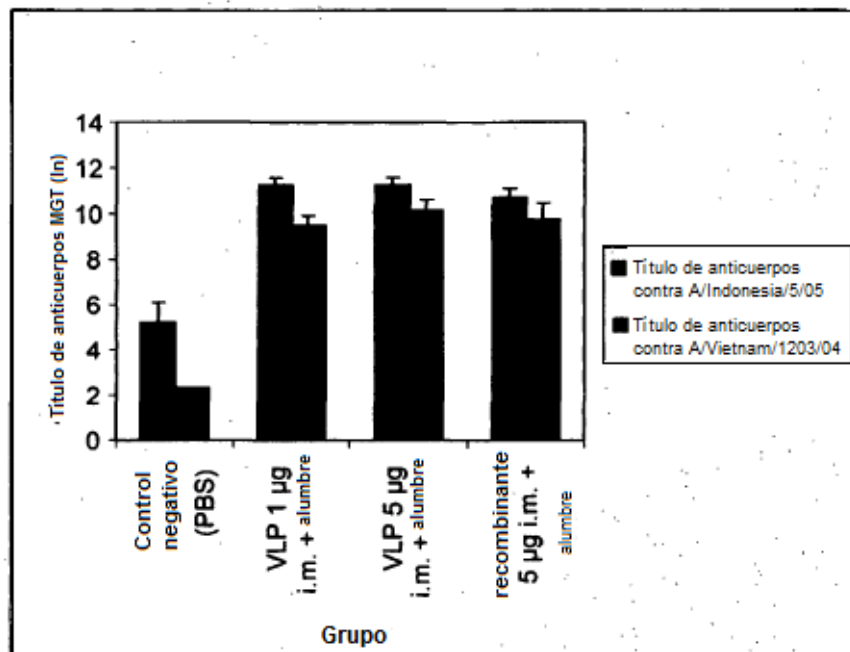


Fig. 24

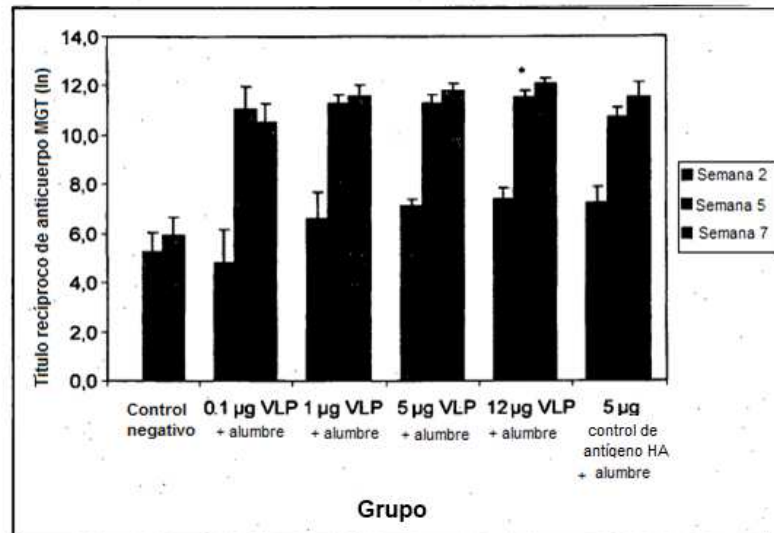




Fig. 25A

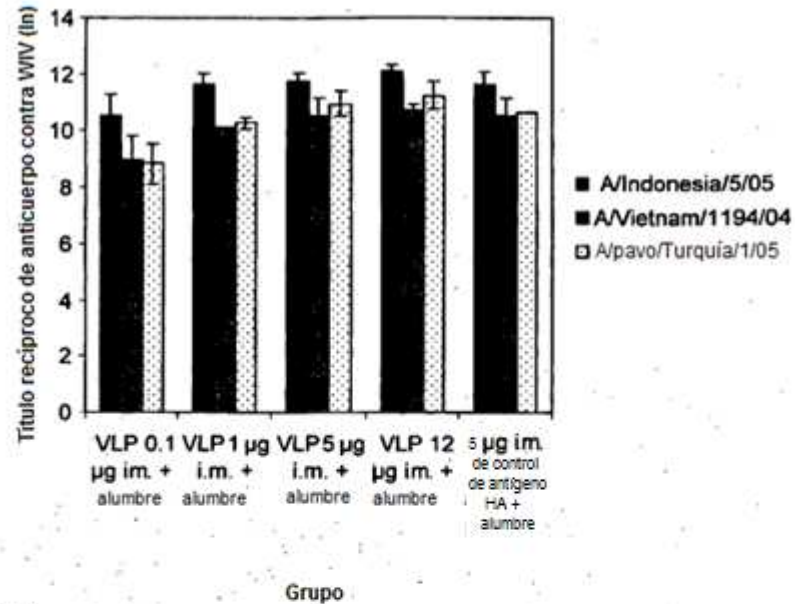


Fig. 25B

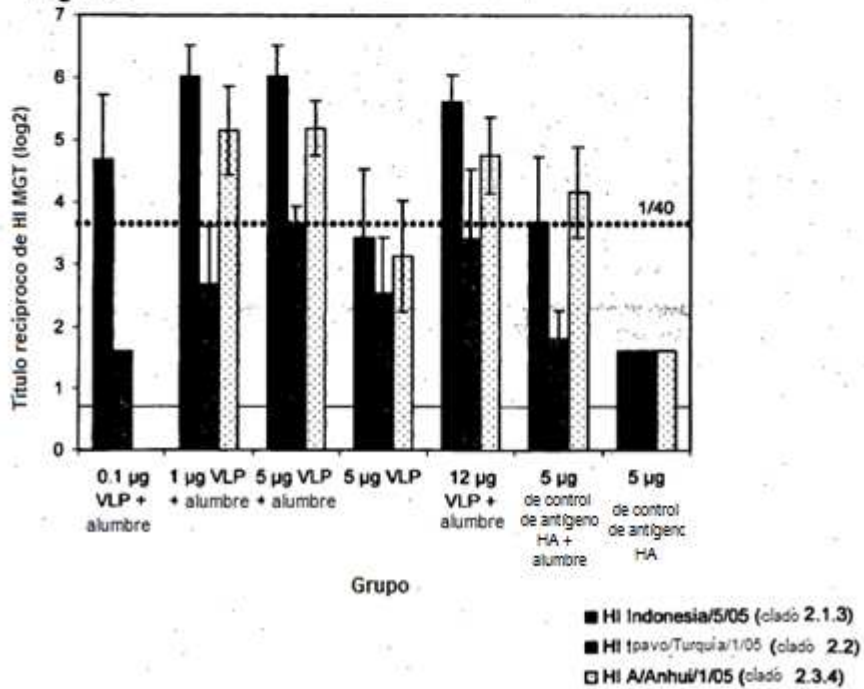


Fig. 26A

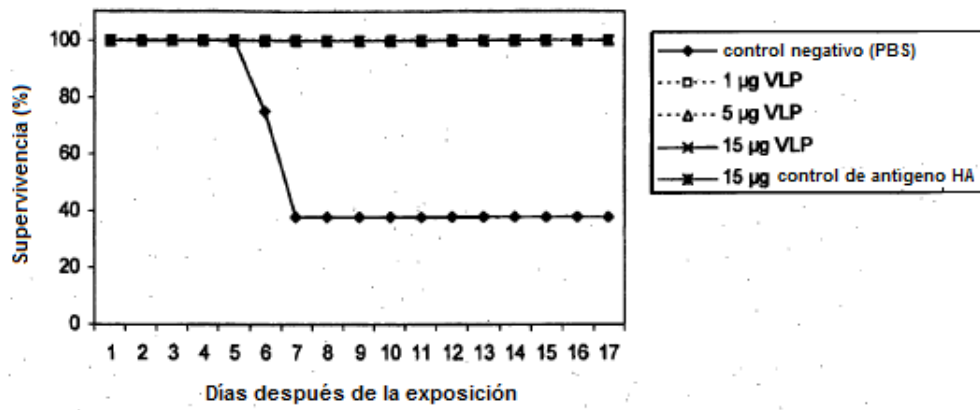


Fig. 26B

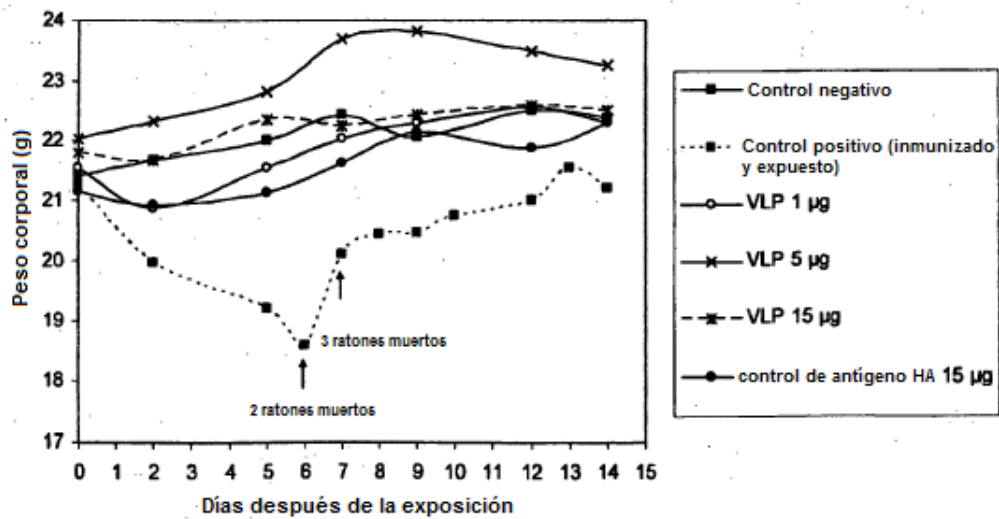


**Fig. 27A**

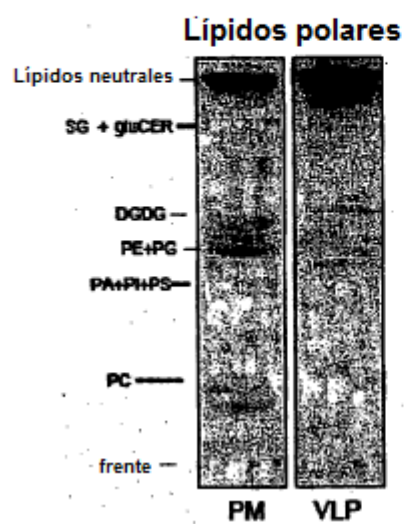


**Fig. 27B**



**Fig. 27C**

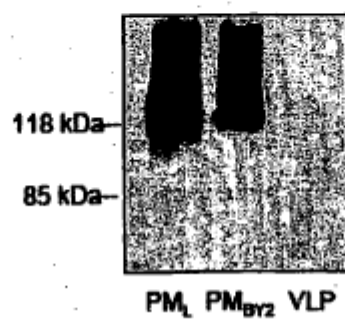


Fig. 28

SEC ID NO: 36

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGA  
 CTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAAGTAAACTACTGGTCC  
 TGTTATGCACATTTACAGCTACATATGCAGACACAATATGTATAGGCTACCAT  
 GCTAACAACTCGACCGACACTGTTGACACAGTACTTGAAAAGAATGTGACAG  
 TGACACACTCTGTCAACCTGCTTGAGAACAGTCACAATGGAAAACCTATGTCT  
 ATTAAAAGGAATAGCCCCACTACAATTGGGTAAATTGCAGCGTTGCCGGGTG  
 GATCTTAGGAAACCCAGAATGCGAATTACTGATTTCCAAGGAGTCATGGTCC  
 TACATTGTAGAAAAACCAAATCCTGAGAATGGAACATGTTACCCAGGGCATT  
 TCGCTGACTATGAGGAACTGAGGGAGCAATTGAGTTCAGTATCTTCATTTGA  
 GAGGTTTCGAAATATTTCCCAAAGAAAGCTCATGGCCCAACCACACCGTAACC  
 GGAGTGTGAGCATCATGCTCCCATAAATGGGGAAAGCAGTTTTTACAGAAATT  
 TGCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTTGTACCCAAACCTGAGCAAGTCCT  
 ATGCAAACAACAAAGAAAAAGAAAGTCCTTGTACTATGGGGTGTTTCATCACCC  
 GCCAAACATAGGTGACCAAAAGGCCCTCTATCATACAGAAAATGCTTATGTC  
 TCTGTAGTGTCTTCACATTATAGCAGAAAATTCACCCAGAAAATAGCCAAAAG  
 ACCCAAAGTAAGAGATCAAGAAGGAAGAATCAATTACTACTGGACTCTGCTT  
 GAACCCGGGGATACAATAATTTGAGGCAAATGGAAATCTAATAGCGCCAA  
 GATATGCTTTCGCACTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCAACTCAA  
 TGCACCAATGGATAAATGTGATGCGAAGTGCCAAACACCTCAGGGAGCTATA  
 AACAGCAGTCTTCTTTCCAGAACGTACACCCAGTCACAATAGGAGAGTGTC  
 CAAAGTATGTGAGGAGTGCAAAATTAAGGATGGTTACAGGACTAAGGAACAT  
 CCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGGAGCCATTGCCGGTTTCATTGAA  
 GGGGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGTTATCATCATCAGAAT  
 GAGCAAGGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAGCACACAAAATGCCATTA  
 ATGGGATTACAAACAAGGTCAATTCTGTAATTGAGAAAATGAACACTCAATTC  
 ACAGCAGTGGGCAAAGAGTTCAACAAATTGGAAAGAAGGATGGAAAACCTTG  
 AATAAAAAAGTTGATGATGGGTTTATAGACATTTGGACATATAATGCAGAACT  
 GTTGGTTCTACTGGAAAATGAAAGGACTTTGGATTTCATGACTCCAATGTG  
 AAGAATCTGTATGAGAAAGTAAAAAGCCAGTTAAAGAATAATGCTAAAGAAAT  
 AGGAAATGGGTGTTTTGAGTTCTATCACAAAGTGAACGATGAATGCATGGAG  
 AGTGTAAGAATGGAACCTATGACTATCCAAAATATTCCGAAGAATCAAAGTT  
 AAACAGGGAGAAAATTGATGGAGTGAAATTGGAATCAATGGGAGTCTATCAG  
 ATTCTGGCGATCTACTCAACAGTCGCCAGTTCTCTGGTTCTTTTGGTCTCCC  
 TGGGGGCAATCAGCTTCTGGATGTGTTCCAATGGGTCTTTACAGTGTAGAAT  
 ATGCATCTAAGAGCTC

Fig. 29

SEC ID NO: 37

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACT  
 AATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAAAGTAAACTACTGGTCCTGTTA  
 TGCACATTTACAGCTACATATGCAGACACAATATGTATAGGCTACCATGCCAACA  
 ACTCAACCGACACTGTTGACACAGTACTTGAGAAGAATGTGACAGTGACACACT  
 CTGTCAACCTGCTTGAGGACAGTCACAATGGAAAATTATGTCTATTAAGGAAT  
 AGCCCCACTACAATTGGGTAATTGCAGCGTTGCCGGATGGATCTTAGGAAACCC  
 AGAATGCGAATTACTGATTTCCAGGGAATCATGGTCCTACATTGTAGAAAAACCA  
 AATCCTGAGAATGGAACATGTTACCCAGGGCATTTCGCCGACTATGAGGAACTG  
 AGGGAGCAATTGAGTTCAGTATCTTCATTTGAGAGATTCGAAATATTCGCCAAAG  
 AAAGCTCATGGCCCAACCAACCAACAACCGGAGTATCAGCATCATGCTCCCAT  
 ATGGGGAAAGCAGTTTTTACAAAAATTTGCTATGGCTGACGGGGGAAGAATGGTTT  
 GTACCCAAACCTGAGCAAGTCCTATGCAACAACAAGAGAGAAAGAAGTCCTTGTA  
 CTATGGGGTGTTTCATCACCCGCCTAACATAGGTGACCAAGGGCTCTCTATCAT  
 AAAGAAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATTATAGCAGAAAATTCACCCC  
 AGAAATAGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAAGAAGGAAGAATCAACTACTAC  
 TGGACTCTACTTGAACCCGGGGATACAATAATTTGAGGCAAATGGAAATCTAA  
 TAGCGCCAAGATATGCTTTCGCACTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCA  
 ACTCAAATGCACCAATGGATGAATGTGATGCGAAGTGCCAAACACCTCAGGGAG  
 CTATAAACAGCAGTCTTCCTTTCCAGAATGTACACCCTGTCACAATAGGAGAGTG  
 TCCAAAGTATGTCAGGAGTGCAAAATTAAGGATGGTTACAGGACTAAGGAACAT  
 CCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGTTGGAGCCATTGCCGGTTTCATTGAAGG  
 GGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGTTATCATCATCAGAATGAGCA  
 AGGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAAGCACACAAAATGCCATTAATGGGATT  
 ACAAACAAGGTCAATTCTGTAATTGAGAAAATGAACACTCAATTCACAGCTGTGG  
 GCAAAGAGTTCAACAAATTGGAAAGAAGGATGGAAAACCTAAATAAAAAAGTTGA  
 TGATGGGTTTATAGACATTTGGACATATAATGCAGAATTGTTGGTTCTACTGGAA  
 AATGAAAGGACTTTGGATTTCCATGACTCCAATGTGAAGAATCTGTATGAGAAAG  
 TAAAAAGCCAATTAAGAATAATGCCAAAGAAATAGGAAATGGGTGTTTTGAGTT  
 CTATCATAAGTGTAACGATGAATGCATGGAGAGTGTAATAAATGGAACCTATGAC  
 TATCCAAAATATTCGAAGAATCAAAGTTAAACAGGGAGAAAATTGATGGAGTGA  
 AATTGGAATCAATGGGAGTCTATCAGATTCTGGCGATCTACTCAACAGTCGCCAG  
 TTCTCTGGTTCCTTTGGTCTCCCTGGGGGCAATCAGCTTCTGGATGTGTTCCAAT  
 GGGTCTTTGCAGTGTAGAATATGCATCTGAGAGCTC



**Fig. 30**

SEC ID NO: 38

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGA  
 CTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAGACTATCATTGCTTTGAG  
 CTACATTCTATGTCTGGTTTTCACTCAAAAACCTCCCGGAAATGACAACAGCA  
 CGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGGAACGATAGTGA  
 AAACAATCACGAATGACCAAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTTCAG  
 AGTTCCTCAACAGGTGAAATATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTTGATGGAG  
 AAAACTGCACACTAATAGATGCTCTATTGGGAGACCCTCAGTGTGATGGCTT  
 CCAAAATAAGAAATGGGACCTTTTTGTTGAACGCAGCAAAGCCTACAGCAACT  
 GTTACCCTTATGATGTGCCGGATTATGCCTCCCTTAGGTCACTAGTTGCCTCA  
 TCCGGCACACTGGAGTTTAACAATGAAAGTTTCAATTGGACTGGAGTCACTCA  
 AAACGGGAACAAGCTCTGCTTGCATAAGGAGATCTAATAACAGTTTCTTTAGTA  
 GATTGAATTGGTTGACCCACTTAAAATTCAAATACCCAGCATTGAACGTGACT  
 ATGCCAAACAATGAAAAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTCCACCACC  
 GGGTACGGACAATGACCAAATCTTCCTGTATGCTCAAGCATCAGGAAGAATC  
 ACAGTCTCTACCAAAGAAGCCAACAACTGTAATCCCGAATATCGGATCTAG  
 ACCCAGAGTAAGGAATATCCCCAGCAGAATAAGCATCTATTGGACAATAGTAA  
 AACCAGGAGACATACTTTTGATTAAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAG  
 GGGTTACTTCAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCA  
 CCCATTGGCAAATGCAATTCTGAATGCATCACTCCAAACGGAAGCATTCCCAA  
 TGACAAACCATTCCAAAATGTAAACAGGATCACATACGGGGCCTGTCCCAGA  
 TATGTTAAGCAAAACACTCTGAAATTGGCAACAGGGATGCGAAATGTACCAG  
 AGAAACAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATCGCGGGTTTCATAGAAAATGG  
 TTGGGAGGGAATGGTGGATGGTTGGTATGGTTTCAGGCATCAAATTTCTGAG  
 GGAATAGGACAAGCAGCAGATCTCAAAGCACTCAAGCAGCAATCGATCAAA  
 TCAATGGGAAGCTGAATAGGTTGATCGGGAAAACCAACGAGAAATTCATCA  
 GATTGAAAAAGAGTTCTCAGAAAGTCGAAGGGAGAATCCAGGACCTTGAGAAA  
 TATGTTGAGGACACCAAATAGATCTCTGGTCATACAACGCGGAGCTTCTTGT  
 TGCCCTGGAGAACCAACATACAATTGATCTAACTGACTCAGAAATGAACAAAC  
 TGTTTGAAAAAACAAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAA  
 TGGTTGTTTCAAATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATAGGATCAATCA  
 GAAATGGAACCTTATGACCACGATGTATACAGAGATGAAGCATTAAACAACCG  
 GTTCCAGATCAAGGGCGTTGAGCTGAAGTCAGGATACAAAGATTGGATACTA  
 TGGATTTCTTTGCCATATCATGTTTTTGTCTTGTGTTGCTTTGTTGGGGTTC  
 ATCATGTGGGCCTGCCAAAAAGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTTGAG  
AGCTC

Fig. 31

SEC ID NO: 39

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAG  
 ACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAGACTATCATTGCTTTG  
 AGCTACATTCTATGTCTGGTTTTCACTCAAAAACCTCCCGGAAATGACAACA  
 GCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGGAACGATA  
 GTGAAAACAATCACGAATGACCAAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTG  
 GTTCAGAGTTCCCTCAACAGGTGGAATATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTT  
 GATGGAGAAAACCTGCACACTAATAGATGCTCTATTGGGAGACCCTCAGTGT  
 GATGGCTTCCAAAATAAGAAATGGGACCTTTTTGTTGAACGCAGCAAAGCC  
 TACAGCAACTGTTACCCTTATGATGTGCCGGATTATGCCTCCCTTAGGTCA  
 CTAGTTGCCCTCATCCGGCACACTGGAGTTTAACGATGAAAGTTTCAATTGG  
 ACTGGAGTCACTCAAATGGAACAAGCTCTGCTTGCAAAAAGGAGATCTAAT  
 AACAGTTTCTTTAGTAGATTGAATTGGTTGACCCACTTAAAATTCAAATACC  
 CAGCATTGAACGTGACTATGCCAAACAATGAAAAATTTGACAAATTGTACAT  
 TTGGGGGGTTTACCACCCGGGTACGGACAATGACCAAATCTTCCTGCATG  
 CTCAAGCATCAGGAAGAATCACAGTCTCTACCAAAGAAGCCAACAACTG  
 TAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGAATAAGGAATATCCCCAGCAGAA  
 TAAGCATCTATTGGACAATAGTAAACCCGGGAGACATACTTTTGATTAACAG  
 CACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGGGGTTACTTCAAATACGAAGTGGGAA  
 AAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAATTCTGAATG  
 CATCACTCCAAATGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTTCAAAATGTAAAC  
 AGGATCACATATGGGGCCTGTCCAGATATGTTAAGCAAAACACTCTGAAA  
 TTGGCAACAGGGATGCGAAATGTACCAGAGAAACAACTAGAGGCATATTT  
 GGCGCAATCGCGGGTTTCATAGAAAATGGTTGGGAGGGAATGGTGGATGG  
 TTGGTACGGTTTCAGGCATCAAAATCTGAGGGAATAGGACAAGCAGCAGA  
 TCTCAAAGCACTCAAGCAGCAATCAATCAAATCAATGGGAAGCTGAATAG  
 GTTGATCGGGAAAACCAACGAGAAATTCCATCAGATTGAAAAAGAGTTCTC  
 AGAAGTAGAAGGGAGAATCCAGGACCTCGAGAAATATGTTGAGGACACTAA  
 AATAGATCTCTGGTCATACAACGCGGAGCTTCTTGTGCCCCTGGAGAACCA  
 ACATACAATTGATCTAACTGACTCAGAAATGAACAACTGTTTGAAAGAACA  
 AAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGGTTGTTTCAA  
 ATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATAGGATCAATCAGAAATGGAACCT  
 ATGACCATGATGTATACAGAGATGAAGCATTAAACAACCGTTCCAGATCA  
 AAGGCGTTGAGCTGAAGTCAGGATACAAAGATTGGATACTATGGATTTCT  
 TTGCCATATCATGTTTTTTGCTTTGTGTTGCTTTGTTGGGGTTTCATCATGTG  
 GGCCTGCCAAAAGGCAACATTAGGTGCAACATTTCATTGAGAGCTC

Fig. 32

SEC ID NO: 40

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGA  
 GACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAGGCAATAATTGTAC  
 TACTCATGGTAGTAACATCCAATGCAGATCGAATCTGCACTGGGATAACAT  
 CGTCAAACCTACCACATGTTGTCAAACTGCTACTCAAGGGGAGGTCAAT  
 GTGACTGGTGTAAATACCACTGACAACAACACCCACCAAATCTCATTTTGCA  
 AATCTCAAAGGAACAGAAACCAGAGGGGAAACTATGCCCAAATGCCTCAA  
 CTGCACAGATCTGGACGTGGCCTTGGGCAGACCAAATGCACGGGGAAC  
 ATACCCTCGGCAAGAGTTTCAATACTCCATGAAGTCAGACCTGTTACATCT  
 GGGTGCTTTCTATAATGCACGACAGAACAAAAATTAGACAGCTGCCTAAA  
 CTTCTCAGAGGATACGAACATATCAGGTTATCAACTCATAACGTTATCAAT  
 GCAGAAAATGCACCAGGAGGACCCTACAAAATTGGAACCTCAGGGTCTTG  
 CCCTAACGTTACCAATGGAAACGGATTTTTCGCAACAATGGCTTGGGCCG  
 TCCCAAAAAACGACAACAACAAACAGCAACAAATTCAATTAACAATAGAAG  
 TACCATACATTTGTACAGAAGGAGAAGACCAAATTACCGTTTGGGGGTTT  
 CACTCTGATAACGAAACCCAAATGGCAAAGCTCTATGGGGACTCAAAGCC  
 CCAGAAGTTCACCTCATCTGCCAACGGAGTGACCACACATTACGTTTCAC  
 AGATTGGTGGCTTCCCAAATCAAACAGAAGACGGAGGACTACCACAAAGC  
 GGTAAGAATTGTTGTTGATTACATGGTGCAAAAATCTGGGAAACAGGAAC  
 AATTACCTATCAAAGAGGTATTTTATTGCCTCAAAAAGTGTGGTGCGCAAG  
 TGGCAGGAGCAAGGTAATAAAAGGATCGTTGCCTTTAATTGGAGAAGCAG  
 ATTGCCTCCACGAAAAATACGGTGGATTAAACAAAAGCAAGCCTTACTACA  
 CAGGGGAACATGCAAAGGCCATAGGAAATTGCCCAATATGGGTGAAAAACA  
 CCCTTGAAGCTGGCCAATGGAACCAAATATAGACCTCCTGCAAACTATTA  
 AAGGAAAGGGGTTTCTTCGGAGCTATTGCTGGTTTCTTAGAAGGAGGATG  
 GGAAGGAATGATTGCAGGTTGGCACGGATACACATCCCATGGGGCACAT  
 GGAGTAGCGGTGGCAGCAGACCTTAAGAGCACTCAAGAGGCCATAAACA  
 AGATAACAAAAAATCTCAACTCTTTGAGTGAGCTGGAAGTAAAGAATCTTC  
 AAAGACTAAGCGGTGCCATGGATGAACTCCACAACGAAATACTAGAACTA  
 GACGAGAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGATACAATAAGCTCACAAATAGA  
 ACTCGCAGTCCTGCTTTCCAATGAAGGAATAATAAACAGTGAAGATGAGC  
 ATCTCTTGGCGCTTGAAAGAAAGCTGAAGAAAATGCTGGGCCCTCTGCT  
 GTAGAGATAGGGAATGGATGCTTTGAAACCAACACAAGTGCAACCAGAC  
 CTGTCTCGACAGAATAGCTGCTGGTACCTTTGATGCAGGAGAATTTTCTCT  
 CCCCCTTTTGATTCACTGAATATTACTGCTGCATCTTTAAATGACGATGG  
 ATTGGATAATCATACTATACTGCTTTACTACTCAACTGCTGCCTCCAGTTT  
 GGCTGTAACATTGATGATAGCTATCTTTGTTGTTTATATGGTCTCCAGAGA  
 CAATGTTTCTTGCTCCATCTGTCTATAAGAGCTC



Fig. 33

SEC ID NO: 41

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAA  
 GAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAGGCAATAATT  
 GTACTACTCATGGTAGTAACATCCAATGCAGATCGAATCTGCACTGGAA  
 TAACATCTTCAAACCTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCCACTCAAGGGGA  
 GGTCAATGTGACTGGTGTGATACCACTAACAACAACACCAACAAAATCT  
 TATTTTGCAAATCTCAAAGGAACAAGGACCAGAGGGGAACTATGCCCA  
 GACTGTCTCAACTGCACAGATCTGGATGTGGCTTTGGGCAGACCAATG  
 TGTGTGGGGACCACACCTTCGGCGAAGGCTTCAATACTCCACGAAGTC  
 AAACCTGTTACATCCGGGTGCTTTCCTATAATGCACGACAGAACAAAAA  
 TCAGGCAACTACCCAATCTTCTCAGAGGATATGAAAATATCAGGCTATC  
 AACCCAAAACGTCATCGATGCGGAAAAGGCACCAGGAGGACCCTACA  
 GACTTGGAACCTCAGGATCTTGCCCTAACGCTACCAGTAAGAGCGGAT  
 TTTTCGCAACAATGGCTTGGGCTGTCCCAAAGGACAACAACAAAATG  
 CAACGAACCCACTAACAGTAGAAGTACCATACATTTGTACAGAAGGGG  
 AAGACCAAATCACTGTTTGGGGGTTCCATTGAGATAACAAAACCCAAAT  
 GAAGAACCTCTATGGAGACTCAAATCCTCAAAGTTTACCTCATCTGCT  
 AATGGAGTAACCACACACTATGTTTCTCAGATTGGCAGCTTCCAGATC  
 AAACAGAAGACGGAGGACTACCACAAAGCGGCAGGATTGTTGTTGATT  
 ACATGATGCAAAAACCTGGGAAAACAGGAACAATTGTCTACCAAAGAG  
 GTGTTTTGTTGCCTCAAAGGTGTGGTGCGCGAGTGGCAGGAGCAAA  
 GTAATAAAAGGGTCCTTGCTTTAATTGGTGAAGCAGATTGCCTTCATG  
 AAAAAACGGTGGATTAAACAAAAGCAAGCCTTACTACACAGGAGAACA  
 TGCAAAAGCCATAGGAAATTGCCCAATATGGGTGAAAACACCTTTGAA  
 GCTCGCCAATGGAACCAAATATAGACCTCCTGCAAACTATTAAAGGAA  
 AGGGGTTTCTTCGGAGCTATTGCTGGTTTCCTAGAAGGAGGATGGGAA  
 GGAATGATTGCAGGCTGGCACGGATACACATCTCACGGAGCACATGG  
 AGTGGCAGTGGCGGCGGACCTTAAGAGTACGCAAGAAGCTATAAACAA  
 GATAACAAAAATCTCAATTCTTTGAGTGAGCTAGAAGTAAAGAATCTT  
 CAAAGACTAAGTGGTGCCATGGATGAACTCCACAACGAAATACTCGAG  
 CTGGATGAGAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGACACTATAAGCTCGCAA  
 ATAGAACTTGCAGTCTTGCTTTCCAACGAAGGAATAATAACAGTGAAG  
 ATGAGCATCTATTGGCACTTGAGAGAAAATAAAGAAAATGCTGGGTC  
 CCTCTGCTGTAGAGATAGGAAATGGATGCTTCGAAACCAAACACAAGT  
 GCAACCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAG  
 GAGAATTTTCTCTCCCACTTTTGATTCACTGAACATTACTGCTGCATCT  
 TTAATGATGATGGATTGGATAACCATACTATACTGCTCTATTACTCAAC  
 TGCTGCTTCTAGTTTGGCTGTAACATTGATGCTAGCTATTTTATTGTTT  
 ATATGGTCTCCAGAGACAACGTTTCATGCTCCATCTGTCTATAAGAGCT  
C

Fig. 34

SEC ID NO: 42

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAA  
 GAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGCCATCATTTA  
 TCTAATTCTCCTGTTACAGCAGTGAGAGGGGACCAAATATGCATTGG  
 ATACCATGCCAATAATTCCACAGAGAAGGTCGACACAATTCTAGAGCG  
 GAACGTCACTGTGACTCATGCCAAGGACATTCTTGAGAAGACCCATAA  
 CGGAAAGTTATGCAAACCTAAACGGAATCCCTCCACTTGAAGTAGGGGA  
 CTGTAGCATTGCCGGATGGCTCCTTGGAATCCAGAATGTGATAGGCT  
 TCTAAGTGTGCCAGAATGGTCCTATATAATGGAGAAAGAAAACCCGAG  
 AGACGGTTTGTGTTATCCAGGCAGCTTCAATGATTATGAAGAATTGAAA  
 CATCTCCTCAGCAGCGTGAAACATTTGAGAGAAAGTAAAGATTCTGCCC  
 AAAGATAGATGGACACAGCATACAACAACTGGAGGTTACGGGCGCTG  
 CGCGGTGTCTGGTAATCCATCATTCTTCAGGAACATGGTCTGGCTGAC  
 AAAGAAAGAATCAAATTATCCGGTTGCCAAAGGATCGTACAACAATAC  
 AAGCGGAGAAACAAATGCTAATAATTTGGGGGGTGCACCATCCCAATGA  
 TGAGACAGAAACAAAGAACATTGTACCAGAATGTGGGAACCTATGTTTC  
 CGTAGGCACATCAACATTGAACAAAAGGTCAACCCCAGACATAGCAAC  
 AAGGCCTAAAGTGAATGGACTAGGAAGTAGAATGGAGTTCTCTTGAC  
 CCTATTGGATATGTGGGACACCATAAATTTTGAGAGTACTGGTAATCTA  
 ATTGCACCAGAGTATGGATTCAAAATATCGAAAAGAGGTAGTTCAGGG  
 ATCATGAAAACAGAAGGAACACTTGAGAACTGTGAGACCAAATGCCAA  
 ACTCCTTTGGGAGCAATAAATACAACATTGCCTTTTACAATGTCCACC  
 CACTGACAATAGGTGAGTGCCCCAAATATGTAAATCGGAGAAGTTGG  
 TCTTAGCAACAGGACTAAGGAATGTTCCCCAGATTGAATCAAGAGGAT  
 TGTTTGGGGCAATAGCTGGTTTTATAGAAGGAGGATGGCAAGGAATG  
 GTTGATGGTTGGTATGGATACCATCACAGCAATGACCAGGGATCAGG  
 GTATGCAGCAGACAAAGAATCCACTCAAAGGCATTTGATGGAATCAC  
 CAACAAGGTAAATTCTGTGATTGAAAAGATGAACACCCAATTTGAAGCT  
 GTTGGGAAAGAGTTCAGTAACTTAGAGAGAAGACTGGAGAACTTGAAC  
 AAAAAGATGGAAGACGGGTTTCTAGATGTGTGGACATACAATGCTGAG  
 CTTCTAGTTCTGATGGAAAATGAGAGGACACTTGACTTTTCATGATTCTA  
 ATGTCAAGAATCTGTATGATAAAGTCAGAATGCAGCTGAGAGACAACG  
 TCAAAGAAGTAGGAAATGGATGTTTTGAATTTTATCACAAATGTGATGA  
 TGAATGCATGAATAGTGTGAAAAACGGGACGTATGATTATCCCAAGTA  
 TGAAGAAGAGTCTAAACTAAATAGAAATGAAATCAAAGGGGTAAAATTG  
 AGCAGCATGGGGGTTTATCAAATCCTTGCCATTTATGCTACAGTAGCA  
 GGTTCTCTGTCACTGGCAATCATGATGGCTGGGATCTCTTCTGGATG  
 TGCTCCAACGGGTCTCTGCAGTGCAGGATCTGCATATGAGAGCTC

Fig. 35

SEC ID NO: 43

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAAGAGAAG  
 AGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGAGAAAATAGTGCT  
 TCTTCTTGCAATAGTCAGCCTTGTTAAAAGTGATCAGATTTGCATTGGTTA  
 CCATGCAAACAACTCGACAGAGCAGGTTGACACAATAATGGAAAAGAAC  
 GTTACTGTTACACATGCCCAAGACATACTGGAAAAGACACACAACGGGA  
 AGCTCTGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTGATTTTAAGAGATTGTAGT  
 GTAGCTGGATGGCTCCTCGGAAACCCAATGTGTGACGAGTTCATCAATG  
 TGCCGGAATGGTCTTACATAGTGGAGAAGGCCAACCCAGCCAATGACCT  
 CTGTTACCCAGGGAATTTCAACGACTATGAAGAACTGAAACACCTATTGA  
 GCAGAATAAACCATTTTGAGAAAATTCAGATCATCCCCAAAAGTTCTTGG  
 TCCGATCATGAAGCCTCATCAGGGGTCAGCTCAGCATGTCCATACCAGG  
 GAACGCCCTCCTTTTTCAGAAATGTGGTATGGCTTATCAAAAAGAACAAT  
 ACATACCCAACAATAAAGAGAAGCTACAATAATACCAACCAGGAAGATCT  
 TTTGATACTGTGGGGGATTTCATCATTCTAATGATGCGGCAGAGCAGACAA  
 AGCTCTATCAAAACCCAACCACCTATATTTCCGTTGGGACATCAACACTA  
 AACCAGAGATTGGTACCAAAAATAGCTACTAGATCCAAAGTAAACGGGCA  
 AAGTGGAAGGATGGATTTCTTCTGGACAATTTTAAACCGAATGATGCAA  
 TCAACTTCGAGAGTAATGGAAATTTCAATTGCTCCAGAATATGCATACAAA  
 ATTGTCAAGAAAGGGGACTCAGCAATTGTTAAAAGTGAAGTGGAATATGG  
 TAACTGCAATACAAAGTGTCAAACCTCCAATAGGGGCGATAAACTCTAGTA  
 TGCCATTCCACAACATACACCCTCTCACCATCGGGGAATGCCCCAAATAT  
 GTGAAATCAAACAAATTAGTCCTTGCGACTGGGCTCAGAAATAGTCCTCT  
 AAGAGAAAGAAGAAGAAAAAGAGGACTATTTGGAGCTATAGCAGGGTTT  
 ATAGAGGGGAGGATGGCAGGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGGTACCAC  
 CATAGCAATGAGCAGGGGAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAATCCACTC  
 AAAAGGCAATAGATGGAGTCACCAATAAGGTCAACTCGATCATTGACAAA  
 ATGAACACTCAGTTTGAGGCCGTTGGAAGGGAATTTAATAACTTAGAAAG  
 GAGAATAGAGAATTTAAACAAGAAAATGGAAGACGGATTCTAGATGTCT  
 GGACTTATAATGCTGAACTTCTGGTTCTCATGGAAAATGAGAGAACTCTA  
 GACTTCCATGATTCAAATGTCAAGAACCTTTACGACAAGGTCCGACTACA  
 GCTTAGGGATAATGCAAAGGAGCTGGGTAACGGTTGTTTCGAGTTCTAT  
 CACAAATGTGATAATGAATGTATGGAAAGTGTAAGAAACGGAACGTATGA  
 CTACCCGCAGTATTCAGAAGAAGCAAGATTAAAAAGAGAGGAAATAAGT  
 GGAGTAAAATTGGAATCAATAGGAACCTTACCAAATACTGTCAATTTATTCA  
 ACAGTTGCGAGTTCTCTAGCACTGGCAATCATGGTGGCTGGTCTATCTTT  
 GTGGATGTGCTCCAATGGGTGTTACAATGCAGAATTTGCATTTAAGAGC  
TC



Fig. 36

SEC ID NO: 44

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGA  
 GACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGAGAAAATAGTGCTTC  
 TTTTTCGAATAGTCAGTCTTGTTAAAAGTGATCAGATTTGCATTGGTTACCA  
 TGCAAACAACCTCGACAGAGCAGGTTGACACAATAATGGAAAAGAACGTTA  
 CTGTTACACATGCCCAAGACATACTGGAAAAGACACACAATGGGAAGCTC  
 TGGCATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTAATTTTGAGAGATTGTAGTGTAGCT  
 GGATGGCTCCTCGGAAACCCAATGTGTGACGAGTTCATCAATGTGCCGGA  
 ATGGTCTTACATAGTGGAGAAGGCCAATCCAGTCAATGACCTCTGTTACC  
 CAGGGGATTTCATGACTATGAAGAATTGAAACACCTATTGAGCAGAATAA  
 ACCATTTTGAGAAAATTCAGATCATCCCCAAAAGTTCTTGGTCCAGTCATG  
 AAGCCTCATTGGGGGTCAGCTCAGCATGTCCATACCAGGGAAAAGTCCTCC  
 TTTTTCAGAAATGTGGTATGGCTTATCAAAAAGAACAGTACATACCCAACA  
 ATAAAGAGGAGCTACAATAATACCAACCAAGAAGATCTTTTGGTACTGTGG  
 GGGATTCAACCATCCTAATGATGCGGCAGAGCAGACAAAGCTCTATCAAAA  
 CCCAACCCACCTATATTTCCGTTGGGACATCTACACTAAACCAGAGATTGGT  
 ACCAAGAATAGCTACTAGATCCAAAGTAAACGGGGCAAAGTGGAAGGATGG  
 AGTTCTTCTGGACAATTTTAAAACCGAATGATGCAATCAACTTCGAGAGTA  
 ATGGAAATTTTCATTGCTCCAGAATATGCATACAAAATTGTCAAGAAAGGGG  
 ACTCAACAATTATGAAAAGTGAATTGGAATATGGTAACTGCAATACCAAGT  
 GTCAAACTCCAATGGGGGCGATAAACTCTAGCATGCCATTCCACAATATAC  
 ACCCTCTCACCATCGGGGAATGCCCAAATATGTGAAATCAAACAGATTA  
 GTCCTTGCGACTGGGCTCAGAAATAGCCCTCAAAGAGAGAGAAGAAGAAA  
 AAAGAGAGGATTATTTGGAGCTATAGCAGGTTTTATAGAGGGAGGATGGC  
 AGGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGGTACCACCATAGCAACGAGCAGGG  
 GAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAATCCACTCAAAGGCAATAGATGGAG  
 TCACCAATAAGGTCAACTCGATTATTGACAAAATGAACACTCAGTTTGAGG  
 CCGTTGGAAGGGAATTTAACAACTTAGAAAGGAGAATAGAGAATTTAAACA  
 AGAAGATGGAAGACGGGTTCCAGATGTCTGGACTTATAATGCTGAACCTT  
 CTAGTTCTCATGGAAAACGAGAGAACTCTAGACTTTTCATGACTCAAATGTC  
 AAGAACCTTTACGACAAGGTCCGACTACAGCTTAGGGATAATGCAAAGGA  
 GCTGGGTAACGGTTGTTTCGAGTTCTATCATAAATGTGATAATGAATGTAT  
 GGAAAGTGTAAGAAACGGAACGTATGACTACCCGCAATTCAGAAGAAG  
 CAAGACTAAAAAGAGAGGAAATAAGTGGAGTAAATTTGGAATCAATAGGA  
 ATTTACCAAATATTGTCAATTTATTCTACAGTGGCCAGCTCCCTAGCACTG  
 GCAATCATGGTAGCTGGTCTATCCTTATGGATGTGCTCCAATGGGTCGTT  
 ACAATGCAGAATTTGCATTTAAGAGCTC

Fig. 37

SEC ID NO: 45

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGA  
 GACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGATTGCAATCATTGTAA  
 TAGCAATACTGGCAGCAGCCGGAAAGTCAGACAAGATCTGCATTGGGTAT  
 CATGCCAACAAATCAACAACACAGGTAGATACGATACTTGAGAAGAATGT  
 GACTGTCACACACTCAATTGAATTGCTGGAAAATCAGAAGGAAGAAAGAT  
 TCTGCAAGATATTGAACAAGGCCCTCTCGACTTAAGGGAATGTACCATA  
 GAGGGTTGGATCTTGGGGAATCCCCAATGCGACCTATTGCTTGGTGATCA  
 AAGCTGGTCATACATTGTGGAAAGACCTACTGCTCAAAACGGGATCTGCT  
 ACCCAGGAACCTTAAATGAGGTAGAAGAACTGAGGGCACTTATTGGATCA  
 GGAGAAAGGGTAGAGAGATTTGAGATGTTTCCCCAAAGCACCTGGCAAG  
 GAGTTGACACCAACAGTGGAACAACAAGATCCTGCCCTTATTCTACTGGT  
 GCGTCTTTCTACAGAAACCTCCTATGGATAATAAAAAACCAAGACAGCAGA  
 ATATCCAGTAATTAAGGGAATTTACAACAACACTGGAACCCAGCCAATCCT  
 CTATTTCTGGGGTGTGCATCATCCTCCTAACACCGACGAGCAAGATACTC  
 TGTATGGCTCTGGTGATCGATACGTTAGAATGGGAACTGAAAGCATGAAT  
 TTTGCCAAGAGTCCGGAAATTGCGGCAAGGCCTGCTGTGAATGGACAAA  
 GAGGCAGAATTGATTATTATTGGTCGGTTTTAAACCAGGGGAAACCTTG  
 AATGTGGAATCTAATGGAAATCTAATCGCCCCTTGGTATGCATACAAATTT  
 GTCAACACAAATAGTAAAGGAGCCGTCTTCAGGTCAGATTTACCAATCGA  
 GAACTGCGATGCCACATGCCAGACTATTGCAGGGGTTCTAAGGACCAATA  
 AAACATTTCAGAATGTGAGTCCCCTGTGGATAGGAGAATGTCCCAAATAC  
 GTGAAAAGTGAAAGTCTGAGGCTTGCAACTGGACTAAGAAATGTTCCACA  
 GATTGAACTAGAGGACTCTTCGGAGCTATTGCAGGGTTTATTGAAGGAG  
 GATGGACTGGGATGATAGATGGGTGGTATGGCTATCACCATGAAAATTCT  
 CAAGGGTCAGGATATGCAGCAGACAGAGAAAGCACTCAAAAGGCTGTAA  
 ACAGAATTACAAATAAGGTCAATTCATCATCAACAAAATGAACACACAAT  
 TTGAAGCTGTCGATCACGAATTTCAAATCTGGAGAGGAGAATTGACAAT  
 CTGAACAAAAGAATGCAAGATGGATTTCTGGATGTTTGGACATACAATGC  
 TGAAGTGTGGTTCTTCTTGAAAACGAAAGAACAAGTAGACATGCATGACG  
 CAAATGTGAAGAACCTACATGAAAAGGTCAAATCACAATAAGGGACAAT  
 GCTACGATCTTAGGGAATGGTTGCTTTGAATTTTGGCATAAGTGTGACAAT  
 GAATGCATAGAGTCTGTCAAAAATGGTACATATGACTATCCCAAATACCAG  
 ACTGAAAGCAAATTAACAGGCTAAAAATAGAATCAGTAAAGCTAGAGAAC  
 CTTGGTGTGTATCAAATCTTGCCATTTATAGTACGGTATCGAGCAGCCTA  
 GTGTTGGTAGGGCTGATCATGGCAATGGGTCTTTGGATGTGTTCAAATGG  
 TTCAATGCAGTGCAGGATATGTATATAAGAGCTC

**Fig. 38**

SEC ID NO: 46

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGA  
 GACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAACTCAAATCTAA  
 TATTAGCCACTTCGGCATTCTTCTATGTACGTGCAGATAAAATCTGCCTAG  
 GACATCATGCTGTGTCTAATGGAACCAAAGTAGACACCCTTACTGAAAAA  
 GGAATAGAAGTTGTCAATGCAACAGAAACAGTTGAACAAACAAACATCCC  
 TAAGATCTGCTCAAAAGGAAAACAGACTGTTGACCTTGGTCAATGTGGAT  
 TACTAGGGACCGTTATTGGTCCTCCCCAATGTGACCAATTTCTTGAGTTCT  
 CTGCTAATTTAATAGTTGAAAGAAGGGGAAGGTAATGACATTTGTTATCCAG  
 GCAAATTTGACAATGAAGAAACATTGAGAAAAATACTCAGAAAATCCGGA  
 GGAATTTAAAAAGGAGAATATGGGATTCACATATACCGGAGTGAGAACCAA  
 TGGAGAGACTAGCGCATGTAGAAGGTCAAGATCTTCCTTTTATGCAGAGA  
 TGAAATGGCTTCTATCCAGCACAGACAATGGGACATTTCCACAAATGACA  
 AAGTCCTACAAGAACTAAGAAGGTACCAGCTCTGATAATCTGGGGAAT  
 CCACCACTCAGGATCAACTACTGAACAGACTAGATTATATGGAAGTGGGA  
 ATAAATTGATAACAGTTTGGAGTTCCAAATACCAACAATCTTTTGTCCCAA  
 ATCCTGGACCAAGACCGCAAATGAATGGTCAATCAGGAAGAATTGACTTT  
 CACTGGCTGATGCTAGATCCCAATGATACTGTCACTTTCAGTTTTAATGGG  
 GCCTTTATAGCACCTGACCGCGCCAGTTTTCTAAGAGGTAAATCTCTAGG  
 AATCCAAAGTGATGCACAACCTTGACAATAATTGTGAAGGTGAATGCTATCA  
 TATTGGAGGTACTATAATTAGCAACTTGCCCTTTCAAACATTAATAGTAG  
 GGCAATCGGAAAATGCCCCAGATACGTGAAGCAGAAGAGCTTAATGCTA  
 GCAACAGGAATGAAAAATGTTCTGAAGCTCCTGCACATAAACAACTAAC  
 TCATCACATGCGCAAAAAAAGAGGTTTATTTGGTGCAATAGCAGGATTCAT  
 TGAAAATGGGTGGGAAGGATTAATAGACGGATGGTATGGATATAAGCATC  
 AGAATGCACAAGGAGAAGGGACTGCTGCAGACTACAAAAGTACACAATCT  
 GCTATCAACCAAATAACCGGAAAATTGAACAGACTAATAGAAAAAACCAAC  
 CAGCAATTCGAACTAATAGATAATGAGTTCAATGAAATAGAAAAACAAATT  
 GGCAATGTTATTAAGTGGACTAGAGATTCTATCATCGAAGTATGGTCATAT  
 AATGCAGAGTTCCTCGTAGCAGTGGAGAATCAACACACTATTGATTTAACT  
 GACTCAGAAATGAACAACTATATGAAAAGGTAAGAAGACAACTGAGAGA  
 AAATGCTGAGGAAGATGGTAATGGCTGTTTTGAAATATTCCACCAATGTG  
 ACAATGATTGCATGGCCAGCATTAGAAACAACACATATGACCATAAAAAAT  
 ACAGAAAAGAGGCAATACAAAACAGAATCCAGATTGACGCAGTAAAGTTG  
 AGCAGTGGTTACAAAGATATAATACTTTGGTTTAGCTTCGGGGCATCATG  
 TTTCTTATTTCTTGCCATTGCAATGGGTCTTGTTTTCATATGTATAAAAAAT  
 GGAAACATGCGGTGCACTATTTGTATATAAGAGCTC



Fig. 39

SEC ID NO: 47

CACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGA  
 GACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGAAACAATATCACTAA  
 TAACTATACTACTAGTAGTAACAGCAAGCAATGCAGATAAAATCTGCATCG  
 GCCACCAGTCAACAACTCCACAGAACTGTGGACACGCTAACAGAAACC  
 AATGTTCTGTGACACATGCCAAAGAATTGCTCCACACAGAGCATAATGGA  
 ATGCTGTGTGCAACAAGCCTGGGACATCCCCTCATTCTAGACACATGCAC  
 TATTGAAGGACTAGTCTATGGCAACCCTTCTTGTGACCTGCTGTTGGGAG  
 GAAGAGAATGGTCCTACATCGTCGAAAGATCATCAGCTGTAAATGGAACG  
 TGTTACCCTGGGAATGTAGAAAACCTAGAGGAACTCAGGACACTTTTTAGT  
 TCCGCTAGTTCCTACCAAAGAATCCAAATCTTCCCAGACACAACCTGGAAT  
 GTGACTTACACTGGAACAAGCAGAGCATGTTCAAGTTTCTTCTACAGGAG  
 TATGAGATGGCTGACTCAAAGAGCGGTTTTTACCCTGTTCAAGACGCCC  
 AATACACAAATAACAGGGGAAAGAGCATTCTTTTCGTGTGGGGCATACAT  
 CACCCACCCACCTATACCGAGCAAACAAATTTGTACATAAGAAACGACACA  
 ACAACAAGCGTGACAACAGAAGATTTGAATAGGACCTTCAAACCAGTGATA  
 GGGCCAAGGCCCTTGTCAATGGTCTGCAGGGAAGAATTGATTATTATTG  
 GTCGGTACTAAAACCAGGCCAAACATTGCGAGTACGATCCAATGGGAATC  
 TAATTGCTCCATGGTATGGACACGTTCTTTCAGGAGGGAGCCATGGAAGA  
 ATCCTGAAGACTGATTTAAAAGGTGGTAATTGTGTAGTGCAATGTCAGACT  
 GAAAAAGGTGGCTTAAACAGTACATTGCCATTCCACAATATCAGTAAATAT  
 GCATTTGGAACCTGCCCCAAATATGTAAGAGTTAATAGTCTCAAACCTGGCA  
 GTCGGTCTGAGGAACGTGCCTGCTAGATCAAGTAGAGGACTATTTGGAGC  
 CATAGCTGGATTATAGAAAGGAGGTTGGCCAGGACTAGTCGCTGGCTGG  
 TATGGTTTCCAGCATTCAAATGATCAAGGGGTTGGTATGGCTGCAGATAG  
 GGATTCAACTCAAAGGCAATTGATAAAATAACATCCAAGGTGAATAATAT  
 AGTCGACAAGATGAACAAGCAATATGAAATAATTGATCATGAATTTAGTGA  
 GGTTGAACTAGACTCAATATGATCAATAATAAGATTGATGACCAAATACA  
 AGACGTATGGGCATATAATGCAGAATTGCTAGTACTACTTGAAAATCAAAA  
 AACACTCGATGAGCATGATGCGAACGTGAACAATCTATATAACAAGGTGA  
 AGAGGGCACTGGGCTCCAATGCTATGGAAGATGGGAAAGGCTGTTTCGA  
 GCTATACCATAAATGTGATGATCAGTGCATGGAAACAATTCGGAACGGGA  
 CCTATAATAGGAGAAAGTATAGAGAGGAATCAAGACTAGAAAGGCAGAAA  
 ATAGAGGGGGTTAAGCTGGAATCTGAGGGAACCTTACAAAATCCTCACCAT  
 TTATTCGACTGTCGCCTCATCTCTTGTGCTTGCAATGGGGTTTGCTGCCTT  
 CCTGTTCTGGGCCATGTCCAATGGATCTTGCAGATGCAACATTTGTATATA  
AGAGCTC

**Fig. 40A**

SEC ID NO: 48

MKVKLLVLLCTFTATYADTICIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTHSVNLLNSH  
 NGKLCLLKGIAPLQLGNCSVAGWILGNPECELLISKESWSYIVEKPNPENGTCY  
 PGHFADYEELREQLSSVSSFERFEIFPKESSWPNHTVTGVSASCSHNGESSF  
 YRNLLWLTGKNGLYPNLSKSYANNKEKEVLVLWGVHHPNIGDQKALYHTEN  
 AYSVSVSSHYSRKFTPEIAKRPKVRDQEGRINYWTLLPGDTIIFEANGNLIAP  
 RYAFALSRGFGSGIINSNAPMDKCDACQTPQGAINSSLPFQNVHPVTIGEC  
 KYVRSKLRMVTGLRNIPSIQSRGLFGAIAGFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNE  
 QGSGYAADQKSTQNAINGITNKVNSVIEKMNTQFTAVGKEFNKLERRMENLNK  
 KVDDGFIDIWTYNAELLVLENERTLDFHDSNVKNLYEKVKSQKNNAKEIGNG  
 CFEFYHKCNDECMESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMGVYQILAI  
 YSTVASSLVLLVSLGAISFWMCNGLQCRICI

**Fig. 40B**

SEC ID NO: 49

MKVKLLVLLCTFTATYADTICIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTHSVNLLNSH  
 NGKLCLLKGIAPLQLGNCSVAGWILGNPECELLISRESWSYIVEKPNPENGTCY  
 PGHFADYEELREQLSSVSSFERFEIFPKESSWPNHTTTGVSASCSHNGESSFY  
 KNLLWLTGKNGLYPNLSKSYANNKEKEVLVLWGVHHPNIGDQKALYHKENA  
 YYSVSVSSHYSRKFTPEIAKRPKVRDQEGRINYWTLLPGDTIIFEANGNLIAPR  
 YAFALSRGFGSGIINSNAPMDECDACQTPQGAINSSLPFQNVHPVTIGEC  
 KYVRSKLRMVTGLRNIPSIQSRGLFGAIAGFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQ  
 GSGYAADQKSTQNAINGITNKVNSVIEKMNTQFTAVGKEFNKLERRMENLNKK  
 VDDGFIDIWTYNAELLVLENERTLDFHDSNVKNLYEKVKSQKNNAKEIGNGC  
 FEFYHKCNDECMESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMGVYQILAIY  
 STVASSLVLLVSLGAISFWMCNGLQCRICI



**Fig. 41A**

SEC ID NO: 50

MKTIIALSYILCLVFTQKLPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTITNDQIEVTN  
ATELVQSSSTGEICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKKWDLFVE  
RSKAYSNCYPYDVPDYASLRSLVASSGTLEFNNEFNNWTGVTQNGTSSA  
CIRRSNNSFFSRLNWLTHLKFKYPALNVTMPNNEKFDKLYIWGVHHPGTD  
NDQIFLYAQASGRITVSTKRSQQTVIPNIGSRPRVRNIPSRISYWTIVKPGDI  
LLINSTGNLIAPRGYFKIRSGKSSIMRSDAPIGKCNSCITPNGSIPNDKPFQ  
NVNRITYGACPRYVKQNTLKLATGMRNVPEKQTRGIFGAIAGFIENGWEG  
MVDGWYGFRHQNSEGIGQAADLKSTQAAIDQINGKLNRLIGKTNEKFHQIE  
KEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSMNKLF  
EKTKKQLRENAEDMGNGCFKIYHKCDNACIGSIRNGTYDHDVYRDEALNN  
RFQIKGVELKSGYKDWILWISFAISCFLLCVALLGFIMWACQKGNIRCNICI

**Fig. 41B**

SEC ID NO: 51

MKTIIALSYILCLVFTQKLPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTIVKTITNDQIEVTN  
ATELVQSSSTGGICDSPHQILDGENCTLIDALLGDPQCDGFQNKKWDLFVE  
RSKAYSNCYPYDVPDYASLRSLVASSGTLEFNDESFNNWTGVTQNGTSSA  
CKRRSNNSFFSRLNWLTHLKFKYPALNVTMPNNEKFDKLYIWGVHHPGTD  
NDQIFLHAQASGRITVSTKRSQQTVIPNIGSRPRIRNIPSRISYWTIVKPGDI  
LLINSTGNLIAPRGYFKIRSGKSSIMRSDAPIGKCNSCITPNGSIPNDKPFQ  
NVNRITYGACPRYVKQNTLKLATGMRNVPEKQTRGIFGAIAGFIENGWEG  
MVDGWYGFRHQNSEGIGQAADLKSTQAAINQINGKLNRLIGKTNEKFHQIE  
KEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSMNKLF  
ERTKKQLRENAEDMGNGCFKIYHKCDNACIGSIRNGTYDHDVYRDEALNN  
RFQIKGVELKSGYKDWILWISFAISCFLLCVALLGFIMWACQKGNIRCNICI

**Fig. 42A**

SEC ID NO: 52

MKAIIVLLMVVTSNADRICTGITSSNSPHVKTATQGEVNVTVGVIPLTTTPTKS  
 HFANLKGTETRGKLCPKCLNCTDLDVALGRPCKTGNIPSARVSILHEVRPVT  
 SGCFFIMHDIRTKIRQLPKLLRGYEHIRLSTHNVINAENAPGGPYKIGTSGSCP  
 NVTNGNGFFATMAWAVPKDNNKTATNSLTIEVPYICTEGEDQITWGFHS  
 DNETQMAKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQTEDGGLPQSGRI  
 VVDYMVQKSGKTGTITYQRGILLPQKWVCASGRSKVIKGSPLIGEADCLHE  
 KYGGLNKSPPYYTGEHAKAIGNCPIWVKTPKLANGTKYRPPAKLLKERGFF  
 GAIAGFLEGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNS  
 LSELEVKNLQRLSGAMDELHNEILELDEKVDDLADTSSQIELAVLLSNEGIIN  
 SEDEHLLALERKLLKMLGPSAVEIGNGCFETKHKCNQTCLDRIAAGTFDAGE  
 FSLPTFDSLNTAASLNDDGLDNHTILLYSTAASSLAVTLMIAIFVVMVSRD  
 NVSCSICL

**Fig. 42B**

SEC ID NO: 53

MKAIIVLLMVVTSNADRICTGITSSNSPHVKTATQGEVNVTVGVIPLTTTPTKS  
 YFANLKGTRTRGKLCPDCLNCTDLDVALGRPMCVGTTPSAKASILHEVKPVT  
 SGCFFIMHDIRTKIRQLPNLLRGYENIRLSTQNVIDAEKAPGGPYRLGTSGSC  
 PNATSKSGFFATMAWAVPKDNNKNATNPLTVEVPYICTEGEDQITWGFHS  
 DNKTQMKNLYGDSNPQKFTSSANGVTTHYVSQIGSFDPQTEDGGLPQSGRI  
 VVDYMMQKPGKTGTIVYQRGVLLPQKWVCASGRSKVIKGSPLIGEADCLH  
 EKYGGLNKSPPYYTGEHAKAIGNCPIWVKTPKLANGTKYRPPAKLLKERGF  
 FGAAGFLEGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLN  
 SLSELEVKNLQRLSGAMDELHNEILELDEKVDDLADTSSQIELAVLLSNEGII  
 NSEDEHLLALERKLLKMLGPSAVEIGNGCFETKHKCNQTCLDRIAAGTFNAG  
 EFSLPTFDSLNTAASLNDDGLDNHTILLYSTAASSLAVTLMIAIFIVVMVSRD  
 NVSCSICL

**Fig. 43A**

SEC ID NO: 54

MAIYLILLFTAVRGDQICIGYHANNSTEKVDILERNVTVTHAKDILEKTHNGKLC  
KLNIGIPPELGDCSIAGWLLGNPECDRLLSVPEWSYIMEKENPRDGLCYPGSF  
NDYEELKHLLSSVKHFVKILPKDRWTQHHTTTGGSRAVSGNPSFFRNMV  
WLTKEESNYPVAKGSYNNTSGEQMLIHWGVHHPNDETEQRTLYQNVGTYSV  
GTSTLNKRSTPDIAIRPKVNGLGSRMEFSWTLLDMWDTINFESTGNLIAPEYGF  
KISKRGSSGIMKTEGTLENCETKCQTPLGAINTTLPFHNHPLTIGECPKYVKSE  
KLVLATGLRNVPQIESRGLFGAIAAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNDQGSYA  
ADKESTQKAFDGITNKVNSVIEKMNTQFEAVGKEFSNLERRLENLNKKMEDGFL  
DWTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRMQLRDNVKELGNGCFEY  
HKCDDECMNSVKNGTYDYPKYEEESKLNREIKGVKLSSMGVYQILAIYATVAG  
SLSLAIMMAGISFWMCNGLSLQCRICI

**Fig. 43B**

SEC ID NO: 55

MEKIVLLLAIVSLVKSDQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVTHAQDILEKTHNGK  
LCDLDGVKPLILRDCSVAGWLLGNPMCDEFINPEWSYIVEKANPANDLCYPG  
NFNDYEELKHLLSRINHFVKIIPKSSWSDHEASSGVSSACPYQGTSPFFRNV  
WLIKKNNTYPTIKRSYNNTNQEDLLILWGIHHSNDAAEQTKLYQNPTTYISVGT  
TLNQRLVPKIATRISKVNGQSGRMDFFWTILKPNDAINFESNGNFIAPYAYKIVK  
KGDSAIVKSEVEYGNCNTKCTPIGAINSSMPFHNIHPLTIGECPKYVKSNNKLVL  
ATGLRNSPLRERRRRKRGLFGAIAAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQGSYA  
ADKESTQKAIDGVTNKVNSIIDKMNTQFEAVGREFNNLERRIENLNKKMEDGFL  
DWTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNKELGNGCFEYH  
KCDNECMESVRNGTYDYPQYSEEARLKREEISGVKLESIGTYQILSIYSTVASSL  
ALAIMVAGLSLWMCSNGLSLQCRICI

**Fig. 44A**

SEC ID NO: 56

MEKIVLLFAIVSLVKSDQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVTHAQDILEKTHNGKL  
CDLDGVKPLILRDCSVAGWLLGNPMCDEFINVPEWSYIVEKANPVNDLCYPGDF  
NDYEELKHLLSRINHFEEKIIPKSSWSSHEASLGVSSACPYQGKSSFFRNWVLI  
KKNSTYPTIKRSYNNTNQEDLLVLWGIHHPNDAAEQTKLYQNPTTYISVGTSTLN  
QRLVPRIATRSKVNQSGRMEFFWTILKPNDAINFESNGNFIAPEYAYKIVKKGD  
STIMKSELEYGNCNTKCQTPMGAINSSMPFHNIHPLTIGECPKYVKSRLVATG  
LRNSPQRERRRKKRGLFGAIAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQSGSYAAD  
KESTQKAIDGVTNKVNSIIDKMNTQFEAVGREFNNLERRIENLNKKMEDGFLDV  
WTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNAKELGNGCFEFYHKC  
DNECMESVRNGTYDYPQYSEEARLKREEISGVKLESIGIYQILSIYSTVASSLALAI  
MVAGLSLWMCSNGSLQCRICI

**Fig. 44B**

SEC ID NO: 57

MIAIIVAILAAAGKSDKICIGYHANNSTTQVDTILEKNVTVTHSIELLENQKEERFCK  
ILNKAPLDLRECTIEGWILGNPQCDLLLDQSWSYIVERPTAQNGICYPGTLNEV  
EELRALIGSGERVERFEMFPQSTWQGVDTNSGTTRSCPYSTGASFYRNLLWIIK  
TKTAEYPVIKGIYNNNTGTQPILYFWGVHHPNTDEQDTLYGSGDRYVRMGTESM  
NFAKSPEIAARPAVNGQRGRIDYYWSVLKPGETLNVESNGNLIAPWYAYKFVNT  
NSKGAVFRSDLPINC DATCQTIAGVLRTNKTQNVSPWLWIGECPKYVKSESLRL  
ATGLRNVPIETRGLFGAIAGFIEGGWTGMIDGWYGYHHENSQSGSYAADRES  
TQKAVNRITNKVNSIINKMNTQFEAVDHEFSNLERRIDNLNKRMDGFLDWWTY  
NAELLVLENERTLDMHDANVKNLHEKVKSQLRDNATILGNGCFEFWHKCDNEC  
IESVKNGTYDYPKYQTESKLNRLKIESVKLENLGVYQILAIYSTVSSSLVLVGLIMA  
MGLWMCSNGSMQCRICI

**Fig. 45A**

SEC ID NO: 58

MNTQILILATSAFFYVRADKICLGHHAVSNGTKVDTLTEKGIEVVNATETVEQT  
 NIPKICSKGKQTVDLGQCGLLGTVIGPPQCDQFLEFSANLIVERREGNDICYPG  
 KFDNEETLRKILRKSGGIKKENMGFTYTGVRTNGETSACRRSRSSFYAEMKW  
 LLSSTDNGTFPQMTKSYKNTKKVPALIIVGIIHSGSTTEQTRLYGSGNKLITV  
 WSSKYQQSFVPNPGPRPQMNGQSGRIDFHWLMLDPNDTVTFSFNGAFIAPD  
 RASFLRGKSLGIQSDAQLDNNCEGECYHIGGTIISNLPFQINNSRAIGKCPRYV  
 KQKSLMLATGMKNVPEAPAHKQLTHHMRKKRGLFGAIAGFIENGWEGIDG  
 WYGYKHQNAQGEGTAADYKSTQSAINQITGKLNRLIEKTNQGFELIDNEFNEI  
 EKQIGNVINWTRDSIIIEVWSYNAEFLVAVENQHTIDLTDEMNKLYEKVRRQL  
 RENAEEDGNGCFEIFHQCDNDCMASIRNNTYDHKKYRKEAIQNRIDAVKLS  
 SGYKDILWFSFGASCFLFLAIAMGLVFICIKNGNMRCTICI

**Fig. 45B**

SEC ID NO: 59

METISLITILLVVTASNADKICIGHQSTNSTETVDTLTETNPVTHAKELLHTEHN  
 GMLCATSLGHPLILDCTIEGLVYGNPSCDLLLGGREWSYIVERSSAVNGTCY  
 PGNVENLEELRTLFSASSYQRIQIFPDTTWNVTYTGTSRACSGSFYRSMRW  
 LTQKSGFYVPVQDAQYTNNRGKSILFWVGIIHPPTYTEQTNLYIRNDTTT SVTT  
 EDLNRTFKPVIGPRPLVNLQGRIDYYWSVLKPGQTLRVRSNGNLIAPWYGH  
 VLSGGSHGRILKTDLKGNCVVQCQTEKGGLNSTLPFHNISKYAFGTCPKYV  
 RVNSLKLAVGLRNVPARSSRGLFGAIAGFIEGGWPGLVAGWYGFQHSNDQG  
 VGMAARDSTQKAIDKITSKVNNIVDKMNKQYEIIDHEFSEVETRLNMINNKID  
 DQIQDVWAYNAELLVLENQKTLDEHDANVNNLYNKVKRALGSNAMEDGKG  
 CFELYHKDDQCMETIRNGTYNRRKYREESRLERQKIEGVKLESEGTYKILTI  
 YSTVASSLVLAMGFAAFLFWAMSNGSCRCNICI



**Fig.46**

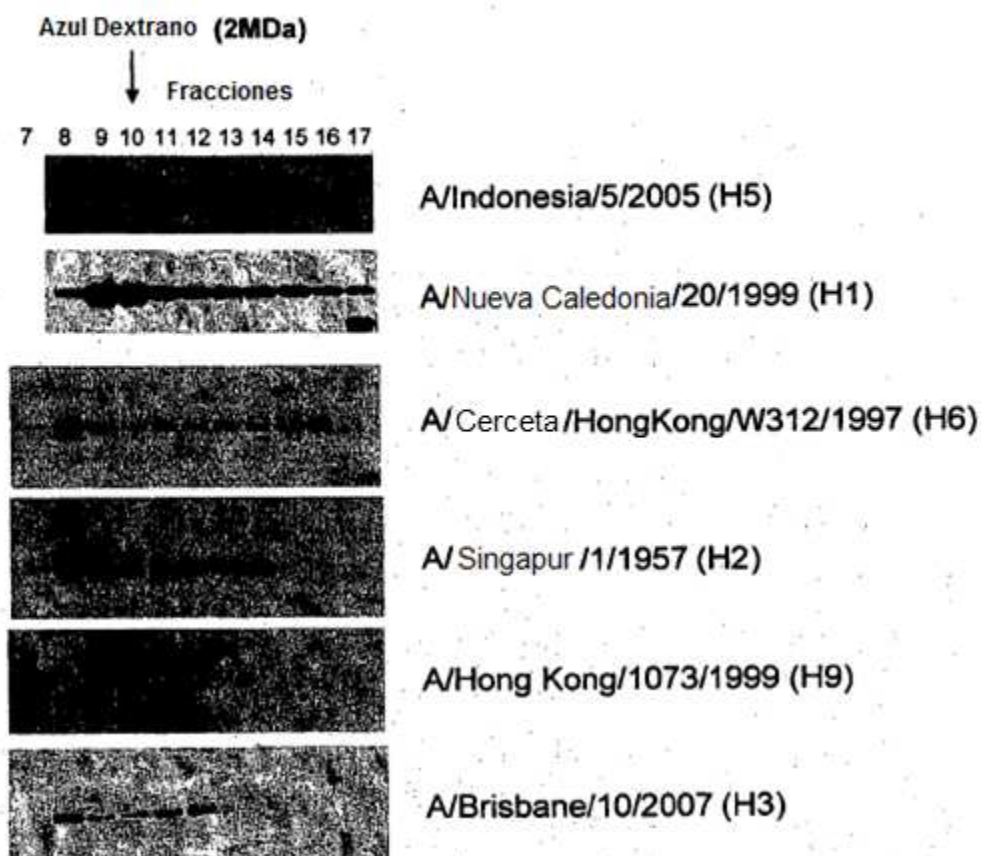


**Fig. 47**

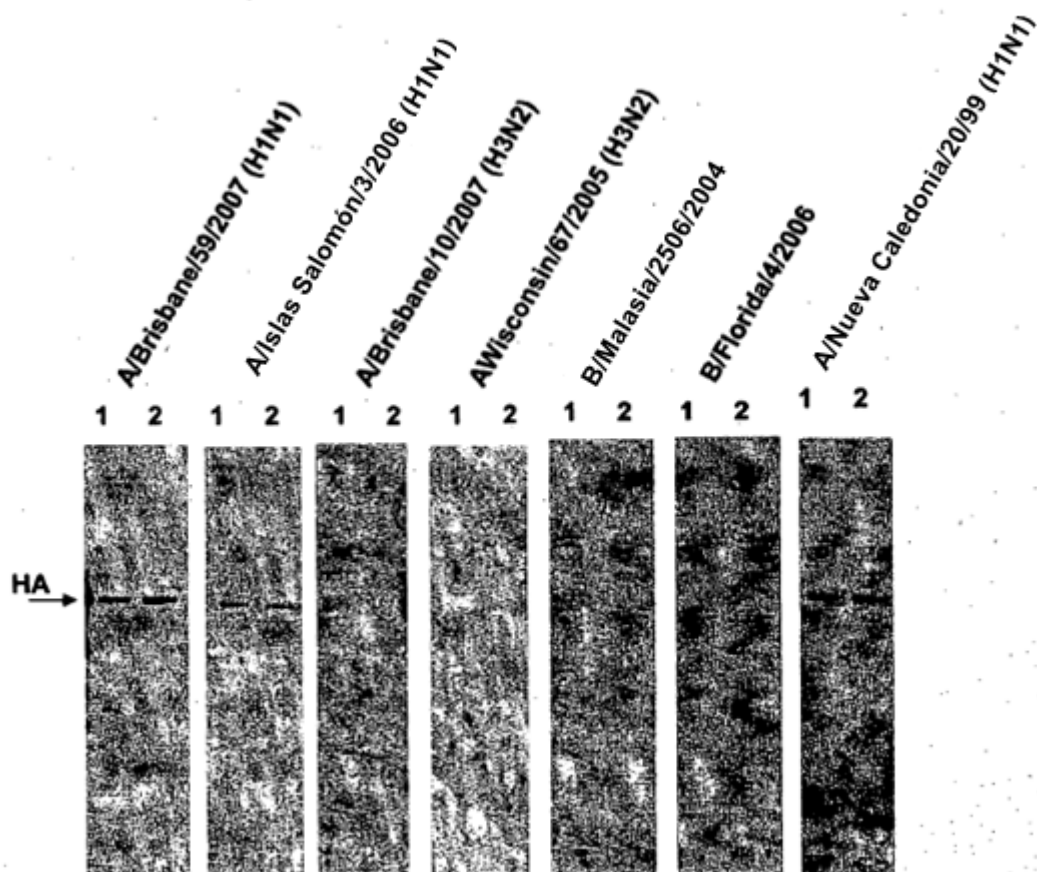


**Fig. 48a**

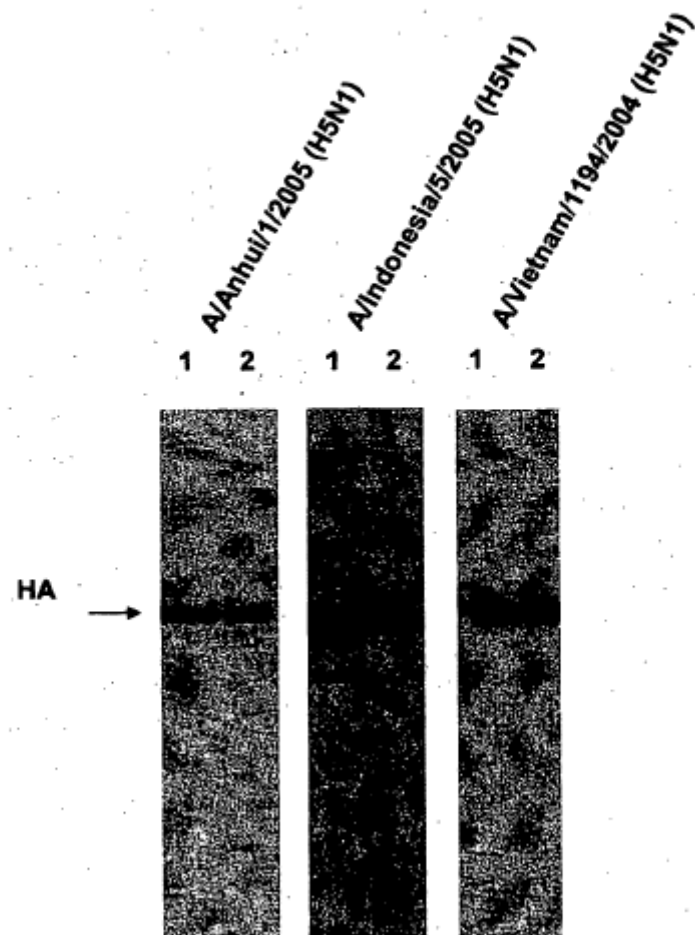




**Fig. 48b**

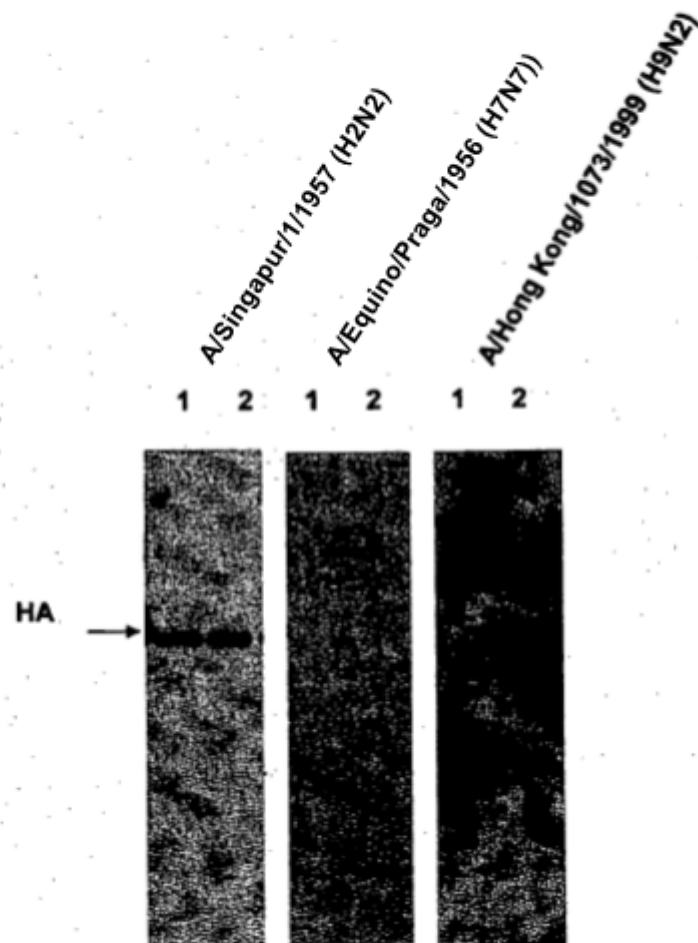


**Fig. 49**

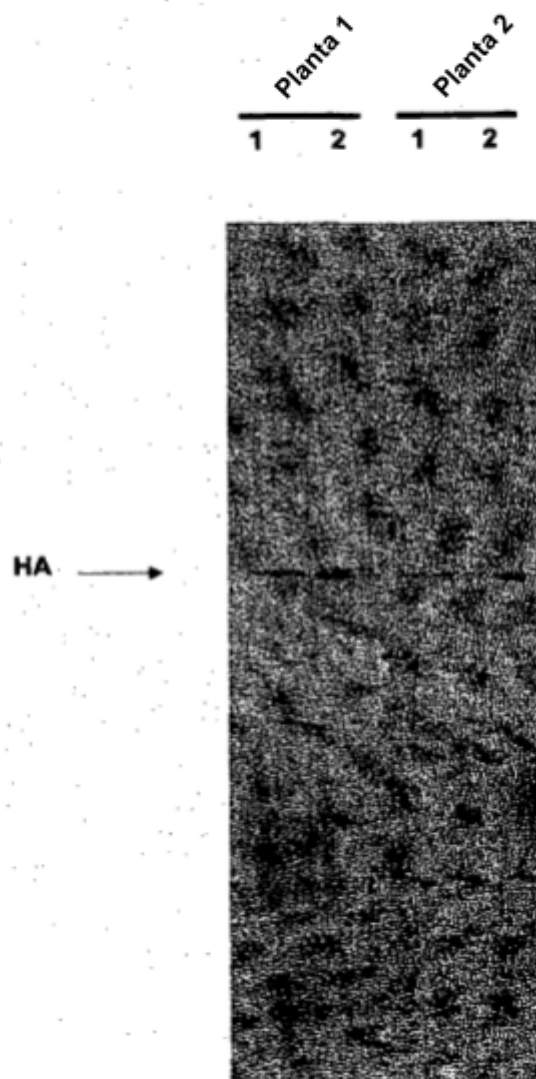


**Fig. 50A**

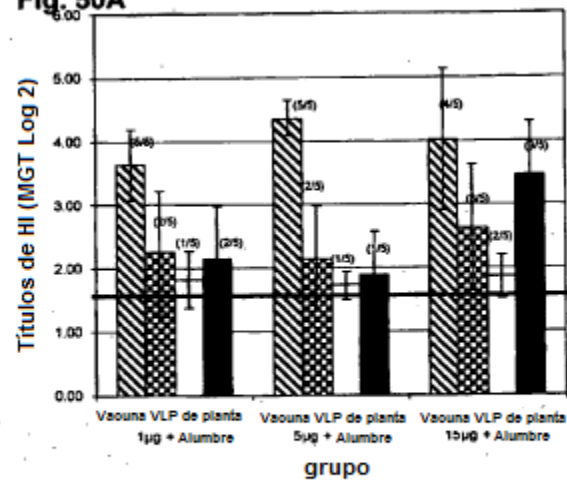


**Fig. 50B**

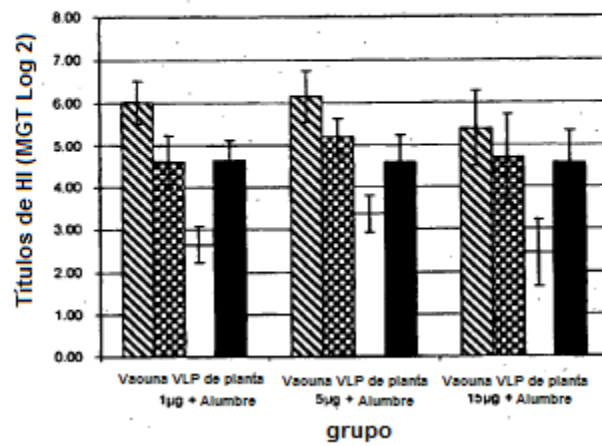


**Fig. 51**

SEC ID NO: 60

H5 de A/Indonesia/5/2005 (Constructo # 660)

AGAGGTACCCCGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAGTTTAAAGTT  
 AGCAAGTGTGTACATTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTAAC  
 ATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGTGCA  
 ACATTTGAGAAAAATTTGTTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAAGGAA  
 GAGGGAGAATAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAAATAG  
 TTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTAATAAA  
 TAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTGGCAAGTCATTAAAAAGAAAGAAT  
 AAATATTTTTAAATTAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAA  
 GAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGCAATTTAATTTGACATTTGATCTTTT  
 CCTATATATTGCCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTCATAGATCAATAAGAGAAATAA  
 CGGTATATTAATCCCTCCAAAAAAGCGGTATATTTACTAAAAATCTAAGCCACGTAGGAG  
 GATAACAGGATCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACACAATCCTGATGAGATA  
 ACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATTCTTCCACACAT  
 CTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGT  
 CTACACTTTGATTCCCTTCAACACATACAAAGAGAGAGACTAATTAATTAATCATCTTGA  
 GAGAAAATGGAGAAAATAGTGCTTCTTCTGCAATAGTCAGTCTTGTTAAAGTGATCAGATTGCG  
 ATTGGTTACCATGCAACAATTCAACAGAGCAGGTTGACACAATCATGGAAAAGAACGTTACTGT  
 TACACATGCCCAAGACATACTGGAAAAGACACACAACGGGAAGCTCTGCGATCTAGATGGAGTG  
 AAGCCTCTAATTTAAGAGATTGTAGTGTAGCTGGATGGCTCCTCGGGAACCCAATGTGTGACGA  
 ATTCATCATGTACCGGAATGGTCTTACATAGTGGAGAAGGCCAATCCAACCAATGACCTCTGTT  
 ACCCAGGGAGTTTCAACGACTATGAAGAAGTGAACACCTATTGAGCAGAATAAACCATTTTGTGAG  
 AAAATTCAAATCATCCCCAAAGTTCTTGGTCCGATCATGAAGCCTCATCAGGAGTTAGCTCAGC  
 ATGTCCATACCTGGGAAGTCCCTCTTTTGTAGAAATGTGGTATGGCTTATCAAAAAGAACAGTA  
 CATACCCAACAATAAGAAAAGCTACAATAATACCAACCAAGAGGATCTTTTGGTACTGTGGGGA  
 ATTCACCATCCTAATGATGCGGCAGAGCAGACAAGGCTATATCAAAACCCAACCACTATATTTT  
 CATTGGGACATCAACACTAAACAGAGATTGGTACCAAAAATAGCTACTAGATCCAAAGTAAACG  
 GGCAAGTGGAAGGATGGAGTTCTTCTGGACAATTTTAAACCTAATGATGCAATCACTTCGAG  
 AGTAATGGAAATTTTATTGCTCCAGAATATGCATACAAAATTGTCAAGAAAAGGGGACTCAGCAATT  
 ATGAAAAGTGAATTGGAATATGGTAAGTCAACACCAAGTGTCAAACCTCAATGGGGGCGATAAA  
 CTCTAGTATGCCATTCCACAACATACACCTCTCACCATCGGGGAATGCCCAATATGTGAAAT  
 CAAACAGATTAGTCCTTGCAACAGGGCTCAGAAATAGCCCTCAAAGAGAGAGCAGAAGAAAAA  
 GAGAGGACTATTTGGAGCTATAGCAGGTTTTATAGAGGGAGGATGGCAGGGAATGGTAGATGGT  
 TGGTATGGGTACCACCATAGCAATGAGCAGGGGAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAATCCACTC  
 AAAAGGCAATAGATGGAGTCACCAATAAGGTCAACTCAATCATTGACAAAATGAACACTCAGTTT  
 GAGGCCGTTTGAAGGGAATTTAATACTTAGAAAAGGAGAATAGAGAATTTAAACAAGAAGATGGA  
 AGACGGGTTTCTAGATGTCTGGACTTATAATGCCGAACCTCTGGTTCTCATGGAAAATGAGAGAA  
 CTCTAGACTTTTCTGACTCAAATGTTAAGAACCTCTACGACAAGGTCCGACTACAGCTTAGGGAT  
 AATGCAAAGGAGCTGGGTAACGGTTGTTTCGAGTTCTATCACAAATGTGATAATGAATGTATGGA  
 AAGTATAAGAAACGGAACGTACAACATCCGCAGTATTCAGAAGAAGCAAGATTAAAAAGAGAGG  
 AAATAAGTGGGGTAAAATTGGAATCAATAGGAACCTACCAAACTACTGTCAATTTATTCAACAGTGG  
 CGAGTTCCCTAGCACTGGCAATCATGATGGCTGGTCTATCTTTATGGATGTGCTCCAATGGATCG  
 TTACAATGCAGAATTTGCATTTAAGAGCTCTAAGTTAAAAATGCTTCTTCGCTCCTATTATTAATAT  
 GGTGTTGTTATTGTTAATTTTGTCTTGTAGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTAT  
 TTGTATGAGATGAAGTGGTGAATGTAATTCATTACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCC  
 TCCATAACTAAGTACATGAAGACCTGCCGCTACAATTGTCTTATATTTGAACAACATAAATTG  
 AACATCTTTTGCACAACCTTATAAGTGGTTAATATAGCTCAATATATGGTCAAGTTCAATAGATT  
 AATAATGGAAATCAGTTATCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAACCTACTAATTTTAT  
 ATCATCCCTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 52

SEC ID NO: 61

H1 de A/ Nueva Caledonia /20/1999 (Constructo # 540)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAGTTTAAGTT  
 AGCAAGTGTGTACATTTTACTTGAAACAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTAAC  
 ATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGTGCA  
 ACATTTGAGAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAAGGAA  
 GAGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAAATAG  
 TTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTAAATAAA  
 TAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAAATTTTGGCAAGTCATTAAGAGAAAGAA  
 TAAATTAATTTTAAATTAAGTTGAGTCATTTGATTAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAA  
 AGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTT  
 TCCTATATATTGCCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTATATTTTATAGATCAAATAAGAGAAATA  
 ACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAAGCGGTATATTTACTAAAAATCTAAGCCACGTAGGA  
 GGATAACAGGATCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACAACAATCCTGATGAGA  
 TAACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATTTCTCCACAC  
 ATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGA  
 GTCTACACTTTGATTCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATATCATCTT  
 GAGAGAAAATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTCTTGTGTTGGTTCTT  
 CTCAGATCTTCGCTGACACAATATGTATAGGCTACCATGCCAACCACTCAACCGACACTGTTGAC  
 ACAGTACTTGAGAGAATGTGACAGTGACACACTCTGTCAACCTACTTGAGGACAGTCACAATG  
 GAAAACTATGTCTACTAAAAGGAATAGCCCCACTACAATTGGGTAATTGCAGCGTTGCCGGATG  
 GATCTTAGGAAACCCAGAATGCGAATTACTGATTTCCAAGGAATCATGGTCCTACATTGTAGAAA  
 CACCAATCCTGAGAATGGAACATGTTACCCAGGGTATTTCCGCCACTATGAGGAACGTAGGGGA  
 GCAATTGAGTTGAGTATCTTCATTTGAGAGATTCGAAATATTTCCCAAGAAAGCTCATGGCCCA  
 ACCACCCGTAACCGGAGTATCAGCATCATGCTCCCATAAATGGGAAAAGCAGTTTTTACAGAAAT  
 TTGCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTTGATCCCAAACCTGAGCAAGTCCTATGTAAACAACA  
 AAGAGAAAGAAGTCCTTGACTATGGGGTGTTTCATCACCCCGCTAACATAGGGAAACCAAGGGC  
 ACTCTATCATACAGAAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATTATAGCAGAAGATTCACCCC  
 AGAAATAGCCAAAAGACCCAAAGTATGTCAGGAGTGCAAAATTAAGGATGGTTACAGGACTAAG  
 TCACAATAGGAGAGTGTCCAAAGTATGTCAGGAGTGCAAAATTAAGGATGGTTACAGGACTAAG  
 GAACATCCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTTTGGAGCCATTGCCGGTTTCATTGAAGGGGGG  
 TGGACTGGAATGGTAGATGGGTGGTATGGTTATCATCATCAGAATGAGCAAGGATCTGGCTATG  
 CTGCAGATCAAAAAAGTACACAAAATGCCATTAACGGGATTACAAACAAGGTCAATCTGTAAAT  
 GAGAAAATGAACACTCAATTCACAGCTGTGGGCAAGAGTTCAACAAATTGGAAGAAGGATGG  
 AAACTTAATAAAAAAGTTGATGATGGGTTTCTAGACATTTGGACATATAATGCAGAATTTGTGG  
 TTCTACTGGAATGAAAGGACTTTGGATTTCCATGACTCCAATGTGAAGAATCTGTATGAGAAA  
 GTAAAAAGCCAATTAAGAATAATGCCAAAGAAATAGGAAACGGGTGTTTGGATTCTATCAAA  
 GTGTAACAATGAATGCATGGAGAGTGTGAAAAATGGTACCTATGACTATCCAAATATTCGGAAG  
 AATCAAAGTTAAACAGGGAGAAAATGATGGAGTGAAATGGAATCAATGGGAGTATACCAGATT  
 CTGGCGATCTACTCAACTGTCGCCAGTTCCTGGTTCTTTGGTCTCCCTGGGGGCAATCAGCT  
 TCTGGATGTGTTCCAATGGGTCTTGCAGTGTAGAATATGCATCTAAGAGCTCTAAGTTAAATG  
 CTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTTATTGTTAATTTTGTCTTGTAGAAGAGCTTAAT  
 AATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGAATGTAATTCATTACATAAG  
 TGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAAGTACATGAAGACCTGCCGCTACAATTG  
 TCTTATATTTGAACAACTAAAAATGAACATCTTTGCCACAACCTTATAAGTGGTTAATATAGCTCA  
 AATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCATTAACAATCAAC  
 TTAACGTTATTAACACTAATTTTATATCATCCCTTTGATAAATGATAGTACA



Fig. 53

SEC ID NO: 62

H1 de A/Brisbane/59/2007 (Constructo #774)

CTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAAGTTTAAGTTAGCAAGTGTGTACAT  
 TTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTAACATTAGAGTAAAGAAAT  
 ATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGTGCAACATTTGAGAAAAATTTT  
 GTTGTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAAGGAAGAGGGAGAATAAAAAACA  
 TAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGA  
 GAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCATTAAAAAGAAAGAAATAAATTATTTTTAAATTA  
 AAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGT  
 ATTAGTAATTAGAAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCCATA  
 GAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCC  
 AAAAAAAGAAACGGTATATTTACTAAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTA  
 GGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACAACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCCACG  
 CATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACC  
 AATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTC  
 AAACACATACAAAGAGAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAAATGAAAGTAAACT  
 ACTGGTCTGTTATGCACATTTACAGCTACATATGCAGACACAATATGTATAGGCTACCATGCTAA  
 CAACTCGACCGACACTGTTGACACAGTACTTGAAAGAATGTGACAGTGACACACTCTGTCAACC  
 TGCTTGAGAACAGTCACAAATGGAAGAACTATGTCTATTAAGGAATAGCCCCACTACAATTGGGT  
 AATTGCAGCGTTGCCGGGTGGATCTTAGGAAACCCAGAATGCGAATTACTGATTTCCAAGGAGTC  
 ATGGTCTACATTGTAGAAAAACCAATCCTGAGAATGGAACATGTTACCCAGGGCATTTCGCTG  
 ACTATGAGGAACTGAGGGAGCAATTGAGTTCAGTATCTTCATTGAGAGGTTCCGAAATATCCCC  
 AAAGAAAGCTCATGGCCCAACCAACCGTAACCGGAGTGTCAGCATCATGCTCCCATATGGGG  
 AAAGCAGTTTTTACAGAAATTTGCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTTGACCCAAACCTGAGC  
 AAGTCTATGCAACAACAAGAAAAAGAGTCTTGACTATGGGGTGTTCATCACCCGCCAAA  
 CATAGGTGACCAAAAGGCCCTCTATCATACAGAAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATTA  
 TAGCAGAAAATTCACCCAGAAAATAGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAAGAAGGAAGAATCA  
 ATTACTAGTGGACTGCTTGAACCCGGGGATACAATAATTTGAGGCAATGGAATCTAATAG  
 CGCCAAGATATGCTTTCGCACTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCAACTCAATGCACCA  
 ATGGATAAATGTGATGCGAAGTGCCAAACACCTCAGGGAGCTATAAACAGCAGTCTTCCTTTCCA  
 GAACGTACACCCAGTCACAATAGGAGAGTGTCCAAAGTATGTCAGGAGTGCAAAATTAAGGATG  
 GTTACAGGACTAAGGAACATCCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGTTGGAGCCATTGCCGGTTT  
 CATTGAAGGGGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGTTATCATCATCAGAATGAGCAA  
 GGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAGCACAAAAATGCCATTAATGGGATTACAAACAAGGT  
 CAATTCTGTAATTGAGAAAAATGAACACTCAATTCACAGCAGTGGGCAAGAGTTCAACAAATTGG  
 AAAGAAGGATGGAACCTTGAATAAAAAAGTTGATGATGGGTTTATAGACATTTGGACATATAATG  
 CAGAAGTGTGGTCTACTGGAAAATGAAAGGACTTTGGATTTCCATGACTCCAATGTGAAGAAT  
 CTGTATGAGAAAGTAAAGCCAGTTAAGAATAATGCTAAAGAAATAGGAAATGGGTGTTTTGAG  
 TTCTATCAAAAGTGAACGATGAATGCATGGAGAGTGTAAAGAATGGAACCTATGACTATCCAAAA  
 TATTCCGAAGAATCAAAGTTAAACAGGGAGAAAAATTGATGGAGTGAAATTGGAATCAATGGGAGT  
 CTATCAGATTCTGGCGATCTACTCAACAGTCGCCAGTTCTCTGGTTCTTTTGGTCTCCCTGGGGG  
 CAATCAGCTTCTGGATGTGTTCCAATGGGTCTTACAGTGTAGAATATGCATCTAAGAGCTCTAA  
 GTTAAATGCTTCTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTGTCTTGTAGAAGA  
 GCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGATGAGATGAACTGGTGTAATGTAATTCATT  
 TACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCCTCCATAACTAAGACATGAAGACCTGCCCGG  
 TACAATTGTCTTATATTTGAACAATAAAATGAACATCTTTGCCACAACCTTTATAAGTGGTTAAT  
 ATAGCTCAAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAATATCAGTTATCGAAATTCATTAA  
 CAATCAACTTAACGTTATTAACATAATTTTATATCATCCCTTTGATAAATGATAGTACA

**Fig. 54**

SEC ID NO: 63

**H1 de A/Isias Salomón/3/2006 (H1N1) (Constructo # 775)**

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAAGTTTA  
 AGTTAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCAT  
 TATTAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAAC  
 AATTTTGTGCAACATTTGAGAAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAG  
 AGAGAGAAAAAGGAAGAGGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTAC  
 AAAAGTTGTACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATA  
 AGGGTTAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTT  
 TTGGCAAGTCATTAAAAAGAAAGAATAAATTATTTTTAAAATTTAAAGTTGAGTCATTTGATTA  
 AACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAAT  
 TTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAA  
 CTCATTTTTATATTTTATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAAA  
 AAAAAACGGTATATTTACTAAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGG  
 AGGATAACATCCAATCCAACCAATCACAACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCAC  
 GCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATTTCTCCACACATCTGAGCCACACAA  
 AAACCAATCCACATCTTTATCACCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTG  
 ATTCCCTTCAAACACATACAAAAGAGAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAA  
 TGAAGTAAACTACTGGTCTGTTATGCACATTTACAGCTACATATGCAGACACAATATGT  
 ATAGGCTACCATGCCAACAACTCAACCGACACTGTTGACACAGTACTTGAGAAGAATGTGA  
 CAGTGACACACTCTGTCAACCTGCTTGAGGACAGTCACAATGGAAAATTATGTCTATTTAAA  
 GGAATAGCCCACTACAATTGGGTAATTGCAGCGTTGCCGATGGATCTTAGGAAACCCCA  
 GAATGCGAATTACTGATTTCCAGGGAATCATGGTCTACATTGTAGAAAAACCAATCCTGA  
 GAATGGAACATGTTACCCAGGGCATTTCCGCCGACTATGAGGAAGTGAAGGAGCAATTGAG  
 TTCAGTATCTTCATTTGAGAGATTGGAATATTTCCCAAGAAAGCTCATGGCCCAACCCACA  
 CCACAACCGGAGTATCAGCATCATGCTCCATAATGGGAAAGCAGTTTTTACAAAAATTT  
 GCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTTGTACCCAAACCTGAGCAAGTCTATGCAAACAA  
 CAAAGAGAAAGAAGTCTTGTACTATGGGGTGTTCATCACCCGCTAACATAGGTGACCAA  
 AGGGCTCTCTATCATAAGAAAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATTATAGCAGAAA  
 ATTCACCCAGAAAATAGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAAGAAGGAAGAATCAACTAC  
 TACTGGACTCTACTTGAACCCGGGGATACAATAATTTGAGGCAATGGAAATCTAATAGC  
 GCCAAGATATGCTTTCGCACTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCAACTCAAATGCA  
 CCAATGGATGAATGTGATGCCAAGTGCCAAACACCTCAGGGAGCTATAAACAGCAGTCTTC  
 CTTTCCAGAATGTACACCCTGTCACAAATAGGAGAGTGTCCAAAGTATGTCAGGAGTGCAAA  
 ATTAAGGATGGTTACAGGACTAAGGAACATCCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGTTGGA  
 GCCATTGCCGGTTTCATTGAAGGGGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGTTAT  
 CATCATCAGAATGAGCAAGGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAAGCACACAAAATGCCA  
 TTAATGGGATTACAAACAAGGTCAATTCTGTAATTGAGAAAAATGAACACTCAATTCACAGCT  
 GTGGGCAAGAGTTCAACAAATTGGAAGAAGGATGGAAAACCTAAATAAAAAAGTTGATG  
 ATGGGTTTATAGACATTTGGACATATAATGCAGAATTGTTGGTTCTACTGGAAAAATGAAAGG  
 ACTTTGGATTTCCATGACTCCAATGTGAAGAATCTGTATGAGAAAGTAAAAAGCCAATTAAA  
 GAATAATGCCAAAGAAATAGGAAATGGGTGTTTTGAGTTCTATCATAAGTGTAAACGATGAAT  
 GCATGGAGAGTGTAAAAATGGAACCTATGACTATCCAAAATATTCCGAAGAATCAAAGTTA  
 AACAGGGAGAAAAATTGATGGAGTGAAATTGGAATCAATGGGAGTCTATCAGATTCTGGCGA  
 TCTACTCAACAGTCGCCAGTCTCTGGTTCTTTTGGTCTCCCTGGGGGCAATCAGCTTCTG  
 GATGTGTTCCAATGGGTCTTTGCAGTGTAGAATATGCATCTGAGAGCTCTAAGTTAAAAATGC  
 TTCTTCGCTCTCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTGTCTTGTAGAAGAGCTTAA  
 TTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAAGTGGTGAATGTAATTCATTTA  
 CATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCCCTCCATACTAACTAGACATGAAGACCTGCCG  
 CGTACAATTGTCTTATATTTGAACAACATAAATGAACATCTTTTCCACAACCTTTATAAGTG  
 GTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGA  
 AATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAACCTAATTTTATATCATCCCTTTGATAAATG  
 ATAGTACA



Fig. 55

SEC ID NO: 64

**H2 de A/Singapur/ 1/57 (H2N2) (Constructo # 780)**

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAGTTTAA  
 GTTAGCAAGTGTGTACATTTTACTTGAACAAAAATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTAT  
 TAAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTT  
 TGTTGCAACATTTGAGAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAG  
 AAAAAGGAAGAGGGGAGAATAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTG  
 TACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAAT  
 TGCTGTAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTC  
 ATTAAGAAAGAAAGAATAAATTATTTTAAAAATTAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATT  
 ATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAAT  
 TTAATTTGACATTTGATCTTTTCCTATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATT  
 TCATAGATCAAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAAGGATATATT  
 ACTAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATAACATCCAAATC  
 CAACCAATCACACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCACATCT  
 ACATTATCTAAATCACACATTTCTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTA  
 TCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACA  
 AAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGCCATCATTTTATCTAATTC  
 TCCTGTTACAGCAGTGAGAGGGGACCAATATGCATTGGATACCATGCCAATAATTCCACA  
 GAGAAGGTGCGACACAATCTAGAGCGGAACGTCACGTGACTCATGCCAAGGACATTCTTGA  
 GAAGACCCATAACGGAAAGTTATGCAAACTAAACGGAATCCCTCCACTTGAAGTAGGGGACT  
 GTAGCAATTGCCGATGGCTCCTTGGAATCCAGAATGTGATAGGCTTCTAAGTGTGCCAGAA  
 TGGTCCTATATAATGGAGAAAGAAAACCCGAGAGACGGTTTGTGTTATCCAGGCAGCTTCAA  
 TGATTATGAAGAATTGAAACATCTCCTCAGCAGCGTGAAACATTTGAGAAAAGTAAAGATTCT  
 GCCCAAAGATAGATGGACACAGCATACAACAACCTGGAGGTTACGCGGCTGCGCGGTGTCT  
 GGTAAATCATCTTTCTCAGGAACATGGTCTGGCTGACAAAGAAAGAATCAAAATTATCCGGTT  
 GCCAAAGGATCGTACAACAATACAAGCGGAGAACAAATGCTAATAATTTGGGGGGTGCACCA  
 TCCAATGATGAGACAGAACAAAGAACATTGTACCAGAAATGTGGGAACCTATGTTCCGTA  
 GCACATCAACATTGAACAAAAGGTCAACCCAGACATAGCAACAAGGCCTAAAGTGAATGGA  
 CTAGGAAGTAGAATGGAGTTCTCTTGACCCTATTGGATATGTGGGACACCATAAATTTTGAG  
 AGTACTGGTAATCTAATTGCACACAGAGTATGGATTCAAAATATCGAAAAGAGGTAGTTCAGGG  
 ATCATGAAAACAGAAGGAACACTTGAGAACTGTGAGACCAAAATGCCAACTCCTTTGGGAGC  
 AATAAATACAACATTGCCTTTTACAATGTCCACCCACTGACAATAGGTGAGTGCCCCAAATA  
 TGTAATTCGGAGAAGTTGGTCTTAGCAACAGGACTAAGGAATGTTCCCAAGATTGAATCAA  
 GAGGATTGTTTGGGGCAATAGCTGGTTTTATAGAAGGAGGATGGCAAGGAATGGTTGATGGT  
 TGGTATGGATACCATCACAGCAATGACCAGGGATCAGGGTATGCAGCAGACAAAGAATCCAC  
 TCAAAAGGCATTTGATGGAATCACCAACAAGGTAAATTTCTGTGATTGAAAAGATGAACACCCA  
 ATTTGAAGCTGTTGGGAAAGAGTTCACTAAGTATAGAGAGAAGACTGGAGAATTGAACAAAA  
 ATGGAAGACGGGTTTCTAGATGTGTGGACATACAATGCTGAGCTTCTAGTTCTGATGGAAA  
 ATGAGAGGACACTTGACTTTCTATGATTCTAATGTCAAGAATCTGTATGATAAAGTCAGAATGC  
 AGCTGAGAGACAACGTCAAAGAACTAGGAAATGGATGTTTTGAATTTTATCACAATGTGATG  
 ATGAATGCATGAATAGTGTGAAAAACGGGACGTATGATTATCCCAAGTATGAAGAAGAGTCTA  
 AACTAAATAGAAATGAAATCAAAGGGTAAATTTGAGCAGCATGGGGGTTTATCAAAATCCTTG  
 CCATTTATGCTACAGTAGCAGGTTCTCTGTCACTGGCAATCATGATGGCTGGGATCTCTTTCT  
 GGATGTGCTCCAACGGGTCTCTGCAGTGAGGATCTGCATATGAGAGCTCTAAGTTAAATG  
 CTTCTTCGCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTGTCTTGTAGAAGAGCTTAA  
 TTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAAGTGGTGAATGTAATTCATTTACA  
 TAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAAGTACATGAAGACCTGCCGCGTA  
 CAATTGTCTTATTTGAACAACATAAATTAACATCTTTTCCACAACCTTTATAAGTGGTTAAT  
 ATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCAT  
 TAACATCAACTTAACGTTATTAAGTACTAATTTATATCATCCCTTTGATAAATGATAGTACA



**Fig. 56**

SEC ID NO: 65

**H5 de A/Anhui/1/2005 (H5N1) (Constructo # 781)**

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAAATACTCAAAAACCATAAAAGTTTAAAG  
 TTAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTTGAACAAAAATTTACCTACTACTGTTATAAATCATTATT  
 AAACATTAGAGTTAAGAAATATGGATGATAAGAAACAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTT  
 GTTGCAACATTGTAGAAAAATTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACATAGAGAGAGA  
 AAAAGGAAGAGGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAAGTTGTACAAAAGTTGT  
 ACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATT  
 GCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGAGTGACCATTAGAGAATTTTGGCAAGTCA  
 TTAAGAAAGGAATAAATATTTTAAAAATAAAAGTTGAGTCAATTTGATTAACATGTGATTAT  
 TTAATGAATGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTTGGTGTCAAATTTT  
 ATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTTAT  
 AGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAAATCCCTCCAAAAAATAACCGGTATATTTACTA  
 AAAAACTAAGCCAGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAAC  
 CAATCACACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCCAAGCATCTGTGGCACAATCTACAT  
 TATCTAAATCACACATTTCTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCAC  
 CCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGA  
 GAAGAGACTAATTAATTAATCATCTTTGAGAGAAAAATGGAGAAAATAGTGCTTCTTCTTGC  
 AATAGTCAGCCTTGTTAAAAGTGATCAGATTTGCATTTGGTTACCATTGCAAAACACTCGACAGA  
 GCAGGTTGACACAATAATGGAAGAAACGTTACTGTTACACATGCCAAGACACTACTGGAAGAA  
 GACACACAACGGGAAGCTCTGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTGATTTTAAGAGATTGTA  
 GTGTAGCTGGATGGCTCCTCGGAACCCAATGTGTGACGAGTTTCATCAATGTGCCGGAATGG  
 TCTTACATAGTGGAGAAGGCCAACCCAGCCCAATGACCTCTGTTACCCAGGGAATTTCAACGA  
 CTATGAAGAACTGAAACCACTATTGAGCAGATAAACCAATTTTGAAGAAATTCAGATCATCCCC  
 AAAAGTTCTTGGTCCGATCATGAAGCCTCATCAGGGGTGAGCTCAGCATGTCCATACCAGGG  
 AACGCCCTCCTTTTTCAGAAATGTGGTATGGCTTATCAAAAAGAACAAATACATACCCAACAATA  
 AAGAGAAGCTACAATAATACCAACCAGGAAGATCTTTTGATCTGTGGGGGATTCATCATTCT  
 AATGATGCGCGAGAGCAGACAAGCTCTATCAAAACCAACCACTATATTTCCGTTGGGACA  
 TCAACACTAAACCAGAGATTTGGTACCAAAAATAGCTACTAGTCCAAAGATAAACCGGGCAAGT  
 GGAAGGATGGATTTCTTCTGGACAATTTTAAAACCGAATGATGCAATCAACTTCGAGAGTAAT  
 GGAAATTTCAATTGCTCCAGAATATGCATACAAAATTTGCAAGAAAGGGGACTCAGCAATTTGTT  
 AAAAGTGAAGTGGAAATATGTAATGCAATCAAAAGTGTCAAACTCCAATAGGGCGCATAAAC  
 TCTAGTATGCCATTCACAACATACACCCTCTCACCATCGGGGAATGCCCAAAATATGTGAAA  
 TCAACAAAATTAGTCTTGCAGCTGGGCTCAGAAAATAGTCTCTAAGAGAAAAGAAAGAAAA  
 AGAGGACTATTTGGAGCTATAGCAGGGTTTATAGAGGGAGGATGGCAGGGGAATGGTAGATGG  
 TTGGTATGGGTACCACCATAGCAATGAGCAGGGGAGTGGGTACGCTGCAGACAAGAAATCCA  
 CTCAAAAGGCAATAGATGGAGTCAACCAATAAGGTCAACTGCATCTAGGACAAAATGAACACTC  
 AGTTTGAGGCCGTTTGAAGGGGAATTTAATAACTTAGAAAGGAGAATAGAGAATTTAAACAAGA  
 AAATGGAAGACGGGATTCCTAGATGTCTGGACTTATAATGCTGAACCTCTGGTTCTCATGGAAA  
 ATGAGAGAAGCTATAGACTTCCATGATTCAAAATGCAAGAACCTTTACGACAAGGTCGGACTAC  
 AGCTTAGGGATAATGCAAGAGAGCTGGGTACCGTTTCTGAGTTCTATCACAAAATGTGATA  
 ATGAATGTATGGAAGTGTGAAGAACGGGAACGTATGACTACCCGAGTATTCAGAAGAAGCAA  
 GATTAAGAAAGAGAGGAAATAAGTGGAGTAAAATTTGAATCAATAGGAACCTACCAAAATCTGT  
 CAATTTATTCAACAGTTGCGAGTTCTCTAGCACTGGCAATCATGTGGCTGGTCTATCTTTGT  
 GGATGTGCTCAATGGTCTGTTACAATGCAGAATTTGATTTAAGAGCTCTAAGTTAAATGCT  
 TTCTTCGTCTCCTATTATAATGTTTGTATTGTTAATTTTGTCTTGAGAAGAGCTTAATT  
 AATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACCTGGTGAATGTAATTCATTTACATA  
 AGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAAGTACATGAGACCTGCCGCGTACA  
 ATTGCTTATATTTGCAACAATAAAATGAACATCTTTTGCACCAACTTTAAGTGGTTAATAT  
 AGCTCAAAATATGGTCAAGTTCATAGATTAAATAAGTGAATATCAGTTATCGAAATTCATTAA  
 CAATCAACTTAACGTTATTAACTACTAATTTATATCATCCCCCTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 57

SEC ID NO: 66

**H5 de A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) (Constructo # 782)**

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATATAAAGTTTAAG  
 TTAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATT  
 AACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTT  
 GTTGCAACATTTGAGAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGA  
 AAAAGGAAGAGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAAGTTGTACAAAAGTTGT  
 ACCAAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATT  
 GCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCA  
 TAAAAAGAAAGAATAAATTATTTTTAAATTTAAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTAT  
 TTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTA  
 ATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTTATATTTTAT  
 AGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAAGAAACGGTATATTTACTA  
 AAAAACTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAAC  
 CAATCACACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCAGATCTACAT  
 TATCTAAATCACACATTTCTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCAC  
 CCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGA  
 GAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGAGAAAATAGTGCTTCTTTTTGC  
 AATAGTCAGTCTTGTTAAAAGTGATCAGATTTGCATTGGTTACCATGCAAAACAACCTCGACAGA  
 GCAGGTTGACACAATAATGGAAAAGAACGTTACTGTTACACATGCCCAAGACATACTGGAAAA  
 GACACACAATGGGAAGCTCTGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTAATTTTGAGAGATTGTAG  
 TGTAGCTGGATGGCTCCTCGGAAACCCAATGTGTGACGAGTTCATCAATGTGCCGGAATGGT  
 CTTACATAGTGGAGAAGGCCAATCCAGTCAATGACCTCTGTTACCCAGGGGATTTCAATGACT  
 ATGAAGAATTGAAACACCTATTGAGCAGAATAAACCATTTTGAGAAAATTCAGATCATCCCCAA  
 AAGTCTTGGTCCAGTCATGAAGCCTCATTGGGGGTCAGCTCAGCATGTCCATACCAGGGAA  
 AGTCCCTCTTTTTCAGAAATGTGGTATGGCTTATCAAAAAGAACAGTACATACCCAACAATAAA  
 GAGGAGCTAATAATACCAACCAAGAAGATCTTTTGGTACTGTGGGGGATTACCATCCTAA  
 TGATGCGGCAGAGCAGACAAAGCTCTATCAAAACCCAACCACCTATATTTCCGTTGGGACATC  
 TACACTAAACCAGAGATTGGTACCAAGAATAGCTACTAGATCCAAAGTAAACGGGCAAAGTGG  
 AAGGATGGAGTCTTCTGAGACAATTTTAAACCGAATGATGCAATCAACTTCGAGAGTAATGG  
 AAATTTTATTGCTCCAGAATATGCATACAAAATTGTCAAGAAAGGGGACTCAACAATTATGAAA  
 AGTGAATTTGGAATATGGTAACCTGCAATACCAAGTGTCAAACCTCAATGGGGGCGATAAACTCT  
 AGCATGCCATTCCACAATATACACCCTCTCACCATCGGGGAATGCCCAAATATGTGAAATCA  
 AACAGATTAGTCCCTTGCAGCTGGGCTCAGAAATAGCCCTCAAAGAGAGAGAAGAAGAAAAAA  
 GAGAGGATTATTTGGAGCTATAGCAGGTTTTATAGAGGGAGGATGGCAGGGAATGGTAGATG  
 GTTGGTATGGGTACCACCATAGCAACGAGCAGGGGAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAATC  
 CACTCAAAGGCAATAGATGGAGTCACCAATAAGGTCAACTCGATTATTGACAAAATGAACAC  
 TCAGTTTGAGGCCGTTGGAAGGGGAATTTAACAACCTTAGAAAGGAGAATAGAGAATTTAAACAA  
 GAAGATGGAAGACGGGTTCTAGATGTCTGGACTTATAATGCTGAACCTCTAGTTCTCATGGA  
 AAACGAGAGAACTCTAGACTTTTATGACTCAAATGTCAAGAACCTTTACGACAAGGTCCGACT  
 ACAGCTTAGGGATAATGCAAAGGAGCTGGGTAACGGTTGTTTCGAGTTCTATCATAAATGTGA  
 TAATGAATGTATGGAAAGTGAAGAAACGGAACGTATGACTACCCGAGTATTGAGAAGAAGC  
 AAGACTAAAAAGAGAGGAAATAAGTGGAGTAAAATTGGAATCAATAGGAATTTACCAAAATATTG  
 TCAATTTATTCTACAGTGGCCAGCTCCCTAGCACTGGCAATCATGGTAGCTGGTCTATCCTTA  
 TGGATGTGCTCCAATGGGTCGTTACAATGCAGAATTTGCATTAAAGAGCTCTAAGTTAAAATG  
 CTTCTTCGCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTGTCTTGTAGAAGAGCTTAA  
 TTAATCGTTTGTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGTAAATGTAATTCATTTTACA  
 TAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAACTAGACATGAAGACCTGCCGCGTA  
 CAATTTGTCTTATATTTGAACAACATAAAATTTGAACATCTTTTGCCACAACCTTTATAAGTGGTTAAT  
 ATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCATT  
 AACATCAACTTAACGTTATTAACCTACTAATTTTATATCATCCCTTTGATAAATGATAGTACA



Fig. 58

SEC ID NO: 67

H6 de A/Cerceta/ Hong Kong/W312/97 (H6N1) (Constructo # 783)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAAGTTTA  
 AGTTAGCAAGTGTGTACATTTTACTTGAACAAAAATTCACCTACTACTGTTATAAATCAT  
 TATTAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACA  
 ATTTTGTGCAACATTTGAGAAAAATTTGTTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGA  
 GAGAGAAAAAGGAAGAGGGAGAAATAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACA  
 AAAGTTGTACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAA  
 GGGTTAATTGCTGTAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTT  
 TGCGAAGTCATTAAGAAAGAAATAAATTTTAAATTTAAAGTTGAGTCATTTGATTAA  
 ACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGATTAGTAATTAGAATT  
 TGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCCTATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAAC  
 TCATTTTATATTTATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAA  
 AAACGGTATATTTACTAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGGAG  
 GATAACATCCAATCCAACCAATCACAACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGC  
 ATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATTCTCCACACATCTGAGCCACACAAAA  
 ACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGAT  
 TCCCTTCAACACATACAAAGAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAAATG  
 ATTGCAATCATTGTAATAGCAATACTGGCAGCAGCCGAAAGTCAGACAAGATCTGCATTG  
 GGTATCATGCCAACAATTCAACAACACAGGTAGATACGATACTTGAGAAGAATGTGACTGT  
 CACACACTCAATTGAATTGCTGGAAAAATCAGAAGGAAGAAAGATTCTGCAAGATATTGAACA  
 AGGCCCTCTCGACTTAAGGGAATGTACCATAGAGGGTTGGATCTTGGGGAATCCCAAT  
 GCGACCTATTGCTTGGTGATCAAAGCTGGTCATACATTGTGGAAAGACCTACTGCTCAAAA  
 CGGGATCTGCTACCCAGGAACCTTAATGAGGTAGAAGAACTGAGGGCACTTATTGGATCA  
 GGAGAAAGGGTAGAGAGATTTGAGATGTTTCCCAAGCACCTGGCAAGGAGTTGACACC  
 AACAGTGAACAACAAGATCCTGCCCTTATTCTACTGGTGCCTTTCTACAGAAACCTCCT  
 ATGGATAATAAAAAACCAAGACAGCAGGAATATCCAGTAATTAAGGGAATTTACAACAACATG  
 GAACCCAGCCAATCCTCTATTTCTGGGGTGTGCATCATCCTCTAACACCGACGAGCAAGA  
 TACTCTGTATGGCTCTGGTGATCGATACGTTAGAAATGGGAACTGAAAGCATGAATTTTGCCA  
 AGAGTCCGGAATTCGCGCAAGGCCTGCTGTGAATGGACAAAGAGGCAGAAATTTGATTATA  
 TTGGTCCGTTTTAAACCAGGGGAACCTTGAATGTGGAATCTAATGGAAATCTAATCGCC  
 CCTTGGTATGCATACAAATTTGTCAACACAAATAGTAAAGGAGCCGTCTTCAGGTCAGATTT  
 ACCAATCGAGAACTGCGATGCCACATGCCAGACTATTGCAGGGGTTCTAAGGACCAATAAA  
 ACATTTCAGAATGTGAGTCCCTGTGGATAGGAGAATGTCCCAATACGTGAAAAGTGAAA  
 GTCTGAGGCTTGCAACTGGACTAAGAAATGTTCCACAGATTGAACTAGAGGACTCTTCGG  
 AGCTATTGCAGGGTTATTGAAGGAGGATGGACTGGGATGATAGATGGGTGGTATGGCTAT  
 CACCATGAAAATTTCTCAAGGGTCAGGATATGCAGCAGACAGAGAAAGCACTCAAAAGGCTG  
 TAAACAGAAATTACAAATAAGGTCAATTCATCATCAACAAAATGAACACACAATTTGAAGCTG  
 TCGATCACGAATTTTCAATCTGGAGAGGAGAATTGACAATCTGAACAAAAGAAATGCAAGAT  
 GGATTTCTGGATGTTTGGACATACAATGCTGAACTGTTGGTTCTTCTTGAAAACGAAAGAAC  
 ACTAGACATGCATGACGCAATGTGAAGAACCTACATGAAAAGGTCAAATCACAACCTAAGG  
 GACAATGCTACGATCTTAGGGAATGGTTGCTTTGAATTTTGGCATAAGTGTGACAATGAATG  
 CATAGAGTCTGTCAAAAATGGTACATATGACTATCCCAATACCAGACTGAAAGCAAATTA  
 ACAGGCTAAAAATAGAATCAGTAAAGCTAGAGAACCTTGGTGTGTATCAAATCTTGCCATT  
 TATAGTACGGTATCGAGCAGCCTAGTGTGGTAGGGCTGATCATGGCAATGGGTCTTTGGA  
 TGTGTTCAAATGGTTCAATGCAGTGCAGGATATGTATATAAGAGCTCTAAGTTAAATGCTT  
 CTTCGCTCCTATTTATAATATGGTTTGTTATTGTTAATTTTGTCTTGTAAGAAGAGCTTAAT  
 AATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGAATGTAATTCATTTACA  
 TAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAAGTACATGAAGACCTGCCGCG  
 TACAATTTGCTTATATTTGAACAACCTAAATTTGAACATCTTTGCCACAACCTTTATAAGTGGTT  
 AATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAAATATGGAAATATCAGTTATCGAAAT  
 TCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAAGTAACTAATTTTATATCATCCCTTTGATAAATGATA  
 GTACA

**Fig. 59**

SEC ID NO: 68

**H9 de A/Hong Kong/1073/99 (H9N2) (Constructo # 785)**

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAAGTTTAA  
 GTTAGCAAGTGTGTACATTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTA  
 TTAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAAT  
 TTTGTTGCAACATTTGAGAAAATTTGTTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAG  
 AGAAAAAGGAAGAGGGGAGAATAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAG  
 TTGTACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGT  
 TAATTGCTGTAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTGGCA  
 AGTCATTAAGAAAGAAATAAATTATTTTAAATTAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATG  
 TGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGT  
 CAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTT  
 TATATTTATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAAGACGG  
 TATATTTACTAAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATAACA  
 TCCAATCCAACCAATCACACAATCCTGTATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTG  
 GCACATCTACATTATCTAAATCACACATTCTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCC  
 ACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAA  
 ACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGAAACAATA  
 TCACTAATAACTATACTACTAGTAGTAACAGCAAGCAATGCAGATAAAATCTGCATCGGCCA  
 CCAGTCAACAAACTCCACAGAACTGTGGACACGCTAACAGAAACCAATGTTCTGTGACAC  
 ATGCCAAAGAATTGCTCCACACAGAGCATAATGGAATGCTGTGTGCAACAAGCCTGGGACA  
 TCCCCTCATTCTAGACACATGCACTATTGAAGGACTAGTCTATGGCAACCCCTTCTGTGACC  
 TGCTGTTGGGAGGAAGAGAATGGTCTACATCGTCGAAAGATCATCAGCTGTAATGGAAC  
 GTGTTACCCCTGGGAATGTAGAAAACCTAGAGGAACTCAGGACACTTTTATGTTCCGCTAGTT  
 CCTACCAAGAATCCAAATCTTCCAGACACAACCTGGAATGTGACTTACACTGGAACAAGC  
 AGAGCATGTTCCAGTTTCATTCTACAGGAGTATGAGATGGCTGACTCAAAAGAGCGGTTTTTA  
 CCCTGTTCAAGACGCCCAATACACAAATAACAGGGGAAAGAGCATTCTTTCTGTGTGGGBC  
 ATACATCACCCACCCACCTATACCGAGCAAAACAAATTTGTACATAAGAAACGACACAACAAC  
 AAGCGTGACAACAGAAGATTTGAATAGGACCTTCAAACCAAGTGATAGGGCCAAGGCCCTT  
 GTCATGGTCTGCAGGGAAGAATTGATTATTATTGGTCCGTTACTAAACAGGCCAAACATT  
 GCGAGTACGATCCAATGGGAATCTAATTGCTCCATGGTATGGACACGTTCTTTCAGGAGGG  
 AGCCATGGAAGAATCCTGAAGACTGATTTAAAGGTGGTAATTGTGTAGTGCAATGTCAGAC  
 TGAAGAAAGGTGGCTTAAACAGTACATTGCCATTCCACAATATCAGTAAATATGCATTTGGAAC  
 CTGCCCCAAATATGTAAGAGTTAATAGTCTCAAACCTGGCAGTCGGTCTGAGGAACGTGCCT  
 GCTAGATCAAGTAGAGGACTATTTGGAGCCATAGCTGGATTATAGAAGGAGGTTGGCCAG  
 GACTAGTCGCTGGCTGGTATGGTTCCAGCATTCAAATGATCAAGGGGTTGGTATGGCTGC  
 AGATAGGGATTCAACTCAAAAGGCAATTGATAAAATAACATCCAAGGTGAATAATATAGTCGA  
 CAAGATGAACAAGCAATATGAAATAATTGATCATGAATTTAGTGAGGTTGAACTAGACTCAA  
 TATGATCAATAATAAGATTGATGACCAATACAAGACGTATGGGCATATAATGCAGAATTGCT  
 AGTACTACTTGAAAATCAAAAAACACTCGATGAGCATGATGCGAACGTGAACAATCTATATAA  
 CAAGGTGAAGAGGGCACTGGGCTCCAATGCTATGGAAGATGGGAAAGGCTGTTTCGAGCTA  
 TACCATAAATGTGATGATCAGTGATGGAACAATTCCGAACGGGACCTATAATAGGAGAAA  
 GTATAGAGAGGAATCAAGACTAGAAAGGCAGAAAAATAGAGGGGGTTAAGCTGGAATCTGAG  
 GGAACCTTACAAAATCCTCACCATTATTCGACTGTCCGCTCATCTCTTGTGCTTGCAATGGG  
 GTTTGCTGCCTTCTGTTCTGGGCCATGTCCAATGGATCTTGACAGATGCAACATTTGTATAT  
 AAGAGCTCTAAGTTAAATGCTTCTTCTGCTCTCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTT  
 TGTCTTGTAGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACT  
 GGTGTAATGTAATTCATTTACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAAT  
 AGACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTTGAACAACATAAATGAACATCTTTT  
 CCCACAACCTTTATAAGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAAT  
 GGAAATATCAGTTATCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAATACTAATTTTATAT  
 CATCCCCTTTGATAAATGATAGTACA



Fig. 60

SEC ID NO: 69

H3 de A/Brisbane/10/2007 (H3N2)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAGTTTAAGT  
 TAGCAAGTGTGTACATTTTACTTGAACAAAAATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTAA  
 ACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTGTT  
 GCAACATTTGAGAAAATTTGTTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAA  
 GGAAGAGGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAA  
 AATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTA  
 AATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTGGCAAGTCATTAAAAAG  
 AAAGAATAAATTATTTTAAAAATTAAAAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAAT  
 TGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATT  
 TGATCTTTTCTATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTTCATAGATCAAATA  
 AGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAACCGGTATATTTACTAAAAATCTAAG  
 CCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACAAACAA  
 TCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACA  
 CATTCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAA  
 ATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAA  
 TTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAGACTATCATTGCTTTGAGCTACATTCTATGCTGCTGTT  
 TTCCTCAAAAACCTCCCGGAAATGACAACAGCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCA  
 GTACCAAACGGAACGATAGTGAAAACAATCACGAATGACCAAATTGAAGTTACTAATGCTACTG  
 AGCTGGTTCAGAGTTCCTCAACAGGTGAAATATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTTGATGGAG  
 AAAACTGCACACTAATAGATGCTCTATTGGGAGACCCTCAGTGTGATGGCTTCCAAAATAAGAA  
 ATGGGACCTTTTTGTTGAACGCAGCAAAGCCTACAGCAACTGTTACCCTTATGATGTGCCGGAT  
 TATGCCTCCCTTAGGTCAGTAGTTGCCTCATCCGGCACACTGGAGTTTAACAATGAAAGTTTCA  
 ATTGGACTGGAGTCACTCAAAACGGAACAAGCTCTGCTTGCAATAAGGAGATCTAATAACAGTTT  
 CTTTAGTAGATTGAATTGGTTGACCCACTTAAATTCAAATACCCAGCATTGAACGTGACTATGC  
 CAAACAATGAAAAATTTGACAAATTGTACATTTGGGGGGTTTACCACCCGGGTACGGACAATGA  
 CCAATCTTCTGTATGCTCAAGCATCAGGAAGAATCACAGTCTCTACCAAAAGAAGCCAACAA  
 ACTGTAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGAGTAAGGAATATCCCGCAGAGAATAAGCATCT  
 ATTGGACAATAGTAAACCCGGGAGACATATTTTGATTAAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCC  
 TAGGGGTTACTTCAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGG  
 CAAATGCAATTCTGAATGCATCACTCCAAACGGAAGCATTCCAATGACAAACCATTCCAAAAT  
 GTAACAGGATCACATACGGGGCCTGTCCAGATATGTTAAGCAAAACACTCTGAAATTGGCA  
 ACAGGGATGCGAAATGTACCAGAGAAACAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATCGCGGGTTTC  
 ATAGAAAATGGTTGGGAGGAATGGTGGATGGTTGGTATGGTTTCAGGCATCAAAATCTGAG  
 GGAATAGGACAAGCAGCAGATCTCAAAAGCACTCAAGCAGCAATCGATCAAATCAATGGGAAG  
 CTGAATAGGTTGATCGGGAAAACCAACGAGAAATTCATCAGATTGAAAAAGAGTTCTCAGAAG  
 TCGAAGGGGAGAATCCAGGACCTTGAGAAATATGTTGAGGACACCAAAATAGATCTCTGGTCAT  
 ACAACGCGGAGCTTCTTGTGCCCCTGGAGAACCAACATACAATTGATCTAAGTCACTCAGAAAT  
 GAACAAACTGTTTGAAAAACAAAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGG  
 TTGTTTCAAAATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATAGGATCAATCAGAAATGGAACCTTATG  
 ACCACGATGTATACAGAGATGAAGCATTAAACAACCGGTTCCAGATCAAGGGCGTTGAGCTGA  
 AGTCAGGATACAAAGATTGGATACTATGGATTTCTTTGCCATATCATGTTTTTGTCTTGTGTT  
 GCTTTGTTGGGGTTCATCATGTGGGCTGCCAAAAAGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATT  
 GAGAGCTCTAAGTTAAATGCTTCTCGTCTCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTG  
 TTCTTGTAGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGT  
 GTAATGTAATTCATTTACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAAGTAGACA  
 TGAAGACCTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTTGAACAACATAAATTGAACATCTTTTGCCACAA  
 CTTTATAAGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAAATGGAATATCA  
 GTTATCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAAGTAACTAATTTTATATCATCCCTTTGA  
 TAAATGATAGTACA

Fig. 61

SEC ID NO: 70

H3 de A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAAGTTTAA  
 GTTAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATT  
 TTAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAT  
 TTTGTTGCAACATTTGAGAAAATTTGTTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAG  
 AGAAAAAGGAAGAGGGGAGAATAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAG  
 TTGTACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGT  
 TAATTGCTGTAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCA  
 AGTCATTAAAAAGAAAGAATAAATTATTTTTAAATTAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGT  
 GATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTC  
 AAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCCTATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTA  
 TATTTTCATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAACAACGGTAT  
 ATTTACTAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGGAGGATAACATCC  
 AATCCAACCAATCACACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCA  
 CATCTACATTATCTAAATCACACATTTCTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACA  
 TCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACA  
 CATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAGACTATCATT  
 GCTTTGAGCTACATTCTATGTCTGGTTTTCACTCAAAAACCTCCCGGAAATGACAACAGCAC  
 GGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAAACGGAACGATAGTGAAAAACAATCACG  
 AATGACCAAAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTTCAGAGTTCCTCAACAGGTGGAAT  
 ATGCGACAGTCTCATCAGATCCTTGATGGAGAAAACGACACTAATAGATGCTCTATTGG  
 GAGACCCTCAGTGTGATGGCTTCCAAAATAAGAAATGGGACCTTTTTGTTGAACGCAGCAA  
 GCCTACAGCAACTGTTACCTTATGATGTGCCGATTATGCCTCCCTTAGGTCACTAGTTGC  
 CTCATCCGGCACACTGGAGTTTAACGATGAAAGTTTCAATTGGACTGGAGTCACTCAAAATG  
 GAACAAGCTCTGCTTGCAAAAGGAGATCTAATAACAGTTTCTTTAGTAGATTGAATTGGTTGA  
 CCCACTTAAATTCAAATACCCAGCATTGAACGTGACTATGCCAAACAATGAAAAATTTGACA  
 AATTGTACATTTGGGGGGTTCCACCACCGGGTACGGACAATGACCAATCTTCTGCATGCT  
 CAAGCATCAGGAAGAATCACAGTCTCTACCAAAAGAAGCCAACAACTGTAATCCCGAATAT  
 CGGATCTAGACCCAGAATAAGGAATATCCCCAGCAGAATAAGCATCTATTGGACAATAGTAA  
 AACCAGGAGACATACTTTTGATTAAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGGGGTTACTTC  
 AAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAAATGCAATTC  
 TGAATGCATCACTCCAAATGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTTCAAATGTAAACAGGAT  
 CACATATGGGGCCTGTCCCAGATATGTTAAGCAAAACACTCTGAAATTGGCAACAGGGATGC  
 GAAATGTACCAAGAGAAACAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATCGCGGGTTTCATAGAAAAT  
 GGTTGGGAGGGAATGGTGGATGGTTGGTACGGTTTCAGGCATCAAAATTTCTGAGGGAATAG  
 GACAAGCAGCAGATCTCAAAAGCACTCAAGCAGCAATCAATCAATCAATGGGAAGCTGAAT  
 AGGTTGATCGGGAAAACCAACGAGAAATTCATCAGATTGAAAAAGAGTTCTCAGAAGTAGA  
 AGGGAGAATCCAGGACCTCGAGAAATATGTTGAGGACACTAAATAGATCTCTGGTCATACA  
 ACGCGGAGCTTCTTGTTGCCCTGGAGAACCAACATACAATTGATCTAACTGACTCAGAAATG  
 AACAACTGTTTGAAAGAACAAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGG  
 TTGTTTCAAATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATAGGATCAATCAGAAATGGAACCTTA  
 TGACCATGATGTATACAGAGATGAAGCATTAAACAACCGGTTCCAGATCAAAGGCGTTGAGC  
 TGAAGTCAGGATACAAAGATTGGATACTATGGATTTCCTTTGCCATATCATGTTTTTGTCTT  
 GTGTTGCTTTGTTGGGGTTCATCATGTGGGCCTGCCAAAAAGGCAACATTAGGTGCAACATT  
 TGCATTTGAGAGCTCTAAGTTAAATGCTTCTTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTG  
 TTAATTTTGTCTGTAGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTGTATGAG  
 ATGAACTGGTGAATGTAATTCATTTACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCCTCCATA  
 ACTAAGTAGACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTTGAACAACATAAATGAAC  
 ATCTTTTGCCACAACCTTATAAGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATT  
 AATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCATTAAACAATCAACTTAACGTTATTAAGTACTAATTT  
 TATATCATCCCTTTGATAAATGATAGTACA



**Fig. 62**

SEC ID NO: 71

H7 de A/Equino/Pragra/56 (H7N7)

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAAGTTTAAAG  
 TTAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATT  
 AACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTT  
 GTTGCAACATTTGAGAAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGA  
 AAAAGGAAGAGGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGT  
 ACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAAATAAGGGTTAATT  
 GCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCA  
 TTA AAAAGAAAGAATAAATTATTTTTAAATTA AAAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTAT  
 TTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTA  
 ATTTGACATTTGATCTTTTCCCTATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTCA  
 TAGATCAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAAAAAAAAACGGTATATTTACT  
 AAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAA  
 CCAATCACACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCCACGCATCTGTGGCACATCTACA  
 TTATCTAAATCACACATTCTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCA  
 CCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAG  
 AGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAACACTCAAATTTCTAATATTAG  
 CCACTTCGGCATTCTTCTATGTACGTGCAGATAAAATCTGCCTAGGACATCATGCTGTGTCTA  
 ATGGAACCAAAGTAGACACCCTTACTGAAAAAGGAATAGAAGTTGTCAATGCAACAGAAACAG  
 TTGAACAAACAAACATCCCTAAGATCTGCTCAAAAGGAAAACAGACTGTTGACCTTGGTCAAT  
 GTGGATTACTAGGGACCGTTATTGGTCCCTCCCAATGTGACCAATTTCTTGAGTTCTCTGCTA  
 ATTTAATAGTTGAAAGAAGGGAAGGTAATGACATTTGTTATCCAGGCAAATTTGACAAATGAAGA  
 AACATTGAGAAAAATACTCAGAAAATCCGGAGGAATTA AAAAGGAGAATATGGGATTCACATA  
 TACCGGAGTGAGAACCAATGGAGAGACTAGCGCATGTAGAAGGTCAAGATCTTCTTTTATG  
 CAGAGATGAAATGGCTTCTATCCAGCACAGACAATGGGACATTTCCACAAATGACAAAGTCCCT  
 ACAAGAACACTAAGAAGGTACCAGCTCTGATAATCTGGGGAATCCACCACTCAGGATCAACT  
 ACTGAACAGACTAGATTATATGGAAGTGGGAATAAATTGATAACAGTTTGGAGTTCCAAATAC  
 CAACAATCTTTTGTCCCAATCCTGGACCAAGACCGCAAATGAATGGTCAATCAGGAAGAATT  
 GACTTTCAGTGGCTGATGCTAGATCCCAATGATACTGTCACTTTCAGTTTTAATGGGGCCTTT  
 ATAGCACCTGACCGCGCCAGTTTTCTAAGAGGTAAATCTCTAGGAATCCAAAGTGATGCACAA  
 CTTGACAATAATTGTGAAGGTGAATGCTATCATATTGGAGGTACTATAATTAGCAACTTGCCCT  
 TTCAAAACATTAATAGTAGGGCAATCGGAAAATGCCCCAGATACGTGAAGCAGAAGAGCTTAA  
 TGCTAGCAACAGGAATGAAAAATGTTCTGAAGCTCCTGCACATAAACAACATACTCATCACA  
 TGCGCAAAAAAGAGGTTTATTTGGTGCAATAGCAGGATTCATTGAAAATGGGTGGGAAGGAT  
 TAATAGACGGATGGTATGGATATAAGCATCAGAATGCACAAGGAGAAGGGACTGCTGCAGAC  
 TACAAAAGTACACAATCTGCTATCAACCAATAACCGGAAAATTGAACAGACTAATAGAAAAAA  
 CCAACCAGCAATTCGAACATAAGATAATGAGTTCAATGAAATAGAAAAACAAATTGGCAATGT  
 TATTAAGTGGACTAGAGATTCTATCATCGAAGTATGGTCATATAATGCAGAGTTCTCTCGTAGC  
 AGTGAGAGAAATCAACACACTATTGATTTAACTGACTCAGAAATGAACAACTATATGAAAAGGTA  
 AGAAGACAACCTGAGAGAAAATGCTGAGGAAGATGGTAATGGCTGTTTTGAAATATTCCACCAA  
 TGTGACAATGATTGCATGGCCAGCATTAGAAACAACACATATGACCATAAAAAATACAGAAAA  
 GAGGCAATACAAAACAGAAATCCAGATTGACGCAGTAAAGTTGAGCAGTGGTTACAAAGATATA  
 ATACTTTGGTTAGCTTCGGGGCATCATGTTTCTTATTTCTTGCCATTGCAATGGGTCTTGTTT  
 TCATATGTATAAAAAATGGAAACATGCGGTGCACTATTTGTATATAAGAGCTCTAAGTTAAAAAT  
 GCTTCTTCGCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTGTCTGTAGAAGAGCTTA  
 ATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAAGTGGTGAATGTAATTCATTTAC  
 ATAAGTGGAGTCAGAAATCAGAAATGTTTCTCCATAACTAAGTAGACATGAAGACCTGCCGCGT  
 ACAATTGCTTATATTTGAACAACATAAATGAACATCTTTTGCCACAACCTTTATAAGTGGTTAA  
 TATAGCTCAAAATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAATATCAGTTATCGAAATTCAT  
 TAACAATCACTTAACGTTATTAACATAATTTTATATCATCCCCTTTGATAAATGATAGTACA

Fig. 63

SEC ID NO: 72

HA de B/Malasia/2506/2004

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAGTTTAAAG  
 TTAGCAAGTGTGTACATTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAAATCATTATTA  
 AACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGT  
 TGCAACATTTGAGAAAATTTGTTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAA  
 AGGAAGAGGGGAGAATAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACC  
 AAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTG  
 TAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCATTAAA  
 AAGAAAGAATAAATTATTTTTAAATTAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAAT  
 GAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTG  
 ACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTTCATAGATC  
 AAATAAGAGAAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAACAACGGTATATTTACTAAAAAAT  
 CTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCAC  
 ACAAATCCTGTATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAA  
 TCACACATTCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCATTCTAT  
 AAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAGAGACT  
 AATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAGGCAATAATTGTACTACTCATGGTAGTAACA  
 TCCAATGCAGATCGAATCTGCACTGGGATAACATCGTCAAACCTACCACATGTTGTCAAACCTG  
 CTAATCAAGGGGAGGTCAATGTGACTGGTGTAAATACCACTGACAACAACACCCACCAAATCTC  
 ATTTTGCAAAATCTCAAAGGAACAGAAACCAGAGGGAACTATGCCCAAAATGCCTCAACTGCA  
 CAGATCTGGACGTGGCCTTGGGCAGACCAAATGCACGGGGAACATACCCTCGGCAAGAGTT  
 TCAATACTCCATGAAGTCAGACCTGTTACATCTGGGTGCTTTCCTATAATGCACGACAGAACAA  
 AAATTAGACAGCTGCCTAACTTCTCAGAGGATACGAACATATCAGGTTATCAACTCATAACGT  
 TATCAATGCAGAAAAATGCACCAGGAGGACCTACAAAATTGGAACCTCAGGGTCTTGCCCTAA  
 CGTTACCAATGGAAACGGATTTTTCGCAACAATGGCTTGGGCCGTCCCAAAAAACGACAACAA  
 CAAAACAGCAACAAATTCATTAACAATAGAAGTACCATACATTTGTACAGAGGAGAAGACCAA  
 ATTACCGTTTGGGGTTCCACTCTGATAACGAAACCCAAATGGCAAAGCTCTATGGGGACTCA  
 AAGCCCCAGAAGTTACCTCATCTGCCAACGGAGTGACCACACATTACGTTTCACAGATTGGT  
 GGCTTCCCAAATCAAACAGAAAGACGGAGGACTACCACAAAGCGGTAGAATTGTTGTTGATTAC  
 ATGGTGCAAAAATCTGGGAAAAACAGGAACAATTACCTATCAAAGAGGTATTTTATTGCCTCAA  
 AAGTGTGGTGGCGAAGTGGCAGGAGCAAGGTAATAAAAGGATCGTTGCCTTAATTGGAGAAG  
 CAGATTGCCTCCACGAAAAATACGGTGGATTAAACAAAAGCAAGCCTTACTACACAGGGGAAC  
 ATGCAAAGGCCATAGGAAATTGCCCAATATGGGTGAAAAACACCCTTGAAGCTGGCCAATGGAA  
 CCAAATATAGACCTCCTGCAAAACTATTAAAGGAAAGGGTTTCTTCGGAGCTATTGCTGGTTT  
 CTTAGAAGGAGGATGGGAAGGAATGATTGCAGGTTGGCACGGATACACATCCCATGGGGCAC  
 ATGGAGTAGCGGTGGCAGCAGACCTTAAGAGCACTCAAGAGGCCATAACAAGATAACAAAAA  
 ATCTCAACTCTTTGAGTGAGCTGGAAGTAAAGAATCTTCAAAGACTAAGCGGTGCCATGGATG  
 AACTCCACAACGAAATACTAGAACTAGACGAGAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGATACAATAA  
 GCTCACAAATAGAACTCGCAGTCTGCTTTCCAATGAAGGAATAATAAACAGTGAAGATGAGC  
 ATCTCTTGGCGCTTGAAAGAAAGCTGAAGAAAATGCTGGGCCCTCTGCTGTAGAGATAGGGA  
 ATGGATGCTTTGAAACCAACACAAGTGCAACCAGACCTGTCTCGACAGAATAGCTGCTGGTA  
 CCTTTGATGCAGGAGAATTTTCTCTCCCCACTTTTGATTCACTGAATATTACTGCTGCATCTTTA  
 AATGACGATGGATTGGATAATCACTATCTGCTTTACTACTCAACTGCTGCCCTCCAGTTTGG  
 CTGTAACATTGATGATAGCTATCTTTGTTGTTATGTTGTTGCTCCAGAGACAATGTTTCTTGCTCC  
 ATCTGTCTATAAGAGCTCTAAGTTAAATGCTTCTTCTGCTCTCTATTATTAATATGGTTTGTATT  
 GTTAATTTTGTCTTGTAGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGA  
 TGAAGTGGTGAATGTAATTCATTTACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACT  
 AACTAGACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTGCTTATATTTGAACAACATAAAATTGAACATCTT  
 TTGCCACAACCTTTATAAGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAAAT  
 GGAAATATCAGTTATCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAACATAATTTTATATCA  
 TCCCTTTGATAAATGATAGTACA



Fig. 64

SEC ID NO: 73

HA de B/Florida/4/2006

AGAGGTACCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAGTTTAAGT  
 TAGCAAGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTAA  
 ACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGATAAGAACAAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGT  
 GCAACATTTGAGAAAATTTTGTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAA  
 GGAAGAGGGAGAATAAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAA  
 AATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTA  
 AATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCATTAAAAAG  
 AAAGAATAAATTATTTTTAAAAATTTAAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAAT  
 TGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATT  
 TGATCTTTTCCATATATTGCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTCATAGATCAAATA  
 AGAGAAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAACGGTATATTTACTAAAAAATCTAAG  
 CCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACAAACA  
 TCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACA  
 CATTCTTCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAA  
 ATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTA  
 TTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGAAGGCAATAATTGTACTACTCATGGTAGTAACATCCAAT  
 GCAGATCGAATCTGCACTGGAATAACATCTTCAAACCTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCCACTC  
 AAGGGGAGGTCAATGTGACTGGTGTGATACCACTAACAAACAACACCAACAAAATCTTATTTTGC  
 AAATCTCAAAGGAACAAGGACCAGAGGGAACTATGCCAGACTGTCTCACTGCACAGATCT  
 GGATGTGGCTTTGGGCAGACCAATGTGTGTGGGGACCACACCTTCGGCGAAGGCTTCAATAC  
 TCCACGAAGTCAAACCTGTTACATCCGGGTGCTTCTCTATAATGCACGACAGAACAAAAATCAG  
 GCAACTACCCAATCTTCTCAGAGGATATGAAAATATCAGGCTATCAACCCAAAACGTCACTCGAT  
 GCGGAAAAGGCCACCAGGAGGACCTACAGACTTGAACCTCAGGATCTTGCCCTAACGCTAC  
 CAGTAAGAGCGGATTTTTCGCAACAATGGCTTGGGCTGTCCCAAAGGACAAACAACAAAAATGC  
 AACGAACCCACTAACAGTAGAAGTACCATACATTTGTACAGAAGGGGAAGACCAAAATCACTGTT  
 TGGGGGTTCCATTGAGATAACAAAACCCAAATGAAGAACCTCTATGGAGACTCAAATCCTCAAA  
 AGTTCACCTCATCTGCTAATGGAGTAACCACACACTATGTTTCTCAGATTGGCAGCTTCCGAGA  
 TCAACAGAGAAGACGGAGGACTACCACAAAGCGGCAGGATTGTTGTTGATTACATGATGCAAAA  
 ACCTGGGAAAACAGGAACAATTGTCTACCAAGAGGTGTTTTGTTGCCTCAAAGGTGTGGTG  
 CGCGAGTGGCAGGAGCAAAGTAATAAAAGGGTCTTGCCCTTAATTGGTGAAGCAGATTGCCT  
 TCATGAAAAATACGGTGGATTAAACAAAAGCAAGCCTTACTACACAGGAGAACATGCAAAAGCC  
 ATAGGAAATTGCCAATATGGGTGAAAACACCTTTGAAGCTCGCCAATGGAACCAATATAGAC  
 CTCCTGCAAAACTATTAAGGAAAGGGTTTCTTCGGAGCTATTGCTGGTTTCTAGAAAGGAG  
 GATGGGAAGGAATGATTGCAGGCTGGCACGGATACACATCTCACGGAGCACATGGAGTGGCA  
 GTGGCGGCGGACCTTAAGAGTACGCAAGAAGCTATAACAAGATAACAAAAAATCTCAATTCTT  
 TGAGTGAGCTAGAAGTAAAGAATCTTCAAAGACTAAGTGGTGCCATGGATGAACCTCCACAACG  
 AAATACTCGAGCTGGATGAGAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGACACTATAAGCTCGCAATAG  
 AACTTGCAGTCTTGCTTTCCAACGAAGGAATAATAAACAGTGAAGATGAGCATCTATTGGCACT  
 TGAGAGAAAACATAAGAAAATGCTGGGTCCCTCTGCTGTAGAGATAGGAAATGGATGCTTCGA  
 AACCAACACAAGTGCAACCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAGG  
 AGAATTTTCTCTCCCACTTTTGATTCACTGAACATTACTGCTGCATCTTTAAATGATGATGGAT  
 TGGATAACCATACTATACTGCTCTATTACTCAACTGCTGCTTCTAGTTTGGCTGTAACATTGATG  
 CTAGCTATTTTTATTGTTTATATGGTCTCCAGAGACAACGTTTCATGCTCCATCTGTCTATAAGA  
 GCTCTAAGTTAAATGCTTCTTCGTCTCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTGTCT  
 TGTAGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACCTGGTGTA  
 TGTAATTCATTTACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAAGACATGAA  
 GACCTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTTGAACAACATAAATGAACATCTTTTGCCACAACCTTT  
 ATAAGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAAATGGAATATCAGTTA  
 TCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAACCTACTAATTTTATATCATCCCTTTGATAAA  
 TGATAGTACA

**Fig. 65**

Consenso de SEC ID NO: 49, 48, 33 y 9

SEC ID NO: 74

MK(X<sub>1</sub>)KLLVLLCTFTATYADTICIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTHSVNLL  
 E(X<sub>2</sub>)SHNGKLCLLKGIAPLQLGNCVAGWILGNPECELLIS(X<sub>3</sub>)ESWSYIVE(X<sub>4</sub>)P  
 NPENGTCYPG(X<sub>5</sub>)FADYEELREQLSSVSSFERFEIFPKESSWPNHT(X<sub>6</sub>)TGVSA  
 SCSHNG(X<sub>7</sub>)SSFY(X<sub>8</sub>)NLLWLTGKNGLYPNLSKSY(X<sub>9</sub>)NNKEEVLVLWGVHPPN  
 IG(X<sub>10</sub>)Q(X<sub>11</sub>)ALYH(X<sub>12</sub>)ENAYVSVSSHYSR(X<sub>13</sub>)FTPEIAKRPKVRDQEGRINYWTLL  
 EPGDTIIFEANGNLIAP(X<sub>14</sub>)YAFALSRGFGSGII(X<sub>15</sub>)SNAPMD(X<sub>16</sub>)CDAKCQTPQG  
 AINSSLPFQNVHPVTIGECPKYVRSALRMVTGLRNIPSIQSRGLFGAIA  
 GFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGYAADQKSTQNAINGITNKVNSVIE  
 KMNTQFTAVGKEFNKLERRMENLNKKVDDGF(X<sub>17</sub>)DIWTYNAELLVLENERT  
 LDFHDSNVKNLYEKVKSQKNNAKEIGNGCFFYHKCN(X<sub>18</sub>)ECMESVKNGTY  
 DYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMGVYQILAIYSTVASSLVLLVSLGAIS  
 FWMCSNGSLQCRICI

**Fig. 66**

SEC ID NO: 75

MKAKLLVLLCTFTATYADTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLED SHNGKLCLLKGI A  
 PLQLG  
 NCSVAGWILGNPECELLISKESWSYIVETPNPENGTCYPGYFADYEELREQLSSVSSFERFEIF  
 PKESSW  
 PNHTVTGVSASC SHNGKSSFYRNLLWLTGKNGLYPNLSKSYVNNKEKEVLVLWGVHHPPI  
 GNQRALYHT  
 ENAYVSWSSHYSRRFTPEIAKRPKVRDQEGRINYWTLLEPGDTIIFEANGNLIAPWYAFALS  
 RGFGSG  
 IITSNAPMDECDACQTPQGAINSSLPFQNVHPVTIGECPKYVRS AKLRMTGLRNIPSIQSRG  
 LFGAIA  
 GFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGSYAADQKSTQNAINGITNKVNSVIEKMNTQFTAVGK  
 EFNKLERRM  
 ENLNKKVDDGFLDIWTYNAELLVLENERTLDFHDSNVKNLYEKVKSQ LKNNAKEIGNGCFEF  
 YHKCNNE  
 CMESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMGVYQILAIYSTVASSLVLLVSLGAISFWMC  
 SNGSLQ  
 CRICI

**Fig. 67**

SEC ID NO: 76

MSLLTEVETYVLSIIPSGPLKAEIAQRLEDVFAGKNTDLEVLMEWLKTRPILSPLTKGILGFVFTLTVPS  
ERGLQRRRFVQNALNGNDPNNMDKAVKLYRKLKREITFHGAKEISLSYSAGALASCMGLIYNRMGAV  
TT  
EVAFGLVCATCEQIADSQHRSHRQMVTNPLIRHENRMVLASTTAKAMEQMAGSSEQAAEAMEVAS  
QAR  
QMVQAMRTIGTHPSSSAGLKNDLLENLQAYQKRMGVQMQRFK

**Figura 68**

TTAATTAAGAATTCGAGCTCCACCGCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCTGTC  
 ACTTTATTGAGAAGATAGTGGAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAG  
 GAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCAACCCACG  
 AGGAGCATCGTGGAAGGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGAT  
 ATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCTTCGCAAGACCCCTTCTCTATA  
 TAAGGAAGTTCATTTCAATTTGGAGAGGTATTAATAATCTTAATAGGTTTTGATAAAGCGAACGT  
GGGGAACCCGAACCAACCTTCTTCTAACTCTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAACCTTCTCTC  
TGTCTTTCTTGCGTGAGCGATCTTCAACGTTGTGAGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAACGT  
 TTTCTTTCACTGAAGCGAAATCAAAGATCTCTTTGTGGACACGTAGTGCGGCGCCATTAAATAA  
 CGTGTACTTGTCTATTCTTGTGCGGTGTGGTCTTGGGAAAAGAAAGCTTGCTGGAGGCTGCTG  
 TTCAGCCCATACATTACTTGTACGATTCTGCTGACTTTTCGGCGGGTGCAATATCTCTACTTC  
 TGCTTGACGAGGTATTGTTGCCTGTACTTCTTTCTTCTTCTTCTTGCTGATTGGTTCTATAAGAA  
 ATCTAGTATTTCTTTGAAACAGAGTTTTCCCGTGGTTTTTCGAACCTGGAGAAAGATTGTTAAGC  
 TTCTGTATATTCTGCCCAAATTTGTGCGGCCCATGGTTTTACACCTCAGATACTTGGACTTAT  
 GCTTTTTTGGATTTCAGCCTCCAGAGGTGATATTGTGCTAACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCT  
 GTGACTCCAGGAGATAGTGTGAGTCTTCTCTGCAGGGCCAGCCAAAGTATTAGCAACAACCTA  
 CACTGGTTTTCAACAAAAATCGCATGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAGTATGCTTCCAGTCCA  
 TATCTGGGATCCCCTCCAGGTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCAGTATCA  
 ACAGTGTGAAGACTGAAGATTTTGAATGTTTTCTGTCAACAGAGTAACAGCTGGCCTCTCAC  
 GTTCGGTGATGGGACAAAGCTGGAGCTGAAACGGGCTGATGCTGCACCAACTGTATCCATCT  
 TCCACCATCCAGTGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCTTGAACAACT  
 TCTACCCCAAAGACATCAATGTCAAGTGGAAGATTGATGGCAGTGAACGACAAAATGGCGTCC  
 TGAACAGTTGGACTGATCAGGACAGCAAAGACAGCACCTACAGCATGAGCAGCACCCCTCACG  
 TTGACCAAGGACGAGTATGAACGACATAACAGCTATACCTGTGAGGCCACTCACAAAGACATCA  
 ACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGTAGAGGCCTATTTTCTTTAGTTTGA  
 ATTTACTGTTATTGCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTT  
 TATTTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTCGTCCCTTCAGCAAGGACAC  
 AAAAAGATTTTAAATTTTATTAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAGACCGGAATTCGATATCAAGCTTATC  
 GACCTGCAGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCT  
 TGCGATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCA  
 TGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATA  
 GAAAACAAAATATAGCGCGCAAACTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTA  
 GATTCTAGAGTCTCAAGCTTCGGCGCGCC



**Figura 69**

AAGCTTGCTAGCGGCCTCAATGGCCCTGCAGGTCGACTCTAGAGGTACCCCGGGCTGGTAT  
ATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAGTTTAAGTTAGCAAGTGTGTACATTTTTA  
CTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTAACATTAGAGTAAAGAAATAT  
GGATGATAAGAACAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGTGCAACATTTGAGAAAAATTT  
TGTTGTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAAGGAAGAGGGGAGAATAAA  
AACATAATGTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAAATAGTTGTACAAATAT  
CATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGAC  
GCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTGGCAAGTCATTAAGAAAGAAAGAATAAATTATT  
TTTAAATTAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTT  
GGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTGACATTTGATCTTTTCT  
ATATTGCCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTATATTTTCATAGATCAAATAAGAGAAATAAC  
GGTATATTAATCCCTCCAAAAAACAACGGTATATTTACTAAAAATCTAAGCCACGTAGGA  
GGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACAACAATCCTGATGA  
GATAACCCACTTTAAGCCCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATTCTTCC  
ACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCATTCTATAAAAAATCACAT  
TTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAGACTAATTTAATTAATTA  
ATCATCTTGAGAGAAAAATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTGTG  
TTGGTTCTTCTCAGATCTTCGCTGATCAGATTTGCATTGGTTACCATGCAAACAATTCAACAG  
AGCAGGTTGACACAATCATGGAAAAGAACGTTACTGTTACACATGCCAAGACATACTGGAAA  
AGACACACAACCGGAAGCTCTGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTAATTTTAAGAGATTGTA  
GTGTAGCTGGATGGCTCCTCGGGAACCCAATGTGTGACGAATTCATCAATGTACCGGAATGG  
TCTTACATAGTGGAGAAGGCCAATCCAACCAATGACCTCTGTTACCCAGGGAGTTTCAACGAC  
TATGAAGAACTGAAACACCTATTGAGCAGAATAAACCATTTTGAGAAAAATCAATCATCCCCA  
AAAGTTCTTGGTCCGATCATGAAGCCTCATCAGGAGTTAGCTCAGCATGTCCATACCTGGGAA  
GTCCCTCCTTTTTTAGAAATGTGGTATGGCTTATCAAAAAGAACAGTACATACCCAAACATAAA  
GAAAAGCTACAATAATACCAACCAAGAGGATCTTTTGGTACTGTGGGGAATTCACCATCCTAA  
TGATGCGGCAGAGCAGACAAGGCTATATCAAAACCCAACCACCTATATTTCCATTGGGACATC  
AACACTAAACCAGAGATTGGTACCAAAAAATAGCTACTAGATCCAAAGTAAACGGGCAAAGTGG  
AAGGATGGAGTTCTTCTGGACAATTTTAAACCTAATGATGCAATCAACTTCGAGAGTAATGG  
AAATTTTCATTGCTCCAGAATATGCATACAAAATTGTCAAGAAAGGGGACTCAGCAATTATGAAA  
AGTGAATTTGGAATATGGTAACTGCAACACCAAGTGTCAAACCTCAATGGGGGCGATAAATCT  
AGTATGCCATTCCACAACATACACCCTCTCACCATCGGGGAATGCCCAAATATGTGAAATCA  
AACAGATTAGTCCTTGCAACAGGGCTCAGAAATAGCCCTCAAAGAGAGAGCAGAAAGAAAAAA  
GAGAGGACTATTTGGAGCTATAGCAGGTTTTATAGAGGGAGGATGGCAGGGGAATGGTAGATG  
GTTGGTATGGGTACCACCATAGCAATGAGCAGGGGAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAATC  
CACTCAAAAGGCAATAGATGGAGTCACCAATAAGGTCAACTCAATCATTGACAAAATGAACAC  
TCAGTTTGAGGCCGTTTGAAGGGAATTTAATAACTTAGAAAGGAGAATAGAGAATTTAAACAA  
GAAGATGGAAGACGGGTTTCTAGATGTCTGGACTTATAATGCCGAACCTCTGGTTCTCATGGA  
AAATGAGAGAACTCTAGACTTTTCATGACTCAATGTTAAGAACCCTTACGACAAGGTCCGACT  
ACAGCTTAGGGATAATGCAAAGGAGCTGGGTAAACGGTTGTTTCGAGTTCTATCACAAATGTGA  
TAATGAATGTATGGAAAGTATAAGAAACGGAACGTACAACATCCGCAGTATTCAGAAGAAGC  
AAGATTAAAAAGAGAGGAAATAAGTGGGGTAAAAATTGGAATCAATAGGAACCTTACCAAATAGT  
GTCAATTTATTCAACAGTGGCGAGTTCCCTAGCACTGGCAATCATGATGGCTGGTCTATCTTT  
ATGGATGTGCTCCAATGGATCGTTACAATGCAGAAATTTGCATTTAAGAGCTCTAAGTTAAATG  
CTTCTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTATTGTTAATTTTGTCTTGTAGAAGAGCTTAA  
TTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACCTGGTGTAATGTAATTCATTTACA  
TAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATAACTAAGTACATGAAGACCTGCCGCGTA  
CAATTGTCTTATTTGAACAACTAAAAATGAACATCTTTTGCCACAACCTTTATAAGTGGTTAAT  
ATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCATT  
AACAATCAACTTAACGTTATTAACCTACTAATTTTATATCATCCCTTTGATAAATGATAGTACAC  
CAATTAGGAAGGAGCATGCTCGAGGCCTGGCTGGCCGAATTC

**Figura 70**

AAGCTTGCTAGCGGCCCTCAATGGCCCTGCAGGTCGACTCTAGAGGTACCCCGGGCTGGTATA  
TTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAAGTTTAAGTTAGCAAGTGTGTACATTTTACT  
TGAACAAAAATATTACCTACTACTGTTATAAATCATTATTAACATTAGAGTAAAGAAATATGGA  
TGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGTGCAACATTTGAGAAAAATTTGTT  
GTTCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAAGGAAGAGGGAGAAATAAAACAT  
AATGTGAGTATGAGAGAGAAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGA  
GGAAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTA  
GAGAGATGTACCATTAGAGAAATTTTGGCAAGTCATTAAAAAGAAAGAAATAAATTATTTTAAAA  
TTAAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAA  
AGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCCCTATATATTG  
CCCCATAGAGTCAGTTAACTCATTTTATATTTTCATAGATCAAATAAGAGAAAAAACGGTATATT  
AATCCCTCCAAAAAAGCGGTATTTACTAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACA  
GGATCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACAAACATCTGTATGAGATAACCCA  
CTTTAAGCCCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATTCTCCACACATCTG  
AGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCT  
ACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATATCATCTTGAG  
AGAAAATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTTGGTTCCCTCT  
CAGATCTTCGCTGACACAATATGTATAGGCTACCATGCTAACAACTCGACCGACACTGTTGACA  
CAGTACTTGAAAAAGAAATGTGACAGTGACACACTCTGTCAACCTGCTTGAGAACAGTCACAATG  
GAAAATATGTCTATTAAGGAATAGCCCCACTACAATTGGGTAATTGCAGCGTTGCCGGGT  
GGATCTTAGGAAACCCAGAATGCCAATTACTGATTTCCAAGGAGTCATGGTCTACATTGTAGA  
AAAACCAATCCTGAGAATGGAACATGTTACCCAGGGCATTTGCTGACTATGAGGAACCTGAG  
GGAGCATTTGAGTTGAGTATCTTCATTTGAGAGGTTTCGAAATATTCCCCAAAGAAAGCTCATGG  
CCCAACACACCGTAACCGGAGTGTCAGCATCATGCTCCATAATGGGGAAAGCAGTTTTTAC  
AGAAATTTGCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTTGTACCCAAACCTGAGCAAGTCTATGCA  
AACAACAAAGAAAAAGAGTCTTGTACTATGGGGTGTTCATCACCCGCCAAACATAGGTGAC  
CAAAAGGCCCTCTATCATACAGAAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATTATAGCAGAA  
AATTCACCCAGAAATAGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAAGAAGGAAGAAATCAATTACTA  
CTGGACTCTGCTTGAACCCGGGGATACAATAATTTTGAAGCAAAATGGAATCTAATAGCGCC  
AAGATATGCTTTCGCACTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCAACTCAAATGCACCAATG  
GATAAATGTGATGCCAAGTGCCAAACACCTCAGGGAGCTATAAACAGCAGTCTTCTTTCCAG  
AACGTACACCCAGTCACAATAGGAGAGTGTCCAAAGTATGTCAGGAGTGCAAAATTAAGGATG  
GTTACAGGACTAAGGAACATCCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTITGGAGCCATTGCCGGT  
TTCAATTGAAGGGGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGTTATCATCATCAGAATGAG  
CAAGGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAAGCACACAAAATGCCATTATGGGATTACAAACA  
AGGTCAATCTGTAATTGAGAAAATGAACACTCAATTCACAGCAGTGGGCAAAGAGTTCAACAA  
ATTGGAAAGAAGGATGGAAAACCTTGAATAAAAAAGTTGATGATGGGTTTATAGACATTTGGACA  
TATAATGCAGAACTGTTGGTTCTACTGGAAAATGAAAGGACTTTGGATTCCATGACTCCAATG  
TGAAGAATCTGTATGAGAAAGTAAAAAGCCAGTTAAAGAATAATGCTAAAGAAATAGGAAATGG  
GTGTTTTGAGTTCTATCACAAGTGTAACGATGAATGCATGGAGAGTGTAAAGAATGGAACCTAT  
GACTATCCAAAATATTCCGAAGAATCAAAGTTAAACAGGGAGAAAAATTGATGGAGTGAAATTGG  
AATCAATGGGAGTCTATCAGATTTCTGGCGATCTACTCAACAGTCGCCAGTTCTCTGGTTCTTTT  
GGTCTCCCTGGGGCAATCAGCTTCTGGATGTTCCCAATGGGTCTTTACAGTGTAGAATATG  
CATCTAAGAGCTCTAAGTTAAAAATGCTTCTGCTGCTCCTATTATAATATGTTTGTATTGTTAA  
TTTTGTTCTGTAGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAAC  
TGGTGTAAATGTAATTCATTTACATAAGTGGAGTCAGAAATCAGAAATGTTTCTCCATAACTAATA  
GACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTTGAACAACATAAATTGAACATCTTTTGC  
CACAACCTTTATAAGTGGTTAATATAGCTCAAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAAATGGAA  
ATATCAGTTATCGAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAACATAATTTATATCATCCC  
CTTTGATAAATGATAGTACACCAATTAGGAAGGAGCATGCTCGAGGCCTGGCTGGCCGAATTC



**Figura 71**

AAGCTTGCTAGCGGCCCTCAATGGCCCTGCAGGTGCACTCTAGAGGTACCCCGGGCTGGTATAT  
 TTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAGTTTAAAGTTAGCAAGTGTGTACATTTTACTT  
 GAACAAAAATATTACCTACTACTGTTATAAATCATTATTAACATTAGAGTAAAGAAATATGGAT  
 GATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGTGCAACATTTGAGAAAAATTTGTTGT  
 TCTCTCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAAGGAAGAGGGGAGAATAAAAAACATAAT  
 GTGAGTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGG  
 AATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTAATAAATAAGGATGACGCATTAGAG  
 AGATGTACCATTAGAGAATTTTGGCAAGTCATTAAAAAGAAAGAATAAATTATTTTAAAAATTA  
 AAGTTGAGTCATTTGATTAACATGTGATTATTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTG  
 TATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCTATATATTGCCCCAT  
 AGAGTCAGTTAACTCATTTTATATTTATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCT  
 CCAAAAAAATAACGGTATATTTACTAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCC  
 CGTAGGAGGATAACATCCAATCCAACCAATCACAACATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGC  
 CCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCACACATTTCTCCACACATCTGAGCCACAC  
 AAAAACCAATCCACATCTTTATCCCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGA  
 TTCCCTTCAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAAATGG  
CGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTC  
GCTCAAAAACTTCCCGGAAATGACAAACAGCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTA  
CCAAACGGAACGATAGTGAAAACAATCACGAATGACCAAAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGC  
TGGTTGAGAGTTCTCAACAGGTGAAATATGCGACAGTCCTCATCAGATCCTTGATGGAGAAAA  
CTGCACACTAATAGATGCTCTATTGGGAGACCCCTCAGTGTGATGGCTTCCAAAAAAGAAATGG  
GACCTTTTTGTTGAACGCAGCAAGCCTACAGCAACTGTTACCCTTATGATGTGCCGGATTATG  
CCTCCCTTAGGTCACTAGTTGCCCTCATCCGGCACACTGGAGTTTAACAATGAAAGTTTCAATTG  
GACTGGAGTCACTCAAAACGGAACAGCTCTGCTTGCATAAGGAGATCTAATAACAGTTTCTTT  
AGTAGATTGAATTGGTTGACCCACTTAAATTCAAATACCCAGCATTGAACGTGACTATGCCAAA  
CAATGAAAAATTTGACAAATTTGACATTTGGGGGGTTACCCACCCGGGTACGGACAATGACCAA  
ATCTTCTGTATGCTCAAGCATCAGGAAGAATCACAGTCTCTACCAAAAGAAGCCAACTG  
TAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGAGTAAGGAATATCCCCAGCAGAATAAGCATCTATTG  
GACAATAGTAAACCGGGAGACATACTTTTGATTAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGG  
GGTTACTTCAAAATACGAAGTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAA  
GCAATTCTGAATGCATCACTCCAAACGGAAGCATTCCAATGACAAACCATTCAAAAATGTAA  
CAGGATCACATACGGGGCCTGTCCCAGATATGTTAAGCAAAACACTCTGAAATTGGCAACAGG  
GATGCGAAATGTACCAGAGAAACAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATCGCGGGTTTCATAGA  
AAATGGTTGGGAGGGAAATGGTGGATGGTTGGTATGGTTTCAGGCATCAAAATTTCTGAGGGAAT  
AGGACAAGCAGCAGATCTCAAAAGCACTCAAGCAGCAATCGATCAATCAATGGGAAGCTGAA  
TAGGTTGATCGGGAAAACCAACGAGAAATTCATCAGATTGAAAAAGAGTTCTCAGAAGTCGAA  
GGGAGAATCCAGGACCTTGAGAAATATGTTGAGGACACCAAAATAGATCTCTGGTCATACAACG  
CGGAGCTTCTTGTTGCCCTGGAGAACCAACATACAATTGATCTAACTGACTCAGAAATGAACAA  
ACTGTTTGA AAAAACAAAGAAGCAACTGAGGGAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGGTTGTTTC  
AAAAATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATAGGATCAATCAGAAATGGAACCTATGACCACG  
ATGTATACAGAGATGAAGCATTAAACAACCGTTCCAGATCAAGGGCGTTGAGCTGAAGTCAG  
GATACAAAGATTGGATACTATGGATTTCCTTGGCATATCATGTTTTTGCCTTGTTGCTTTGT  
TGGGGTTTCATCATGTGGGCCTGCCAAAAAGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTTGAGAGC  
TCTAAGTTAAATGCTTCTCGTCTCCTATTTATAATATGGTTTGTTATTGTTAATTTTGTCTTGT  
AGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAACTGGTGTAATGT  
AATTCATTTACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATACTAACTAGACATGAAGAC  
CTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTTGAACAACTAAAAATGAACATCTTTGCCACAACCTTTATAA  
GTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCG  
AAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAATACTAATTTTATATCATCCCTTTGATAAATGAT  
AGTACCTTAATGGAAGGAGCATGCTCGAGGCCTGGCTGGCCGAATTC



**Figura 72**

AAGCTTGCTAGCGGCCTCAATGGCCCTGCAGGTCGACTCTAGAGGTACCCCGGGCTGGTATATT  
TATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAGTTTAAGTTAGCAAGTGTGTACATTTTACTTGA  
ACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTAACATTAGAGTAAAGAAATATGGATGAT  
AAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGTGCAACATTTGAGAAAAATTTGTTGTTCTC  
TCTTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAAGGAAGAGGGGAGAATAAAAAACATAATGTGA  
GTATGAGAGAGAAAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTG  
ACAAAAGCTACACAAATAAGGGTTAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTA  
CCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCATTAAAAAGAAAGAAATAAATTATTTTTAAATTAAGTTGAG  
TCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGTTGGATTAAAGTTGTATTAGTAA  
TTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTTGATCTTTTCCTATATATTGCCCATAGAGTCAGT  
TAACTCATTTTTATATTTCATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAAA  
AAAACGGTATATTTACTAAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGGAGGAT  
AACATCCAATCCAACCAATCACACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCCACGCATCTGT  
GGCACATCTACATTATCTAAATCACACATCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCAC  
ATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACA  
TACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGGCGAAAAACGTTGCGAT  
TTTCGGCTTATTGTTTCTCTTCTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCGCTGATCGAATCTGCACT  
GGAAATAACATCTTCAAACCTCACCTCATGTGGTCAAACAGCCACTCAAGGGGAGGTCAATGTGAC  
TGGTGTGATACCACTAACAACAACACCAACAAAATCTTATTTGCAAATCTCAAAGGAACAAGGAC  
CAGAGGGAAACTATGCCCAGACTGTCTCAACTGCACAGATCTGGATGTGGCTTTGGGCAGACCA  
ATGTGTGTGGGGACCACACCTTCGGCGAAGGCTTCAATACTCCACGAAGTCAAACCTGTTACATC  
CGGGTGCTTTCTATAATGCACGACAGAACAAAAATCAGGCAACTACCCAATCTTCTCAGAGGAT  
ATGAAATATCAGGCTATCAACCCAAAACGTCATCGATGCGGAAAAGGCACCAGGAGGACCTTA  
CAGACTTGGAACCTCAGGATCTTGCCCTAACGCTACCAGTAAGAGCGGATTTTCGCAACAATGG  
CTTGGGCTGTCCCAAAGGACAAACAACAAAATGCAACGAACCCACTAACAGTAAAGTACCATAC  
ATTTGTACAGAAGGGGAAGACCAATCACTGTTTGGGGGTTCCATTGAGATAACAAAACCCAAAT  
GAAGAACCTCTATGGAGACTCAAATCCTCAAAAGTTCACCTCATCTGCTAATGGAGTAACACAC  
ACTATGTTTCTCAGATTGGCAGCTTCCAGATCAAACAGAAGACGGAGGACTACCACAAAGCGG  
CAGGATTTGTTGTTGATTACATGATGCAAAAACCTGGGAAAACAGGAACAATTGTCTACCAAAG  
GTGTTTTGTGCTCAAAGGTGTGGTGCGCGGAGTGGCAGGAGCAAAGTAATAAAAGGGTCTT  
GCCTTTAATTGGTGAAGCAGATTGCCCTCATGAAAAATACGGTGGATTAACAAAAGCAAGCCTTA  
CTACACAGGAGAACATGCAAAAGCCATAGGAAATTGCCCAATATGGGTGAAAACACCTTTGAAGC  
TCGCCAATGGAACCAATATAGACCTCCTGCAAACTATTAAAGGAAAGGGGTTTCTTCGGAGCT  
ATTGCTGGTTTCTAGAGGAGGATGGGAAGGAATGATTGCAGGCTGGCACGGATACACATCTC  
ACGGAGCACATGGAGTGGCAGTGGCGGCGGACCTTAAGAGTACGCAAGAAGCTATAAACAAAGAT  
AACAAAAATCTCAATTCTTGAGTGAGCTAGAAGTAAAGAATCTTCAAAGACTAAGTGGTGCCAT  
GGATGAACCTCCACACGAAATACTCGAGCTGGATGAGAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGACACT  
ATAAGCTCGCAATAGAACTTGCAGTCTTGCTTTCCAACGAAGGAATAATAACAGTGAAGATGA  
GCATCTATTGGCACTTGAGAGAAAACTAAAGAAAATGCTGGGTCCCTCTGCTGTAGAGATAGGAA  
ATGGATGCTTCGAAACCAAACACAAGTGCAACCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCAC  
CTTTAATGCAGGAGAATTTCTCTCCCACTTTTGATTCACTGAACATTACTGCTGCATCTTTAAAT  
GATGATGGATTGGATAACCATACTATACTGCTCTATTACTCAACTGCTGCTTCTAGTTTGGCTGTA  
ACATTGATGCTAGCTATTTTATTGTTTATATGGTCTCCAGAGACAACGTTTCATGCTCCATCTGTC  
TATAAGAGCTCTAAGTTAAATGCTTCTTCGCTCCTATTATAATATGGTTTGTTATTGTTAATTTT  
GTTCTTGTAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTATTTGTATGAGATGAAGTGGT  
TAATGTAATTCATTACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCTCCATACTAACTAGACATGA  
AGACCTGCCGCTACAATTGTCTTATATTTGAACAACTAAAATTGAACATCTTTTGCCACAACTTTA  
TAAGTGGTTAATATAGCTCAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTATAATGGAAATATCAGTTATC  
GAAATTCATTAACAATCAACTTAACGTTATTAACACTAATTTTATATCATCCCTTTGATAAATGAT  
AGTACACCAATTAGGAAGGAGCATGCTCGAGGCCTGGCTGGCCGAATTC

**Figura 73**

TTAATTAAGAATTTCGAGCTCCACCGCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCT  
GTCACCTTTATTGAGAAGATAGTGGAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCG  
ATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCC  
CCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAGAAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGT  
GGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCTTCGCA  
AGACCCTTCCTCTATATAAGGAAGTTCATTTCAATTTGGAGAGGTATTAATAATCTTAATAGGT  
TTTGATAAAAGCGAACGTGGGGAACCCGAACCAACCTTCTTCTAAACTCTCTCTCATCT  
CTCTTAAAGCAAACCTTCTCTCTTGTCTTTCTTGCCTGAGCGATCTTCAACGTTGTCAGATC  
GTGCTTCGGCACCAGTACAACGTTTTCTTTCACTGAAGCGAAATCAAAGATCTCTTTGTGG  
ACACGTAGTGCGGCGCCATTAAATAACGTGTACTTGTCTATTCTTGTCTGGTGTGGTCTT  
GGGAAAGAAAGCTTGCTGGAGGCTGCTGTTCAAGCCCATACATTACTTGTACGATTCT  
GCTGACTTTGGCGGGTGCAATATCTCTACTTCTGCTTGACGAGGTATTGTTGCCTGTAC  
TTCTTTCTTCTTCTTCTTGTGATTGGTCTATAAGAAATCTAGTATTTCTTTGAAACAGA  
GTTTTCCCGTGGTTTTCGAACTTGGAGAAAGATTGTTAAGCTTCTGTATATTCTGCCAAA  
TTTGTCTGGGCCCATTGGCGAAAAACGTTGCGATTTTTCGGCTTATTGTTTTCTTCTTGTGT  
TGGTTCTTCTCAGATCTTCTGCTGACACAATATGTATAGGCTACCATGCCAACAACTCAAC  
CGACACTGTTGACACAGTACTTGAGAAGAATGTGACAGTGACACACTCTGTCAACCTACT  
TGAGGACAGTCACAATGGAACACTATGTCTACTAAAAGGAATAGCCCCACTACAATTGGG  
TAATTGCAGCGTTGCCGGATGGATCTTAGGAAACCCAGAATGCGAATTACTGATTTCCAA  
GGAAATCATGGTCTTACATTGTAGAAACACCAAATCCTGAGAATGGAACATGTTACCCAGG  
GTATTTCCGCGACTATGAGGAACCTGAGGGAGCAATTGAGTTCACTATCTTCAATTTGAGAG  
ATTGCAATATTTCCCAAAGAAAGCTCATGGCCCAACCACACCGTAACCGGAGTATCAGC  
ATCATGCTCCCATATGGGAAAGCAGTTTTTACAGAAATTTGCTATGGCTGACGGGGAA  
GAATGGTTTTGTACCCAAACCTGAGCAAGTCTCTATGTAACAACAAGAGAAAGAAAGTCCTT  
GTACTATGGGGTGTTCATCACCCGCCTAACATAGGGAACCAAAGGGCACTCTATCATACA  
GAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTACATTATAGCAGAAGATTCAACCCAGAAATAG  
CCAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAGGAAGGAAGAAATCAACTACTACTGGACTCTGCTGG  
AACCTGGGGATACAATAATTTGAGGCAAATGGAATCTAATAGCGCCATGGTATGCTTT  
TGCACTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCACCTCAAATGCACCAATGGATGAATG  
TGATGCGAAGTGTCAAACACCTCAGGGAGCTATAAACAGCAGTCTTCTTTCCAGAATGT  
ACACCCAGTCACAATAGGAGAGTGTCCAAAGTATGTCAGGAGTGCAAAATTAAGGATGGT  
TACAGGACTAAGGAACATCCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGTTGGAGCCATTGCCGG  
TTTCATTGAAGGGGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGGTGGTATGGTTATCATCATCAGAA  
TGAGCAAGGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAAGTACACAAAATGCCATTAACGGGAT  
TACAAACAAGGTCAATTCTGTAAATTGAGAAAAATGAACACTCAATTCACAGCTGTGGGCAA  
GAGTTCAACAAATTTGAAAGAAGGATGGAACCTTAAATAAAAAAGTTGATGATGGGTTTC  
TAGACATTTGGACATATAATGCAGAATTGTTGGTTCTACTGGAATGAAAGGACTTTGGA  
TTTCCATGACTCCAATGTGAAGAATCTGTATGAGAAAGTAAAAAGCCAATTAAAGAATAAT  
GCCAAAGAAATAGGAAACGGGTGTTTTGAGTTCTATCACAAGTGTAAACAATGAATGCATG  
GAGAGTGTGAAAAATGGTACCTATGACTATCCAAAATATTCCGAAGAATCAAAGTTAAACA  
GGGAGAAAAATTGATGGAGTGAAATTGGAATCAATGGGAGTATACCAGATTCTGGCGATCT  
ACTCAACTGTGCGCCAGTTCCCTGGTCTTTTGGTCTCCCTGGGGGCAATCAGCTTCTGGA  
TGTGTTCCAATGGGTCTTTGCAGTGTAGAATATGCATCTAAAGGCCTATTTTCTTTAGTTT  
GAATTTACTGTTATTCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAGAGT  
GTGTTTATTTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTCGTCCTTCAGC  
AAGGACACAAAAAGATTTTAATTTTATTAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAGACCGGGAATTCGATA  
TCAAGCTTATCGACCTGCAGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAAT  
CCTGTTGCCGGTCTTGCGATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAAT  
AATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTTATGATTAGAGTCCCGCAAT  
TATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAATATAGCGCGCAAACTAGGATAAATTATCGCG  
CGCGGTGTCTATGTTACTAGATTCTAGAGTCTCAAGCTTCGGCGCGCC



**Figura 74**

TTAATTAAGAATTTCGAGCTCCACCGCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCT  
GTCACTTTATTGAGAAGATAGTGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCG  
ATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCC  
CCACCCACGAGGAGCATCGTGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGCTTCAAAGCAAGT  
GGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCTTCGCA  
AGACCCCTTCTCTATATAAGGAAGTTCATTTCAATTTGGAGAGGTATTAAATCTTAATAGGT  
TTTGATAAAAGCGAACGTGGGGAACCCGAACCAAACCTTCTTCTAACTCTCTCATCT  
CTCTTAAAGCAAACCTTCTCTCTTGTCTTCTTGCCTGAGCGATCTTCAACGTTGTCAGATC  
GTGCTTCGGCACCAGTACAACGTTTTCTTCACTGAAGCGAAATCAAAGATCTCTTTGTGG  
ACACGTAGTGCGGCGCCATTAAATAACGTGTACTTGTCTATTCTTGTGCGGTGTGGTCTT  
GGGAAAAGAAAGCTTGCTGGAGGCTGCTGTTCAAGCCCATACATTACTTGTACGATTCT  
GCTGACTTTCGGCGGGTGCAATATCTCTACTTCTGCTTGACGAGGTATTGTTGCCTGTAC  
TTCTTCTTCTTCTTCTTGTGATTGTTCTATAAGAAATCTAGTATTTCTTTGAAACAGA  
GTTTTCCCGTGGTTTTCGAACTTGGAGAAAGATTGTTAAGCTTCTGTATATTCTGCCCAA  
TTTGTGCGGGCCCATGGAGAAAATAGTGCTTCTTCTTGAATAGTCAGTCTTGTAAAAAGTG  
ATCAGATTGCAATTGGTTACCATGCAACAATTCAACAGAGCAGGTTGACACAATCATGGA  
AAAGAACGTTACTGTTACACATGCCCAAGACATACTGGAAAAGACACACAACGGGAAGCT  
CTGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTAATTTAAGAGATTGTAGTGTAGCTGGATGGCT  
CCTCGGGAACCCAATGTGTGACGAATTCATCAATGTACCGGAATGGTCTTACATAGTGGA  
GAAGGCCAATCCAACCAATGACCTCTGTTACCCAGGGAGTTTCAACGACTATGAAGAACT  
GAAACACCTATTGAGCAGAATAAACCAATTTGAGAAAATTCAAATCATCCCCAAAAGTTCT  
TGGTCCGATCATGAAGCCTCATCAGGAGTTAGCTCAGCATGTCCATACCTGGGAAGTCCC  
TCCTTTTTTAGAAATGTGGTATGGCTTATCAAAAAGAACAGTACATACCCAACAATAAAGA  
AAAGCTACAATAATACCAACCAAGAGGATCTTTGGTACTGTGGGAATTCAACATCCTAA  
TGATGCGGCAGAGCAGACAAGGCTATATCAAAACCCAACCACCTATATTCCATTGGGAC  
ATCAACACTAAACCAGAGATTGGTACCAAAAATAGCTACTAGATCCAAAGTAAACGGGCAA  
AGTGGAAAGGATGGAGTTCTTCTGGACAATTTAAACCTAATGATGCAATCAACTTCGAGA  
GTAATGGAAATTTCAATTGCTCCAGAATATGCATACAAAATTGTCAAGAAAGGGGACTCAGC  
AATTATGAAAAGTGAATTGGAATATGGTAACTGCAACACCAAGTGTCAAACCTCAATGGGG  
GCGATAAACTCTAGTATGCCATTCCACAACATACACCTCTCACCATCGGGGAATGCCCC  
AAATATGTGAATCAAAACAGATTAGTCCTTGCAACAGGGCTCAGAAATAGCCCTGAAGA  
GAGAGCAGAAGAAAAAGAGAGGACTATTTGGAGCTATAGCAGGTTTTATAGAGGGAGGA  
TGGCAGGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGGTACCACCATAGCAATGAGCAGGGGAGTGG  
GTACGCTGCAGACAAAGAATCCACTCAAAGGCAATAGATGGAGTCACCAATAAGGTCAA  
CTCAATCATTGACAAAATGAACACTCAGTTTGAGGCCGTTGGAAGGGAATTTAATAACTTA  
GAAAGGAGAATAGAGAATTTAAACAAGAAGATGGAAGACGGGTTTCTAGATGTCTGGAC  
TATAATGCCGAACCTTCTGGTTCTCATGGAAAATGAGAGAATCTAGACTTTCATGACTCAA  
ATGTTAAGAACCTCTACGACAAGGTCCGACTACAGCTTAGGGATAATGCAAAGGAGCTGG  
GTAACGGTTGTTTCGAGTTCTATCACAATGTGATAATGAATGTATGGAAAGTATAAGAAA  
CGGAACGTACAATATCCGAGTATTCAGAAGAAGCAAGATTAAAAAGAGAGGAAATAAG  
TGGGGTAAAATTGGAATCAATAGGAACCTACCAAATACTGTCAATTTATTCAACAGTGGCG  
AGTCCCTAGCACTGGCAATCATGATGGCTGGTCTATCTTTATGGATGTGCTCCAATGGA  
TCGTTACAATGCAGAAATTTGCATTTAAAGGCCATATTTCTTTAGTTTGAATTTACTGTTATT  
CGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTTTATTTATGT  
AATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTCTCCCTCAGCAAGGACACAAAAAG  
ATTTAATTTTATTAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAGACCGGAATTCGATATCAAGCTTATCGAC  
CTGCAGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCT  
TGCGATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAAT  
GCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATAC  
GCGATAGAAAACAAAATATAGCGCGCAAACTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCTATCT  
ATGTTACTAGATTCTAGAGTCTCAAGCTTCGGCGCGCC

**Figura 75**

TTAATTAAGAATTGAGCTCCACCGCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCT  
GTCACTTTATTGAGAAGATAGTGAAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCG  
ATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCC  
CCACCCACGAGGAGCATCGTGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGT  
GGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCTTCGCA  
AGACCCCTCCTCTATATAAGGAAGTTCATTTCAATTTGGAGAGGTATTAAATCTTAATAGG  
TTTTGATAAAAGCGAACGTGGGGAACCCGAACCAAACCTTCTTCTAAACTCTCTCAT  
CTCTCTTAAAGCAAACCTTCTCTTGTCTTTCTTGCCTGAGCGATCTTCAACGTTGTCAGA  
TCGTGCTTCGGCACCAGTACAACGTTTTCTTCACTGAAGCGAAATCAAAGATCTCTTGT  
GGACACGTAGTGCGGCGCCATTAAATAACGTGTACTTGTCTATTCTTGTGGTGTGGTC  
TTGGGAAAAGAAAGCTTGCTGGAGGCTGCTGTTGAGCCCATACATTACTTGTACGATT  
CTGCTGACTTTCGGCGGGTGCAATATCTCTACTTCTGCTTGACGAGGTATTGTTGCTGT  
ACTTCTTCTTCTTCTTCTTCTGCTGATTGGTTCTATAAGAAATCTAGTATTTCTTGAACA  
GAGTTTTCCCGTGGTTTTCGAACTTGGAGAAAGATTGTTAAGCTTCTGTATATTCTGCCA  
AATTTGTCGGGCCCATGGCGAAAAACGTTGCGATTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTGT  
GTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCGCTGATCAGATTGCAATTGGTTACCATGCAAACAATTCA  
ACAGAGCAGGTTGACACAATCATGGAAAAGAACGTTACTGTTACACATGCCCAAGACATA  
CTGGAAAAGACACACAACGGGAAGCTCTGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTAATTTTA  
AGAGATTGTAGTGTAGCTGGATGGCTCCTCGGGAACCCAATGTGTGACGAATTCATCAAT  
GTACCGGAATGGTCTTACATAGTGGAGAAGGCCAATCCAACCAATGACCTCTGTTACCCA  
GGGAGTTTCAACGACTATGAAGAACTGAAACACCTATTGAGCAGAATAAACCATTTTGA  
AAATTCAAATCATCCCCAAAAGTTCTTGGTCCGATCATGAAGCCTCATCAGGAGTTAGC  
TCAGCATGTCCATACCTGGGAAGTCCCTCCTTTTTAGAAATGTGGTATGGCTTATCAAAA  
AGAACAGTACATACCAACAATAAAGAAAAGCTACAATAATACCAACCAAGAGGATCTTT  
GGTACTGTGGGAATTCACCATCCTAATGATGCGGCAGAGCAGACAAGGCTATATCAA  
ACCAACCACTATATTTCCATTGGGACATCAACACTAAACCAGAGATTGGTACCAAAAAAT  
AGCTACTAGATCCAAAGTAAACGGGCAAAGTGGGAAGGATGGAGTTCTTCTGGACAATTT  
AAACCTAATGATGCAATCAACTTCGAGAGTATGGAAATTTCAATGCTCCAGAATATGCA  
TACAAATTTGTCAAGAAAGGGGACTCAGCAATTATGAAAAGTGAATTGGAATATGGTAAC  
GCAACACCAAGTGTCAAATCCAATGGGGGCGATAAACTCTAGTATGCCATTCCACAACA  
TACACCCTCTCACCATCGGGGAATGCCCAATATGTGAAATCAAACAGATTAGTCCCTTG  
CAACAGGGCTCAGAAATAGCCCTCAAAGAGAGAGCAGAAAGAAAAAGAGAGGACTATTT  
GGAGCTATAGCAGGTTTTATAGAGGGAGGATGGCAGGGAATGGTAGATGGTTGGTATGG  
GTACCACCATAGCAATGAGCAGGGGAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAATCCCACTCAA  
AGGCAATAGATGGAGTCACCAATAAGGTCAACTCAATCATTGACAAAATGAACACTCAGT  
TTGAGGCCGTTTGAAGGGAATTTAATAACTTAGAAAGGAGAATAGAGAATTTAAACAAGA  
AGATGGAAGACGGGTTTCTAGATGTCTGGACTTATAATGCCGAACCTCTGGTTCTCATGG  
AAATGAGAGAACTCTAGACTTTCTAGACTCAAATGTTAAGAACCTCTACGACAAGGTCC  
GACTACAGCTTAGGGATAATGCAAAGGAGCTGGGTAACGTTGTTTCGAGTTCTATCACA  
AATGTGATAATGAATGTATGGAAAGTATAAGAAACGGAACGTACAACATCCGCAGTATTC  
AGAAGAAGCAAGATTAAAAAGAGAGGAAATAAGTGGGGTAAAATTGGAATCAATAGGAAC  
TTACCAAAATACTGTCAATTTATTCAACAGTGGCGAGTTCCTAGCACTGGCAATCATGATG  
GCTGGTCTATCTTTATGGATGTGCTCCAATGGATCGTTACAATGCAGAATTTGCATTTAA  
GGCCTATTTCTTTAGTTTGAATTTACTGTTATTCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGC  
GGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTTTATTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTT  
AGCAGGTCTGCCCTCAGCAAGGACACAAAAAGATTTTAATTTTATTAAAAAAAAAAAAA  
AAAAGACCGGAATTCGATATCAAGCTTATCGACCTGCAGATCGTTCAAACATTTGGCAA  
TAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCGATGATTATCATATAATTTCTGT  
GAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGT  
TTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAAACAAATATAGCGCG  
CAAAC TAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTAGATTCTAGAGTCTCAA  
GCTTCGGCGCGCC



Figura 76

TTAATTAAGAATTGAGCTCCACCGCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTAT  
CTGTCACTTTATTGAGAAGATAGTGAAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCAT  
TGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGAT  
GGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCA  
AAGCAAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACT  
ATCCTTCGCAAGACCCTTCCTCTATATAAGGAAGTTTCATTTCAATTTGGAGAGGTATTA  
AATCTTAATAGGTTTTGATAAAGCGAACGTGGGAAACCCGAACCAAACCTTCTTCTA  
AACCTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAACCTCTCTCTTGTCTTTCTTGCCTGAGCGATC  
TTCAACGTTGTCAGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAACGTTTTCTTCACTGAAGCGA  
AATCAAAGATCTCTTTGTGGACACGTAGTGCGGCGCCATTAAATAACGTGTACTTGTG  
CTATTCTTGTGGTGTGGTCTTGGGAAAAAGAAAGCTTGCTGGAGGCTGCTGTTCAAGC  
CCATACATTACTTGTTACGATTCTGCTGACTTTCGGCGGGTGCAATATCTCTACTTCTG  
CTTGACGAGGTATTGTTGCCTGTACTTCTTCTTCTTCTTCTGCTGATTGGTTCTATAA  
GAAATCTAGTATTTCTTTGAAACAGAGTTTTCCCGTGGTTTTCGAACTTGAGAGAAAGA  
TTGTTAAGCTTCTGTATATTCTGCCCAAATTTGTCGGGCCCATGAAAGTAAACTACTG  
GTCCTGTTATGCACATTACAGCTACATATGCAGACACAATATGTATAGGCTACCATGC  
TAACAACTCGACCGACACTGTTGACACAGTACTTGAAAAAGAAATGTGACAGTGACACAC  
TCTGTCAACCTGCTTGAGAACAGTCACAAATGGAAAACTATGTCTATTAAGGAATAGC  
CCCACTACAATTGGGTAATTGCAGCGTTGCCGGGTGGATCTTAGGAAACCCAGAATG  
CGAATTACTGATTTCCAAGGAGTCATGGTCCCTACATTGTAGAAAAACCAAATCCTGAGA  
ATGGAACATGTTACCCAGGGCATTTCCGTGACTATGAGGAACTGAGGGAGCAATTGA  
GTTCAGTATCTTCATTTGAGAGGTTGAAATATTTCCCAAAGAAAGCTCATGGCCCAA  
CCACACCGTAACCGGAGTGTCAGCATCATGCTCCCATAAATGGGGAAGCAGTTTTTAC  
AGAAATTTGCTATGGCTGACGGGGAAGAATGGTTGTACCCAAACCTGAGCAAGTCCT  
ATGCAAAACAACAAAGAAAAAGAAAGTCCTTGACTATGGGGTGTTCATCACCCGCCAAA  
CATAGGTGACCAAAAGGCCCTCTATCATACAGAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTT  
CACATTATAGCAGAAATTCACCCAGAAATAGCCAAAAGACCCAAAGTAAGAGATCA  
AGAAGGAAGAATCAATTACTACTGACTCTGCTTGAACCCGGGGATACAATAATATTT  
GAGGCAAATGGAATCTAATAGCGCCAAGATATGCTTTCGCACTGAGTAGAGGCTTTG  
GATCAGGAATCATCAACTCAATGCACCAATGGATAAATGTGATGCGAAGTGCCAAAC  
ACCTCAGGAGCTATAAACAGCAGTCTTCCTTTCCAGAACGTACACCCAGTCACATA  
GGAGAGTGTCAAAGTATGTCAGGAGTGCAAAATTAAGGATGGTTACAGGACTAAGGA  
ACATCCCATCCATTCAATCCAGAGGTTTGTGGAGCCATTGCCGGTTTCATTGAAGG  
GGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGTTATCATCATCAGAATGAGCAAGG  
ATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAAGCACACAAAATGCCATTAATGGGATTACAAACA  
AGGTCAATTCTGTAATTGAGAAAATGAACACTCAATTACAGCAGTGGGCAAGAGTT  
CAACAAATTGGAAAGAAGGATGGAAAACTTGAATAAAAAAGTTGATGATGGGTTTATAG  
ACATTTGGACATATAATGCAGAACTGTTGGTTCTACTGGAAAATGAAAGGACTTTGGAT  
TTCCATGACTCCAATGTGAAGAATCTGTATGAGAAAGTAAAAAGCCAGTTAAAGAATAA  
TGCTAAAGAAATAGGAAATGGGTGTTTTGAGTTCTATCACAAGTGTAACGATGAATGCA  
TGGAGAGTGTAAGAATGGAACTTATGACTATCCAAAATATCCGAAGAATCAAAGTTA  
AACAGGGAGAAAAATTGATGGAGTGAATTTGGAATCAATGGGAGTCTATCAGATTCTGG  
CGATCTACTCAACAGTCGCCAGTTCTCTGGTTCTTTGGTCTCCCTGGGGGCAATCAG  
CTTCTGGATGTGTTCCAATGGGTCTTTACAGTGTAGAATATGCATCTAAAGGCCTATTT  
TCTTAGTTTGAATTTACTGTTATTCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCT  
GTGCTCAGAGTGTGTTATTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGG  
TCGTCCCTTCAGCAAGGACACAAAAAGATTTTAATTTTATTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAG  
ACCGGGAATTCGATATCAAGCTTATCGACCTGCAGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAA  
GTTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCGATGATTATCATATAATTTCTGTTGA  
ATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTT  
TTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAAATATAGCGC  
GCAAACTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTAGATTCTAGAGTCT  
CAAGCTTCGGCGCGCC

Figura 77

TTAATTAAGAATTCGAGCTCCACCGCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCT  
GTCACCTTTATTGAGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGC  
GATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGAC  
CCCCACCCACGAGGAGCATCGTGAAAAAGAACGTTCCAACCACGTTCTCAAAGCAA  
GTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCTTC  
GCAAGACCCCTTCCTCTATATAAGGAAGTTTCATTTTATTTGGAGAGGTATTAATCTTAAT  
AGGTTTTGATAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGAACCAAACCTTCTTCTAACTCTCTCT  
CATCTCTCTTAAAGCAAACCTTCTCTCTTGTCTTTCTTGCGTGAGCGATCTTCAACGTTGTC  
AGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAACGTTTTCTTCACTGAAGCGAAATCAAAGATCTCT  
TTGTGGACACGTAGTGGCGGCCATTAAATAACGTGTACTTGTCTTCTTGTCTGGTGT  
GGTCTTGGGAAAAGAAAGCTTGCTGGAGGCTGCTGTTGAGCCCCATACATTACTTGTGA  
CGATTCTGCTGACTTTCGGCGGGTGCAATATCTCTACTTCTGCTTGACGAGGTATTGTTG  
CCTGTACTTCTTCTTCTTCTTCTTGTGCTGATTGTTCTATAAGAAATCTAGTATTTCTTTG  
AAACAGAGTTTTCCCGTGGTTTTGCAACTTGGAGAAAGATTGTTAAGCTTCTGTATATTCT  
GCCCAAATTTGTCGGGCCCCATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCT  
TCTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCGCTGACACAATATGTATAGGCTACCATGCTAA  
CAACTCGACCGACACTGTTGACACAGTACTTGAAAAAGAAATGTGACAGTGACACACTCTG  
TCAACCTGCTTGAGAACAGTCACAATGGAAACTATGTCTATTAAGGAATAGCCCCAC  
TACAATTGGGTAATTGCAGCGTTGCCGGGTGGATCTTAGGAAACCCAGAATGCGAATTA  
CTGATTTCCAAGGAGTCATGGTCCCTACATTGTAGAAAAACCAAATCCTGAGAATGGAACA  
TGTTACCCAGGGCATTTCGCTGACTATGAGGAACTGAGGGAGCAATTGAGTTCAGTATC  
TTTCTTTGAGAGGTTGAAATATTCCCAAAGAAAGCTCATGGCCCAACACACCGTAAC  
CGGAGTGTGAGCATCATGCTCCCATATGGGGAAAGCAGTTTTTACAGAAATTTGCTATG  
GCTGACGGGGAAGAATGGTTGTACCCAAACCTGAGCAAGTCTATGCAACAACAAAG  
AAAAAGAAAGTCTTGTACTATGGGGTGTTCATCACCCGCCAAACATAGGTGACCAAAAG  
GCCCTCTATCATACAGAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGTCTTCACATTATAGCAGAAAT  
TCACCCAGAAATAGCCAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAAGAAGGAAGAATCAATTACT  
ACTGGACTTGCCTTGAACCCGGGGATACAATAATTTTGTAGGCAAAATGGAATCTAATAG  
CGCCAAGATATGCTTTCGCACTGAGTAGAGGCTTTGGATCAGGAATCATCAACTCAAAT  
GCACCAATGGATAAATGTGATGCCAAGTGCCAAACACCTCAGGGAGCTATAACAGCAG  
TCTTCTTTCCAGAACGTACACCCAGTCACAATAGGAGAGTGTCCAAAGTATGTCAGGA  
GTGCAAAATTAAGGATGGTTACAGGACTAAGGAACATCCCATCCATTCAATCCAGAGGTT  
TGTTTGGAGCCATTGCCGGTTTCATTGAAGGGGGGTGGACTGGAATGGTAGATGGTTG  
GTATGGTTATCATCATCAGAATGAGCAAGGATCTGGCTATGCTGCAGATCAAAAAAGCAC  
ACAAAATGCCATTAATGGGATTACAAACAAGGTCAATTCTGTAATTGAGAAAATGAACAC  
TCAATTACAGCAGTGGGCAAAGAGTTCAACAAATTGGAAAGAAGGATGGAAAACCTTGA  
ATAAAAAAGTTGATGATGGGTTTATAGACATTTGGACATATAATGCAGAACTGTTGGTCT  
ACTGGAATGAAAGGACTTTGGATTCCATGACTCCAATGTGAAGAATCTGTATGAGAA  
AGTAAAAAGCCAGTTAAAGAATAATGCTAAAGAAATAGGAAATGGGTGTTTTGAGTTCTA  
TCACAAGTGTAACGATGAATGCATGGAGAGTGTAAAGAATGGAACCTTATGACTATCCAAA  
ATATTCCGAAGAATCAAAGTTAAACAGGGAGAAAATTGATGGAGTGAAATTGGAATCAAT  
GGGAGTCTATCAGATTCTGGCGATCTACTCAACAGTCGCCAGTTCTCTGGTTCTTTTGGT  
CTCCCTGGGGGCAATCAGCTTCTGGATGTGTTCCAATGGGTCTTACAGTGTAGAATAT  
GCATCTAAAGGCCTATTTTCTTTAGTTTGAATTTACTGTTATTCGGTGTGCATTTCTATGT  
TTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTTTTATTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGA  
GCTCCTGTTTAGCAGGTCGTCCCTTCAGCAAGGACACAAAAAGATTTAATTTTATTA  
AAAAAAAAAAAAAGACCGGAATTCGATATCAAGCTTATCGACCTGCAGATCGTTCAA  
ACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCGATGATTATCAT  
ATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTA  
TGAGATGGGTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAA  
AATATAGCGCGCAAACTAGGATAAATATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTAGATTCT  
TAGAGTCTCAAGCTTCGGCGCGCC



Figura 78

TTAATTAAGAATTGAGCTCCACCGCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTAT  
 CTGTCACTTTATTGAGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATT  
 GCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATG  
 GACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAA  
 AGCAAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTA  
 TCCTTCGCAAGACCTTCCTCTATATAAGGAAGTTCATTTTCATTTGGAGAGGTATTAAA  
 ATCTTAATAGGTTTTGATAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGAACCAAACCTTCTCTAA  
 ACTCTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAACCTCTCTCTTGTCTTTCTTGCCTGAGCGATCTT  
 CAACGTGTGATGATCGTCTTCCGACCAAGTACAACGTTTTCTTCACTGAAGCGAAAT  
 CAAAGATCTCTTTGTGGACACGTAGTCCGGCGCCATTAAATAACGTGTACTTGTCTAT  
 TCTTGTGGTGTGGTCTTGGGAAAAGAAAGCTTGTGGAGGCTGCTGTTCAGCCCCAT  
 ACATTACTTGTACGATTCTGCTGACTTTCCGGCGGTGCAATATCTCTACTTCTGCTTG  
 ACGAGGTATTGTTGCCTGTACTTCTTCTTCTTCTTCTTGTGCTGATTGGTTCTATAAGAA  
 TCTAGATTCTTCTTGAACAGAGTTTTCCCGTGGTTTTCGAACTTGGAGAAAGATTGTT  
 AAGCTTCTGTATATTCTGCCCAAATTTGTCCGGCCCATGAAGACTATCATTGCTTTGAG  
 CTACATTCTATGTCTGGTTTTCACTCAAAAACCTCCCGGAAATGACAACAGCACGGCAA  
 CGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAACGGAACGATAGTGAACAAATCACGAA  
 TGACCAAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTTCAGAGTTCCTCAACAGGTGAAA  
 TATGCGACAGTCCCTCATCAGATCCTTGATGGAGAAAACCTGCACACTAATAGATGCTCTA  
 TTGGGAGACCTCAGTGTGATGGCTTCCAAAATAAGAAATGGGACCTTTTGTGTAAC  
 GCAGCAAAGCCTACAGCAACTGTTACCTTATGATGTGCCGGATTATGCCTCCCTTAG  
 GTCACTAGTTGCCTCATCCGGCACACTGGAGTTTAAACAATGAAAGTTTCAATTGGACTG  
 GAGTCACTCAAAACGGAACAAGCTCTGCTTGATAAGGAGATCTAATAACAGTTTCTTT  
 AGTAGATTGAATTGGTTGACCCACTTAAATCAAATACCCAGCATTGAACGTGACTAT  
 GCCAAACAATGAAAAATTTGACAAATTGTACATTGGGGGGTTTACCACCCGGGTACG  
 GACAATGACCAAATCTTCTGTATGCTCAAGCATCAGGAAGAATCACAGTCTCTACCAA  
 AAGAAGCCAACAACTGTAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAGAGTAAGGAATATC  
 CCCAGCAGAATAAGCATCTATTGGACAATAGTAAACCGGGAGACATACTTTTGATTAA  
 CAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGGGGTACTTCAAAATACGAAGTGGGAAAAGC  
 TCAATATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAATTCTGAATGCATCACTCCAAA  
 CGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTCAAAATGTAAACAGGATCACATACGGGGCC  
 TGTCCAGATATGTTAAGCAAAACACTCTGAAATTGGCAACAGGGATGCGAAATGTAC  
 CAGAGAAACAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATCGCGGGTTTCATAGAAAATGGTTG  
 GGAGGGAATGGTGGATGGTTGGTATGGTTTCAGGCATCAAAATCTGAGGGAATAGGA  
 CAAGCAGCAGATCTCAAAAGCACTCAAGCAGCAATCGATCAAATCAATGGGAAGCTGA  
 ATAGGTTGATCGGGAAAACCAACGAGAAATCCATCAGATTGAAAAAGAGTTCTCAGAA  
 GTCGAAGGGAGAAATCCAGGACCTTGAGAAATATGTTGAGGACACCAAAATAGATCTCT  
 GGTCAACAACCGGAGCTTCTTGTGCCCTGGAGAACCAACATACAATTGATCTAAC  
 TGACTCAGAAATGAACAACTGTTTGAACCAACAAAGCAACTGAGGGGAAATGCTG  
 AGGATATGGGCAATGGTTGTTTCAAAATATACCACAAATGTGACAATGCCTGCATAGGA  
 TCAATCAGAAATGGAACCTTATGACCACGATGTATACAGAGATGAAGCATTAAACAACCG  
 GTTCCAGATCAAGGGCGTTGAGCTGAAGTCAGGATACAAAGATTGGATACATGGATT  
 TCCTTTGCCATATCATGTTTTTGTCTTGTGTGCTTGTGGGGTTCATCATGTGGGC  
 CTGCCAAAAGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTTGAAGGCCTATTTCTTTAGTT  
 TGAATTTACTGTTATTTCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAG  
 AGTGTGTTTTATTTATGTAATTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTCGTCCCT  
 TCAGCAAGGACACAAAAAGATTTAATTTTATTAACCAACCAAGACCGGGAA  
 TTCGATATCAAGCTTATCGACCTGCAGATCGTTCAACATTTGGCAATAAGTTTCTTAA  
 GATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGGCATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTA  
 AGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTATGATT  
 GAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAATATAGCGCGCAAACTAG  
 GATAAATATCGCGCGCGGTGTCTATGTTACTAGATTCTAGAGTCTCAAGCTTCGG  
 CGCGCC

**Figura 79**

TTAATTAAGAAATTCGAGCTCCACCGCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATC  
 TGTCACTTTATTGAGAAGATAGTGAAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTG  
 CGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGA  
 CCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGC  
 AAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCT  
 TCGCAAGACCCTTCTCTATATAAGGAAGTTCATTTCAATTTGGAGAGGTATTAAAATCTT  
 AATAGGTTTTGATAAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGAACCAAACCTTCTTCTAAACTCT  
 CTCTCATCTCTCTTAAAGCAAACCTCTCTCTTGTCTTTCTTGCCTGAGCGATCTTCAACG  
 TTGTGAGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAACGTTTTCTTCACTGAAGCGAAATCAAAG  
 ATCTCTTTGTGGACACGTAGTGCGGCGCCATTAAATAACGTGTACTTGTCTATTCTTG  
 TCGGTGTGGTCTTGGGAAAAGAAAGCTTGCTGGAGGCTGCTGTTCAAGCCCATACATT  
 ACTTGTTACGATTCTGCTGACTTTCGGCGGGTGCAATATCTCTACTTCTGCTTGACGAG  
 GTATTGTTGCCGTGACTTCTTCTTCTTCTTCTTCTGCTGATTGGTCTATAAGAAATCTAGT  
 ATTTTCTTTGAAACAGAGTTTTCCCGTGGTTTTCGAACTTGGAGAAAGATTGTAAGCTT  
 CTGTATATTCTGCCCAAATTTGTCGGGCCCCATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTT  
ATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCGCTCAAAAACCTCCCGGAAA  
TGACAACAGCACGGCAACGCTGTGCCTTGGGCACCATGCAGTACCAAACGGAACGATA  
GTGAAAACAATCACGAATGACCAAATTGAAGTTACTAATGCTACTGAGCTGGTTCAGAG  
TTCTCAACAGGTGAAATATGCGACAGTCTCATCAGATCCTTGATGGAGAAAACCTGCA  
CACATAAGATGCTCTATTGGGAGACCCTCAGTGTGATGGCTTCCAAAATAAGAAAATGG  
GACCTTTTTGTGAACGCAGCAAAGCCTACAGCAACTGTTACCTTATGATGTGCCGGA  
TTATGCCCTCCCTTAGGTCACTAGTTGCCTCATCCGGCACACTGGAGTTTAAACAATGAAA  
GTTTTCAATTGGACTGGAGTCACTCAAAACGGAACAAGCTCTGCTTGATAAGGAGATCT  
AATAACAGTTTTCTTTAGTAGATTGAATTGGTTGACCCACTTAAAATTCAAATACCCAGCA  
TTGAACGTGACTATGCCAAACAATGAAAAATTTGACAAATTTGACATTTGGGGGGTTCA  
CCACCCGGGTACGGACAATGACCAAATCTTCTGTATGCTCAAGCATCAGGAAGAATC  
ACAGTCTCTACCAAAGAAGCCAACAACCTGTAATCCCGAATATCGGATCTAGACCCAG  
AGTAAGGAATATCCCCAGCAGAATAAGCATCTATTGGACAATAGTAAACCGGGAGACA  
TACTTTTGATTAAACAGCACAGGGAATCTAATTGCTCCTAGGGGTTACTTCAAAATACGAA  
GTGGGAAAAGCTCAATAATGAGATCAGATGCACCCATTGGCAAATGCAATCTGAATGC  
ATCACTCCAAACGGAAGCATTCCCAATGACAAACCATTCCAAATGTAACAGGATCAC  
ATACGGGGCTGTCCCAGATATGTTAAGCAAAACACTCTGAAATTTGGCAACAGGGATG  
CGAAATGTACCAGAGAAACAACTAGAGGCATATTTGGCGCAATCGCGGGTTTCATAG  
AAAATGGTTGGGAGGGAATGGTGGATGGTTGGTATGGTTTCAGGCATCAAAATCTGA  
GGGAATAGGACAAGCAGCAGATCTCAAAAGCACTCAAGCAGCAATCGATCAAAATCAAT  
GGGAAGCTGAATAGGTTGATCGGGAAAAACCAACGAGAAATTCATCAGATTGAAAAAG  
AGTTCTCAGAAGTCGAAGGGAGAATCCAGGACCTTGAGAAATATGTTGAGGACACCAA  
AATAGATCTCTGGTCATACACGCGGAGCTTCTTGTGCCCTGGAGAACCAACATACAA  
TTGATCTAACTGACTCAGAAATGAACAAACTGTTTGAACAAACAAAGAAGCAACTGAGG  
GAAAATGCTGAGGATATGGGCAATGGTTGTTTCAAAATATACCACAAATGTGACAATGC  
CTGCATAGGATCAATCAGAAATGGAACCTATGACCACGATGTATACAGAGATGAAGCAT  
TAAACAACCGGTTCCAGATCAAGGGCGTTGAGCTGAAGTCAGGATACAAAGATTGGAT  
ACTATGGATTTCCTTTGCCATATCATGTTTTTGCTTTGTGTTGCTTTGTTGGGTTTCAT  
CATGTGGGCCTGCCAAAAAGGCAACATTAGGTGCAACATTTGCATTTGAAGGCCTATTT  
TCTTTAGTTGAATTTACTGTTATTCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCT  
GTGCTCAGAGTGTGTTTATTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGG  
TCGTCCCTTCAGCAAGGACACAAAAAGATTTTAATTTTATTAACAAAAACAAAAAAG  
ACCGGGAATTCGATATCAAGCTTATCGACCTGCAGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAA  
GTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGCTTTCGCGATGATTATCATATAAATTTCTGTGA  
ATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTT  
TTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAATATAGCGCG  
CAAACCTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTAGATTCTAGAGTCTCA  
AGCTTCGGCGCGCC



**Figura 80**

TTAATTAAGAATTTCGAGCTCCACCGCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTAT  
CTGTCACCTTTATTGAGAAGATAGTGAAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCAT  
TGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGAT  
GGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGCTTCA  
AAGCAAGTGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACT  
ATCCTTCGCAAGACCCCTTCCTCTATATAAGGAAGTTCATTTCAATTTGGAGAGGTATTAA  
AATCTTAATAGGTTTTGATAAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGAACCAAACCTTCTTCT  
AAACTCTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAACCTTCTCTTGTCTTTCTTGCCTGAGCGAT  
CTTCAACGTTGTCAGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAACGTTTTCTTCACTGAAGCG  
AAATCAAAGATCTCTTTGTGGACACGTAGTGCGGCGCCATTAAATAACGTGTACTTGT  
CCTATTCTTGTGCGGTGTGGTCTTGGGAAAAAGAAAGCTTGCTGGAGGCTGCTGTTTCA  
CCCCATACATTACTTGTACGATTCTGCTGACTTTCCGCGGGTGCAATATCTCTACTTC  
TGCTTGACGAGGTATTGTTGCCTGTACTTCTTCTTCTTCTTCTTCTGCTGATTGGTTCTA  
TAAGAAATCTAGTATTTTCTTTGAAACAGAGTTTTCCCGTGTTTTCGAAGTTGGAGAA  
AGATTGTTAAGCTTCTGTATATTCTGCCCAAATTTGTCGGGCCCATGAAGGCAATAATT  
GTACTACTCATGGTAGTAACATCCAATGCAGATCGAATCTGCACTGGAATAACATCTT  
CAAACCTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCCACTCAAGGGGAGGTCAATGTGACTGGTG  
TGATACCACTAACACAACACCAACAAAATCTTATTTTGCAAACTCAAGGAACAAGG  
ACCAGAGGGGAACTATGCCAGACTGTCTCAACTGCACAGATCTGGATGTGGCTTTG  
GGCAGACCAATGTGTGTGGGGACCACACCTTCGGCGAAGGCTTCAATACTCCACGAA  
GTCAAACCTGTTACATCCGGGTGCTTTCCTATAATGCACGACAGAACAAAATCAGGC  
AACCTACCCAAATCTTCTCAGAGGATATGAAAATATCAGGCTATCAACCCAAAACGTCATC  
GATGCGGAAAAGGCACCAGGAGGACCCCTACAGACTTGGAACTCAGGATCTTGCCCT  
AACGCTACCAGTAAGAGCGGATTTTTGCAACAATGGCTTGGGCTGTCCCAAAGGAC  
AACAACAAAATGCAACGAACCCACTAACAGTAGAAGTACCATACATTTGTACAGAAG  
GGGAAGACCAAATCACTGTTTGGGGGTTCCATTGAGATAACAAAACCCAAATGAAGAA  
CCTCTATGGAGACTCAAATCCTCAAAAGTTTACCTCATCTGCTAATGGAGTAACCACA  
CACTATGTTTCTCAGATTGGCAGCTTCCAGATCAAAACAGAAGACGGAGGACTACCCAC  
AAAGCGGCAGGATTGTTGTTGATTACATGATGCAAAAACCTGGGAAAACAGGAACAAT  
TGCTTACCAAAGAGGTGTTTTGTTGCCTCAAAAGGTGTGGTGCBCGAGTGGCAGGAG  
CAAAGTAATAAAAGGGTCTTGCCCTTAATTGGTGAAGCAGATTGCCCTCATGAAAAAT  
ACGGTGGATTAAACAAAAGCAAGCCTTACTACACAGGAGAACATGCAAAAGCCATAGG  
AAATTGCCCAATATGGGTGAAAACACCTTTGAAGCTCGCCAATGGAACCAAAATATAGA  
CCTCCTGCAAACTATTAAAGGAAAGGGGTTTCTTCGGAGCTATTGCTGGTTTCTAG  
AAGGAGGATGGGAAGGAATGATTGCAGGCTGGCACGGATACACATCTCACGGAGCA  
CATGGAGTGGCAGTGGCGGCGGACCTTAAGAGTACGCAAGAAGCTATAAACAAGATA  
ACAAAAATCTCAATTCTTTGAGTGAGCTAGAAGTAAAGAATCTTCAAAGACTAAGTGG  
TGCCATGGATGAACCTCCACAACGAAATACTCGAGCTGGATGAGAAAGTGGATGATCTC  
AGAGCTGACACTATAAGCTCGCAATAGAACTTGCAGTCTTGCTTTCCAACGAAGGAA  
TAATAAACAGTGAAGATGAGCATCTATTGGCACTTGAGAGAAAACCTAAAGAAAATGCT  
GGGTCCCTCTGCTGTAGAGATAGGAAATGGATGCTTCGAAACCAACACAAGTGCAA  
CCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAGGAGAAATTTCTCTC  
CCACTTTTGAATCACTGAACATTACTGCTGCATCTTAAATGATGATGGATTGGATAA  
CCATACATACTGCTCTATTACTCAACTGCTGCTTCTAGTTTGGCTGTAAACATTGATGC  
TAGCTATTTTTATTGTTTATATGGTCTCCAGAGACAACGTTTCATGCTCCATCTGTCTAT  
AAAGGCCTATTTTCTTTAGTTTGAATTTACTGTTATTCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGT  
GAGCGGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTTATTTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCT  
CCTGTTTAGCAGGTCGTCCCTTCAGCAAGGACACAAAAAGATTTTAATTTTATTAATAA  
AAAAAAAAAAAAAGACCGGGAATTCGATATCAAGCTTATCGACCTGCAGATCGTTCAA  
ACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCGATGATTATC  
ATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTA  
TTTATGAGATGGGTTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGA  
AAACAAAATATAGCGCGCAAACTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTA  
CTAGATTCTAGAGTCTCAAGCTTCGGCGCGCC

**Figura 81**

TTAATTAAGAATTCGAGCTCCACCGCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCAGCTATCTGTC  
ACTTTATTGAGAAGATAGTGGAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAG  
GAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCAACCCAC  
GAGGAGCATCGTGGAAGAAAGACGTTCCAACCACGCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTG  
ATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCACTATCCTTCGCAAGACCCCTTCTCTA  
TATAAGGAAGTTCATTTTCATTTGGAGAGGTATTAAATCTTAATAGGTTTTGATAAAGCGAAC  
GTGGGGAACCCGAACCAACCTTCTTCTAACTCTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAACCTTCTC  
TCTTGTCTTTCTTGCCTGAGCGATCTTCAACGTTGTCAGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAAC  
GTTTTCTTTCACTGAAGCGAAATCAAAGATCTCTTTGTGGACACGTAGTGCGGCGCCATTAAA  
TAACGTGTACTTGTCTATTCTTGTGGTGTGGTCTTGGGAAAGAAAGCTTGTCTGGAGGCTG  
CTGTTACAGCCCATACATTACTTGTACGATTCTGCTGACTTTCGGCGGGTGCAATATCTCTA  
CTTCTGCTTGACGAGGTATTGTTGCCTGTACTTCTTCTTCTTCTTCTTCTGCTGATTGGTTCTAT  
AAGAAATCTAGTATTTTCTTGAACAGAGTTTTCCCGTGGTTTTCTGAACCTGGAGAAAGATTG  
TTAAGCTTCTGTATATTCTGCCAAATTTGTGGGGCCATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCG  
GCTTATTGTTTTCTCTTCTTGTGTTGGTTCTTCTCAGATCTTCGCTGATCGAATCTGCACTGG  
AATAACATCTTCAAACCTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCCACTCAAGGGGAGGTCAATGTGAC  
TGGTGTGATACCACTAACAACAACACCAACAAAATCTTATTTGCAAATCTCAAAGGAACAAGG  
ACCAGAGGGAAACTATGCCAGACTGTCTCAACTGCACAGATCTGGATGTGGCTTTGGGCAG  
ACCAATGTGTGTGGGGACACACCTTCGGCGAAGGCTTCAATACTCCACGAAGTCAAACCTG  
TTACATCCGGGTGCTTCTCTATAATGCACGACAGAACAAAAATCAGGCAACTACCCAATCTTC  
TCAGAGGATATGAAAATATCAGGCTATCAACCCAAAACGTCATCGATGCGGAAAAGGCACCA  
GGAGGACCCTACAGACTTGGAACTCAGGATCTTGCCTAACGCTACCAGTAAGAGCGGATT  
TTTCGCAACAATGGCTTGGGCTGTCCCAAAGGACAACAACAAAAATGCAACGAACCCACTAAC  
AGTAGAAGTACCATACATTTGTACAGAAGGGGAAGACCAATCACTGTTTGGGGGTTCATTTC  
AGATAACAAACCCAAATGAAGAACCTCTATGGAGACTCAAATCCTCAAAGTTACACCTCATCT  
GCTAATGGAGTAACCAACACACTATGTTTCTCAGATTGGCAGCTTCCAGATCAAACAGAAAGAC  
GGAGGACTACCACAAAGCGGCAGGATTGTTGTTGATTACATGATGCAAAAACCTGGGAAAC  
AGGAACAATTGTCTACCAAAGAGGTGTTTGTGCTCAAAGGTGTGGTGCGCAGTGGCA  
GGAGCAAAGTAATAAAGGGTCTTGCCTTAAATGGTGAAGCAGATTGCCTTCATGAAAAAT  
ACGGTGGATTAAACAAAAGCAAGCCTTACTACACAGGAGAACATGCAAAAGCCATAGGAAAT  
GCCCAATATGGGTGAAAACACCTTTGAAGCTCGCCAATGGAACCAAATATAGACCTCTGCAA  
AACTATTAAGGAAAGGGGTTTCTCGGAGCTATTGCTGGTTTCTAGAAGGAGGATGGGAA  
GGATGATTGCAGGCTGGCAGGATACACATCTCACGGAGCACATGGAGTGGCAGTGGCGG  
CGGACCTTAAGAGTACGCAAGAAGCTATAACAAGATAACAAAAAATCTCAATTCTTTGAGTGA  
GCTAGAAGTAAAGAATCTTCAAAGACTAAGTGGTGCCATGGATGAACCTCCACAACGAAATACT  
CGAGCTGGATGAGAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGACACTATAAGCTCGCAAATAGAACCTTG  
CAGTCTTGCTTTCCAACGAAGGAATAATAAACAGTGAAGATGAGCATCTATTGGCACTTGAGA  
GAAAACATAAGAAATGCTGGGTCCCTCTGCTGTAGAGATAGGAAATGGATGCTTCGAAACCA  
AACACAAGTGCAACCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAGGAGAA  
TTTTCTCTCCCACTTTTGAATCACTGAACATTACTGCTGCATCTTAAATGATGATGGATTGG  
ATAACCATACTATACTGCTCTATTACTCAACTGCTGCTTCTAGTTTGGCTGTAACATTGATGCT  
AGCTATTTTATGTTTATATGGTCTCCAGAGACAACGTTTCATGCTCCATCTGTCTATAAAGG  
CCTATTTTCTTTAGTTTGAATTTACTGTTATTGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTT  
CTGTGCTCAGAGTGTGTTTATTTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGTCT  
GTCCCTTCAGCAAGGACACAAAAAGATTTAATTTTATTAACAAAAAAGACCCGGG  
AATTCGATATCAAGCTTATCGACCTGCAGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGA  
TTGAATCCTGTTGCCGTCTTGCATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATG  
TAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTATGATTAGAGTCCCGCA  
ATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAATATAGCGCGCAAACTAGGATAAATTATCGCGC  
GCGGTGTCATCTATGTTACTAGATTCTAGAGTCTCAAGCTTCGGCGCGCC



**Figura 82**

ATGTTTGGGCGCGGACCAACAAGGAAGAGTGATAACACCAAATATTACGATATTCT  
 TGGTGTTTCAAAAAGTGCTAGTGAAGATGAAATCAAGAAAGCCTATAGAAAGGCAG  
 CGATGAAGAACCATCCAGATAAGGGTGGGGATCCTGAGAAGTTCAAGGAGTTGGG  
 CCAAGCATATGAAGTGTTGAGCGATCCTGAAAAGAAAGAACTGTATGATCAATATG  
 GTGAAGATGCCCTTAAAGAAGGAATGGGGGGAGGCGCAGGAAGCTCATTTTCATAA  
 TCCGTTTGATATTTTCGAATCATTTTTTGGTGCAGGCTTTGGTGGTGGTGGTCCTT  
 CACGCGCAAGAAGACAGAAGCAAGGAGAAGATGTGGTGCATTCTATAAAGGTTTC  
 CTTGGAGGATGTGTATAACGGCACTACAAAGAAGCTATCACTTTCTAGGAATGCAC  
 TGTGCTCAAAATGTAAAGGGAAAGGTTCAAAAAGTGGAACCTGCTGGAAGGTGTTTT  
 GGATGCCAGGGCACAGGTATGAAGATTACCAGAAGGCAAATTGGACTGGGCATGA  
 TTCAACAAATGCAACACGTCTGTCCTGACTGCAAAGGAACAGGCGAGGTCTATTAG  
 TGAGAGAGATAGATGCCCTCAATGCAAGGGAAACAAGATTACTCAAGAAAAGAAG  
 GTGCTGGAGGTGCATGTGGAAAAGGGGATGCAGCAGGGTCACAAGATTGTATTG  
 AAGGACAAGCTGATGAAGCTCCTGATACAATCACAGGAGACATAGTTTTGTCTTG  
 CAAGTAAAGGGACATCCGAAGTTTCGGAGGGAGCGTGATGACCTCCACATTGAAC  
 ACAATTTGAGCTTAACTGAGGCTCTCTGTGGCTTCCAGTTTAATGTCACACATCTT  
 GATGGAAGGCAACTATTGGTCAAATCGAACCCCGCGAAGTCATCAAGCCAGGTC  
 AACATAAAGCTATAAATGATGAGGGAATGCCACAACATGGTAGGCCGTTTCATGAAG  
 GGACGCCTATACATCAAGTTTAGTGTTGATTTCCCGGATTCGGGTTTTCTTTCCCC  
 AAGCCAAAGCCTGGAATTAGAAAAGATATTACCTCAAAGACAAGCAAGAATTGT  
 CCCAAAAGGAGGTAGATGATTGTGAGGAGACCACCCTGCATGATGTCAATATTGC  
 AGAGGAGATGAGTCGAAAAGCAACAATACCGTGAGGCATATGATGACGATGAT  
 GATGAAGATGATGAGCACTCGCAGCCTCGGGTGCAATGCGCTCAACAGTAG

Figura 83

AAGCTTGCATGCCTGCAGGTCGACTCTAGAGGATCCCCGGGCTGGTCTGTACATTATCTTGCCGCTTTGCA  
 TTCACCTTGGCCACAAAGAGTAGAGAGAAGGAAGAGAGAGCCAGACTTCAAGAAGCGACCTTGCAAGTGAC  
 TCGAGGGTCAGAACTGTATATCATATCTATGTGAGAGAAAGGGGAACATTTGAGATGGAGTCCATTTACTTGA  
 GGTATACTTATTATTTGATCAATAAATTTGTACTTCTTATTTAGATCAATAAATTTGTCATTAAGCTATAATCCA  
 AAATAAATACGATCAATATGCAAAATGTTAGCCAGTACTTGTGTTAACTTGATGGCATCTCTGGTTTCTTTGG  
 CAATCACATGCCTAAGAAATAAATAGTATCATATGATTGTGTTTGGTCAGACTTCAGAGTCAGATGACTGTGTT  
 GGATAAACAGCTTAATTAAGCGCTTATAGAATATCATATGATTGTGTTTGGTCAGACTTCAGAGCATCTCTGGT  
 TTCTCTGGCAATCATATGCCTAAGAAATAAATAGTATCATATGATTGTGTTTGGTCAGACTTCAGAGTCAGATGA  
 CCCTGTTTGGGTAACAGCTTAATTAAGTGCTTATAGAATAAGCGCTTATCATATAAGTGCTTTTGTACAGTTATT  
 TCTATGAAAGTAGAAGAAATAGTCATATTGTTTAAATAAGCTATCCTGGAGAGCTTGTGAAATAACAGAAA  
 AGAAGCTTATGGACAGCTCATGAGCTGTTTACATAAGATCTCCCTAACAGTCTCAAAAGTGTTTATGCCAGTAGAT  
 AAATTCAAATAAGTCAATCTAAACAGACCTAAATCCATTATGGTACCTATCATTTTAGCTTATTCCATCTTTATTA  
 AGAATGTCTAGAGATAACATAATGATAACACATTATTTGACACAAATGGGCAGATCTAGCAATTTAACTCTGGA  
 GTCCTTCAAGACTGCTGTTCTTACGAAGTTCACGTCCTGAATCATGTTCTGTATGGAAGCCTGAAAGACCTC  
 AAATTCATAAAGGTGGCGATAAATTGAAGGTTTACAAAATATACCCTGCGGGCTTGACACAGAGGCAAGCTCTT  
 TATACCTTCCAGTTCAACGGGGATGTTGATTTCAAGAGTCACTTGGAGAGCAATCCTGTGCCAAGTTTGAAGT  
 AATTTTGTGTAGCATATGTTGAGCTACCTACAATTTACATGATCACCTAGCATTAGCTCTTCACTTAACTGAGA  
 GAATGAAGTTTTAGGAATGAGTATGACCATGGAGTCGGCATGGCTTTGTAATGCCCTACCCTACTTTGGCCAACT  
 CATCGGGGATTACATTCAGAAAATATACATGACTTCAACCATACTTAAACCCCTTTTGTAGATAACTGAATGT  
 TCATATTTAATGTTGGGTTGTAGTGTGTTTACTTGATTATATCCAGACAGTTACAAGTTGGACAACAAGATTGTG  
 GGTCTGTACTGTTATTTATTTATTTTATTTAGCAGAAAACACCTTATCTTTGTTTCGTTTGAATGTAGAATGAAA  
 ATAAAAGAAAAGAAATATAACATCATCGGCCGCGCTTGTCTAATTTCCGGGCAGTTAGGATCCTCTCCGGTCACC  
 GGAAAGTTTCAGTAGAAGAAAACAAACCCGTGACTAAATGATACTATTATTTATTTATTTATTTGTTTCTTTT  
 CTACCGGAACCTTTTAGAACGGATCCCAACTCGTTCGGGGCCGCTACAACTGAAACAAAAGAAGATATTTCT  
 CTCTCTCAGAAATGTAAGTTTTCTTTACAGATACCCATTACCACTTGTATTCAGATGTGGTGACTAGAGATAA  
 AGCATACTAATTTGACTCTTGGAACCCATAAAGTTTATGTTATCCGTGTTCTGGACCAATCCACTTGGGGGCAT  
 AACCTGTGTCTATGTGTGTTTGGTTTCCATTCTGATTATGCGGGGACTTGTAAATTTAAATCTAGGAGGGGCA  
 GACATTGAACAATCCCAATATTTAATACTTATGCAAGATTTTTTATTAATGAGATGATGTGTTGTGACTGA  
 GATTGAGTCATACATTTCACTAAGAAATGGTTCCAAGTACCAAACTATCATGACCCAGTTGCAAAACATGACGTT  
 GGGAGTGGTCACTTTGATAGTTCAATTTCACTTGGCTTCTTATTCCTTTTATAATTCTAATCTTCTGTGTAAAC  
 TATTTATGATATTTATTTCTTTAAATTTACATGTCATTTATTTTGCCTCACTAACTCAATTTGCAATATAACAAT  
 ATAAGTGATTTTGACTCACAAAATTTACATCAAAATTCGACATCGTTTATTTATGTTTCAATGGATGATTAACAAT  
 ATAACAACCTTTGCACTAATTAACCACTGAATATAAATTAATTAATCTGTAAGTAGTTAACTCATTTTT  
 ATATTTATAGATCAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCAAAAAAAGCGGTATTTACTAAAA  
 AATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATAACATCCAAATCCAAACCAATCAACAATC  
 CTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCAGATCTACATTATCTAAATCACACATCTTCCACAC  
 ATCTGAGCCACACAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCTTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACACTT  
 TGATTCCTTCAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATGTTTGGGCG  
 CGGACCAACAAGGAAGAGTGATAACACCAATATTACGATATTCCTGGTGTTCAAAAAGTGCTAGTGAAGATG  
 AAATCAAGAAAGCCTATAGAAAGGCAGCGATGAAGAACCATCCAGATAAGGGTGGGGATCCTGAGAAGTTCAA  
 GGAGTTGGGCCAAGCATATGAAGTGTGAGCGATCCTGAAAAGAAAGAACTGTATGATCAATATGTTGAAGAT  
 GCCCTTAAAGAAAGGAATGGGGGAGGCGAGGAAGCTCATTTCATAATCCGTTTGATATTTTCAATCATTTT  
 TGGTGACGGCTTTGGTGGTGGTGGTCTTCAGCGCAAGAAAGACAGAAGCAAGGAGAAGATGTGGTGCATTCT  
 TATAAAGGTTTCTTGGAGGATGTGTAAACGGCACTACAAAGAAAGCTATCACTTTCTAGGAATGCATGTGCT  
 CAAAATGTAAGGGAAAGGTTCAAAAAGTGAAGTCTGGAAGGTGTTTGGATGCCAGGGCACAGGTATGAA  
 GATTACAGAAGGCAATTTGAGCTGGGCATGATTCAACAAATGCAACACGCTGTCTGACTGCAAGGAACA  
 GGCAGGGTCATTAGTGAGAGAGATAGATGCCCTCAATGCAAGGGAAACAAAGATTACTCAAGAAAAGAAAGGTGC  
 TGGAGGTGCATGTGGAAGGGGATGCAGCAGGGTCACAAGATTGTATTCGAAGGACAAGCTGATGAAGCTC  
 CTGATACAATCACAGGAGACATAGTTTGTCTTGAAGTAAAGGGACATCCGAAGTTTCCGAGGGAGCGTGAT  
 GACCTCCACATTGAACACAATTTGAGCTTAACTGAGGCTCTGTGGCTTCCAGTTTAAATGTCACACATCTTGAT  
 GGAAGGCAACTATTGTCAAATCGAACCCCGCGGAAGTCAATCAAGCCAGGTCAACATAAAGCTATAAATGATG  
 AGGGAATGCCACAACATGGTAGGCGGTTATGAAGGGACGCTATACATCAAGTTTAGTGTGATTCTCCGGA  
 TTCGGGTTTTCTTTCCCAAGCCAAAGCCTGGAATTAGAAAAGATATTACCTCAAAAGACAAGCAAGAACTTGT  
 CCCAAAGGAGGTAGATGATTGTGAGGAGACCACCCTGCATGATGTCAATATTGCAGAGGAGATGAGTGGAAA  
 GAAGCAACAATACCGTGAGGCATATGATGACGATGATGAAGATGATGAGCACTCGCAGGCTCGGGTGCAA  
 TCGCTCAACAGTAGGAGCTCAGCTCGAATTTCCCGGATCGTTCAAACTTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATT  
 GAATCCTGTTGCCGCTTTCGATGATTATCATATAATTTCTGTTGAAATACGTTAAGCATGTAATAATTAAACATG  
 TAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGGATAGAA  
 AACAAAATATAGCGCGCAACTAGGATAAATTTATCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTAGATCAATTC



Figura 84

AAGCTTGCATGCCTGCGAGGTCGACTCTAGAGGATCCCGGGCTGGTCTGTACATTCATCTTGC CGCCTTGCATTAC  
TTGGCCACAAAGTAGAGAGAAAGAGAGAGCCGAGACTTCAAGAAAGCGACCTTGCAAGTGCACCTCGAGGGT  
CAGAACTGTATATCATATCTATGTGAGAGAAAGGGGAACATTTGAGATGGAGTCCATTTACTTGAGGTATACCTTATTA  
TTTTGATCAATAAATTTGTATACTTCTTATTTAGATCAATAAATTTGTCATTAAAGCTATAATCCAAATAAATTACGATCAA  
ATATGCAAAATGTTAGCCAGTACTTGTGTTAACTTGTATGGCATCTCTTGGTTTCTTTGGCAATCACATGCCTAAGAAAT  
AAATAGTATCATATGATTGTGTTTGGTCAGACTTCAGAGTCAGATGACTCTGTTGGATAAACAGCTTAATTAGCGCT  
TATAGAATATCATATGATTGTGTTTGGTCAGACTTCAGAGCATCTCTTGGTTTCTCTGGCAATCATATGCCTAAGAAATA  
AATAGTATCATATGATTGTGTTTGGTCAGACTTCAGAGTCAGATGACCCGTGTTGGGTAAACAGCTTAATTAAGTGCTT  
ATAGAATAAGCGCTTATCATATAAGTGCTTTTGTACAGTTATTTCTATGAAAGTAGAAGAAATAGTCATATTTGTTTAAATA  
TAAGCTATCCTGGAGAGCTTGTGGAAATAACCAAGAAAGAACTTATGGACACGTCATGAGCTGTTTACATAAGATCTC  
CCTAACAGTCTCAAAAGTGTATGCCAGTAGATAAAATCAAAATAGTCAATCTAAACAGACCCCTAAATCCATTATGGTA  
CCTATCATTTTAGCTTATCCATCTTTATTAAGAAATGTCATGAGATAACATAATGATAACACATATTTTGACACAAATGG  
GCAGATCTAGGAATTAACCTCGGAGTCTTCAAGACTGCTGTTCTTACGAAAGTTCACGTCCTGAAATCATGTTCCCTGT  
ATGGAAGCCTGAAAGACCTCAAAATCTAAAAGGTGGCGATAAATTGAAGGTTTACAAAATATACCCTGCGGGCTTGAC  
ACAGAGGCAAGCTCTTATACCTTCCAGTCAACGGGGATGTTGATTTCAGAAGTCACTTGGAGAGCAATCCTTGTGC  
CAAGTTTGAAGTAATTTTGTGTAGCATATGTTGAGCTACCTACAATTTACATGATCACCTAGCATTAGCTCTTTCACCT  
AAGCTAGAGAAATGAAGTTTATGGAATGAGTATGACCATGGAGTCGGCATGGCTTTGTAATGCCTACCCTACTTTGGCC  
AAGTATCGGGGATTACATTACAGAAATATACATGACTTCAACCATCTTAAACCCCTTTTGTAAAGATACTGAATGT  
TCATATTTAATGTTGGGTGTAGTGTGTTTACTTGATTATATCCAGACAGTTACAAGTTGGACAACAAAGTTGTGGGTCT  
GTACTGTTATTTATTTATTTTATTTAGCAGAAACACCTTATCTTTGTTTCGTTTGAATGTAGAAATGAAATAAAGAA  
AGAAATATAACATCATCGGCCGCGCTTGTCTAATTCGGGCAGTTAGGATCCTCTCGGTCACCGGAAAGTTTCAGT  
AGAAGAAACAAACACCGTGAATAAATGATACTATTATTTATTTATTTGTTTCTTTTCTACCGGAACCTTTTAG  
AACGGATCCCACTCGTTCGGGGCGCTACAACCTGAAACAAAGAAATATTTCTCTCTCTCAGAAATGTAAGTTT  
TCCTTACAGATACCCATTACCAATTTGATTGATGTTGGTGACTAGAGATAAAGCATATAATTGACTCTTGGAAC  
CCATAAAGTTTATGTTATCCGTGTTCTGGACCAATCCACTTGGGGGCATAACCTGTGTCTATGTGTGGTTTGGTTCCA  
TTCTGATTATGCGGCGACTTGTAAATTTAAATCTAGGAGGGGCAGACATTGAACAATCCCAATATTTTAAATCTTATG  
CAAGTTATTTTATTAATGAGATGATGTTTGTGACTGAGATTGAGTCATACATTTCACTAAGAAATGGTTCCAAGTA  
CCAACTATCATGACCCAGTTGCAAAATGACGTTCCGGAGTGGTCACTTTGATAGTTCAATTCATCTTGCTTCTTA  
TCCTTTATAATTCTAATCTTCTGTGTAACCTATTTCATGTATTATTTTCTTTAAATTTACATGTCATTTATTTGCC  
TCACCTCACTCAATTTTGCATATAACATGATAAGTGATTTTGTACTACAAAATTTACATCAAAATTTGCAGATCGTTTAT  
TATGTTTATTTGATGATTAAACAAATATAACAACTTTGCACTAATTAACCCCACTGAATATAATTAACATAAAGTGTG  
AAAGTATTAACCTCAATTTTATATTTTATGATCAAAATAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAATAA  
GGTATATTTACTAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGGAGGATAACATCCAAATCCAAACAA  
TCACAACATCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACCGCATCTGTGGCAGATCTACATTATCTAAATCACACATTC  
TCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCATCTTTATCCCACTTCTATAAAAAATCACACTTTGTGAGTCTACA  
CTTTGATTCCCTTCAACACATACAAAGAGAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAATGTCCGGTAAA  
GGAGAAAGGACCGATATCGGTATCGATCTTGGTACCACTTACTTTCGCTCGGAGTATGGCAACACCGCTGTTGA  
CGCAGCTAAGAAATCAGGTGCGCATGAACCCGTTAACACCGTTTTCGACGCTAAGAGGTTGATCGGTGCTGCTTCTC  
TGACAGCTCTGTTGAGAGTGACATGAAATTTGGCCATTCAAGATTCAAGCCGAGCTGCCGATAAGCCAAATGATCTA  
CGTCGAATCAAGGGTGAAGAGAAAGATTGCGAGCTGAGGAGATTCTTCCATGGTTCTTATTAAGATGCTGAGAT  
TGCTGAGGCTTACCTTGGTGTCAATCAAGAACCGCGTTGTACCGTTCCAGCTTACTTCAACGACTCTCAGCGTCA  
GGCTACAAAGGATGCTGGTGTATCGCTGGTTTGAACGTTATGCGAATCATCAACGAGCCTACAGCCGCGCGCTATTG  
CCTACCGTCTTGACAAAAAGGCTACCGCGTTGGAGAGAAAGATTGTTCTTATCTTCGATCTTGGTGGTGGCACITTTG  
ATGCTCTCTTCTTACCATTTGAAGAGGGTATCTTTGAGGTGAAGGCACTGCTGGTGACACCCATCTTGGTGGGGAAG  
ATTTGACACAGAAATGGTTAACCATTGTGTCAGAGTTCAAGAGGAGAGTAAGAAGGATATCACCGGTAACCCAA  
GAGCTCTTAGGAGGTTGAGAACTTCTGTGAGAGAGCGAAGAGGACTCTTCTTCCACTGCTCAGACCAACATCGAG  
ATTGACTCTATACGAGGGTATCGACTTCTACTCCACCATCACCCGTCCTAGATTGAGGAGCTCAACATGGATCTC  
TTGAGGAAGTGTATGGAGCCAGTTGAGAAAGTCTTCTGTTGATGCTAAGATGGACAAGAGCACTGTTTATGATGTTGTC  
CTTGTGTTGGTGGTTTACCCGATCCCTAAGGTTGAGCAATTTCTCCAGGACTTCTTCAACGGCAAGAGCTTTGCAAG  
TCTATTAAACCTGATGAGGCTGTTGCCATCGGTGCTGCTGCCAGGAGCTATTCTCAGCGGTGAAGGAAACGAGAA  
GGTTCAAGATCTTCTATTGCTCGATGTCACTCTCTCTCTGTTGGTTTGGAAACTGCCGGTGGTGTGATGACCACTTTG  
ATCCCAAGGAACACACCATCCCAACCAAGAAAGAAACAAAGTCTTCTCCACCTACTCAGACACCAACCCGGTGTGTTG  
ATCCAGGTGTACGAAGGAGAGAGAGCCAGAACCAAGGACAAACCTTCTTGGTAAATTTGAGCTCTCCGGAATTCC  
TCCAGCTCCTCGTGGTGTCCCCAGATCACAGTCTGCTTTGACATTGATGCCAATGGTATCCTCAATGCTCTGCTGA  
GGACAAGACCAACCGGACAGAAAGCAAGATCACCATCACCAATGACAAGGGTCTCTCTCAAGGATGAGATTGAGA  
AGATGGTTCAAGAGGCTGAGAAATCAAGTCCGAAGACGAGGAGCACAAGAAAGGTTGAAGCCAAGAACGCTCT  
CGAGAACTACGCTTACAACATGAGGAACACCATCCAAAGACGAGAAGATTGGTGAGAAGCTCCCGGCTGCAGACAAGA  
AGAAGATCGAGGATTCTATTGAGCAGGCGATTCAATGGCTCGAGGGTAACCAAGTTGCTGAGGCTGATGAGTTGGA  
GACAAGATGAAGGAATTGGAGAGCATCTGCAACCAATCATTTGCCAAGATGTACCAAGGAGCTGGTGGTGAAGCCGG  
TGGTCCAGGTGCTGTTGATGGAGATGATGCTCCCGCTGCTTCAGGCGGTGCTGGACCTAAGATCGAGGAGGTC  
GACTAAGAGCTCAGTCTGAATTTCCCGATCGTTCAACATTTGGCAATAAAGTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCG  
GTCTTGGCATTTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTA  
TGAGATGGGTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAATATAGCGCGCAAACTA  
CGATAAATATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTAGATCGAATTC



Figura 85A

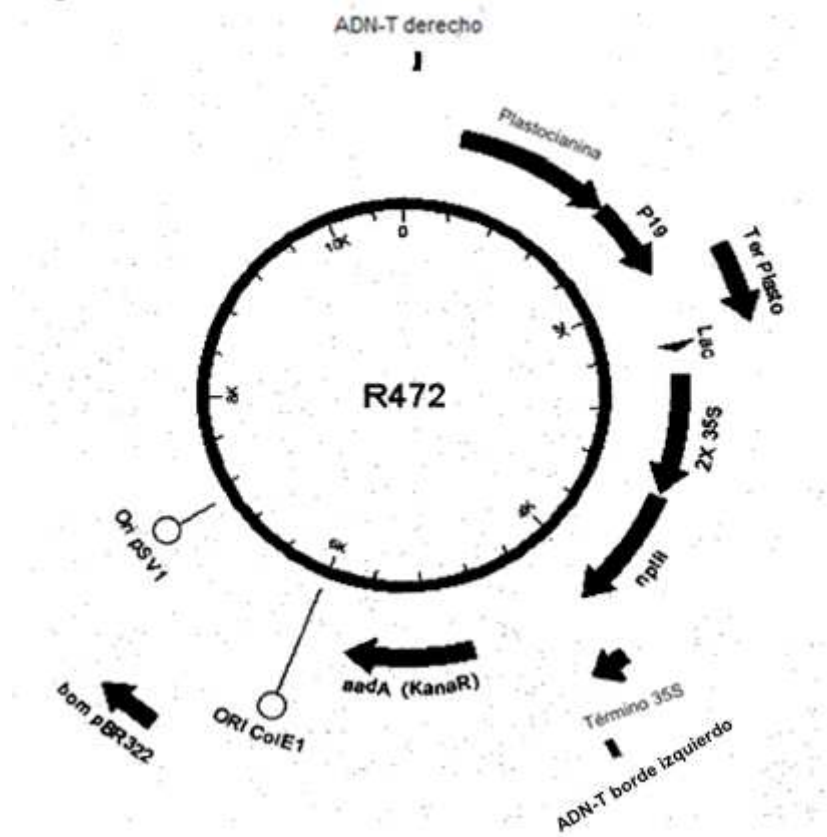
AAGCTTGCATGCCTGCAGGTCGACTCTAGAGGATCCCCGGGCTGGTCTGTACATTTCATCTTGCCGCTTTGCATTCA  
 CTTGGCCACAAAGAGTAGAGAGAAGGAAGAGAAGAGCCAGACTTCAAGAAGCGACCTTGCAAGTGCCTCGAGGG  
 TCAGAACTGTATATCATATCTATGTGAGAGAAAGGGGAACATTTGAGATGGAGTCCATTTACTTGAGGTATACCTATT  
 ATTTTGATCAATAAATTTGTATACCTCTATTAGATCAATAAATTTGTCAATTAAGCTATAATCCAAATAAATACGATC  
 AAATATGCAATGTTAGCCAGTACTTGTGTTAACTTGATGGCATCTCTGGTTTCTTGCGCAATCACATGCCTAAGAA  
 ATAAATAGTATCATATGATTGTGTTGGTCAGACTTCAGAGTCAGATGACTCTGTTGGATAAACAGCTTAATTAAGCG  
 CTTATAGAATATCATATGATTGTGTTGGTCAGACTTCAGAGTCAGATGACTCTGTTGGATAAACAGCTTAATTAAGCG  
 ATAAATAGTATCATATGATTGTGTTGGTCAGACTTCAGAGTCAGATGACTCTGTTGGATAAACAGCTTAATTAAGCG  
 CTTATAGAATAAGCGCTTATCATATAAGTGCTTTGTACAGTTATTTCTATGAAAGTAGAAGAAATAGTCATATTGTTT  
 AATATAAGCTATCCTGGAGAGCTTGTGGAATAACCAAGAAAGAACTTATGGACACGTCATGAGCTGTTTACATAAGA  
 TCTCCCTAACAGTCTCAAAAGTGTTTATGCCAGTAGATAAATCAAAATAAGTCAATCTAACAGACCCATAATCCATTA  
 TGGTACCTATCATTTAGCTTATCCATCTTTATTAAGAATGTCATGAGATAACATAATGATAACACATTATTTTGACAC  
 AAATGGGCAGATCTAGCAATTAACCTCTGGAGTCTTCAAGACTGCTGTTCTTACGAAGTTCACGTCCTCGTAATCATG  
 TTCTGTATGGAAGCCTGAAAGACCTCAAAATCTAAAAGGTGGCGATAAATGAAGGTTTACAAAATATACCTGCGG  
 GCTTGACACAGAGGCAAGCTCTTATACCTTCCAGTTCAACGGGGATGTTGATTTCAAGAGTCACCTGGAGAGCAAT  
 CCTGTGCCCAAGTTTGAAGTAATTTTGTGTAGCATATGTTGAGCTACCTACAATTTACATGATCACTAGCATGAGCT  
 CTTTCACTTAAGTGAAGTAATTTTGAAGTATGAGTATGACCATGGAGTCCGATGGCTTTGTAATGCCCTACCT  
 ACTTTGGCCAACTCATCGGGGATTTACATTCAGAAAATATACATGACTTCAACCATACTTAAACCCCTTTTGTAAAGT  
 AACTGAATGTTTCAATTTAATGTTGGGTTGTAGTGTTTTACTTGATTATATCCAGACAGTTACAAGTTGGACAACAAG  
 ATTGTGGGTCTGTACTGTTATTTATTTATTTTATTTAGCAGAAACACCTTATCTTTGTTTGGTTGAATGTAGAATGA  
 AAATAAAGAAAGAAATATAACATCATCGGCCGCGCTTGTCTAATTTCCGGCAGTTAGGATCCTCTCGGTCACCG  
 GAAAGTTTCAGTAGAAGAAACAAACACCGTGACTAAAATGATACTATTATTTATTTATTTGTTGTTTCTTTTCTAC  
 CGGAACCTTTTAGAACGGATCCCAACTCGTCCGGGGCGCTACAACGAAACAAAGAGATTTTCTCTCTCTC  
 AGAAATGTAAGTTTCTTACAGATACCCATTACCATTTGATTGATGATGTTGACTAGAGATAAAGCATACTAAT  
 TGACTCTTGAAACCCATAAAGTTTATGTTATCCGTGTTCTGGACCAATCCACTTGGGGGCATAACTGTGCTATGT  
 GTGGTTTGGTTTCCATTCTGATTATGCGGGCAGCTTGAATTTAAATCTAGGAGGGGAGACATTGAACAATCCCAA  
 TATTTAATACTTATGCAAGATTTTATTAATGAGATGATGTTTGTGACTGAGATTGAGTCATACATTTCTCA  
 AGAAATGGTTTCAAGTACCAAACTATCATGACCCAGTTGCAACATGACGTTCCGGAGTGGTCACTTTGATGTTCAA  
 TTTTCTGTTGCTTCTTATCTTTTATAAATCTAATTTCTTCTGTGTAACTATTTTCTGTTTAAATTT  
 ACATGTCATTTATTTGCTCTCACTCACTCAATTTTGCATATAACAATGATAAGTGATATTTTGACTCAGAAATTTACAT  
 CAAATTTGACATCGTTTATTTATGTTTATGATGATTAAACAAATATAACAACTTTTGAACGTAATTAACCCCACTGA  
 ATATAATTAACATACTGTGAAAGTAGTTAACTCAATTTTATATTTTATAGATCAATTAAGAGAAATAACGGTATATTA  
 ATCCCTCCAAAAAAGAAACCGGTATATTTACTAAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGGAG  
 GATAACATCAATCAACCAATCAACAATCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCAGATCTA  
 CATTTATCAATCAACATCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAA  
 AATCACACTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAAACACATACAAAGAGAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCT  
 TGAGAGAAAAATGTCGGGTAAAGGAGAAGGACCGCTATCGGTATCGATCTTGGTACCCTTACTCTTGGCTCGGAGT  
 ATGGCAACACGACCGTGTGATGATGTTGCTAATGATCAAGGAAACAGAACCCGCTTACGTTTGTCTTTCACCG  
 ACTCGAGAGGTTGATCGGTGACGCGAGCTAAGATCAAGTTCGCTGATGAAACCCGTTAACACCGTTTTCGACGCTAAG  
 AGGTTGATCGGTGCTGCTTCTCTGACAGCTCTGTTGAGAGTGACATGAAATTTGTCGCTTCAAGATTCAAGCCGG  
 ACCTGCGGATAAGCCATGATCTACGTCGAATACAGGGTGAAGAGAAAGAGTTCCGAGCTGAGGAGATTCTTCCCA  
 TTCTTCTTATTAAGATCGGTGAGATTGCTGAGGCTTACCTTGGTGTCAATCAAGAACGCCGTTGTTACCGTTCCAG  
 CTTACTTCAACGACTCTCAGCGTCAGGCTACAAAGGATGCTGGTGTATCGCTGGTTTGAACGTTATGCGAATCATCA  
 ACGAGCTACAGCCGCGCTATTGCTTACGGTCTTGACAAAAAGGCTACCGGCTTGGAGAGAGAAATGTTCTTATC  
 TTCTGATCTTGGTGGTGGCACTTTTGTATGCTCTCTTCTTACCATTGAAGAGGATATCTTGGGTGAAGGCACTGCT  
 GGTGACACCATCTTGGTGGGGAAGATTTGACAACAGAATGGTTAACCCTTTGTCCAAGAGTTCAAGAGGAAGAG  
 TAAGAAGGATATCACCGGTAAACCAAGAGCTCTTAGGAGGTTGAGAACTTCTGTGAGAGAGCGAAGAGGACTCTTT  
 CTTCCACTGCTCAGACCACTCGAGATTGACTCTCTATACGAGGGTATCGACTTCTACTCCACCATCACCCGTGCTA  
 GATTGAGGAGCTCAACATGGATCTCTCAGGAAGTGTATGAGCCAGTTGAGAAGTGTCTTGTGATGCTAAGATG  
 GACAAGAGCACTGTTTATGATGTTTGTCTTGTGTTGTTTCTACCCGATCCCTAAGGTTTCAAGCAATGCTTCCAGGAC  
 TTCTTCAACGGCAAGAGCTTTGCAAGTCTATTAACCTGATGAGGCTGTTGCCCTACGGTGTCTGTCTCCAGGGAGC  
 TATCTCAGCGGTGAAGGAACGAGAAGGTTCAAGATCTTCTATTTGCTCGATGTCACTCTCTCTCCCTTGGTTTGG  
 AACTGCCGGTGGTGTATGACCACTTTGATCCCAAGGAACCAACCATCCCAACCAAGGAAGCAAGCTTCTTCCA  
 CTTACTCAGACAACCAACCCGCTGTTGATCCAGGTGTACGAAGGAGAGAGAGGCGAAGCAAGGACAACCACT  
 TCTTGGTAAATTTGAGCTCTCCGGAATCCCTCCAGCTCCTGTTGGTGTCCCCAGATCACAGTCTGCTTTGACATTGA  
 TGCCAAATGGTATCTCAATGTCTCTGCTGAGGAGAAAGACCCGAGAGAGAAAGATCACCATCAACCAATGACA  
 AGGGTCTCTCTCAAGGATGAGATTGAGAAGATGGTTCAAGAGGCTGAGAAGTACAAGTCCGAAGACGAGGAGCA  
 CAAGAAGAAGGTTGAAGCCAAGAACGCTCTCGAGAATACGCTTACAACATGAGGAACACCATCCAAGACGAGAAG  
 ATTGGTGAGAAGCTCCCGGCTGAGACAAGAAAGATCGAGGATCTATTGAGCAGGCGATTCAATGGCTCGAGG  
 GTAACCAAGTTGGCTGAGGCTGATGAGTTGGAAGACAAGATGAAGGAATTTGGAGAGCATCTGCAACCCCAATCAATTGCC  
 AAGATGTACCAAGGAGCTGGTGGTGAAGCCGGTGGTCCAGGTGCTCTGGTATGGACGATGATGCTCCCTGCTT  
 CAGGCGGCTGCTGACCTAAGATCGAGGAGGTCGACTAAGAGCTCAGCTCGAATTTCCCGATCGTTCAACCATTTG  
 GCAATAAAGTTTCTAAGATTGAATCTGTTGCCGGTCTTGCATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATACGTTAAG  
 CATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTA

Figura 85B

ATACGCGATAGAAAACAAAATATAGCGCGCAAACTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTAG  
 ATCGAATTCGTAATCATGGTCATAGCTGTTTCCTGTGTGAAATTGTTATCCGGGGCTGGTCTGTACATTCATCTT  
 GCCGCCCTTTGCATTCACCTTGGCCACAAAGAGTAGAGAGAAGGAAGAGAAGAGCCAGACTTCAAGAAGCGGAC  
 CTTGCAAGTGCACTCGAGGGTCAGAACTGTATATCATATCTATGTGAGAGAAAGGGGAACATTTGAGATGGA  
 GTCCATTTACTTGAGGTATACTTATTATTTGATCAATAAATTTGTATACCTCTTATTTAGATCAATAAATTTGTCA  
 TTAAGCTATAATCCAAAATAAATTACGATCAAAATGCAAAATGTTAGCCAGTACTTGTGTTAACTTGATGGCAT  
 CTCTTGGTTCTTTGGCAATCACATGCCTAAGAAAATAAATAGTATCATATGATTGTGTTTGGTCAGACTTCAGAG  
 TCAGATGACTCTGTTTGGATAAACAGCTTAATTAAGCGCTTATAGAATATCATATGATTGTGTTTGGTCAGACTT  
 CAGAGCATCTCTTGGTTTCTCTGGCAATCATATGCCTAAGAAAATAAATAGTATCATATGATTGTGTTTGGTCAGA  
 CTTGAGAGTCAGATGACCTGTTTGGGTAACAGCTTAATTAAGTCTTATAGAATAAGCGCTTATCATATAAGT  
 GCTTTTGTACAGTTATTTCTATGAAAGTAGAAGAAATAGTCATATTGTTTAAATATAAGCTATCCTGGAGAGCTTG  
 TGGAAATAACCGAAGAAAGAACTTATGGACACGTCATGAGCTGTTTACATAAGATCTCCCTAACAGTCTCAAAAG  
 TGTTTATGCCAGTAGATAAATCAAAATAAGTCAATCTAAACAGACCCTAAATCCATTATGTTACCTATCATTTTAG  
 CTTATTCATCTTTATTAAGAAATGTCATGAGATAACATAATGATAACACATTATTTTGACACAAATGGGCAGATCT  
 AGCAATTTAACTCTGGAGTCTTCAAGACTGCTGTTCTTACGAAGTTACGTCCTGAATCATGTTCTCTGTATGG  
 AAGCCTGAAAGACCTCAAAATCTAAAGGTGGCGATAAATGAAGGTTTACAAAATATACCCTGCGGGCTTGAC  
 ACAGAGGCAAGCTCTTTATACCTCCAGTTCACCGGGGATGTTGATTTCAGAAGTCACCTGGAGAGCAATCCTT  
 GTGCCAAGTTTGAAGTAATTTTGTGTAGCATATGTTGAGCTACCTACAATTTACATGATCACCTAGCATIAGCT  
 CTTTCACTTAACTGAGAGAATGAAGTTTAGGAATGAGTATGACCATGGAGTCGGCATGGCTTGTATGCGCTA  
 CCTACTTTGGCAACTCATCGGGGATTACATTCAGAAAATATACATGACTTCAACCATACTTAAACCCCTTTT  
 TGTAAGATAACTGAATGTTTATTAATGTTTGGGTTGTAGTGTGTTTACTTGATTATATCCAGACAGTTACAAGT  
 TGGACAACAAGATTGTGGGTCTGTACTGTTATTTATTTATTTTATTTTATAGCAGAAACACCTTATCTTTGTTTCGT  
 TTGAATGTAGAAATGAAAATAAAGAAAGAAATATAACATCATCGGCCCGCTGTCTAATTCGGGCAGTTAG  
 GATCCTCTCCGGTCACCGGAAAGTTTCACTAGAGAAGAAACAAACACCGTACTAAAATGATACCTATTATTTTAT  
 TATTGTGTTTTCTTTTCTACCGGAACCTTTTGAACGGATCCCAACTCGTTCGGGGCGCGCTACAACCTGAAA  
 CAAAAGAAATATTTCTCTCTCTTCAAGAAATGAAGTTTCTTTACAGATACCCATTCACCATTTGATTGAGAT  
 GTGGTGACTAGAGATAAAGCATACTAATTTGACTCTTGGAAACCCATAAAGTTTATGTTATCCGTTTCTGGACC  
 AATCCACTTGGGGGCATAACCTGTGTCTATGTGTGTTTGGTTTCCATTCTGATTATGCGGCGACTTGTAATTT  
 AAAATCTAGGAGGGGAGACATTGAACAAATCCCAATATTTTAACTTATGCAAGATTTTATTTAATGAGAT  
 GATGTTGTTGAGCTGAGATTGAGTCATACATTTCACTAAGAAATGGTTCCAAGTACCAAACTATCATTTATTTT  
 TTGCAAAACATGACGTTGCGGAGTGGTCACTTTGATAGTTCAATTTTATCTTGGCTCTTATTCCTTTTATAATCT  
 AATTTCTCTGTGTAACTATTTTATGATGATTTTCTTTTAAATTTACATGTCATTTATTTTGCCTCACTAACTCA  
 ATTTTGCATATAACAAATATAACAACTTTGCACTAATAAACCACCAACTGAATATAAATACTATAACTGTGAA  
 AGTAGTTAATCTATTTTATATTTATAGATCAAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAAGAAA  
 ACGGTATATTACTAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCGTAGGAGGATAACCAATCC  
 AACCAATCACAACAACTCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAT  
 CACACATTTCTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTTCTATAAAAAATCACA  
 CTTTGTGAGTCTACACTTTGATTCCCTTCAACACATACAAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCACTTGA  
 GAGAAAATGTTTGGGCGCGGACCAACAAGGAAGAGTGATAACACCAAAATATTACGATATTCTTGGTGTTCAAA  
AAGTGCTAGTGAAGATGAATCAAGAAAGCCTATAGAAAGGCAGCGATGAAGAACCATCCAGATAAGGGTGGG  
GATCCTGAGAAGTTCAAGGAGTTGGGCCAAGCATATGAAGTGTGAGCGATCCTGAAAAGAAAGAACTGTATG  
ATCAATATGGTGAAGATGCCCTTAAAGAAGGAATGGGGGGAGGCGCAGGAAGCTCATTTTATAATCCGTTGA  
TATTTTCAATCATTTTTTGGTGCAAGCTTTGGTGGTGGTGGTCTTCACGCGCAAGAGACAGAAGCAAGGA  
GAAGATGTGGTGCACTTCTATAAAGGTTTCTTGGAGGATGTGTATAACGGCACTACAAAGAAGCTATCACTTTC  
TAGGAATGCACTGTGCTCAAAATGTAAAGGGAAAGGTTCAAAAAGTGAAGTCTGGAAGGTGTTTTGGATGC  
CAGGGCACAGGTATGAAGATTACAGAAAGGCAAAATGGACTGGGCATGATTCAACAAATGCAACACGCTGTGC  
CTGACTGCAAAAGGAACAGGCGAGGTCAATTAGTGAGAGAGATAGATGCCCTCAATGCAAGGGAAACAAAGATTAC  
TCAAGAAAAGAGGTGCTGGAGGTGCATGTGGAAGGGGATGCAGCAGGCTCACAAAGATTGTATTGGAAGG  
ACAAGCTGATGAAGCTCCTGATACAATCACAGGAGACATAGTTTTTGTCTTGCAAGTAAAGGGACATCCGAAGT  
TTCCGAGGGAGCGTGATGACCTCCACATTGAACACAATTTGAGCTTAACTGAGGCTCTCTGTGGCTTCCAGTTT  
AATGTCACACATCTTGATGGAAGGCAACTATTGGTCAAAATCGAACCCTGGCGAAGTCATCAAGCCAGGTCAAC  
ATAAAGCTATAAATGATGAGGGGAATGCCACAACATGGTAGGCCGTTTATGAAGGGACGCTATACATCAAGTTT  
AGTGTGTGATTTCCCGGATTTCGGGTTTTCTTTCCCAAGCCAAAGCCTGGAATTAGAAAAGATATTACCTCAAAA  
GACAAGCAAGAAGCTTGCCAAAAGGAGGTAGATGATTGTGAGGAGACCACCTGCATGATGTCAATATTGCA  
GAGGAGATGAGTCGAAAGAAAGCAACAAATACCGTGAGGCATATGATGACGATGATGATGAAGATGATGAGCAC  
CGCAGCCTCGGGTGCAATGCGCTCAACAGTAGGAGCTCAGCTCGAATTTCCCGATCGTTCAAAACATTTGGCA  
 ATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGCTTTCGATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAG  
 CATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACA  
 TTAATACGCGATAGAAAACAAAATATAGCGCGCAAACTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTA  
 CTAGATCGAATTC



Figure 86





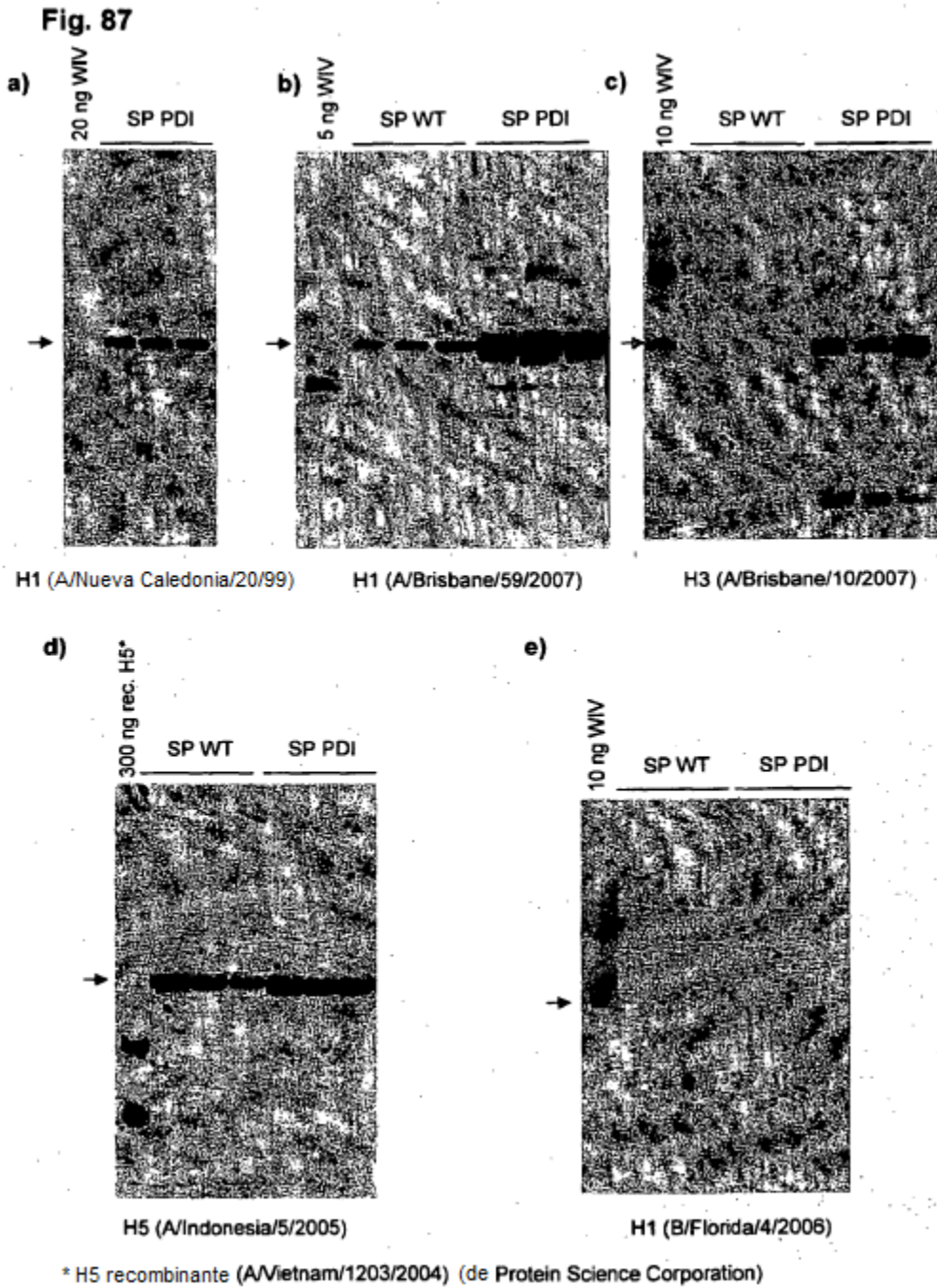


**Fig. 88**

**a) H1 NC**

AGL1/540  
AGL1/580



**b) H1 Brisbane**

AGL1/774  
AGL1/787  
AGL1/732



**c) H3 Brisbane**

AGL1/776  
AGL1/790  
AGL1/735  
AGL1/736



**d) H5 Indo**

AGL1/660  
AGL1/685



**e) B Florida**

AGL1/779  
AGL1/798  
AGL1/738  
AGL1/739



**Fig. 89**

