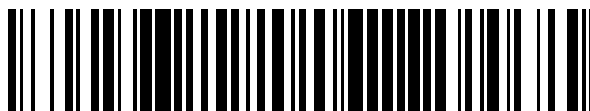


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 718 187**

51 Int. Cl.:

C12N 15/69

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.04.2014** **PCT/EP2014/058459**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.10.2014** **WO14174078**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.04.2014** **E 14724009 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.01.2019** **EP 2989205**

54 Título: **Cromosomas artificiales bacterianos**

30 Prioridad:

26.04.2013 GB 201307528

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

28.06.2019

73 Titular/es:

KATHOLIEKE UNIVERSITEIT LEUVEN (100.0%)
K.U. Leuven R&D Waaistraat 6 Box 5105
3000 Leuven, BE

72 Inventor/es:

DALLMEIER, KAI y
NEYTS, JOHAN

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 718 187 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

Cromosomas artificiales bacterianos

Campo de la invención

La presente invención se refiere a un sistema del vector del plásmido adecuado para manipular, mantener y propagar ADNc infeccioso de genomas de virus de ARN para uso como vacuna.

Antecedentes de la invención

Anteriormente, el ADN de copia (ADNc) de varios flavivirus y otros virus de ARN se han clonado en diferentes vectores bacterianos de baja copia para superar su toxicidad intrínseca (debido al gran tamaño y la expresión críptica de las secuencias virales) (Bredenbeek et al. (2003) J. Gen. Virol. 84, 1261-1268; Durbin, et al. (2006) Hum Vaccin. 2, 255-260; Fan y Bird (2008) J. Virol. Methods. 149, 309-315; Li et al. (2011) PLoS One 6, e18197; Pu et al. (2011) J. Virol. 85, 2927-2941; Rice et al. (1989) New Biol. 1, 285-296) Almazán et al. (2008) Methods Mol Biol. 454, 275-91) Pierro et al. (2006) J. Gen. Virol. 87, 2263-2268, Yun et al. (2003) J. Virology 77, 6450-6465.

Los ADNc clonados se han utilizado como moldes para la producción de virus recombinantes infecciosos, ya sea por síntesis in vitro y transfección de los genomas de ARN (Bredenbeek et al. 2003, citado anteriormente), o incorporando el ADNc viral en un casete de expresión, que comprende un promotor tal como el promotor CMV-IE (temprano inmediato de Citomegalovirus) que permite la transcripción del ARN viral de los ADNs plasmídicos transfectados (Enjuanes et al. (2001) J. Biotechnol. 88, 183-204; Hall et al. (2003) Proc. Natl Acad Sci. EE. UU. 100, 10460-10464). Dichos casetes de expresión viral dirigen la expresión de la fiebre aftosa atenuada (Ward et al. (1997) J. Virol. 71, 7442-7447) y los virus Kunjin (Hall et al. (2003) Proc Natl Acad Sci EE. UU. 100, 10460-10464) se han utilizado como vacunas de ADN experimentales. Aunque los sistemas vectoriales de bajo número de copias que comprenden un casete de expresión viral se pueden mantener en la célula huésped bacteriana en una manera estable, tienen la importante desventaja de que solo permiten la purificación de ADNc viral infeccioso en cantidades que son simplemente suficientes para uso experimental a pequeña escala. Por lo tanto, su uso como una fuente de rutina de ADNc viral infeccioso es imposible, por ejemplo, en la producción de una vacuna viva de ADNc.

La producción de vacunas de ADN viral requiere una amplificación sustancial de los vectores de clonación para obtener suficiente ADN, pero estos métodos de amplificación están sujetos a rigurosas restricciones. Para evitar mutaciones, los vectores que comprenden ADN viral se propagan en condiciones que evitan eventos mutagénicos (recombinación, mutaciones, mejora de la reparación de desapareamientos y similares). Los cromosomas artificiales bacterianos (BAC) son conocidos por su estabilidad y pueden contener inserciones de hasta 500 kb o más.

Sin embargo, el tamaño de dicho vector con ADN extraño es una seria carga para las bacterias, y su replicación requiere un esfuerzo metabólico sustancial. Además, el agotamiento de los nucleótidos puede conducir a un aumento de las mutaciones. Finalmente, se puede producir una expresión no deseada de ADN extraño (llamada expresión críptica), que puede conducir a proteínas recombinantes tóxicas. La producción de proteínas tóxicas por transcritos crípticos es inherente al ADN de flavivirus y solo se puede resolver disminuyendo el número de copias de plásmidos. De hecho, cuanto mayor sea el número de copias de un vector, mayor será la concentración de proteínas tóxicas. Como consecuencia, los huéspedes bacterianos pueden contraseleccionar los mutantes en donde no se expresan estas proteínas.

Pu et al. (2011) J. Virol. 85, 2927-2941, describen en detalle diversos intentos para resolver la toxicidad intrínseca del ADNc de flavivirus en bacterias. Estos incluyen la ligación in vivo de plásmidos que comprenden partes del genoma viral, huéspedes específicos, mutantes para evitar la expresión críptica y también plásmidos de bajo número de copias.

Tretyakova I et al. (2014) J. Virol. 468-470, 28-35 describen la toxicidad causada por las proteínas crípticas del ADNc viral y describen la introducción de un intrón sintético artificial en la secuencia del ADN viral en sí.

Jiang et al. (2015) J. Gen. Virol. 96, 804-814 describen el problema de la escasez de vacunas para la vacunación contra la fiebre amarilla y la necesidad de producir vacunas adicionales. Los autores destacan la importancia de la estabilidad genética. La única forma de abordar esta inestabilidad según los autores es el uso de vectores BAC de bajo número de copias.

Almazan F. et al. en "Fernando Almazanin Helena Jane Maier et al. (eds.)", "Coronaviruses: Methods and Protocols", Methods in Molecular Biology, 1282, Springer Science + Business Media New York 2015, páginas 275-291, es un capítulo de un manual en el campo de la clonación de virus de ARN y describen el uso de sistemas BAC para superar los problemas de estabilidad de los clones de ADNc viral.

El uso de BACs que se producen como una sola copia en una bacteria proporciona así una solución para estos problemas.

El bajo número de copias no es un inconveniente para aquellas aplicaciones en donde el ADN del BAC se subclona o amplifica posteriormente para aumentar la concentración y en donde la introducción de algunas mutaciones por estas

técnicas no es crítica para los experimentos previstos. Sin embargo, tales métodos de amplificación no se pueden aplicar en la fabricación de vacunas de ADN, que hacen de los BAC un vehículo no preferido para preparaciones de plásmidos a gran escala para vacunas de ADN. Se requieren cultivos a escala muy grande para obtener cantidades sustanciales de BAC.

- 5 El uso de vectores BAC inducibles se conoce por Wild et al. (2002) Genome Res. 12, 1434-1444, Wild et al. (2001) Plasmids 45, 142-143, US5874259, US2003049665 según el cual el número de copias del BAC aumenta de 1 copia por celda hasta 100 copias por celda, o incluso más. Aunque este sistema proporciona un método para aumentar el rendimiento del ADN del BAC, existe una preocupación legítima de que la actividad fuertemente incrementada del sistema de replicación tras la inducción aumentará la frecuencia de mutación. La fabricación de vacunas de ADN
10 requiere, por lo tanto, un sistema en donde se obtiene un alto número de copias de un vector, pero en donde la replicación de los vectores se produce sin una introducción intolerable de mutaciones.

Compendio de la invención

- La presente invención resuelve el problema de la amplificación del ADNc viral para la preparación de una vacuna en los sistemas de vectores de la técnica anterior proporcionando un vector que se puede mantener de manera estable en la célula huésped con un número de copias bajo, pero que se puede amplificar significativamente modificando las
15 condiciones de cultivo de su huésped, sin eventos de mutagénesis no deseados. En esta memoria se proporciona un vector que puede ser transportado desde y hacia ambos, una levadura y un huésped bacteriano, que proporciona así un sistema muy versátil susceptible de manipular el vector tanto en el sistema genético de la levadura como en el bacterianos. La aplicación demuestra, contra lo que se esperaba, que el aumento inducible en el número de copias de
20 un vector BAC proporciona ADN que tiene una tasa de mutación sorprendentemente baja. Incluso más sorprendente, las pocas mutaciones que ocurren son en su mayoría mutaciones por desplazamiento del marco o codones de parada, que conduce a versiones truncadas en la expresión. Las mutaciones puntuales, que o son sin efecto o que conducen a aminoácidos modificados, están poco representadas.

- Este efecto inesperado conduce al efecto ventajoso de que se obtienen altas cantidades de vectores y que la cantidad limitada de errores que ocurren conduce a un genoma viral no funcional, en lugar de un genoma viral mutado de lo
25 cual la virulencia se puede aumentar en comparación con la construcción originalmente clonada.

- En esta memoria se describe un cromosoma artificial bacteriano que comprende una secuencia de ori bacteriana inducible, que permite inducir la amplificación de dicho cromosoma artificial bacteriano a un alto número de copias, por ejemplo, modificando las condiciones de cultivo del huésped bacteriano. Los cromosomas artificiales bacterianos, como se usan en la presente memoria, comprenden además un casete de expresión viral que comprende un ADNc de un genoma de virus de ARN flanqueado por elementos reguladores en cis, que tras la introducción de dicho
30 cromosoma artificial bacteriano en una célula de mamífero favorece la transcripción de dicho ADNc viral y permite el procesamiento del ARN transcrito en ARN viral infeccioso. El ADNc viral contenido en el casete de expresión viral puede o corresponder a la de un genoma de virus de ARN tipo silvestre o ser una construcción de ADNc viral quimérico, en donde se han insertado secuencias de ADN heterólogas y/o se han eliminado, truncado o mutado secuencias
35 virales nativas. Normalmente, las secuencias de ADN heterólogas codifican uno o más péptidos/proteínas, que se expresan de manera heteróloga por el virus recombinante, después de la introducción en una célula de mamífero de un cromosoma artificial bacteriano que contiene un casete de expresión viral que comprende dicho ADNc viral quimérico. El cromosoma artificial bacteriano puede comprender además una secuencia de replicación de manera
40 autónoma en levadura para transportar y mantener dicho cromosoma artificial bacteriano en levadura. La posibilidad de transportar y mantener dicho cromosoma artificial bacteriano en una célula de levadura proporciona la ventaja de que es susceptible para la manipulación genética tanto en los sistemas genéticos de la levadura como en los bacterianos. Como tal, la aplicación proporciona un sistema de vector único adecuado para manipular, mantener y propagar ADNc infeccioso de genomas de virus de ARN.

- 45 En ausencia de un estímulo del ori inducible, los cromosomas bacterianos artificiales en la solicitud se pueden utilizar para almacenar y clonar de forma estable el ADNc viral infeccioso en un huésped bacteriano, mientras que en presencia de tal estímulo, dicho ADNc se puede amplificar fácilmente y posteriormente aislarse para ser utilizado. Los cromosomas artificiales bacterianos según la presente descripción son particularmente útiles en el desarrollo, mantenimiento estable y producción de ADNc viral para utilizarse como una vacuna viva contra patógenos virales de
50 ARN. Alternativamente, dichos cromosomas bacterianos artificiales se utilizan para el mantenimiento y propagación de virus nativos o recombinantes de ADNc, por ejemplo, para fines de investigación.

En la presente invención, se usan BACs con un ori bacteriano inducible para la preparación de una vacuna de un casete de expresión viral que comprende ADNc de un virus de ARN y elementos reguladores en cis para la transcripción de ADNc viral en células de mamífero y el procesamiento del ARN transcrito en ARN viral infeccioso.

- 55 Sorprendentemente, la generación de copias múltiples del BAC que comprende el ADN viral no condujo a las desventajas que se conoce que ocurren con los sistemas de alto número de copias.

En general, las proteínas tóxicas se producen en sistemas bacterianos, debido a la expresión críptica de las secuencias virales. De hecho, la generación de clones infecciosos de flavivirus se ha visto tradicionalmente impedida por la

toxicidad de sus ADNc de longitud completa en las bacterias.

Se han empleado diversos enfoques para superar este problema, incluido el uso de plásmidos de muy bajo número de copias y cromosomas artificiales bacterianos (tratado en Edmonds (2013) J. Virol. 87, 2367-2372). Este es un fenómeno que se refiere a la inserción que se clona en el BAC y obstaculiza el metabolismo y el crecimiento bacteriano. Las bacterias con mutantes en donde la expresión críptica no tiene lugar tienen una ventaja de crecimiento y crecerán en exceso en la población original. En la técnica anterior, esto se refleja por el tamaño de las colonias bacterianas. Las construcciones no mutadas producen proteínas tóxicas y normalmente se obtienen colonias pequeñas. Las construcciones mutadas producen menos o ninguna proteína tóxica, lo que da como resultado la aparición de colonias más grandes.

En base a este conocimiento de la técnica anterior, se esperaba que la inducción de la replicación del plásmido daría como resultado así un aumento de los transcritos tóxicos y a un aumento concomitante en los mutantes en donde no tiene lugar la expresión críptica.

Sorprendentemente, el sistema de replicación inducible parece ser insensible a la toxicidad de las proteínas crípticas. De hecho, en comparación con los sistemas de alto número de copias de la técnica anterior, las colonias bacterianas son un poco más grandes, lo que indica que el huésped bacteriano es menos sensible a proteínas tóxicas eventuales. Más importante aún, no se encuentran colonias muy grandes, que representan plásmidos mutados.

El hallazgo de que el sistema inducible es insensible a las proteínas tóxicas es inesperado. No había indicaciones en la técnica anterior que indicaran que este sistema no sería sensible a proteínas tóxicas (o tal vez que no se producen proteínas tóxicas).

Otra desventaja del sistema inducible es inherente a la generación de múltiples copias del BAC. De hecho, los autores del sistema inducible explican que la característica más importante de los clones de BAC es su estabilidad como resultado de su muy bajo número de copias. Wild et al. (2002), citado anteriormente, muestra que el número de copias se puede disminuir aún más mediante la adición de glucosa. Este estado de copia única mejora la estabilidad del mantenimiento de las bibliotecas de BAC al reducir la oportunidad de recombinación intracelular entre clones. Esto demuestra que el sistema inducible publicado por Wild et al. no disminuye los cambios de eventos de recombinación no deseados que ocurren tan pronto como las copias múltiples de un BAC están presentes en una célula huésped. El experto en la técnica entiende que la inducción y el alto número de copias posterior reintroducirán los eventos de recombinación. En consecuencia, el experto en la técnica se abstendría de utilizar tales sistemas para preparaciones de ADN que están destinadas a ser usadas para los fines de vacunación.

En la presente invención, los BAC se han amplificado en el sistema ori inducible y el BAC amplificado se ha ensayado para los eventos de recombinación. Contrariamente a lo que se esperaba, los eventos de recombinación son raros.

Además, aparte del ensayo para eventos de recombinación, los BAC amplificados también se han ensayado para la presencia de otras mutaciones. La frecuencia de mutación que se encontró fue muy baja y, además, la fracción de sentido erróneo es sorprendentemente más baja de lo que se esperaba teóricamente. Las mutaciones, si ocurren, son predominantemente sin sentido o mutaciones por desplazamiento del marco que conducen a ARN viral no funcional.

La presente invención permite un aumento significativo de la producción de vacunas de ADN. Por ejemplo, los principales fabricantes de la vacuna viva atenuada contra la fiebre amarilla actualmente no pueden satisfacer las demandas existentes. Con la tecnología de la presente invención, será posible producir vacunas de ADN a costos significativamente más bajos y en cantidades más altas que la actual vacuna viva atenuada, cumpliendo así una necesidad desde hace tiempo.

También para otras enfermedades virales tales como las vacunas contra el JEV, el WNV, el sarampión, la rubéola y el VIH, existe una necesidad de un programa de preparación de vacunas que pueda proporcionar cantidades suficientes de ADN.

Un primer aspecto de la invención se refiere a usos de un cromosoma artificial bacteriano (BAC) para la preparación de una vacuna, en donde el BAC comprende:

-una secuencia de ori bacteriana inducible para la amplificación de dicho BAC a más de 10 copias por célula bacteriana, y

-un casete de expresión viral que comprende un ADNc de un genoma de virus de ARN atenuado y que comprende elementos reguladores en cis para la transcripción de dicho ADNc viral en células de mamífero y para el procesamiento del ARN transcrito en un virus de ARN infeccioso.

Las realizaciones de los ADNc de un genoma de virus de ARN atenuado de este primer aspecto de la invención son una construcción de ADNc viral quimérico de un genoma de virus de ARN, en donde se ha insertado una secuencia de ADN heteróloga o en donde se ha eliminado, truncado o mutado una secuencia viral nativa.

Las realizaciones del casete de expresión viral de este primer aspecto de la invención comprenden

-un ADNc de un genoma de virus de ARN de cadena positiva,

-un promotor dirigido por ARN polimerasa que precede al extremo 5' de dicho ADNc para iniciar la transcripción de dicho ADNc, y

- 5 -un elemento para la autoescisión del ARN después del extremo 3' de dicho ADNc para escindir el transcrito de ARN de dicho ADNc viral en una posición establecida.

Las realizaciones del virus de ARN de cadena positiva de este primer aspecto de la invención son flavivirus, hepacivirus, pestivirus, togavirus, picornavirus, coronavirus, hepevirus y calicivirus.

- 10 En una realización típica de este primer aspecto de la invención, el casete de expresión viral comprende un ADNc de un virus de la fiebre amarilla, por ejemplo un ADNc de la vacuna viva atenuada contra el virus de la fiebre amarilla YFV-17D.

En otras realizaciones, el casete de expresión viral de este primer aspecto de la invención comprende un ADNc de un virus que pertenece al grupo de virus de ARN de cadena negativa, virus de ARN de doble cadena o virus de ARN ambisentido.

- 15 En realizaciones específicas, el cromosoma artificial bacteriano de este primer aspecto de la invención comprende además una secuencia de replicación de manera autónoma en levadura para transportar y mantener dicho cromosoma artificial bacteriano en levadura.

Un ejemplo de una secuencia ori de levadura es el origen del plásmido de 2μ o el ARS1 (secuencia de replicación de manera autónoma 1).

- 20 En ciertas realizaciones, el promotor dirigido por ARN polimerasa de este primer aspecto de la invención es un promotor de ARN polimerasa II, tal como el promotor temprano inmediato de citomegalovirus (CMV-IE), o el promotor del virus Simian 40.

En otras realizaciones, el promotor dirigido por ARN polimerasa de este primer aspecto de la invención es un promotor de la ARN polimerasa I o III.

- 25 Unos ejemplos de un elemento para la autoescisión del ARN es el ADNc de la ribozima genómica del virus de la hepatitis delta.

En una realización particular, el casete de expresión viral de este primer aspecto de la invención comprende un ADNc de la vacuna viva atenuada contra YFV-17D, en donde una o más de las secuencias de ADNc que codifican las proteínas superficiales del virión o están eliminadas, truncadas o mutadas de modo que dicha proteína superficial del virión funcional de YFV-17D no se expresa y en donde se inserta una secuencia de ADNc que codifica una proteína heteróloga en el ADNc de YFV-17D. Un ejemplo de dicha proteína heteróloga es una proteína superficial del virión de un flavivirus.

- 30 Las realizaciones de un casete de expresión viral de este primer aspecto de la invención comprenden un ADNc de la vacuna viva atenuada contra YFV-17D, en donde una o más secuencias de ADNc no relacionadas se insertan para expresarse como una o más proteínas heterólogas dentro de la poliproteína viral.

En otras realizaciones, el casete de expresión viral de este primer aspecto de la invención comprende un ADNc viral en donde se insertan secuencias de ADNc extrañas para ser expresadas de forma heteróloga por dichos virus recombinantes.

Un aspecto adicional se refiere a los métodos de preparación que comprenden las etapas de:

- 40 a) proporcionar un huésped bacteriano transfectado con un BAC como se describe en el primer aspecto y en las diversas realizaciones de las mismas
- b) amplificar el BAC añadiendo un compuesto que activa dicho ori inducible
- c) aislar el BAC amplificado,
- d) formular el BAC en una vacuna.

- 45 Un aspecto adicional se refiere a un BAC como se describe en el primer aspecto y en las diversas realizaciones del mismo para uso como vacuna.

Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a un BAC como se describe en el primer aspecto y en las diversas realizaciones del mismo para uso en la prevención de una infección por virus de ARN.

Un aspecto adicional se refiere a los usos de un BAC como se describe en el primer aspecto y en las diversas realizaciones del mismo como una vacuna viva de ADN.

Un aspecto adicional se refiere a un cromosoma artificial bacteriano (BAC) como se describe en el primer aspecto y en las diversas realizaciones del mismo para la preparación de una vacuna.

5 Descripción detallada de la invención

Leyendas a las figuras

Figura 1. Generación de la serie pShuttleBAC de plásmidos de expresión de virus de ARN. (A) Esquema que muestra la construcción de pShuttleBAC/Pme como construcción de vector de partida. (B) Esquema que muestra la construcción de los vectores de expresión flaviviral derivados de pShuttleBAC/Pme mediante la inserción de los ADNc virales mediante recombinación homóloga entre el promotor de SV40 (SV40p) y la ribozima del HDV (HDz).

Figura 2. Estabilidad del plásmido mejorada de construcciones pShuttleBAC en *E. coli*. Mapas de plásmidos genéricos que muestran la disposición principal de los plásmidos de ADNc flaviviral de la técnica anterior (A) y la nueva serie de vectores pShuttleBAC (B, DNA-YFVax). Tras la transformación en *E. coli* una sola colonia de cada (A) y (B) se cultivó durante la noche a 37°C y se sembró en placas en medios selectivos. En general, las construcciones de tipo A crecen en tamaños de colonias mucho más pequeños que los del tipo B (Figura 2C y D, respectivamente). Además, las construcciones de tipo A dan lugar a la progenie de un amplio intervalo de tamaños de colonias (histograma para diámetros de colonias normalizados, panel derecho de la figura 2C) indicativo para la selección y segregación de clones de plásmidos mutantes que ocasionalmente hacen que los ADNc sean menos tóxicos para *E. coli*. El análisis clonal identificó múltiples posibles mutaciones subyacentes, que incluye la inserción del transposón en la región viral E/NS1. Por el contrario, los clones de plásmidos que comprenden construcciones de tipo B de la serie pShuttleBAC no se segregan y muestran un tamaño de colonia más homogéneo incluso después del pase repetido en *E. coli* que indica alta estabilidad genética.

Figura 3A. Detección de intermedios replicativos de la replicación del ARN de YFV-17D después de la transfección de células Vero-B con pShuttle/YF17D (tipo silvestre, WT) y su derivado deficiente de replicación pShuttle/YF17DAGDD (AGDD) por transferencia Northern. Los antigenomas orientados antisentido, ARN-(-) (panel superior A, 11 kb) y genomas virales orientados al sentido, ARN-(+) (panel inferior A, 11 kb), se pudieron detectar 5 días después de la transfección solo en células transfectadas WT. La replicación en curso en presencia de actinomicina D (ACD), un inhibidor de la síntesis de ARN dirigida por ADN, confirma que después de la puesta en marcha inicial de la transcripción del genoma YFV-17D desde pShuttle/YF17D, la replicación viral continúa de manera autónoma en forma de plásmido independiente.

Figura 3B. Detección del tratamiento adecuado del transcrito de ARN de YFV-17D mediante 5'- y 3'-RACE (amplificación rápida de los extremos del ADNc). pShuttle/YF17D pone en marcha la transcripción de los ARN nacientes de YFV-17D (casos en negrita en la figura 3B) que comienzan y terminan con los extremos 5' y 3' adecuados (panel superior e inferior, respectivamente) según lo confirmado por la rápida amplificación de los extremos de ADNc (RACE).

Figura 4A-C. CPE similar inducido por YFV-17D de diferente origen. Los virus YFV-17D derivados de ARN transcrito y bloqueado terminalmente in vitro utilizando pACNR-FLYF17DII como molde (A) o recolectado después de la transfección del ADN plasmídico de pShuttle/YF17D (B) produce un efecto citopático (CPE) inducido por el virus idéntico en células BHK-21 5 días después de la infección (d.d.i.); C, células no infectadas para la comparación.

Figura 4D-E. Placa similar de fenotipo de YFV-17D de diferente origen. Los virus YFV-17D derivados de ARN transcrito y bloqueado terminalmente in vitro utilizando pACNR-FLYF17DII como molde (D) o recolectado después de la transfección del ADN plasmídico de pShuttle/YF17D (E) produce un número comparable (5 días d.i. 3×10^5 unidades formadoras de placa (pfu) mL^{-1} vs 2×10^5 pfu mL^{-1}) e idéntica morfología de las placas (diámetro $6,4 \pm 0,7$ mM frente a $6,1 \pm 1,1$ mM; n=8, valor de p=0,6 mediante la prueba de la t) en células BHK-21.

Figura 5. Detección de DENV2 recombinante infeccioso mediante ensayo de inmunofluorescencia (IFA). El DENV2 NGC recombinante producido por las células BHK-21 transfectadas con pShuttle/DV2 muestra infección dependiente de la dosis de las células Vero-B, se visualiza como focos virales por tinción de inmunofluorescencia para la proteína E viral 5 días d.i. (A, sobrenadante no diluido, B, sobrenadante diluido 100 veces, C, células de control no infectadas).

Figura 6. Supervivencia de ratones AG129 infectados con Stamaril (cuadrados abiertos) o transfectado con pShuttle/YF17D (cruces). Desafío aproximadamente 10 a 12 días después de la i.p., los ratones (AG129) deficientes en el receptor de interferón tipo I y II comienzan a perder peso y desarrollan un conjunto uniforme de síntomas, concretamente, ondulamiento del pelaje, temblor y parálisis flácida de las extremidades posteriores. Los animales control transfectados con la variante del plásmido NS5ΔGDD deficiente en su replicación (ΔGDD, círculos abiertos) no muestran patogénesis. Sin embargo, permanecen susceptibles a un segundo desafío con Stamaril® (triángulo relleno) 20 días después de la transfección inicial y luego mueren dentro de un período de tiempo comparable y muestran síntomas similares. Los ADN plasmídicos se transfectaron i.p. utilizando microflores de carbonato de calcio en propilenglicol al 33% como portador.

Figura 7. Morbilidad (A) y detección de ARN de YFV-17D (B) de ratones AG129 infectados. (A) Si se infecta o con Stamaril® o se transfecta con pShuttle/YF17D (pYF17D), los ratones AG129 pierden alrededor del 20% del peso corporal antes de tener que ser sacrificados después de un promedio de 12 a 13 días (MDD, día promedio hasta la muerte). Por el contrario, los ratones transfectados con pShuttle/YF17DΔGDD (ΔGDD) ganan peso, antes de ser desafiados con Stamaril® (ΔGDD + 2° Stamaril) y mueren a causa de la infección por YFV-17D en aproximadamente dos semanas. (B) Se pueden detectar cantidades comparables de ARN de YFV-17D mediante la qRT-PCR en muestras de cerebro de ratones AG129 de (A) recogidas a la muerte.

Figura 8. Mapa de pShuttle/YF17D (construcción sintética #1). Leyenda: SV40p: promotor/origen del virus Simian 40, YFV-17D: vacuna de ADNc contra el virus de la fiebre amarilla cepa 17D, HDVrz: ADNc de ribozima del virus de hepatitis delta; 2μ: S. cerevisiae origen de 2 micras; TRP1: gen TRP1 que confiere crecimiento prototrófico hacia triptófano; parABC: genes de partición del plásmido F; repE: gen repE del plásmido F; oriS: origen del plásmido F; oriV: origen del plásmido RK2; CmR: gen de resistencia al cloranfenicol.

Figura 9. Crecimiento de colonias de E. coli después de la transformación con diferentes vectores de ADNc de YFV-17D. (A) Colonias E. coli EPI-300T después de la transformación con pACNR-FLYF17DII y crecimiento durante 16h a 37°C. Se puede observar una distribución de tamaño de colonias con dos subpoblaciones con diferencias de tamaño mayores, microcolonias (diámetro menor que 0,2mm) y macrocolonias (diámetro alrededor de 0,4mm). Las microcolonias representan la mayoría de las colonias E. coli EPI-300T (B+C) después de la transformación con pShuttle/YFV17D. Siembra en placas sobre placas sin inductor (B) o con L-arabinosa al 0,01% (C) para la inducción de la replicación de alta copia mediada por el origen inducible de alta copia. Los círculos negros grandes son perlas de zirconia de 2,5 mm de diámetro embebidas en el agar para servir como calibradores. Las figuras intercaladas son dibujos lineales esquemáticos que representan los contornos de la colonia observados en cada caso.

Figura 10. Distribución del tamaño de las colonias de E. coli después de la transformación con diferentes vectores de ADNc de YFV-17D. (A) Colonias E. coli EPI-300T después de la transformación con pACNR-FLYF17DII. (B+C) Colonias E. coli EPI-300T después de la transformación con pShuttle/YFV17D. Siembra en placas sobre placas sin inductor (B), o con L-arabinosa al 0,01% (C) para la inducción de la replicación de alta copia mediada por el origen inducible de alta copia.

Figura 11a. Mapa de pShuttle/ChimeriVax-JE. pShuttle/ChimeriVax-JE contiene el siguiente promotor/origen de SV40 de nt 1-481 y 2452-10862 de YFV-17D, en el que se insertan 477-2477 de la vacuna de la cepa neuroatenuada SA14-14-2 del JEV. Los segundos últimos dos últimos aminoácidos del JEV E-ORF se mutan a partir de una histidina a un codón de glicina para generar un sitio KasI, el NS2A y el NS4B-ORF contienen dos mutaciones adaptativas G4055a y G7349a encontradas en Imojev® que cambia una metionina a valina en el YFV-17D NS2A y una lisina a glutamina en los NS4B-ORF, respectivamente. Las mutaciones silenciosas adicionales generan marcadores de restricción en las posiciones 406 (XhoI), 4009 (BstEII) y 7315 (NheI).

Figura 11b. Mapa de pShuttle/ChimeriVax-WN. pShuttle/ChimeriVax-WN contiene el siguiente promotor/origen de SV40 de nt 1-481 y 2452-10862 de YFV-17D, en el que se insertan 477-2477 de una cepa neuroatenuada NY-99 de WNV. Los segundos últimos dos últimos aminoácidos del WN E-ORF se mutan a partir de una histidina a un codón de glicina para generar un sitio KasI, el NS2A y el NS4B-ORF contienen dos mutaciones adaptativas G4055a y G7349a encontradas en Imojev® que cambia una metionina a valina en el YFV-17D NS2A y una lisina a glutamina en los NS4B-ORF, respectivamente. Las mutaciones silenciosas adicionales generan marcadores de restricción en las posiciones 406 (XhoI), 4009 (BstEII) y 7315 (NheI).

Figura 12. Mapa de pShuttle/EV71. pShuttle/EV71 contiene el ADNc de la cepa BrCr-TR de EV71 (Genbank AB204852.1) insertado entre el promotor/origen de SV40 en su extremo 5' terminal y una repetición larga de polyA de 30 nt de longitud más la ribozima del virus de la hepatitis delta en su extremo 3'.

Figura 13. Representa secuencias con la SEC ID NO 1-7.

Definiciones

El término "cromosoma artificial bacteriano (BAC)" se refiere a una construcción de ADN plasmídico utilizado para clonar secuencias de ADN en células bacterianas, tal como E. coli. Normalmente, las secuencias de ADN que van desde 30000 hasta aproximadamente 300000 pares de bases se pueden insertar en un BAC. El BAC, con el ADN insertado, puede ser captado por células bacterianas. A medida que las células bacterianas crecen y se dividen, el ADN del BAC se mantiene de manera estable dentro de las células bacterianas con un número de copias muy bajo por célula bacteriana, preferiblemente que no exceda de 3 copias por célula, tal como en una sola copia por célula. La replicación de un BAC se inicia en una secuencia del origen de replicación (ori), típicamente la secuencia oriS. Esta replicación está estrictamente regulada por los productos génicos, generalmente la repE y/o repF, codificados por el BAC. El BAC codifica además para proteínas, tal como parA, B y C, que dirigen la partición de las copias del BAC a las células hijas durante la división. Normalmente los vectores BAC comprenden además marcadores seleccionables, tales como resistencia a antibióticos o marcadores de enzimas informadoras, tales como lacZ que permite la selección azul-blanco. Un ejemplo de un BAC generalmente utilizado es el pBeloBac11 (Shizuya et al. (1992) Proc. Natl Acad Sci. EE.UU. 89, 8794-8797.) La secuencia de este vector se describió en el GenBank, número de acceso U51113.

pBeloBac11 es un plásmido circular que incluye oriS, el gen repE que produce una proteína que inicia y regula la replicación en oriS y los genes de partición par A, B y C. Para la selección, pBeloBac11 incluye un gen que codifica la resistencia al cloranfenicol. El vector también incluye un gen lacZα que puede deshacerse o eliminarse del vector cuando se clona un inserto en el BAC.

El término "secuencia de ori bacteriana inducible" se refiere a una secuencia de ori plasmídica que funciona en una célula huésped bacteriana y responde a la(s) proteína(s) mediadora(s) de la amplificación. Preferiblemente, la función de replicación del ori inducible se suprime severamente o no existe en ausencia de dicha(s) proteína(s) mediadora(s) de la amplificación. Además, se prefiere que en presencia de dicha(s) proteína(s) mediadora(s) de la amplificación, el ori inducible amplifique el plásmido a un alto número de copias, preferiblemente a más de 20 copias por célula, más preferiblemente a más de 100, por ejemplo a más de 500 o 1000 copias por célula. Para uso en la presente invención también se prefiere, aunque no es esencial, que el ori inducible responda a una única proteína mediadora de la amplificación.

El oriV es particularmente útil para uso como ori bacteriano inducible en la presente invención debido a su amplio intervalo de huéspedes, su conocida capacidad para replicar fragmentos de ADN de 100 kb o más, su alto número de copias y su requerimiento para una sola proteína inductora. Ejemplos de cromosomas artificiales bacterianos que comprenden un oriV inducible son pBeloBAC/oriV (Wild et al. (2002) Genome Res. 12, 1434-1444) y pBAC-LacZ (Addgene plasmid 13422: pBAC-lacZ, Adgene, Cambridge MA, EE.UU.). El plásmido pBAC-lacZ es un mini-F que se puede replicar en cepas habituales de E. coli, pero debido a que se mantiene como una única copia de episoma, proporciona bajos rendimientos de ADN. El pBAC-lacZ también contiene un segundo origen de replicación (oriV) con un número de copia mayor que solo está activo en presencia de un factor de acción trans codificado por el gen trfA. La transformación de este plásmido en las células de E. coli que expresan trfA a partir de un promotor inducible permiten aumentar el número de copias del plásmido pBAC-lacZ induciendo la expresión de trfA. Las células de E. coli TransforMax™ EPI300™ (Epicenter, Madison WI, EE. UU.) contienen un gen trfA mutante inducible cuyo producto génico se requiere para el inicio de la replicación a partir del origen de replicación oriV. La expresión de trfA se puede inducir mediante la adición de L-arabinosa al medio de cultivo, que da como resultado la activación del oriV.

"Origen de replicación de levadura" se refiere a una secuencia dentro de un plásmido, tal como un cromosoma artificial bacteriano, que permite la replicación y el mantenimiento de este plásmido en células de levadura. El origen de replicación presente en el plásmido de 2μ (Huberman et al. (1987) Cell 51, 473-481.; Brewer y Fangman (1987) Cell 51, 463-471; Hartley y Donelson (1980) Nature 286, 860-865.) ha demostrado ser un ori adecuado para transportar los cromosomas bacterianos artificiales a la levadura. Se han descrito otros ORIs de levadura adecuadas (Liachko et al. (2013) Genome Res. 23, 698-704, por ejemplo, el ARS1 (secuencia de replicación de manera autónoma 1) y los derivados funcionalmente homólogos de los mismos como se usan en los plásmidos centroméricos de levadura (YCp) o el origen sintético CEN6/ARSH4 (Frazer y O'Keefe (2007) Yeast. 24, 777-789).

"casete de expresión viral" en el contexto de la presente invención se refiere a un ADNc de un genoma de virus de ARN flanqueado por elementos reguladores en cis, que tras la introducción de dicho cromosoma artificial bacteriano en una célula de mamífero favorece la transcripción de dicho ADNc viral y permite el procesamiento del ARN transcrito en ARN viral infeccioso, como se describe con más detalle a continuación.

"ARN viral infeccioso" se refiere al ARN viral que, tras la introducción en su huésped mamífero, es suficiente para proporcionar todas las funciones virales requeridas para la replicación viral y la producción de la progenie viral infecciosa. Esto incluye (i) servir como un molde transcripcional para la síntesis de ARN viral y la amplificación del genoma, y (ii) servir como molde traslacional para la síntesis de proteínas virales que se requieren para la replicación viral. Otras funciones accesorias tal como, por ejemplo, señuelo de factores de la célula huésped implicados en la respuesta antiviral innata (Moon et al. (2012) ARN. 18, 2029-40. puede que tengan que ser proporcionadas también por el ARN viral infeccioso.

"Atenuación" en el contexto de la presente invención se refiere al cambio en la virulencia de un patógeno por el cual la naturaleza nociva de los organismos causantes de enfermedades se debilita (o atenúa); Los patógenos atenuados se pueden utilizar como vacunas vivas. Las vacunas atenuadas se pueden derivar de varias maneras, a partir de organismos vivos que se han debilitado, normalmente del cultivo bajo condiciones subóptimas (también llamadas atenuación), o de la modificación genética, que tiene el efecto de reducir su capacidad de causar enfermedades.

En esta memoria se describe un cromosoma artificial bacteriano que comprende una secuencia de ori bacteriana inducible, que en presencia de un estímulo induce la amplificación de dicho cromosoma artificial bacteriano dentro de una célula bacteriana a un alto número de copias, preferiblemente a más de 10 copias por célula, más preferiblemente a más de 100, por ejemplo, a más de 500 o 1000 copias por célula. En general, la amplificación de dicho cromosoma artificial bacteriano como resultado de dicho estímulo no excede más de 10000, por ejemplo, no más de 5000 copias por célula. Un cromosoma artificial bacteriano, como se utiliza en la presente invención, comprende además un casete de expresión viral que comprende un ADNc de un genoma de virus de ARN flanqueado por elementos reguladores en cis, que tras la introducción dicho cromosoma artificial bacteriano en una célula de mamífero favorece la transcripción de dicho ADNc viral y permitir el procesamiento del ARN transcrito en ARN viral infeccioso. El ADNc viral comprendido en el casete de expresión viral de un cromosoma artificial bacteriano, como se utiliza en la presente invención, se puede derivar o de un virus que pertenece al grupo de los virus de cadena positiva, los virus de cadena negativa, los

virus de ARN de doble cadena o los virus que usan una estrategia de ARN ambisentido para la replicación. Dicho ADNc viral contenido en el casete de expresión viral puede corresponder o a la de un genoma de virus de ARN de tipo silvestre o ser una construcción de ADNc viral quimérico en donde se han insertado secuencias de ADN heterólogas y/o se han eliminado secuencias virales nativas. Preferiblemente, dichas secuencias de ADN heterólogas codifican una o más proteínas, que se expresan de forma heteróloga por el virus recombinante después de la introducción en una célula de mamífero de un cromosoma artificial bacteriano que contiene un casete de expresión viral que comprende dicho ADNc viral quimérico. Opcionalmente, el cromosoma artificial bacteriano, como se utiliza en la presente invención, comprende además una secuencia de replicación de manera autónoma en levadura para transportar y mantener dicho cromosoma artificial bacteriano en levadura. La posibilidad de transportar y mantener el cromosoma artificial bacteriano en una célula de levadura proporciona la ventaja de que es susceptible de manipulación genética tanto en los sistemas genéticos de la levadura como en los bacterianos.

En ausencia de un estímulo del ori inducible, los cromosomas bacterianos artificiales se pueden utilizar para almacenar y clonar de forma estable el ADNc viral infeccioso en un huésped bacteriano, mientras que en presencia de tal estímulo, dicho ADNc se puede amplificar y posteriormente aislarse para ser utilizado. Los cromosomas artificiales bacterianos utilizados en la presente invención son particularmente útiles en el desarrollo, mantenimiento estable y producción de ADNc viral para utilizarse como una vacuna viva contra patógenos virales de ARN. Alternativamente, dichos cromosomas bacterianos artificiales se utilizan para el mantenimiento y propagación de virus nativos o recombinantes a partir de ADNc, por ejemplo, con fines de investigación. Los cromosomas artificiales bacterianos según la presente invención, particularmente aquellos que comprenden un origen de replicación de levadura, tienen la ventaja además de que proporcionan un sistema versátil para diseñar genéticamente el ADNc viral. Esta versatilidad es particularmente importante en los usos de investigación y desarrollo de dichos cromosomas bacterianos artificiales, por ejemplo, en el diseño de una vacuna viva de ADNc contra un patógeno viral de ARN o en investigaciones que apuntan a ilustrar el papel y la función de ciertos productos génicos virales utilizando un enfoque genético inverso.

En caso de que el cromosoma artificial bacteriano, como se utiliza en la presente invención, comprenda un casete de expresión viral que comprende un ADNc de un genoma de virus de ARN de cadena positiva, se prefiere que dicho ADNc viral esté precedido en su extremo 5' por un promotor dirigido por ARN polimerasa, que tras la introducción en una célula de mamífero, se inicia la transcripción del ADNc viral, mientras que en su extremo 3' está seguido preferiblemente por un elemento para la autoescisión del ARN para escindir el transcrito de ARN de dicho ADNc viral en una posición establecida. Juntos, estos elementos reguladores en cis permiten la transcripción y el procesamiento de dicho ADNc viral en ARN viral infeccioso cuando se introduce el cromosoma artificial bacteriano en una célula de mamífero. Preferiblemente, dicho promotor dirigido por ARN polimerasa es un promotor dirigido por ARN polimerasa II, tal como, por ejemplo, el promotor temprano inmediato de citomegalovirus (CMV-IE) (Thomsen et al. (1984) Proc. Natl Acad Sci. EE.UU. 81, 659-663), el promotor del virus Simian 40 (Deboist y Chambon (1981) Nature 290, 304-310) o los derivados funcionalmente homólogos de los mismos, tal como el promotor quimérico CMV-IE/beta-actina de pollo (CAG) (Niwa et al. (1991) Gene 108, 193-199.) o versiones inducibles de dichos promotores de ARN polimerasa II, tal como el promotor mínimo de CMV-IE que lleva un operador de tetraciclina, (Gossen et al. (1995) Science. 268, 1766-1769; Baron y Bujard (2000) Methods Enzymol. 327, 401-421). Alternativamente, dicho promotor dirigido por ARN polimerasa es un promotor de ARN polimerasa I (Russel y Zomerdiijk (2006) Biochem. Soc. Simp. 73, 203-216) o de ARN polimerasa III, tal como el promotor U6 o H1. Además, se prefiere que dicho elemento para la autoescisión del ARN sea el ADNc de la ribozima genómica del virus de la hepatitis delta (Chadalavada et al., (2007) RNA 13, 2189-2201) o el ADNc de los elementos de ARN de ribozimas autoescindibles similares al virus de la hepatitis delta funcionalmente homólogos, tal como se describe en Webb y Luptak (2011) RNA Biol. 8, 719-727. Preferiblemente, el ADNc viral de un virus de ARN de cadena positiva contenido en dicho casete de expresión viral se deriva de un virus que pertenece a una cualquiera de las siguientes familias virales: los Flaviviridae, que incluye el virus de la fiebre amarilla y otros flavivirus, los hepacivirus que incluye el virus de la hepatitis C, los pestivirus, que incluye el virus de la diarrea viral bovina y el virus de la peste porcina clásica, los Togaviridae, que incluye el alfavirus, el chikungunya y el rubivirus, el virus de la rubéola, los Picornaviridae, que incluye los enterovirus, tal como poliovirus y rinovirus, y los aftosvirus, los Coronaviridae, que incluye el HCoV-229E, el SARS-CoV, el MERS-CoV (descrito inicialmente como coronavirus Novel 2012/London1_novel CoV 2012) y el coronavirus felino, y los hepevirus, que incluye el virus de la hepatitis E, y los Caliciviridae, que incluye el norwalkvirus y el norovirus. Dicho ADNc viral contenido en el casete de expresión viral puede corresponder o a la de un genoma de virus de ARN de tipo silvestre o puede ser una construcción de ADNc viral quimérico en donde se han insertado secuencias de ADN heterólogas y/o se han eliminado, truncado o mutado secuencias virales nativas. Preferiblemente, dichas secuencias de ADN heterólogas codifican uno o más péptidos/proteínas, que se expresan de forma heteróloga por el virus recombinante tras la introducción de un cromosoma artificial bacteriano en un mamífero que contiene un casete de expresión viral que comprende dicho ADNc viral quimérico.

En particular, el cromosoma artificial bacteriano utilizado en la presente invención contiene un casete de expresión viral que comprende el ADNc de la vacuna viva atenuada contra el virus de la fiebre amarilla (YFV)-17D de cadena positiva (Figura 6). Estos cromosomas bacterianos artificiales se pueden utilizar para la clonación estable y la propagación del ADNc de YFV-17D. Además, tales cromosomas bacterianos artificiales pueden servir como una vacuna viva de ADN contra YFV-17D como una alternativa para la vacuna viva atenuada del virus YFV-17D utilizada actualmente (Stamaril® y preparaciones similares como YF-Vax® y otras). Con respecto a la vacuna existente del virus YFV-17D, la vacuna de ADN contra YFV-17 según la presente invención tiene la ventaja de que se puede producir

a un costo menor sin la necesidad de cultivos de células eucariotas o huevos de gallina embrionados. Además, su distribución no requiere una cadena de frío y se puede administrar sin agujas.

Más particularmente, el cromosoma artificial bacteriano utilizado en la presente invención contiene un casete de expresión viral que comprende el ADNc de la vacuna viva atenuada contra YFV-17D en donde se han insertado secuencias de ADN heterólogas y/o se han eliminado las secuencias virales nativas. Por ejemplo, con referencia al documento US6962708, la secuencia de nucleótidos que codifica la proteína prM-E en el ADNc de YFV-17D se puede o eliminar, truncar o mutar de modo que la proteína prM-E funcional de YFV-17D no se exprese, mientras que una secuencia de nucleótidos que codifica la proteína de la envoltura viral de un segundo virus diferente, de modo que la proteína de la envoltura viral del segundo virus se expresa a partir del genoma alterado de la vacuna contra YFV-17D. Preferiblemente, dicho segundo virus es también un flavivirus, tal como la encefalitis japonesa (JE, p. ej., JE SA14-14-2), Dengue (DEN, p. ej., cualquiera de los tipos 1-4 de Dengue; p. ej., la cepa PUO-218 de Dengue-2) (Gruenberg et al. (1988) J. Gen. Virol. 67, 1391-1398.), encefalitis del Valle del Murray (MVE), encefalitis de San Luis (SLE), Nilo Occidental (WN), encefalitis transmitida por garrapatas (TBE) (es decir, encefalitis centroeuropea (CEE) y encefalitis rusa de primavera-verano (RSSE)), y virus de la hepatitis C (VHC). Los flavivirus adicionales para uso como segundos flavivirus incluyen el virus Kunjin, el virus Powassan, el virus de la enfermedad de la selva de Kyasanur, el virus Zika, el virus Usutu y el virus de la fiebre hemorrágica de Omsk. La introducción de dicho cromosoma artificial bacteriano que comprende un ADNc quimérico de YFV-17D en una célula de mamífero da como resultado la producción de un virus quimérico compuesto por los genes y productos génicos responsables de la replicación intracelular que pertenece a YFV-17D y los genes y productos génicos de la cubierta del segundo virus. Dado que la envoltura viral contiene determinantes antigénicos responsables de inducir anticuerpos neutralizantes, el resultado de la infección con el virus quimérico es que se generan dichos anticuerpos contra el segundo virus. Alternativamente, la secuencia de nucleótidos que codifica la proteína prM-E y/o NS1 en el ADNc de YFV-17D se puede o eliminar, truncar o mutar de modo que la proteína funcional prM-E y/o NS1 de la YFV-17D no se exprese como tal, mientras una secuencia de nucleótidos que codifica para un péptido/proteína que contiene un epítipo/antígeno específico de manera que dicha proteína se exprese desde el genoma alterado de la vacuna contra YFV-17D. Alternativamente, los ADNc que codifican proteínas heterólogas se pueden insertar en otras posiciones en el ADNc de YFV-17D dentro del cromosoma artificial bacteriano utilizado en la presente invención, tal como las inserciones entre los genes E y NS1 (Bonaldi et al. (2007) Virol. J. 4, 115.), inserción en el gen C (Jones et al. (2005) Virology 331, 247-259.; Schoggings et al. (2012) Proc. Natl Acad Sci. EE.UU. 109, 14610-14615) o las regiones no traducidas del ADNc de YFV-17D (Jones et al. (2005) citada anteriormente). Preferiblemente, dicha proteína que contiene epítipo/antígeno es un antígeno tumoral, o un antígeno de origen vírico, bacteriano o patógeno parasitario. La introducción de dicho cromosoma artificial bacteriano que comprende un ADNc de YFV-17D quimérico en una célula de mamífero da como resultado la producción de un virus quimérico compuesto por los genes y productos génicos responsables de la replicación intracelular que pertenece a YFV-17D y un gen y producto genético de dicho epítipo/proteína que contiene antígeno. Dado que la envoltura viral contiene determinantes antigénicos responsables de inducir anticuerpos neutralizantes, el resultado de la infección con el virus quimérico es que dichos anticuerpos se generan contra dicho epítipo/proteína que contiene antígeno.

En caso de que el cromosoma artificial bacteriano utilizado en la presente invención comprenda un casete de expresión viral que comprenda un ADNc de un genoma de virus de ARN de cadena negativa, la construcción como se describió previamente para virus de ARN de cadena positiva tiene que ser modificado en una forma que el ADNc viral genómico esté presente en su orientación sentido (antigenómica) con respecto a los elementos cis que impulsan su expresión (Radecke et al. (1995) EMBO J. 14, 5773-5784), y que además comprende el ADNc en orientación sentido que codifica los productos génicos virales en orientación sentido que junto con el ARN viral forman parte del complejo de replicasa viral necesario para el rescate de la replicación de ARN viral. Estos ADNc están flanqueados por los elementos reguladores cis requeridos para expresar estos productos génicos virales que construyen el complejo de replicasa viral a partir del plásmido. En el caso de los virus de ARN de cadena negativa no segmentados (Conzelmann (1998) Annu. Rev. Genet. 32, 123-162) estos productos génicos virales son las proteínas N (NP), P y L. La expresión del ADNc antigenómico del genoma de ARN de cadena negativa puede ser dirigida o por los promotores de ARN polimerasa I o II (Martin et al., (2006) J. Virol. 80, 5708-5715; mientras que el casete de expresión para las proteínas virales que forman el complejo de la replicasa viral puede ser o policistrónico como se encuentra de forma natural en los propios virus o monocistrónico empleando un conjunto de diferentes promotores de la ARN polimerasa (Morita et al. (2012) Biotechniques 0, 1-5) para la expresión equilibrada de cada componente de la replicasa. El rescate del virus de ARN de cadena negativa con genomas de ARN segmentados de un cromosoma artificial bacteriano según la presente invención requiere modificación con respecto al sistema como se describe para virus de ARN de cadena negativa con genomas de ARN no segmentados; más particularmente necesitan ser incorporadas unas casetes de expresión para cada segmento del genoma (Neumann y Kawaoka (2004) Curr. Top. Microbiol. Immunol. 283, 43-60) impulsadas por los promotores apropiados de ARN polimerasa I y II (Fodor et al. (1999) J. Virol. 73, 9679-9682). Debido a la capacidad limitada del vector de los sistemas de vectores de plásmidos utilizados para este propósito según la técnica anterior, todas las funciones requeridas para el rescate de tales virus tienen que proporcionarse en la técnica anterior mediante cotransfección de varios plásmidos, por ejemplo para el rescate de virus influenza utilizando hasta 8 o 12 plásmidos se describió anteriormente en Hoffmann et al. (2002) Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 99, 11411-11416 y Fodor et al. 1999 respectivamente (citado anteriormente). La alta capacidad del vector de los cromosomas bacterianos artificiales para contener grandes insertos, permite expresar genomas de virus de ARN de cadena negativa o segmentos de genoma más secuencias codificantes de proteínas virales adicionales de un solo cromosoma artificial bacteriano de una manera similar a la de los genomas de virus de cadena positiva.

Preferiblemente, dicho ADNc viral de un virus de ARN de cadena negativa contenido en dicho casete de expresión viral y los casetes de expresión adicionales necesarios para el rescate de la replicación viral se derivan de un virus que pertenece a una cualquiera de las siguientes familias virales: Orthomyxoviridae, que incluye los virus de influenza A, B y C, y los paramoxivirus, que incluye el virus del sarampión, el virus de las paperas y el virus sincitial respiratorio.

5 Dicho ADNc viral contenido en el casete de expresión viral puede corresponder o a la de un genoma de virus de ARN de tipo silvestre o puede ser una construcción de ADNc viral quimérico en donde se hayan insertado secuencias de ADN heterólogas y/o se hayan eliminado, truncado o mutado secuencias virales nativas. Preferiblemente, dichas secuencias de ADN heterólogas codifican uno o más péptidos/proteínas, que se expresan de forma heteróloga por el virus recombinante tras la introducción de un cromosoma artificial bacteriano en un mamífero utilizado en la presente invención que contiene un casete de expresión viral que comprende dicho ADNc viral quimérico.

En caso de que el cromosoma artificial bacteriano utilizado en la presente invención comprenda un casete de expresión viral que comprenda los ADNc de un genoma de virus de ARN de doble cadena, la construcción se debe modificar de tal manera que todos los segmentos de genoma de ARN viral necesarios para el rescate de la replicación de ARN viral como se describe en Boyce et al. (2008) J. Virol. 82, 8339-8348), es decir, los 10 ARNs en el caso del virus de la lengua azul, se pueden expresar a partir de los promotores de ARN polimerasa II, que permiten el procesamiento adecuado, principalmente el bloqueo terminal, de los transcritos nacientes. Alternativamente, se pueden utilizar para este propósito promotores de ARN polimerasa I y III. Preferiblemente, dicho ADNc viral de un virus de ARN de doble cadena contenido en dichos casetes de expresión viral se deriva de un virus que pertenece a una cualquiera de las siguientes familias virales de los Reoviridae, que incluye reovirus, rotavirus y virus de la lengua azul. Dichos ADNc virales contenidos en el casete de expresión viral pueden o corresponder a los de un genoma de virus de ARN de tipo silvestre o ser una construcción de ADNc viral quimérico en donde se han insertado secuencias de ADN heterólogas y/o se han eliminado, truncado o mutado secuencias virales nativas. Preferiblemente, dichas secuencias de ADN heterólogas codifican uno o más péptidos/proteínas, que se expresan de forma heteróloga por el virus recombinante tras la introducción de un cromosoma artificial bacteriano en un mamífero utilizado en la presente invención que contiene un casete de expresión viral que comprende dicho ADNc viral quimérico.

En caso de que el cromosoma artificial bacteriano utilizado en la presente invención comprenda un casete de expresión viral que comprenda un ADNc de un virus que utiliza una estrategia de ARN ambisentido para la replicación, la construcción tiene que ser modificado en una forma que todos los segmentos del genoma de ARN viral necesarios para el rescate de la replicación del ARN viral como se describe (Lowen et al. (2004) Virology 330, 493-500.), se expresan a partir de los promotores de la ARN polimerasa I o II. Preferiblemente, dicho ADNc viral de un virus que utiliza una estrategia de ARN ambisentido para la replicación contenida en dicho casete de expresión viral se deriva de un virus que pertenece a una cualquiera de las siguientes familias virales, los Bunyaviridae, que incluye el virus de la fiebre del Valle del Rift, el virus Hantaan y el virus Schmallerberg, y los Arenaviridae que incluye el virus Lassa. Dicho ADNc viral contenido en el casete de expresión viral puede corresponder o a la de un genoma de virus de ARN de tipo silvestre o puede ser una construcción de ADNc viral quimérico en donde se han insertado secuencias de ADN heterólogas y/o se han eliminado, truncado o mutado secuencias virales nativas. Preferiblemente, dichas secuencias de ADN heterólogas codifican uno o más péptidos/proteínas, que se expresan de forma heteróloga por el virus recombinante tras la introducción de un cromosoma artificial bacteriano en un mamífero que contiene casetes de expresión viral que comprenden dicho ADNc viral quimérico.

Como se describió anteriormente y como se ilustró por los ejemplos, la presente invención permite generar altas cantidades de ADNc viral de una calidad suficientemente alta para ser usada en vacunas de ADN.

La formulación de ADN en una preparación de vacuna es conocida en la técnica y se describe en detalle, por ejemplo, en el capítulo 6 al 10 de "DNA Vaccines" "Methods in Molecular Medicine Vol 127, (2006) Springer Saltzman, Shen y Brandsma (Eds.) Humana Press. Totoma, N.J. y en el capítulo 61 de Alternative vaccine delivery methods, páginas 1200-1231, of Vaccines (6ª edición) (2013) (Plotkin et al. Eds.). Los detalles sobre el portador aceptable, diluyentes, excipientes y adyuvantes adecuados en la preparación de vacunas de ADN también se pueden encontrar en el documento WO2005042014, como se indica a continuación.

"Portador, diluyente o excipiente aceptable" se refiere a una sustancia adicional que es aceptable para uso en medicina humana y/o veterinaria, con atención particular a la inmunoterapia.

A modo de ejemplo, un portador, diluyente o excipiente aceptable puede ser una carga sólida o líquida, diluyente o sustancia de encapsulación que se puede utilizar de manera segura en la administración sistémica o tópica. Dependiendo de la vía de administración particular, se pueden utilizar una variedad de portadores, bien conocidos en la técnica. Estos portadores se pueden seleccionar de un grupo que incluye azúcares, almidones, celulosa y sus derivados, malta, gelatina, talco, sulfato de calcio, aceites vegetales, aceites sintéticos, polioles, ácido alginico, disoluciones tamponadas con fosfato, emulsionantes, solución salina isotónica y sales tales como, sales de ácidos minerales que incluyen hidroclouros, bromuros y sulfatos, ácidos orgánicos tal como acetatos, propionatos y malonatos y agua libre de pirógenos.

Una referencia útil que describe los portadores, diluyentes y excipientes farmacéuticamente aceptables es Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co. N. J. USA, 1991) que se incorpora en la presente memoria como referencia.

Se puede emplear cualquier vía segura de administración para proporcionar a un paciente la vacuna de ADN. Por ejemplo, se puede emplear la vía oral, rectal, parenteral, sublingual, bucal, intravenosa, intraarticular, intramuscular, intradérmica, subcutánea, inhalatoria, intraocular, intraperitoneal, intracerebroventricular, transdérmica y similares. La inyección intramuscular y subcutánea puede ser apropiada, por ejemplo, para la administración de composiciones inmunoterapéuticas, vacunas proteínicas y vacunas de ácido nucleico. También se contempla que el bombardeo de micropartículas o la electroporación pueden ser particularmente útiles para la administración de vacunas de ácido nucleico.

Las formas de dosificación incluyen comprimidos, dispersiones, suspensiones, inyecciones, soluciones, jarabes, trociscos, cápsulas, supositorios, aerosoles, parches transdérmicos y similares. Estas formas de dosificación también pueden incluir inyectar o implantar dispositivos de liberación controlada diseñados específicamente para este propósito u otras formas de implantes modificados para actuar adicionalmente de esta manera. La liberación controlada del agente terapéutico se puede efectuar recubriendo el mismo, por ejemplo, con polímeros hidrófobos que incluyen resinas acrílicas, ceras, alcoholes alifáticos superiores, ácidos polilácticos y poliglicólicos y ciertos derivados de celulosa, tal como la hidroxipropilmetilcelulosa. Además, la liberación controlada se puede efectuar utilizando otras matrices de polímeros, liposomas y/o microesferas.

Las vacunas de ADN adecuadas para administración oral o parenteral se pueden presentar como unidades discretas, tal como cápsulas, sobres o comprimidos, cada una contiene una cantidad predeterminada de ADN plasmídico, como un polvo o gránulos o como una disolución o suspensión en un líquido acuoso, un líquido no acuoso, una emulsión de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite. Dichas composiciones se pueden preparar por cualquiera de los métodos de farmacia, pero todos los métodos incluyen la etapa de asociar uno o más agentes como se describió anteriormente con el portador que constituye uno o más ingredientes necesarios. En general, las composiciones se preparan mezclando de manera uniforme e íntima los plásmidos de ADN con portadores líquidos o portadores sólidos finamente divididos o ambos, y luego, si es necesario, se da forma al producto en la presentación deseada.

Las composiciones anteriores se pueden administrar de una manera compatible con la formulación de dosificación, y en tal cantidad que sea efectiva. La dosis administrada a un paciente debe ser suficiente para efectuar una respuesta beneficiosa en un paciente durante un período de tiempo apropiado. La cantidad de agente(s) a administrar puede depender del sujeto a tratar, incluida la edad, el sexo, el peso y el estado general de salud del mismo, factores que dependerán del juicio del profesional.

Normalmente, las vacunas de ADN se usan para la inmunización profiláctica o terapéutica de seres humanos, pero para ciertos virus se pueden aplicar también en animales vertebrados (normalmente mamíferos, aves y peces), incluidos animales domésticos tal como el ganado y animales de compañía. Se considera la vacunación de animales que son un reservorio vivo de virus (zoonosis) tal como monos, ratones, ratas, aves y murciélagos.

Las vacunas pueden incluir un adyuvante, es decir, una o más sustancias que mejoran la inmunogenicidad y/o la eficacia de una composición de vacuna. Sin embargo, las vacunas vivas se pueden dañar eventualmente por los adyuvantes que pueden estimular inmediatamente la respuesta inmune innata de la replicación viral. Ejemplos no limitantes de adyuvantes adecuados incluyen escualano y escualeno (u otros aceites de origen animal); copolímeros de bloque; detergentes tales como Tween-80; Quill A, aceites minerales tales como Drakeol o Marcol, aceites vegetales tales como aceite de cacahuete; adyuvantes derivados de *Corynebacterium* tales como el *Corynebacterium parvum*; adyuvantes derivados del *Propionibacterium* tales como el *Propionibacterium acne*; el *Mycobacterium bovis* (bacilo de Calmette y Guérin o BCG); interleucinas tales como interleucina 2 e interleucina 12; monocinas tales como la interleucina 1; factor de necrosis tumoral; interferones tales como el gamma-interferón; combinaciones tales como saponina-hidróxido de aluminio o Quil A-hidróxido de aluminio; liposomas; ISCOMt) y adyuvante ISCOMATRIX (B); extracto de pared celular micobacteriana; glicopéptidos sintéticos tales como dipéptidos de muramilo u otros derivados; avridina; derivados del lípido A; sulfato de dextrano; DEAE-Dextrano o con fosfato de aluminio; carboxipolimetileno tal como Carbopol'EMA; emulsiones de copolímero acrílico tales como Neocryl A640; vacunas o proteínas de poxvirus animales; adyuvantes de partículas subvirales-iricas, tales como la toxina del cólera, o mezclas de los mismos.

La presente invención se ilustra además por medio de los siguientes ejemplos:

Ejemplos

Ejemplo 1: Animales, virus, células, bacterias y levaduras utilizados en el trabajo experimental presentado en los Ejemplos 2 y 3

Animales

Se criaron en casa ratones 129/Sv con desactivación de ambos receptores de interferón tipo I y II (ratones AG129; B&K Universal Ltd/UK).

Virus y células

Se obtuvieron de ATCC células Vero-B (riñón de mono verde africano; American Type Culture Collection (ATCC) CCL-81) y BHK-21 (células de riñón de hámster bebé; ATCC CCL-10). Todas las células se cultivaron esencialmente como

se describe (De Burghgraeve et al. (2012) PLoS ONE 7, e37244). Se adquirió la vacuna contra el virus de la fiebre amarilla cepa 17D (Stamaryl®) de Sanofi Pasteur MSD, Bruselas, Bélgica.

Bacterias y levaduras

- 5 Las cepas bacterianas utilizadas para la clonación y propagación de rutina de pShuttle-BAC fueron E. coli Top 10 (Invitrogen) y Epi300-T (Epicenter), respectivamente. Las bacterias transformadas con plásmidos de ADNc de flavivirus de longitud completa pACNR-FL17DII, pACNR-DENV2 y p4 (véase a continuación) se cultivaron habitualmente a 28°C y los rendimientos de ADN plasmídico aumentaron por amplificación con cloranfenicol. El plásmido Shuttle que contenía células Epi-300T se cultivó a 37°C y se amplificó como se describe a continuación. Se cultivó la cepa de levadura *Saccharomyces cerevisiae* YPH500 (genotipo: MAT α ura3-52 lys2-801_amber ade2-101_ochre trp1- Δ 63 his3- Δ 200 leu2- Δ 1) en medios selectivos de Difco-BD Biosciences y Sigma-Aldrich. La transformación de células de levadura competentes se llevó a cabo utilizando el método del acetato de litio, y las levaduras se cultivaron a 28°C.

Los cebadores que se utilizan en la sección experimental se muestran a continuación:

Tabla 1: lista de cebadores

#	Nombre del cebador	Secuencia 5' a 3'	SEQ ID NO:
16	mRFP(+)_Age/BstX/NcoKozak	ATCCACCGGTCCACAACCatggcctcctccga ggac	8
17	m RFP(-)_Not/Xba	TGATCTAGAGTCGCGGCCGCTTTAggcgcc ggtqgagtq	9
55	YF17D(-)10862	AGTFFTTTTFTFTTTCATCC	10
109	YF3'-HDrz5'(+)	GGATGACAAACACAAAACCACTGGCCGG CATGGTCCCAGCCTCCTCGCTGG	11
110	HDrzMiddle(+)	GGTCCCAGCCTCCTCGCTGGCGCCGGCT GGGCAACATTCCGAGGGG	12
111	HDrz3'(-)	GTCCCATTGCGCCATTACCGAGGGGACGG TCCCCTCGGAATGTTGCC	13
173	YF17D(+)_1_SP6_Xm a/Not	CCCGGGCGGCCCGCgcatacgatttaggtgaca ctatagAGTAAATCCTGTGTGCTAATTG	14
194	Trp1(+)_Nsi/Not/Sal	atgcatgcccgcgcgtcgacGGTCGAAAAAAGA AAAGGAG	15
195	2micron(+)_Nsi/Ngo M4/R1	Atgcatgcccgcgaattctgaaccagtctaaaacg ag	16
231	DENV2(+)_1_T7_Xma/Not_tataGGGAGTT	cccgggcccgcgctaatagactcactataGGGAG TTGTTAGTCTACGTGG	17
334	pBABEfwd	Accccgcctcaatcctc	18
391	YF17D(+)_10627	GGTTTCTGGGACCTCCCACCCCAGAGT	19
393	miRNA Cloning Linker 1	/5rApp/CTGTAGGCACCATCAAT/3ddC/	20
394	Linker1_reverse/Nhe/Sal	gtcgacgctagcGATTGATGGTGCCTACAG	21
425	HDrz_BstE_Hygro(-)	GGAGGCTGGGACCATGCCGGCCaGGTcA CCggtagctcttgatccggca	22
426	Hygro_BstE_HDrz	tgccggatcaagagctaccGGTgACcTGGCCGG CATGGTCCCAGCCTCC	23

453	SV40(+)-76	Ctccgcccagttccgcccattctccgccccatggctga ctaattttttttatttatgcaq	24
454	SV40/YF17D(+)-1	gactaattttttttatttatgcagaggccgaggccgcct cAGTAAATCCTGTGTGCTAAT	25
455	SV40/DV2(+)-1	gactaattttttttatttatgcagaggccgaggccgcct cAGTTGTTAGTCTACGTGGAC	26
456	HDrz(-)5'	CCCTCGGAATGTTGCCAGCCGGCGCCA GCGAGGAGGCTGGGACCATGCCGGCCa	27
457	YF17D(-)10862_HDrz	GAGGCTGGGACCATGCCGGCCaGTGGTT TTGTGTTTGTCTATCC	28
458	DV2(-)10724_HDrz	GAGGCTGGGACCATGCCGGCCaGAACCT GTTGATTCAACAGCACC	29
474	SV40(-)_HDrz/Pme	CGAGGAGGCTGGGACCATGCCGGCCaGG TCACCgtttaaacGGCCqaggcggcctcggcc	30
475	HDrz(+)_Sfi/Pme/BstE	tttatgcagaggccgaggccgcctcGGCCgtttaaa cGGTGACCTGGCCGGCATGGTCCC	31
552	SV40(-)-1	Gaggcggcctcggcctctgca	32
553	HDrz(+)-5'	tGGCCGGCATGGTCCCAGCCT	33
856	SV40/DV4(+)-1	gactaattttttttatttatgcagaggccgaggccgcct cAGTTGTTAGTCTGTGTGGAC	34
857	DV4(-)10649_HDrz	GAGGCTGGGACCATGCCGGCCaGAACCT GTTGGATCAACAACACC	35
946	HA-tag_H1(-)	ttaTGCATAGTCAGGCACGTCATATGGATA ggatcc	36
947	YF17D(+)-7637_T7p	TCGACTAATACGACTCACTATAGGGggagc gcqaatggaaaaac	37
948	YF17D(-)8136_Sp6p	CGCGCAtACGATTTAGGTGACACTATAGg tatcaagaactctcacgg	38
208		AGTAAATCCTGTGTGCTAATT	39
94		GGCAATCACGACTCGTTGCG	40
953		AGATGGTATCTTCATATTTAGAG	41
954		ACATTTGCTTTGGTCCCTGTCT	42
453	SV40(+)-76	ctccgcccagttccgcccattctccgccccat ggctgactaattttttttatttatgcag	43
988	SV40/hRV14(+)-1	gactaattttttttatttatgcagaggccgaggccgcct cTTAAAACAGCGGATGGGT	44
989	hRV14pA(-)7214_30xA_HDrz	GAGGCTGGGACCATGCCGGCCttttttttttt tttttttttttttATAAACTCC	45
991	SV40/EV71(+)-1	gactaattttttttatttatgcagaggccgaggccgcct cTTAAAACAGCCTGTGGGT	46
992	EV71 pA(-)7408_30xA_HDrz	GAGGCTGGGACCATGCCGGCCttttttttttt	47

		tttttttttttttttGCTATTCTG	
990	HDz(-)5'#2	CCCTCGGAATGTTGCCAGCCGGCGCCA GCGAGGAGGCTGGGACCATGCCGGCC	48

Ejemplo 2: Producción de cromosomas artificiales bacterianos que contienen ADNc viral de YFV-17D, fiebre del dengue tipo 2 (DENV2) y fiebre del dengue tipo 4 (Denv4), respectivamente

Los cromosomas artificiales bacterianos que contienen ADNc viral de YFV-17D, fiebre del dengue tipo 2 (DENV2) y fiebre del dengue tipo 4 (Denv4).se prepararon respectivamente como se describe a continuación.

Material y métodos

Construcciones de plásmidos (cromosomas bacterianos artificiales)

Se generaron todos las construcciones de plásmidos mediante técnicas estándar y se confirmaron mediante secuenciación de Sanger. Se generó el vector lanzadera inducible pShuttleBAC/Pme en varias etapas como sigue (Figura 1). Primero, el gen lacZ presente en pBAC/LacZ (plásmido Addgene #13422), un derivado del pBeloBAC/oriV inducible por arabinosa (Wild et al. (2002) Genome Res. 12, 1434-1444), se reemplazó por un casete de ADN sintético que contenía (i) el promotor/origen del virus Simian 40 (SV40) (SEQ ID 1) que impulsa el gen hph que confiere resistencia a la higromicina B, (ii) el ADNc sintético de la ribozima genómica del virus de la hepatitis delta (HDz) (Chadalavada et al. (2007) RNA 13, 2189-2201) (SEC ID NO 2), y (iii) la *Saccharomyces cerevisiae* origen del plásmido episomal de 2µ y (iv) gen TRP1 que confiere crecimiento prototrófico para triptófano. El bloque de construcción (i) se amplificó por PCR a partir de pBABE-hygro (Morgenstern et al. (1990) Nucleic Acids Res. 18, 3587-3996; plásmido Addgene #1765) utilizando los cebadores #334 y #425. Se amplificó el bloque de construcción (ii-iv) por PCR a partir de pJet(-)/Trp1_2micron-YF3'_HDz_BstE utilizando los cebadores #426 y #231. El plásmido pJet(-)/Trp1_2micron-YF3'_HDz_BstE es un derivado de pJet1.2/blunt (CloneJET PCR cloning kit, Fermentas) que contiene una fusión del extremo 3' del ADNc de YFV-17D (que comprende los nt virales 9466 a 10862) a (ii) el HDz (ensamblado a partir de los nucleótidos de ADN #109, 110 y 111) y las secuencias 2µ-TRP1 (iii+iv) que originalmente se derivaron de pRE637 (Esteban & Fujimura, (2003) Proc. Natl Acad Sci. EE.UU. 100, 2568-2573) que utiliza los cebadores de PCR #194 y #195. El bloque de construcción (i) se fusionó a (ii-iv) por PCR de extensión solapada antes de la clonación en los sitios SalI de pBAC/LacZ para dar lugar a la construcción intermedia pShuttleBAC/SV40_Hygro_HDz. Posteriormente, el elemento de relleno de genes hph se reemplazó a partir de pShuttleBAC/SV40_Hygro_HDz para un sitio de clonación múltiple (Sliyo-PmeI-PrimerioEII) en el vector lanzadera final pShuttleBAC/Pme (Figura 1A) mediante una PCR invertida que abarca el plásmido completo utilizando los cebadores #474 y #475 y la recircularización mediante la ADN ligasa de T4 antes de la transformación y clonación en *E. coli*.

Las construcciones de expresión de los virus pShuttle/YF17D, pShuttle/DV2 y pShuttle/DV4 se generaron al pegar los ADNc de YFV-17D (SEQ ID NO 3), la cepa Nueva Guinea-C del DENV2 (NGC) y la cepa Dominica del DENV4, respectivamente, en pShuttleBAC/Pme por recombinación homóloga en *S. cerevisiae* (Figura 1B). Con ese fin, los ADNc virales se amplificaron mediante tres rondas de PCR que introducían extensiones terminales que contenían los -76 pb del promotor/origen SV40 (Ghosh et al. (1981) Proc. Natl Acad Sci. EE.UU. 78, 100-104) en sus extremos 5' y la secuencia HDz de 86 nt (Chadalavada et al., (2007) RNA 13, 2189-2201) en sus extremos 3'. La primera PCR (10 ciclos) utilizó combinaciones de cebadores específicos para virus #454 más #457, #455 más #458 y #856 más #857, respectivamente, seguidos de 10 ciclos cada uno utilizando el SV40 y HDz específico #453 más #456, y finalmente los cebadores #453 más #111. Los respectivos moldes de ADNc viral fueron pACNR-FLYF1DII (Bredenbeek). et al. (2003) citado anteriormente), pACNR-DENV2 y p4 (Durbin et al. (2001) Am J Trop Med Hyg. 65, 405-413). El plásmido pACNR-DENV2 es un derivado de pACNR-FLYF17D en donde la secuencia YFV-17D se reemplazó por el ADNc de NGC del DENV2 derivado del pDVWS601 (Gualano et al. (1998) Gen. Virol. 79, 437-446), sin embargo contiene sitios Age y BstEII de traducción silenciosa extras en las posiciones nt 7537 y 10232 del genoma viral, respectivamente. La parte del vector linealizado necesaria para la recombinación se realizó mediante una PCR invertida en pShuttleBAC/Pme que se prelinealizó con PmeI utilizando los cebadores #552 más #553. Los vectores amplicones se trataron con DpnI antes de la purificación en gel y la transformación en levadura YPH500 para reducir la transferencia de la forma de fondo un molde de plásmido posiblemente sin cortar. Se cultivaron los clones de levadura en ausencia de triptófano para seleccionar plásmidos lanzadera recombinantes. Los ADN plasmídicos recuperados de las minipreparaciones de levadura se transfirieron a las células de *E. coli* Epi300-T (Epicenter) y se amplificaron, como se describe (Wild et al. (2000) citado anteriormente), mediante la adición de 0,1% (p/v) de L-arabinosa a los cultivos durante la noche diluidos 6 veces en medio LB fresco (complementado con cloruro de magnesio 20mM) y crecimiento durante 6 horas a 37°C con agitación vigorosa.

Se generó por recombinación homóloga una variante de YFV-17D que contenía una mutación letal no convertible en su ORF NS5 (RdRp ΔGDD) de una longitud de 3,6kb, BglII-PstI, fragmento de restricción I derivado del plásmido episomal de levadura (YEpl) p404Gal1/HA-NS5ΔGDD_ura3 que comprendía un ADNc de YFV-17D mutado de forma apropiada nt 9294 cadena abajo en pShuttle/YF17D linealizado por ClaI (nt 9656 cadena abajo de YFV-17D) y KasI (cadena arriba del HDz, posición nt +27) para producir pShuttle/YF17DAGDD.

Resultados

Una serie de construcciones de ADN sintético (serie pShuttleBAC) se ha ensamblado a partir de varios bloques de construcción de ADN para servir como plásmidos de expresión de virus de ARN (Figura 1). La construcción vectorial común pShuttleBAC/Pme es un cromosoma artificial bacteriano que contiene un segundo origen (oriV) para la amplificación condicional en *E. coli*, y un origen de levadura de 2 μ y un marcador auxotrópico TRP1 para la replicación episomal en *Saccharomyces cerevisiae* (Figura 1A). Se insertó el ADNc de la vacuna contra YFV-17D para producir pShuttle/YF17D mediante homólogo entre el promotor de SV40 y la ribozima del HDV presente en pShuttleBAC/Pme (Figura 1B). Se muestra el mapa de pShuttle/YF17D en la Figura 8 (SEQ ID NO 4). Se han insertado también los ADNc de otros flavivirus. En contraste con los clones de ADNc flaviviral de la técnica anterior, tales como pACNR-FLYF17DII, pShuttle/YF17D muestran una estabilidad genética superior en *E. coli* (Figura 2), sin embargo, se puede inducir a producir altos rendimientos de ADN plasmídico.

Ejemplo 3: Caracterización in vitro e in vivo del cromosoma artificial bacteriano que comprende el ADNc de la vacuna contra YFV-17D

Se encontró que las características de YFV-17D expresadas a partir de un cromosoma artificial bacteriano son idénticas a las del virus de la vacuna original (tal como la eficacia de la replicación, el rendimiento del virus y el fenotipo de la placa). Además, cuando este ADN de plásmido de YFV-71D desnudo se inyectó i.p. en ratones AG129, dió como resultado la misma patología, morbilidad y mortalidad que el virus parental. Este sistema conveniente, robusto y reproducible proporciona una vacuna de ADN para YFV a bajos costos sin la necesidad de cultivos de células eucariotas o huevos de gallina embrionados. Ya no requerirá una cadena de frío y se puede administrar sin agujas.

Material y métodos

Transcripción in vitro, bloqueo terminal in vitro y electroporación

El plásmido pACNR-FLYF17DII (Bredenbeek et al. (2003) J. Gen. Virol. 84, 1261-1268) que contenía el ADNc de YFV-17D de longitud completa se linealizó con Afill y se purificó por digestión con proteinasa K, extracción con fenol-cloroformo y precipitación con etanol. Alternativamente, se realizaron los moldes de ADNc de longitud completa para la transcripción in vitro (IVT) por PCR de pACNR-FLYF17DII utilizando los cebadores #173 y #55 y la ADN polimerasa de alta fidelidad KAPA para superar los rendimientos limitados de plásmidos. Se produjeron transcritos de ARN carrera (run-off) in vitro mediante el uso de la ARN polimerasa Sp6 (kit de producción de ARN de gran escala Ribomax, Promega). Los transcritos se bloquearon terminalmente utilizando la transferasa de la 7-metilguanosina del virus vaccinia purificado (sistema de bloqueo terminal, Scriptcap 7mG, Epicenter) y se usaron para la electroporación de células BHK-21 que utiliza un exceso de ARN total extraído de células BHK-21 como ARN portador. El medio de cultivo celular se recolectó en el momento en que las células transfectadas mostraron una citopatogenicidad casi completa. El medio se eliminó de los residuos de la célula mediante centrifugación y posteriormente se utilizó para preparar reservas de virus en células BHK-21.

Transfección de plásmidos

Las células Vero-B se sembraron en un medio que contenía un 10% de suero de ternera fetal en placas de 6 pocillos hasta una confluencia del 70% y se transfectaron al día siguiente con 2,5 μ g de ADN plasmídico utilizando el reactivo Transit-LT1 (Mirus) en una relación ADN-a-vehículo de 1:3. El plásmido pmRFP1 se cotransfectó en una relación de 1:10 para servir como un control visual para garantizar eficiencias de transfección iguales. Para el mantenimiento a largo plazo y la producción de reservas de virus, se cambió el medio después de la incubación durante la noche para contener solo 2% de suero.

Mapeo de los extremos del ARN viral

El procesamiento apropiado del ARN viral derivado del vector pShuttleBAC se analizó mediante amplificación rápida de los extremos del ADNc (RACE). Después de 5' RACE se ha publicado con gran detalle un nuevo protocolo de ligación inversa/amplificación (Dallmeier & Neyts (2013) Anal. Biochem. 434, 1-3). La 3' RACE del ARN genómico de YFV-17D no poliadenilado se realizó esencialmente como se describe antes. En resumen, 5 μ l de ARN total tratado con ADNasa I de células Vero transfectadas con pShuttle/YF17D (aproximadamente 1 μ g de ARN) se ligaron al enlazador modificado #393 5'-adenilado y 3'-didesoxicitosina (ddC) (miRNA Cloning Linker 1, IDT DNA Technologies) por la actividad del mutante K227Q de la ARN ligasa 2 de T4 (New England Biolabs) en presencia del 15% de polietilenglicol (PEG)-8000 en un volumen total de reacción de 10 μ l durante la noche a 16°C. Los productos de ligación se amplificaron mediante RT-PCR en una sola etapa (Qiagen) utilizando los cebadores específicos de enlazador #391 y #394 de YFV-17D, respectivamente. Los amplicones de 265 pb se purificaron en gel y se clonaron en pJet1.2/blunt (kit de clonación PCR CloneJet, Fermentas) después de pulir los extremos 3' salientes de adenina generado por la ADN polimerasa Taq y se analizaron mediante secuenciación de Sanger.

Detección de formas de ARN replicativo viral intracelular

La transferencia Northern y la detección de intermedios replicativos víricos después de la desnaturalización por electroforesis en gel de agarosa se realizó esencialmente como se describe (Dallmeier et al. (2008) PLoS Pathog. 4,

- e1000230) con ligeras modificaciones con respecto al sistema de gel y el diseño de la sonda empleado. Brevemente, se desnaturalizaron por calor 3µg de ARN total y se separaron a través de un gel de agarosa al 1% en ácido 3-(N-morfolino)propanosulfónico 20mM, pH 7,0, acetato de sodio 5mM y ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 2mM que contenía formamida al 1% y 0,01 µg mL⁻¹ de bromuro de etidio seguido por transferencia capilar en membranas de nailon con carga positiva (Roche Diagnostics) en 20x SSC (cloruro de sodio 3M, citrato de sodio 300 mM, pH 7,0). Se generaron sondas de ADN complementario de cadena sencilla marcadas con DIG de cadena específica al extremo 5' de la región NS5 de YFV-17D (nt 7637-8136) según Knuchel et al. (2000) J. Histochem. Cytochem. 48, 285-294, utilizando los cebadores #947 y #948. Las hibridaciones y la inmunodetección se realizaron según el manual de aplicación de DIG para hibridación de filtros (Roche Diagnostics).
- 5
- 10 Cuantificación del virus por ensayo de placa y RT-qPCR
- Se cuantificó 7 días d.i. el virus infeccioso liberado de las células transfectadas mediante un ensayo de placa viral de monocapas confluentes de células BHK-21 que utilizan una capa de celulosa microcristalina al 1% (Avicell) en medio de mantenimiento 0,5x como se describe antes (Kaptein et al. (2010) Antimicrob Agents Chemother. 54, 5269-8520). Para la cuantificación de las cargas de ARN viral en tejidos de ratón infectados, se deshicieron trozos de necropsias congeladas en un molino de bolas Precellys en tampón RLT (RNeasy, Qiagen), y posteriormente se extrajo el ARN total según las instrucciones del fabricante. La PCR cuantitativa con transcriptasa inversa (RT-qPCR) para el ARN de YFV-17D se realizó exactamente como se describe (Kaptein et al. (2010) citado anteriormente) utilizando cebadores y sondas dirigidas a un tramo de aproximadamente 150 nt del gen NS3 y diluciones en serie del mismo fragmento de ADNc de YFV-17D clonado como estándares.
- 15
- 20 Ensayo de inmunofluorescencia
- Los sobrenadantes eliminados de células BHK-21 transfectadas con pShuttle/DV2 7d d.t. se utilizaron para inocular cultivos de Vero-B subconfluentes que se fijaron después de 5 días en paraformaldehído al 4% y se inmunotifaron esencialmente como se describió anteriormente (De Burghgraef et al. (2012) PLoS ONE 7, e37244). La expresión de la proteína E intracelular se detectó mediante el anticuerpo monoclonal específico para el serotipo DENV2 (mAb) 3H5.1 (Millipore) y un Ab secundario marcado con Alexa Fluor-488 (Millipore). Después de la tinción con DAPI, se visualizaron las células utilizando una estación de imágenes de células FLoid (Life Technologies).
- 25
- Transfección in vivo de ratones
- Se mezcló de 10 a 20µg de ADN plasmídico con 20µg de microflores de carbonato de calcio como portador (Fumoto et al. (2012) Mol. Pharm. 9, 1962-1970) en propilenglicol al 33% e inyectado por vía intraperitoneal en ratones AG129 adultos (aproximadamente 20g). Alternativamente, se inyectó por vía intraperitoneal media dosis de vacuna viva atenuada contra YFV-17D (Stamaril®, Sanofi Pasteur MSD, Bruselas). Se monitorearon el peso y el comportamiento diariamente.
- 30
- Resultados
- Si se transfecta en células de mamífero, la transcripción del ARN de YFV-17D adecuadamente procesado se pone en marcha desde pShuttle/YF17D (Figura 3B) que inicia la replicación del virus autosostenida intracelular (Figura 3A). Las células transfectadas con pShuttle/YF17D secretan finalmente viriones infecciosos que no se pueden distinguir fenotípicamente del virus YFV-17D parental con respecto a su capacidad para inducir un efecto citopático en el cultivo de tejidos (Figura 4A-C), el rendimiento del virus y el fenotipo de la placa (Figura 4D + E). Los virus recombinantes así generados se pueden por lo tanto considerar biológicamente idénticos (cuantitativamente y cualitativamente). Del mismo modo, las células transfectadas con pShuttle/DV2 producen la cepa recombinante infecciosa Nueva Guinea C del DENV2 (Figura 5).
- 35
- 40
- La transfección intraperitoneal de pShuttle/YF17D en ratones AG129, un modelo in vivo de ratón letal establecido de la infección por YFV-17D (Meier et al. (2009) PLoS Pathog. 5, e1000614; Thibodeaux et al. (2012) Vaccine 30, 3180-3187), causa una mortalidad similar inducida por el virus (Figura 6) y morbilidad (Figura 7) como la vacuna Stamaril® genuina contra el YFV. En conclusión, su sistema conveniente, robusto y reproducible puede permitir el desarrollo de una vacuna de ADN para YFV a bajos costos sin la necesidad de cultivos de células eucariotas o huevos de gallina embrionados. Ya no requerirá una cadena de frío y se podría administrar sin agujas.
- 45
- Ejemplo 4: Morbilidad y mortalidad inducida por pShuttle/YF17D (DNA-YFVax) en ratones AG129 infectados por vía subcutánea, y por inyección a chorro sin aguja de ADN plasmídico desnudo
- 50
- 55 Para determinar la viabilidad de otras vías para la aplicación de pShuttle/YF17D (DNA-YFVax) además de la vía intraperitoneal, se inyectaron grupos (n = 3) de ratones AG129 machos de 9 semanas de edad (machos, peso 22 a 25 g) con 25µg de DNA-YFVax en 100 µL de solución salina tamponada con fosfato (PBS), o (i) por vía subcutánea (s.c.) utilizando una jeringa y una aguja G27, o (ii) transdérmicamente (t.d.) mediante un inyector a chorro sin aguja (Injex-30, Injex Pharma GmbH, Berlín, Alemania) aprobado para uso clínico en humanos por aplicación t.d. de, por ejemplo, insulina o anestésicos. El AG129 inyectado i.p. con 25µg de DNA-YFVax formulado con microcristales de carbonato de calcio en 200 µL de propilenglicol al 33%, servía como antes como grupo control. La morbilidad y la mortalidad se anotaron como antes, el experimento finalizó después de 30 días (véase tabla 2).

Tabla 2: Mortalidad en ratones AG129 machos inyectados con ADN-YFVax a través de diferentes vías

grupo	mortalidad	día a la muerte	MDD
intraperitoneal (con CaCO ₃)	0/3	n.a.	n.a.
subcutáneo	1/3	13, n.a., n.a.	n.a.
inyección a chorro	3/3	16, 16, 19	17±2
MDD (en inglés, mean day to death)-día medio a la muerte; n.a.-no aplica			

Al menos algunos de los ratones AG129 inyectados con ADN-YFVax por la vía s.c. y t.d. desarrollaron signos de enfermedad inducida por YFV-17D (pérdida de peso, ondulamiento del pelaje, espalda encorvada, parálisis de las extremidades posteriores) y tuvieron que ser sacrificados. Lo más importante, todos los ratones inyectados mediante inyección a chorro sin aguja murieron sistemáticamente a causa de la encefalitis inducida por YFV-17D dentro de los 17±2 días, mientras que todos los ratones control inyectados i.p. sobrevivieron a lo largo del transcurso del tiempo del experimento (30 días). La falta de mortalidad en el grupo control durante el curso de la inspección (en comparación con un MDD de 13±2 presentado en el ejemplo 3) se puede explicar fácilmente por el peso mayor y el sexo masculino de los animales utilizados.

Es de destacar que el uso de carbonato de calcio como portador de DNA-YFVax no es necesariamente óptimo para la administración de vacunas; concretamente en ocasiones incluso se observó algún efecto inhibitorio en los hámsters (véase ejemplo 5) dependiendo de ambos, la vía de inyección y la variabilidad entre los diferentes lotes de microflores de carbonato de calcio. En conclusión, el DNA-YFVax se puede administrar con éxito en diferentes formulaciones y por diferentes vías de inyección, que incluye por inyección a chorro sin aguja.

Ejemplo 5: Seroconversión de hámsters dorados sirios después de la inmunización con pShuttle/YF17D (DNA-YFVax)

Para determinar la inducción de la inmunidad protectora a YFV por el ADN-YFVax, se utilizó el modelo preclínico de los hámsters dorados sirios (*Mesocricetus auratus*) (Tesh et al. (2001) J Infect Dis. 183, 1431-1436). Con ese fin, se inmunizaron grupos de hámsters hembra (de 8 a 10 semanas, 90-100 g) por inyección intraperitoneal (i.p.) o de una 1/5 dosis de Stamaril® (100µL), o 20µg de pShuttle/YF17D (ADN-YFVax) formulado con microcristales de carbonato de calcio en 200µL de propilenglicol al 33% como antes. En una repetición, se aplicaron en cambio 10µg de DNA-YFVax. Se extrajo la sangre semanalmente mediante punción cardíaca bajo anestesia quirúrgica completa, se recolectaron los sueros mediante centrifugación y se almacenaron congelados a -80°C. Dos hámsters no tratados sirvieron como donantes para los sueros normales. Para anotar las correlaciones inmunológicas de protección adecuadas, se analizaron los sueros (i) mediante un ensayo de inmunofluorescencia indirecta (IIFA) y (ii) mediante un ensayo de neutralización por reducción de placas (PRNT).

Ensayo de inmunofluorescencia indirecta (IIFA). Los anticuerpos IgG específicos de YFV-17D (Stamaril® y DNA-YFVax) en suero de hámster inmunizado se determinaron utilizando un kit comercial de IIFA de YFV (EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG, Lübeck, Alemania, número de catálogo FI-2665-1005G y FI-2665-1010G) validado para uso clínico en humanos (Niedrig et al. (2008) Clin Vaccine Immunol. 15, 177-81) De acuerdo con las instrucciones del fabricante con algunas modificaciones. El suero de hámster se diluyó a 20, 66, 200, 660 y 2000 veces en tampón de muestra y se aplicaron 30µl de dilución de suero en los portaobjetos de YFV-IIFA. Los portaobjetos se incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente y luego se lavaron en PBS que contenía Tween-20 al 0.2% durante 5 minutos. Para la detección de anticuerpos inducidos en *Mesocricetus* el anticuerpo secundario IgG antihámster marcado con FITC (Jackson Immuno Research Laboratories Inc., número de catálogo 307-095-003) se diluyó 1:50 en PBS que contenía BSA al 2% y se utilizó en lugar del anticuerpo secundario antihumano proporcionado en el kit. Las diapositivas se contrastaron con DAPI y los títulos de punto final se determinaron mediante microscopía de fluorescencia.

Ensayo de neutralización por reducción de placas (PRNT). Se determinaron los títulos de anticuerpos neutralizantes en sueros de hámster vacunados contra la fiebre amarilla utilizando PRNT. En resumen, se colocaron 0,5x10⁶ células BHK/pocillo, se sembraron en placas de 12 pocillos durante la noche en medio de crecimiento (MEM, medio complementado con FCS al 10%, bicarbonato de sodio al 1% y glutamina al 1%). Todos los sueros se analizaron en triplete en diluciones en serie 1:20, 1:66, 1:200, 1:660, 1:2000 y 1:6600. Se mezclaron 30µL de dilución de suero con 30µL de medio de ensayo (idéntico al medio de crecimiento pero que contenía solo FCS al 2%) que contenía 40 placas que formaban el virus YFV-17D (Stamaril®, lote G5400P1, se sometieron a pases una vez sobre células Vero-B). Después de esta adsorción previa durante 1 hora a 37°C, se añadieron 440µL de medio de ensayo y se añadieron 500µL de cada mezcla a las células BHK. Después de 1h de incubación a temperatura ambiente, se lavaron las células y se cubrieron con medio de ensayo complementado con agarosa LMP (Invitrogen) a una concentración final del 0,5%. Posteriormente, se cultivaron las células durante 5 días a 37°C, se fijaron con formaldehído al 8% durante 2 horas y se tiñeron con tinción de Giemsa. Se contaron las placas y los títulos de neutralización del 50% se calcularon según

Reed y Munch (Reed & Muench (1938) Am. J. Hyg. 27, 493-497).

En general, la detección de anticuerpos de reacción cruzada por IIFA (tabla 3) y de anticuerpos neutralizantes por PRNT fue consistente (tabla 4). Con respecto a la eficacia de la vacuna, la ADN-YFVax no mostró inferioridad a Stamaril®; en ambos grupos de prueba, 2 de cada 3 individuos (1/5 de Stamaril® vs. 20µg de ADN-YFVax) y 4 de cada 5 en comparación con 2 de cada 4 individuos (1/5 de Stamaril® vs. 10µg de ADN-YFVax) seroconvirtieron a títulos altos de anticuerpos reactivos cruzados y neutralizantes de YFV (véase tabla 3 y 4). Se puede considerar que estos valores representan una inmunidad protectora total (correlatos inmunes de protección), con títulos de PRNT de >40 que son protectores en un modelo de hámster de desafío de YFV letal (Julander et al. (2011) Vaccine 29, 6008-6016). Lo más importante es que la OMS establece un índice de neutralización logarítmica (LNI) de >0,7 ya que se correlaciona con la protección inmunológica después de la vacunación en primates, y esto se aplica a los humanos (Documento de posición de la OMS (2013) Wkly. Epidemiol. Rec. 88, 269-283.). Este índice de referencia de títulos PRNT Log10 >0,7 es superado por ADN-YFVax en hámsters en varios órdenes de magnitud, en más de 150 veces (consulte la Tabla 4).

Además, la respuesta inmune fue más homogénea en individuos vacunados con ADN-YFVax en comparación con Stamaril®, con la seroconversión a títulos altos de PRNT detectados de manera constante en 3 semanas, en lugar de solo 4 semanas después, es decir, 3 semanas más tarde que el otro seroconvertidor del grupo Stamaril®.

Tabla 3: Respuestas de anticuerpos de reacción cruzada de YFV en hámsters dorados sirios inmunizados con Stamaril® y ADN-YFVax

Grupo	Log10 del título medio geométrico de IIFA *				
	d28	d21	d14	d7	d3/D0
8-10 semanas ♀♀ hámster	ND				
8-10 semanas ♀♀ hámster + Stamaril® (1/5)	2,3 (2/3)	2,3 (2/3)	2,3 (1/3)	1,3 (1/3)	ND
8-10 semanas ♀♀ hámster + Stamaril® (1/5)	1,9 (4/5)				
8-10 semanas ♀♀ hámster + ADN-YFVax (20µg)	2,3 (2/3)	2,3 (2/3)	2,3 (1/3)	ND	ND
8-10 semanas ♀♀ hámster + ADN-YFVax (10µg)	2,3 (2/4)	2,3 (2/3)	2,8 (2/4)	ND	ND
ND=sin detección; * (x/x) = n.º individuos seroconvertidos de n.º de individuos evaluados					

Tabla 4. Respuestas de anticuerpos neutralizantes en hámsters dorados sirios inmunizados con Stamaril® y ADN-YFVax

	Animales	Título medio geométrico de PRNT, día 28 d.i.
No inmunizado	H001	ND
	H002	ND
8-10 semanas ♀♀ hámster + Stamaril® (1/5)	H012	405±57
	H013	ND
	H014	947±98
8-10 semanas ♀♀ hámster + ADN-YFVax (20µg)	H015	ND
	H016	928±45
	H017	822±151
ND=sin detección		

Ejemplo 6: Determinación de la inestabilidad genética de los ADNc de YFV-17D clonados

(a) Material de partida: Se realizaron preparaciones de plásmidos a gran escala de pACNR-FLYF17DII (Bredenbeek) et al. (2003) anteriormente y pShuttle/YFV-17D utilizando técnicas estándar. Con ese fin, se transformó pACNR-FLYF17DII en una cepa derivada estándar de *E. coli* K12, se sembró en placas de agar LB que contenían 100 µg/mL de ampicilina y se cultivó durante la noche a 28°C (en lugar de 37°C) para favorecer la estabilidad del plásmido. Se incrementó secuencialmente una pequeña colonia y se cultivó en LB que contenía 100 µg/ml a 28°C bajo agitación vigorosa en dos cultivos consecutivos durante la noche, para finalmente alcanzar un cultivo discontinuo de 1L. Este lote se cultivó durante la noche a 28°C y se amplificó finalmente por adición de cloranfenicol a una concentración final de 20 µg/mL durante otras 8 horas a 28°C. De manera similar, se transformó pShuttle/YFV-17D en células de la cepa *E. coli* EPI300-T (Epicentre), se sembró en placas de agar LB que contenían 20 µg/ml de cloranfenicol, pero se cultivaron durante la noche a 37°C. Se incrementó secuencialmente el último plásmido, por lo tanto, pero todo el crecimiento fue en presencia de 20 µg/ml de cloranfenicol y a 37°C. Se diluyó el último cultivo discontinuo durante la noche, uno en seis en medio LB fresco que contenía 20 µg/ml de cloranfenicol y L-arabinosa al 0,01%, y se cultivó durante no más de 6h. Se purificaron los plásmidos utilizando una columna estándar de purificación de afinidad (Qiagen), se disolvieron en TE (Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM) hasta una concentración final de 1 µg/mL y se almacenaron congelados a -20°C.

(b) Crecimiento y tamaño de la colonia. Se transformaron ambos plásmidos en *E. coli* EPI300-T y se estiraron sobre agar MacConkey (2% de peptona, 0,5% de NaCl, 1% de lactosa, 0,15% de sales biliares, 0,003% de rojo neutro, 0,0001% de cristal violeta, 1,35% de agar) que contenía el antibiótico adecuado como medio selectivo. Se embebieron perlas de zirconia estériles (diámetro 2,5mm) en el agar para servir como calibradores para mediciones de tamaño absoluto. Para una alícuota de bacterias transformadas con pShuttle/YFV-17D, el agar contenía L-arabinosa adicional al 0,01%. Después de la incubación durante 16 horas a 37°C, se tomaron fotografías utilizando una cámara digital habitual (Canon Powershot SX10IS) y se almacenaron como archivos JPEG (véase la Figura 9). Las imágenes se enviaron a OpenCFU versión 3.8.11 para el análisis de imágenes con respecto al recuento y tamaño de colonias, Geissman (2013) PLoS One. 8, e54072.

Los clones *E. coli* que albergan a pShuttle/YFV-17D crecieron a tamaños mucho más grandes y poblaciones mucho más homogéneas (Figura 9B) que los clones que contenían pACNR-FLYF17DII (Figura 9A). Inesperadamente, esta toxicidad aparentemente menor de pShuttle/YFV-17D permanece incluso en el estado inducido por arabinosa (Figura 9C). Las colonias más grandes presentes en la población transformante pACNR-FLYF17DII (Figura 9A) contienen más probablemente plásmidos con mutaciones que eliminan la expresión críptica de proteínas virales tóxicas (véase Ejemplo 6).

El análisis de la imagen reveló una homogeneidad significativamente mayor en los clones que contenían pShuttle/YFV-17D en comparación con el pACNR-FLYF17DII (Tabla 5). De hecho, los transformantes pACNR-FLYF17D se pueden dividir, obviamente, en al menos dos subpoblaciones de medias de diferentes tamaños, dando como resultado (i) una gran desviación estándar de la media (Tabla 5), una distribución de tamaños no gaussiana (Figura 10A) y (iii) una gran diferencia, por ejemplo, entre las medias aritméticas calculadas y el tamaño medio de las colonias (Tabla 5). Por el contrario, los transformantes que albergan pShuttle/YFV-17D muestran un tamaño de colonia más homogéneo (Tabla 5) y una distribución de tamaño de Gauss en forma de campana (Figura 10B). Inesperadamente, esto último se aplica también completamente al estado inducido por arabinosa de pShuttle/YFV-17D (Tabla 5, Figura 10C).

Tabla 5. Estadística descriptiva que puntúa los tamaños de colonias transformantes (en mm)

Estadística descriptiva	pACNR-FLYF17DII	pShuttle/YFV-17D	pShuttle/YFV-17D + ara
Media	0,265832815	0,583330396	0,462981572
Error estándar	0,002723111	0,003093512	0,002016904
Mediana	0,2	0,616	0,477
Modo	0,15	0,616	0,477
Desviación estándar	0,154475074	0,123314407	0,086633004
Varianza de la muestra	0,023862548	0,015206443	0,007505277
Curtosis	1,265566671	0,005301521	0,450188526
Asimetría	1,50038333	-0,216414415	0,070062482

Intervalo	1	0,728	0,583
Mínimo	0,1	0,224	0,212
Máximo	1,1	0,952	0,795
Suma	855,45	926,912	854,201
Recuento	3218	1589	1845

Ejemplo 7 Patrón y frecuencia de mutación durante la propagación de los ADNc de YFV-17D clonados en E. coli

Con el fin de abordar la estabilidad genética clonal de los plásmidos que contienen ADNc de YFV-17D, ambos plásmidos como se describe en el Ejemplo 6 se transformaron en E. coli EPI300-T y se estiraron sobre agar MacConkey que contenía el antibiótico apropiado como un medio selectivo como antes (véase Ejemplo 6b). Los clones pACNR-FLYF17DII se incubaron a 28°C durante 24h, mientras que los clones pShuttle/YFV-17D se incubaron a 37°C durante 16h.

De cada plásmido, se escogieron dos series de cada 24 a 48 colonias para el crecimiento del plásmido en 200 µl de medio líquido (LB que contenía el antibiótico apropiado suplementado con MgCl₂ 20mM). Se eligió para empezar una serie pACNR-FLYF17DII de colonias pequeñas (serie pAS) y una de colonias grandes (serie pAL), respectivamente. Para pShuttle/YFV-17D donde no se pudieron observar mayores diferencias de tamaño (véase Ejemplo 6b), las colonias con diferencias de tamaño razonables se eligieron como dos series de cultivos partiendo de colonias más pequeñas (serie pSS) y más grandes (serie pSL), respectivamente.

Se incubaron las bacterias que contenían el plásmido pACNR durante 24 horas a 28°C, mientras que las colonias pShuttle se incubaron durante la noche a 37°C y, posteriormente, durante 6 horas en 600 µl de LB que contenía cloranfenicol y arabinosa al 0,01%. Parte de estos cultivos [considerados como plásmidos de pase 0 (P0)] donde se sometieron directamente a PCR para la amplificación (GoTaq Green Mastermix, Promega) utilizando los cebadores #208 y #94 (que corresponde a YFV-17D de nt 1-940 y #953 y #954 que corresponde a YFV-17D de nt 2500-3600, respectivamente).

Los amplicones se purificaron por afinidad (Qiagen) y se secuenciaron directamente (Bigdye, Applied Biosystems) utilizando los cebadores #208 y #953, respectivamente. Se esperaba que las regiones de ADNc analizadas contuvieran ADNc con determinantes de toxicidad conocidos previamente, concretamente, promotores crípticos para la transcripción y traducción ilegítimas en E. coli en la región viral no traducida 5' (Li et al. (2011) citado anteriormente; Pu et al. (2011) citado anteriormente) y una extensión de proteínas especialmente hidrófobas dentro de las regiones virales E-NS1 (Yamshchikov et al. (2001) Virology 281, 272-280.), respectivamente.

Se diluyó 1/100 otra parte de cada clon cultivado en medio fresco y se cultivó como antes para dar lugar al siguiente pase (P1). El último se repitió hasta 10 pases (P10). Los plásmidos de P1, P3 y P3 donde se analizaron mediante PCR y secuenciación como antes. Para P10, el plásmido se cultivó en un volumen mayor de 5 ml de medio y los plásmidos se aislaron mediante un procedimiento estándar de minipreparación de plásmidos alcalinos. Estas minipreparaciones de plásmidos se sometieron a (i) análisis de PCR (dirigido a las regiones de nt 1-940 y 2500-3600) seguido de inspección electroforética en gel de agarosa, (ii) secuenciación directa (si se pudieron detectar los amplicones de la PCR) y (iii) mediante análisis de restricción utilizando PstI. El resultado de la secuenciación de P0, P1, P3 y P10 se resume en la Tabla 6 y 7. Los resultados de la PCR y los análisis de restricción de P10 se resumen en la Tabla 8.

Mutaciones encontradas en pases tempranos

La secuenciación directa de plásmidos de pases tempranos (números de pases bajos P0 a P3) de las series pAS y pAL (Tabla 6) reveló una frecuencia de mutación bastante alta de hasta un 13% en una preparación de plásmidos originalmente clonal (véase Ejemplo 6a). Casi todas las mutaciones encontradas fueron mutaciones sin sentido o por desplazamiento del marco (FS) debido a la introducción de codones de parada prematuros (PMSt) y deleciones/inserciones de un solo nucleótido, respectivamente. Estas mutaciones obviamente eliminan completamente la expresión del marco de lectura abierto (ORF) de YFV-17D de longitud completa. En la serie pSL se encontraron mutaciones similares en P1, aunque con menos frecuencia. En la serie pSS en P0, se encontraron mutaciones de sentido erróneo que no anularon la expresión del ORF viral.

En conclusión, las preparaciones a gran escala de plásmidos originalmente clonales (véase Ejemplo 6a) que llevan el ADNc de YFV-17D contienen cantidades fácilmente detectables de variantes de plásmidos mutantes. En el caso de pACNR-FLYF17DII, la mayoría de las mutaciones eliminan la expresión de la poliproteína viral de longitud completa, obviamente hacen que el ARN viral se genere a partir de la replicación de los respectivos ADNc mutantes es incompetente. Este es el caso de más del 10% de todos los clones de plásmidos. En el caso de pShuttle/YFV-17D, la

frecuencia de mutación es menor (menos del 10%), y lo más importante, una fracción más pequeña de mutantes constituirá por lo tanto a priori replicación de virus incompetentes.

Mutaciones encontradas en el pase p10

5 Cuando se analizaron los plásmidos de las series pAL y pAS en el pase P10, la mayoría de los plásmidos contenían grandes reorganizaciones estructurales que condujo a 10 de 48 (21%) y 44 de 48 (92%) clones de plásmidos, respectivamente, a un fracaso completo para amplificar la región de nt 2500-3600 (Tabla 8). Esto fue acompañado por un patrón de restricción anormal de los últimos plásmidos mutantes con hasta varias kilobases de ADN perdido de los plásmidos. Es de destacar que todos los clones mutantes analizados todavía contenían la región de nt 1-940 (Tabla 6) y, donde por lo tanto eran más probablemente descendientes de la pACNR-FLYF17DII original (Tabla 8) en lugar de contaminantes irrelevantes. Se espera la delección de dichos fragmentos de ADNc tóxicos y se describe de la técnica anterior (Yamshchikov et al. (2001) citada anteriormente).

10 Por el contrario, las reorganizaciones y delecciones similares donde nunca se encontraron en la serie pShuttle-YFV17D. Aquí, solo 2 de 48 (4%) mostraron una mutación de sentido erróneo que obviamente cambia un posible codón de iniciación en el marco de ATG (nt 2957-2959) en la región de codificación E-NS1. Esto no anularía la expresión del ORF viral.

15 En conclusión, pases repetidos de pACNR-FLYF17DII originalmente clonal (véase ejemplo 6a) conduce a grandes delecciones en el ADNc viral y, por lo tanto, la pérdida de ADNc funcional en hasta un 90% y más de todos los clones de plásmidos, de manera más obvia, hacen que el ARN viral se genere a partir de los respectivos ADNc mutantes totalmente no funcionales. En el caso de pShuttle-YFV-17D, la frecuencia de mutación es mucho menor (menos del 5%) y, lo más importante, no se pueden observar mutantes que constituyan a priori virus de replicación incompetentes que sería imposible su uso como, por ejemplo, vacunas vivas atenuadas de ADN.

Tabla 6: Mutaciones que ocurren en el ADNc de YFV-17D clonado durante los pases en E. coli (pases tempranos)

serie de clones	pases	región	frecuencia mutante Clones mutantes de todos los clones analizados (%)	tipo de mutación introducida
pAL	P1	1-940	0/38 (0)	n.a.
	P0	2500-3600	3/24 (13)	1 x PMSt 2x FS
pAS	P1	1-940	0/48 (0)	n.a.
	P3	1-940	2/91 (2)	2x FS*
	P0	2500-3600	1/23 (4)	1x S**
pSL	P1	1-940	0/34 (0)	n.a.
	P3	1-940	0/34 (0)	n.a.
	P0	2500-3600	2/24 (8)	2x FS
pSS	P0	2500-3600	1/23 (4)	1x MS
n.a.-no aplica; PMSt: codón de parada prematuro generado (mutación sin sentido); FS-desplazamiento del marco debido a la inserción o delección de un solo nucleótido; MS-mutación sin sentido que cambia el codón; S-cambio de codón sinónimo silencioso * un FS observado en la región no codificante inmediatamente cadena arriba del codón de inicio ** población mixta de los tres codones alternativos, pero no el codón sinónimo de tipo silvestre				

Tabla 7: Mutaciones que ocurren en el ADNc de YFV-17D clonado durante el pase en E. coli (pase tardío P10)

serie de clones	pase	región	frecuencia mutante Clones mutantes de todos los clones analizados (%)	tipo de mutación introducida
pAL	P10	1-940	0/48 (0)	n.a.
	P10	2500-3600	10/48 (21)	DEL
pAS	P10	1-940	0/47 (0)	n.a.
	P10	2500-3600	44/48 (92)	DEL
pSL*	P10	2500-3600	2/48 (4)	2x MSi
n.a.-no aplica; DEL-grandes deleciones (rango de kilobases), para más detalles, véase la Tabla 8; MSi-possible cambio de mutación sin sentido en el marco del codón de inicio ATG				
* Cuando los cultivos durante la noche derivados del pase P0 se sembraron en placas, los clones pSS y pSL crecieron hasta el mismo tamaño de las colonias y, por lo tanto, ya no se consideraron por separado en P10.				

Tabla 8: Grandes cambios estructurales en los plásmidos que llevan el ADNc de YFV-17D clonado durante el pase en E. coli (pase P10)

Serie de clones	Pase	Fallo para amplificar la región 1-940 por PCR Clones mutantes de todos los clones analizados (%)	Fallo para amplificar la región 1-940 por PCR Clones mutantes de todos los clones analizados (%)	Patrón de restricción anormal Clones mutantes de todos los clones analizados (%)
pAL	P10	0/48 (0%)	10/48 (21%)	n.d.
pAS	P10	0/48 (0%)	44/48 (94%)	46/48 (96%)
pSL*	P10	n.d.	0/48 (0%)	n.d.
n.d.-no determinado				
* Cuando los cultivos durante la noche derivados del pase P0 se sembraron en placas, los clones pSS y pSL crecieron hasta el mismo tamaño de las colonias y, por lo tanto, ya no se consideraron por separado en P10.				

5 Ejemplo 8: Construcción de pShuttle/YFV-JE, pShuttle/YFV-WN, y pShuttle/YFV-USU como vectores de expresión para vacunas quiméricas de flavivirus

Los derivados quiméricos recombinantes de YFV-17D se desarrollan y se utilizan como vacunas en las que el YFV-17D sirve como un vector para antígenos heterólogos (Guy et al. (2010) Vaccine 28, 632-49; solicitud de la patente de EE.UU. 20100278773), por ejemplo, para las glicoproteínas de superficie de otros antígenos patógenos de flavivirus tal como las proteínas prM y E del virus de la encefalitis japonesa (JEV) y el virus del Nilo Occidental (WNV), desarrollado como ChimeriVax-JE (Imojev® Sanofi Pasteur-MSD) y ChimeriVax-WN20, respectivamente. El pShuttle/YFV-17D (DNA-YFVax) se puede modificar como tal que puede poner en marcha estos virus de la vacuna ChimeriVax antes mencionados directamente desde el ADN plasmídico transfectado y, por lo tanto, puede sustituir completamente a dichas vacunas vivas atenuadas ChimeriVax-JE (Imojev®) y ChimeriVax-WN20 que contienen virus vivos.

El BAC que expresa ChimeriVax-JE, pShuttle/ChimeriVax-JE (Figura 11a), se genera sustituyendo nt 482-2451 de YFV-17D, en pShuttle/YFV17D por nt 477-2477 de la vacuna de la cepa neuroatenuada SA14-14-2 del JEV (Chambers (1999) J. Virol. 73 (4), 3095-3101; Arroyo et al. (2001) J. Virol. 75, 934-942.) más dos mutaciones adaptativas en los

genes NS2A y NS4B del esqueleto YFV-17D (Pugachev et al. (2004) J. Virol. 78, 1032-1038). Esto se logra mediante la recombinación homóloga y la unión de tres fragmentos de plásmidos; dos amplicones de PCR de pShuttle/YFV17D (nt 7228-481 y nt 3966-7342) y un fragmento de ADNc de YFV-JEV quimérico preparado mediante la síntesis personalizada de ADN (IDT Integrated DNA Technologies, Haasrode, Bélgica). El último comprende nt 359-4105 de ChimeriVax-JE (Figura 11a). La construcción final tiene una secuencia como se especifica en la SEC ID NO: 5.

El BAC que expresa ChimeriVax-WN02, pShuttle/ChimeriVax-WN02 (Figura 11b), se genera sustituyendo la región del gen prM-E de pShuttle/ChimeriVax-JE por la región WNV (cepa NY99) que contiene tres mutaciones neuroatenuadas en la proteína E según Monath et al. (2006) (Proc Natl Acad Sci USA. 103, 6694-6699), a saber, L107F, A316V y K440R. Con ese fin, se prepara un fragmento de ADNc de YFV-WNV quimérico mediante síntesis de ADN personalizada (IDT Integrated DNA Technologies, Haasrode, Bélgica) y se recombinan en los sitios XhoI (nt 406) y KasI (nt 2477) de pShuttle/ChimeriVax-JE. La construcción final tiene una secuencia como se especifica en la SEC ID NO: 6.

Ejemplo 9: Construcción de pShuttle/EV71 como vectores de expresión para diferentes picornavirus

Los enterovirus son virus de ARN(+) que pertenecen a la familia de los picornavirus de virus pequeños no envueltos con un genoma de ARN en la orientación de sentido. Normalmente, el genoma de los picornavirus no está bloqueado terminalmente, pero en su lugar lleva una proteína VPg unida covalentemente en el extremo 5'. En ausencia de una estructura cap, un sitio interno de entrada ribosomal (IRES) recluta la maquinaria de traducción celular al ARN viral para la expresión de proteínas virales. En principio, la replicación picornaviral y la producción de la progenie del virus infeccioso se pueden poner en marcha intracelularmente después de la transcripción heteróloga del genoma viral. En la técnica anterior, el genoma viral se expresa a partir de un ADNc que está bajo el control de un promotor fago y se transcribe solo si la polimerasa de ARN del fago semejante se cotransfecta y se expresa en una célula productora (sistema de dos plásmidos). Del mismo modo, dicha polimerasa del fago se puede expresar intracelularmente mediante la transducción de los ADNc respectivos utilizando un helpervirus tal como un baculovirus recombinante (Yap et al. (1997) Virology. 231, 192-200).

En lugar del enfoque más complicado de la técnica anterior, el ADNc picornaviral se puede expresar intracelularmente a partir de un derivado de pShuttle-BAC (sistema de un plásmido) para la puesta en marcha directa de la replicación viral, como se ejemplifica en la siguiente para el enterovirus humano 71 (EV71). Con ese fin, el genoma de EV71 se clona como un casete de expresión en pShuttle-BAC con un promotor SV40 en 5' y una cola de poliA en el extremo 3' seguida por una ribozima del virus de la hepatitis delta. Esto se logra amplificando el ADNc de EV71 por PCR utilizando los cebadores #991 y #992, y la reamplificación con los cebadores #453 y #990 para generar un casete de expresión respectivo. Se pueden utilizar diferentes fuentes de ácido nucleico como molde para esta PCR para amplificar adecuadamente el ADNc de EV71 de aproximadamente 7,4 kb de longitud; (i) un ADNc de EV71 ya clonado, tal como el descrito por Chua et al. (2008) J. Gen. Virol. 89, 1622-1632) y Zhang et al. (2013) Virus Genes. 47, 235-243), o (ii) el producto de la transcripción inversa de cualquier cultivo de tejido, o ARN genómico de longitud completa derivado de tejido humano o animal de EV71. Alternativamente, (iii) el ADNc de EV71 se puede preparar mediante síntesis génica personalizada. Independientemente de la fuente de ADNc, el casete de expresión así generado se insertará en pShuttle/BAC-Pme que se ha linealizado mediante digestión con endonucleasas de restricción utilizando PmeI, preferiblemente por recombinación en levadura. Tal construcción tiene una secuencia como se especifica en la SEC ID NO: 7 para la cepa BrCr-TR de EV71 (Arita et al. (2005) J. Gen. Virol. 86, 1391-401).

Se puede seguir una estrategia similar para la clonación de otros enterovirus tal como, por ejemplo, el rinovirus humano 14 (hRV14), cambiando solo el primer conjunto de cebadores para la amplificación inicial del ADNc viral. Los cebadores adecuados para hRV14 son #988 y #989.

Los virus infecciosos EV71 y hRV14 se generarán por transfección de los plásmidos pShuttle/EV71 y pShuttle/hRV14, respectivamente, en células de mamífero cultivadas tales como células de carcinoma de cérvix humano (HeLa) o por transfección in vivo. Las variantes atenuadas de las mismas se pueden generar de manera similar y utilizarse como vacunas vivas atenuadas.

Listado de secuencias

<110> Katholieke Universiteit Leuven
Dallmeier, Kai
Neyts, Johan

<120> cromosomas artificiales bacterianos

<130> KUL1457PCT

<140> aún no conocido
<141> 25-04-2014

<150> GB1307528.8

<151> 26-04-2013

<160> 51

5 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 283

10 <212> ADN

<213> viral

<400> 1

cctgtggaat	gtgtgtcagt	taggggtgtg	aaagtcccca	ggctccccag	caggcagaag	60
tatgcaaagc	atgcatctca	attagtcagc	aaccaggtgt	ggaaagtccc	caggctcccc	120
agcaggcaga	agtatgcaaa	gcatgcatct	caattagtc	gcaaccatag	tcccgccct	180
aactccgcc	atcccgcccc	taactccgcc	cagttccgcc	cattctccgc	cccatggctg	240
actaattttt	tttatttatg	cagaggccga	ggccgcctcg	gcc		283

15 <210> 2

<211> 85

<212> ADN

<213> viral

20 <400> 2

tggccggcat	ggtcccagcc	tcctcgctgg	cgccggctgg	gcaacattcc	gaggggaccg	60
tcccctcgg	aatggcgaat	gggac				85

25 <210> 3

<211> 10862

<212> ADN

<213> viral

<400> 3

agtaaatcct	gtgtgcta	tgagggtgcat	tggtctgcaa	atcgagttgc	taggcaataa	60
acacatttgg	attaatttta	atcgttcgtt	gagcgattag	cagagaactg	accagaacat	120
gtctggctcg	aaagctcagg	gaaaaaccct	gggcgtcaat	atggtacgac	gaggagtctg	180
ctccttgtca	aacaaaataa	aacaaaaaac	aaaacaaatt	ggaaacagac	ctggaccttc	240
aagaggtggt	caaggattta	tctttttctt	tttgttcaac	attttgactg	gaaaaaagat	300

30

ES 2 718 187 T3

cacagccac	ctaaagaggt	tgtggaaaat	gctggacca	agacaaggct	tggctgttct	360
aaggaaagtc	aagagagtgg	tggccagttt	gatgagagga	ttgtcctcaa	ggaaacgccg	420
ttcccatgat	gttctgactg	tgcaattcct	aattttggga	atgctgttga	tgacgggtgg	480
agtgaccttg	gtgcggaaaa	acagatgggt	gctcctaaat	gtgacatctg	aggacctcgg	540
gaaaacattc	tctgtgggca	caggcaactg	cacaacaaac	attttggaag	ccaagtactg	600
gtgccagac	tcaatggaat	acaactgtcc	caatctcagt	ccaagagagg	agccagatga	660
cattgattgc	tgggtgctatg	gggtggaaaa	cgtagagtc	gcatatggta	agtgtgactc	720
agcaggcagg	tctaggaggt	caagaagggc	cattgacttg	cctacgcatg	aaaaccatgg	780
tttgaagacc	cggaagaaa	aatggatgac	tggaagaatg	ggtgaaaggc	aactccaaaa	840
gattgagaga	tggttcgtga	ggaacccctt	ttttgcagtg	acggctctga	ccattgccta	900
ccttggtgga	agcaacatga	cgcaacgagt	cgtgattgcc	ctactggtct	tggctgttgg	960
tccggcctac	tcagctcact	gcattggaat	tactgacagg	gatttcattg	agggggtgca	1020
tggaggaact	tgggtttcag	ctaccctgga	gcaagacaag	tgtgtcactg	ttatggcccc	1080
tgacaagcct	tcattggaca	tctcactaga	gacagtagcc	attgatagac	ctgctgaggt	1140
gaggaaagtg	tgttacaatg	cagttctcac	tcattgtgaag	attaatgaca	agtgccccag	1200
cactggagag	gcccacctag	ctgaagagaa	cgaaggggac	aatgcgtgca	agcgactta	1260
ttctgataga	ggctggggca	atggctgttg	cctatttggg	aaaggagca	ttgtggcatg	1320
cgccaaattc	acttgtgcc	aatccatgag	tttgtttgag	gttgatcaga	ccaaaattca	1380
gtatgtcatc	agagcacaat	tgcatgtagg	ggccaagcag	gaaaattgga	ataccgacat	1440
taagactctc	aagtttgatg	ccctgtcagg	ctcccaggaa	gtcgagttca	ttgggtatgg	1500
aaaagctaca	ctggaatgcc	aggtgcaaac	tgcggtggac	tttggttaaca	gttacatcgc	1560
tgagatggaa	acagagagct	ggatagtgga	cagacagtgg	gcccaggact	tgaccctgcc	1620
atggcagagt	ggaagtggcg	gggtgtggag	agagatgcat	catcttgtcg	aatttgaacc	1680
tccgcatgcc	gccactatca	gagtactggc	cctgggaaac	caggaaggct	ccttgaaaac	1740
agctcttact	ggcgcaatga	gggttacaaa	ggacacaaat	gacaacaacc	tttacaact	1800
acatggtgga	catgtttctt	gcagagtga	attgtcagct	ttgacactca	aggggacatc	1860
ctacaaaata	tgactgaca	aatgtttttt	tgtcaagaac	ccaactgaca	ctggccatgg	1920
cactgttgtg	atgcaggtga	aagtgtcaaa	aggagcccc	tgcaggattc	cagtgatagt	1980
agctgatgat	cttacagcgg	caatcaataa	aggcattttg	gttacagtta	accccatcgc	2040
ctcaaccaat	gatgatgaag	tgctgattga	ggtgaacca	ccttttggag	acagctacat	2100
tatcgttggg	agaggagatt	cacgtctcac	ttaccagtgg	cacaaagagg	gaagctcaat	2160

ES 2 718 187 T3

aggaaagtgtg ttactcaga ccatgaaagg cgtggaacgc ctggccgtca tgggagacac	2220
cgcctgggat ttacgctccg ctggagggtt cttcacttcg gttgggaaag gaattcatac	2280
ggtgtttggc tctgcctttc aggggctatt tggcggcttg aactggataa caaagggtcat	2340
catgggggag gtacttatat gggttggcat caacacaaga aacatgacaa tgtccatgag	2400
catgatcttg gtaggagtga tcatgatgtt tttgtctcta ggagttgggg cgatcaagg	2460
atgcgccatc aactttggca agagagagct caagtgcgga gatggatatc tcatatttag	2520
agactctgat gactggctga acaagtaact atactatcca gaagatcctg tgaagcttgc	2580
atcaatagtg aaagcctctt ttgaagaagg gaagtgtggc ctaaattcag ttgactccct	2640
tgagcatgag atgtggagaa gcagggcaga tgagatcaat gccatttttg aggaaaacga	2700
ggtggacatt tctgttgtcg tgcaggatcc aaagaatgtt taccagagag gaactcatcc	2760
attttccaga attcgggatg gtctgcagta tggttggaag acttggggta agaacctgtg	2820
gttctcccca gggaggaaga atggaagctt catcatagat ggaaagtcca ggaagaatg	2880
cccgttttca aaccgggtct ggaattcttt ccagatagag gaggttggga cgggagtgtt	2940
caccacacgc gtgtacatgg acgcagtcct tgaatacacc atagactgcg atggatctat	3000
cttgggtgca gcggtgaacg gaaaaaagag tgcccattgg tctccaacat ttgggatggg	3060
aagtcatgaa gtaaatggga catggatgat ccacaccttg gaggcattag attacaagga	3120
gtgtgagtgg ccactgacac atacgattgg aacatcagtt gaagagagtg aaatgttcat	3180
gccgagatca atcggaggcc cagttagctc tcacaatcat atccctggat acaaggttca	3240
gacgaacgga ccttggatgc aggtaccact agaagtgaag agagaagctt gcccagggac	3300
tagcgtgatc attgatggca actgtgatgg acggggaaaa tcaaccagat ccaccacgga	3360
tagcgggaaa gttattcctg aatggtgttg ccgctcctgc acaatgccgc ctgtgagctt	3420
ccatggtagt gatgggtgtt ggtatcccat ggaaattagg ccaaggaaaa cgcataaag	3480
ccatctggtg cgctcctggg ttacagctgg agaaatacat gctgtccctt ttggtttgg	3540
gagcatgatg atagcaatgg aagtgtcctt aaggaaaaga cagggaccaa agcaaatgtt	3600
ggttggagga gtagtgctct tgggagcaat gctggtcggg caagtaactc tccttgattt	3660
gctgaaactc acagtggctg tgggattgca tttccatgag atgaacaatg gaggagacgc	3720
catgtatatg gcgttgattg ctgccttttc aatcagacca gggtgctca tcggctttgg	3780
gctcaggacc ctatggagcc ctcggaacg ccttgtgctg accctaggag cagccatggt	3840
ggagattgcc ttgggtggcg tgatggcggt cctgtggaag tatctaaatg cagtttctct	3900
ctgcacctg acaataaatg ctgttgcttc taggaaagca tcaaatacca tcttgccct	3960
catggctctg ttgacacctg tcaactatgg tgaggtgaga cttgccgcaa tgttcttttg	4020
tgccgtgggt atcatagggg tccttcacca gaatttcaag gacacctcca tgcagaagac	4080

ES 2 718 187 T3

tatacctctg gtggccctca cactcacatc ttacctgggc ttgacacaac cttttttggg	4140
cctgtgtgca tttctggcaa cccgcatatt tgggcgaagg agtatcccag tgaatgaggc	4200
actcgcagca gctggtctag tgggagtgcg ggcaggactg gcttttcagg agatggagaa	4260
cttccttggt ccgattgcag ttggaggact cctgatgatg ctggttagcg tggctgggag	4320
ggtggatggg ctagagctca agaagcttgg tgaagtttca tgggaagagg aggcggagat	4380
cagcgggagt tccgcccgcg atgatgtggc actcagtga caaggggagt tcaagctgct	4440
ttctgaagag aaagtgccat gggaccaggt tgtgatgacc tcgctggcct tggttggggc	4500
tgccctccat ccatttgctc ttctgctggt ccttgctggg tggctgtttc atgtcagggg	4560
agctaggaga agtggggatg tcttgtggga tattcccaact cctaagatca tcgaggaatg	4620
tgaacatctg gaggatggga tttatggcat attccagtca accttcttgg gggcctccca	4680
gcgaggagtg ggagtggcac agggaggggt gttccacaca atgtggcatg tcacaagagg	4740
agctttcctt gtcaggaatg gcaagaagtt gattccatct tgggcttcag taaaggaaga	4800
ccttgctgcc tatggtggct catggaagtt ggaaggcaga tgggatggag aggaagaggt	4860
ccagttgatc gcgctgttc caggaaagaa cgtgggtcaac gtccagacaa aaccgagctt	4920
gttcaaagtg aggaatgggg gaaaaatcgg ggctgtcgtc cttgactatc cgagtggcac	4980
ttcaggatct cctattgtta acaggaacgg agaggtgatt gggctgtacg gcaatggcat	5040
ccttgctcgt gacaactcct tcgtgtccgc catatcccag actgaggtga aggaagaagg	5100
aaaggaggag ctccaagaga tcccgacaat gctaaagaaa ggaatgacaa ctgtccttga	5160
ttttcatcct ggagctggga agacaagacg tttcctccca cagatcttgg ccgagtgcgc	5220
acggagacgc ttgcgcactc ttgtgttggc cccaccagg gttgttcttt ctgaaatgaa	5280
ggaggctttt cacggcctgg acgtgaaatt ccacacacag gctttttccg ctcacggcag	5340
cgggagagaa gtcattgatg ccatgtgcca tgccacccta acttacagga tgttggaacc	5400
aactagggtt gttaactggg aagtgatcat tatggatgaa gccattttt tggatccagc	5460
tagcatagcc gctagaggtt gggcagcgca cagagctagg gcaaatgaaa gtgcaacaat	5520
cttgatgaca gccacaccgc ctgggactag tgatgaattt ccacattcaa atggtgaaat	5580
agaagatgtt caaacggaca taccagtga gccctggaac acagggcatg actggatcct	5640
agctgacaaa aggccacgg catggttcct tccatccatc agagctgcaa atgtcatggc	5700
tgcctctttg cgtaaggctg gaaagagtgt ggtggctcctg aacaggaaaa cctttgagag	5760
agaatacccc acgataaagc agaagaaacc tgactttata ttggccactg acatagctga	5820
aatgggagcc aacctttgcg tggagcgagt gctggattgc aggacggctt ttaagcctgt	5880
gcttggtgat gaagggagga aggtggcaat aaaaggcca cttcgtatct ccgcatcctc	5940

ES 2 718 187 T3

tgctgctcaa	aggagggggc	gcattgggag	aaatcccaac	agagatggag	actcatacta	6000
ctattctgag	cctacaagtg	aaaataatgc	ccaccacgtc	tgctgggttg	aggcctcaat	6060
gctcttggac	aacatggagg	tgaggggtgg	aatggtcgcc	ccactctatg	gcgttgaagg	6120
aactaaaaca	ccagtttccc	ctggtgaaat	gagactgagg	gatgaccaga	ggaaagtctt	6180
cagagaacta	gtgaggaatt	gtgacctgcc	cgtttggtct	tcgtggcaag	tggccaaggc	6240
tggtttgaag	acgaatgatc	gtaagtgggt	ttttgaaggc	cctgaggaac	atgagatctt	6300
gaatgacagc	ggtgaaacag	tgaagtgcag	ggctcctgga	ggagcaaaga	agcctctgcg	6360
cccaagggtg	tgtgatgaaa	gggtgtcatc	tgaccagagt	gcgtgtctg	aatttattaa	6420
gtttgctgaa	ggtagggagg	gagctgctga	agtgtctagt	gtgtgagtgt	aactccctga	6480
tttctgggct	aaaaaagggt	gagaggcaat	ggataccatc	agtgtgttcc	tccactctga	6540
ggaaggctct	agggttacc	gcaatgcact	atcaatgatg	cctgaggcaa	tgacaatagt	6600
catgtgtttt	atactggctg	gactactgac	atcgggaatg	gtcatctttt	tcatgtctcc	6660
caaaggcatc	agtagaatgt	ctatggcgat	gggcacaaatg	gccggctgtg	gatatctcat	6720
gttccttgga	ggcgtcaaac	ccactcacat	ctcctatgtc	atgctcatat	tctttgtcct	6780
gatggtgggt	gtgatccccg	agccagggca	acaaagggtc	atccaagaca	accaagtggc	6840
atacctcatt	attggcatcc	tgacgctggt	ttcagcgggt	gcagccaacg	agctaggcat	6900
gctggagaaa	accaaaggag	acctctttgg	gaagaagaac	ttaattccat	ctagtgtctc	6960
accctggagt	tggccggatc	ttgacctgaa	gccaggagct	gcctggacag	tgtacgttgg	7020
cattgttaca	atgctctctc	caatgttgca	ccactggatc	aaagtccaat	atggcaacct	7080
gtctctgtct	ggaatagccc	agtcagcctc	agtcctttct	ttcatggaca	aggggatacc	7140
attcatgaag	atgaatatct	cggtcataat	gctgctgggt	agtggctgga	attcaataac	7200
agtgatgcct	ctgctctgtg	gcatagggtg	cgccatgctc	cactgggtctc	tcattttacc	7260
tggaaatcaa	gcgcagcagt	caaagcttgc	acagagaagg	gtgttccatg	gcgttgccga	7320
gaaccctgtg	gttgatggga	atccaacagt	tgacattgag	gaagctcctg	aaatgcctgc	7380
cctttatgag	aagaaaactgg	ctctatatct	ccttcttgct	ctcagcctag	cttctgttgc	7440
catgtgcaga	acgccctttt	cattggctga	aggcattgtc	ctagcatcag	ctgccttagg	7500
gccgctcata	gagggaaaca	ccagccttct	ttggaatgga	cccatggctg	tctccatgac	7560
aggagtcatg	agggggaatc	actatgcttt	tgtgggagtc	atgtacaatc	tatggaagat	7620
gaaaactgga	cgccggggga	gcgcgaatgg	aaaaactttg	ggtgaagtct	ggaagaggga	7680
actgaatctg	ttggacaagc	gacagtttga	gttgataaaa	aggaccgaca	ttgtggaggt	7740
ggatcgtgat	acggcacgca	ggcatttggc	cgaagggaag	gtggacaccg	gggtggcggt	7800
ctccaggggg	accgcaaagt	taagggtggt	ccatgagcgt	ggctatgtca	agctggaagg	7860

ES 2 718 187 T3

taggggtgatt gacctggggt gtggccgcgg aggctgggtg tactacgctg ctgcgcaaaa	7920
ggaagtgagt ggggtcaaag gatttactct tggaagagac ggccatgaga aacccatgaa	7980
tgtgcaaagt ctgggatgga acatcatcac cttcaaggac aaaactgata tccaccgcct	8040
agaaccagtg aaatgtgaca cccttttgtg tgacattgga gagtcatcat cgtcatcggt	8100
cacagagggg gaaaggaccg tgagagttct tgatactgta gaaaaatggc tggcttgtgg	8160
ggttgacaac ttctgtgtga aggtgttagc tccatacatg ccagatgttc ttgagaaact	8220
ggaattgctc caaaggaggt ttggcggaac agtgatcagg aaccctctct ccaggaattc	8280
cactcatgaa atgtactacg tgtctggagc ccgcagcaat gtcacattta ctgtgaacca	8340
aacatccgc ctcctgatga ggagaatgag gcgtccaact ggaaaagtga ccctggaggc	8400
tgacgtcatc ctcccaattg ggacacgcag tgttgagaca gacaaggac ccctggacaa	8460
agaggccata gaagaaaggg ttgagaggat aaaatctgag tacatgacct cttggtttta	8520
tgacaatgac aaccctaca ggacctggca ctactgtggc tcctatgtca caaaaacctc	8580
aggaagtgcg gcgagcatgg taaatgggtg tattaaaatt ctgacatata catgggacag	8640
gatagaggag gtcacaagaa tggcaatgac tgacacaacc ccttttggac agcaaagagt	8700
gtttaaagaa aaagttgaca ccagagcaaa ggatccacca gcgggaacta ggaagatcat	8760
gaaagtgtc aacaggtggc tgttccgcca cctggccaga gaaaagaacc ccagactgtg	8820
cacaaaggaa gaatttattg caaaagtccg aagtcatgca gccattggag cttacctgga	8880
agaacaagaa cagtgggaaga ctgccaatga ggctgtccaa gacccaaagt tctgggaact	8940
ggtggatgaa gaaagggaagc tgcaccaaca aggcaggtgt cggacttgtg tgtacaacat	9000
gatggggaaa agagagaaga agctgtcaga gtttgggaaa gcaaaggga gccgtgccat	9060
atggtatatg tggctgggag cgcggtatct tgagtttgag gccctgggat tcctgaatga	9120
ggaccattgg gcttcaggag aaaactcagg aggaggagtg gaaggcattg gcttacaata	9180
cctaggatat gtgatcagag acctggctgc aatggatggt ggtggattct acgcggatga	9240
caccgctgga tgggacacgc gcatcacaga ggcagacctt gatgatgaac aggagatctt	9300
gaactacatg agcccacatc acaaaaaact ggcacaagca gtgatggaaa tgacatacaa	9360
gaacaaagtg gtgaaagtgt tgagaccagc ccagaggagg aaagcctaca tggatgtcat	9420
aagtcgacga gaccagagag gatccgggca ggtagtgact tatgctctga acaccatcac	9480
caacttgaaa gtccaattga tcagaatggc agaagcagag atggtgatac atcaccaaca	9540
tgttcaagat tgtgatgaat cagttctgac caggctggag gcatggctca ctgagcacgg	9600
atgtgacaga ctgaagagga tggcggtgag ttgagacgac tgtgtggtcc ggcccatcga	9660
tgacaggttc ggcctggccc tgtcccatct caacgccatg tccaaggtta gaaaggacat	9720

ES 2 718 187 T3

atctgaatgg cagccatcaa aaggggtggaa tgattgggag aatgtgccct tctgttccca 9780
ccacttccat gaactacagc tgaaggatgg caggaggatt gtggtgcctt gccgagaaca 9840
ggacgagctc attgggagag gaaggggtgc tccaggaaac ggctggatga tcaaggaaac 9900
agcttgccctc agcaaagcct atgccaacat gtggtcactg atgtattttc acaaaagga 9960
catgaggcta ctgtcattgg ctgtttcctc agctgttccc acctcatggg ttccacaagg 10020
acgcacaaca tggtcgattc atgggaaagg ggagtggatg accacggaag acatgcttga 10080
ggtgtggaac agagtatgga taaccaacaa cccacacatg caggacaaga caatggtgaa 10140
aaaatggaga gatgtccctt atctaacca gagacaagac aagctgtgcg gatcactgat 10200
tggaatgacc aatagggcca cctgggcctc ccacatccat ttagtcatcc atcgtatccg 10260
aacgctgatt ggacaggaga aatacactga ctacctaaca gtcatggaca ggtattctgt 10320
ggatgctgac ctgcaactgg gtgagcttat ctgaaacacc atctaacagg aataaccggg 10380
atacaaacca cgggtggaga accggactcc ccacaacctg aaaccgggat ataaaccacg 10440
gctggagaac cgggctccgc acttaaaatg aaacagaaac cgggataaaa actacggatg 10500
gagaaccgga ctccacacat tgagacagaa gaagttgtca gccagaacc ccacacgagt 10560
tttgccactg ctaagctgtg aggcagtgca ggctgggaca gccgacctcc aggttgcgaa 10620
aaacctggtt tctgggacct cccaccccag agtaaaaaga acggagcctc cgctaccacc 10680
ctccacgtg gtggtagaaa gacggggtct agaggttaga ggagaccctc cagggaacaa 10740
atagtgggac catattgacg ccagggaaag accggagtgg ttctctgctt ttcctccaga 10800
ggtctgtgag cacagtttgc tcaagaataa gcagacctt ggatgacaaa cacaaaacca 10860
ct 10862

<210> 4
<211> 21061
<212> ADN
<213> sintético

<400> 4
agtaaactcct gtgtgctaata tgaggtgcat tggctctgcaa atcgagttgc taggcaataa 60
acacatttgg attaatTTTA atcgttctggt gagcgattag cagagaactg accagaacat 120
gtctggtcgt aaagctcagg gaaaaaccct gggcgtcaat atggtacgac gaggagtctg 180
ctccttgtca aacaaaataa aacaaaaaac aaaacaaatt ggaaacagac ctggaccttc 240
aagaggtggt caaggattta tctttttctt tttgttcaac attttgactg gaaaaaagat 300
cacagccac ctaaagaggt tgtggaaaat gctggacca agacaaggct tggctgttct 360
aaggaaagtc aagagagtgg tggccagttt gatgagagga ttgtcctcaa ggaaacgccg 420
ttcccatgat gttctgactg tgcaattcct aattttggga atgctgttga tgacgggtgg 480

ES 2 718 187 T3

agtgaccttg	gtgcggaaaa	acagatggtt	gctcctaaat	gtgacatctg	aggacctcgg	540
gaaaacattc	tctgtgggca	caggcaactg	cacaacaaac	atthttggaag	ccaagtactg	600
gtgccagac	tcaatggaat	acaactgtcc	caatctcagt	ccaagagagg	agccagatga	660
cattgattgc	tgggtgctatg	gggtggaaaa	cgtagagatc	gcatatggta	agtgtgactc	720
agcaggcagg	tctaggaggt	caagaagggc	cattgacttg	cctacgcatg	aaaacatgg	780
tttgaagacc	cggcaagaaa	aatggatgac	tggaagaatg	ggtgaaaggc	aactccaaaa	840
gattgagaga	tggttcgtga	ggaacccctt	ttttgcagtg	acggctctga	ccattgccta	900
ccttgtggga	agcaacatga	cgcaacgagt	cgtagattgcc	ctactggtct	tggctgttgg	960
tccggcctac	tcagctcact	gcattggaat	tactgacagg	gatttcattg	agggggtgca	1020
tggaggaact	tgggtttcag	ctaccctgga	gcaagacaag	tgtgtcactg	ttatggcccc	1080
tgacaagcct	tcattggaca	tctcactaga	gacagtagcc	attgatagac	ctgctgaggt	1140
gaggaaagtg	tgttacaatg	cagttctcac	tcatgtgaag	attaatgaca	agtgcctcag	1200
cactggagag	gccacctag	ctgaagagaa	cgaaggggac	aatgcgtgca	agcgcaacta	1260
ttctgataga	ggctggggca	atggctgtgg	cctatttggg	aaagggagca	ttgtggcatg	1320
cgccaaattc	acttgtgcca	aatccatgag	tttgtttgag	gttgatcaga	ccaaaattca	1380
gtatgtcatc	agagcacaat	tgcatgtagg	ggccaagcag	gaaaattgga	ataccgacat	1440
taagactctc	aagtttgatg	ccctgtcagg	ctcccaggaa	gtcgagttca	ttgggtatgg	1500
aaaagctaca	ctggaatgcc	aggtgcaaac	tgcggtggac	tttggttaaca	gttacatcgc	1560
tgagatggaa	acagagagct	ggatagtgga	cagacagtgg	gccaggact	tgaccctgcc	1620
atggcagagt	ggaagtggcg	gggtgtggag	agagatgcat	catcttgtcg	aatttgaacc	1680
tccgcatgcc	gccactatca	gagtactggc	cctgggaaac	caggaaggct	ccttgaaaac	1740
agctcttact	ggcgcaatga	gggttacaaa	ggacacaaat	gacaacaacc	tttacaaact	1800
acatggtgga	catgtttctt	gcagagtga	attgtcagct	ttgacactca	aggggacatc	1860
ctacaaaata	tgacttgaca	aatgtttttt	tgtcaagaac	ccaactgaca	ctggccatgg	1920
cactgtttgtg	atgcaggtga	aagtgtcaaa	aggagcccc	tgaggatttc	cagtgatagt	1980
agctgatgat	cttacagcgg	caatcaataa	aggcattttg	gttacagtta	accccatcgc	2040
ctcaaccaat	gatgatgaag	tgctgattga	ggtgaaccca	ccttttggag	acagctacat	2100
tatcgttggg	agaggagatt	cacgtctcac	ttaccagtgg	cacaaagagg	gaagctcaat	2160
aggaaagttg	ttcactcaga	ccatgaaagg	cgtggaacgc	ctggccgtca	tgggagacac	2220
cgcctgggat	ttcagctccg	ctggagggtt	cttcacttcg	gttgggaaag	gaattcatac	2280
gggttttggc	tctgcctttc	aggggctatt	tggcggttg	aactggataa	caaaggctcat	2340
catgggggcg	gtacttatat	gggttggcat	caacacaaga	aacatgacaa	tgtccatgag	2400

ES 2 718 187 T3

catgatcttg gtaggagtga tcatgatgtt tttgtctcta ggagttgggg cggatcaagg	2460
atgcgccatc aactttggca agagagagct caagtgcgga gatggtatct tcatatttag	2520
agactctgat gactggctga acaagtactc atactatcca gaagatcctg tgaagcttgc	2580
atcaatagtg aaagcctctt ttgaagaagg gaagtgtggc ctaaattcag ttgactccct	2640
tgagcatgag atgtggagaa gcagggcaga tgagatcaat gccatttttg aggaaaacga	2700
ggtggacatt tctgttgcg tgcaggatcc aaagaatgtt taccagagag gaactcatcc	2760
attttccaga attcgggatg gtctgcagta tggttggaag acttggggta agaacttgt	2820
gttctcccca gggaggaaga atggaagctt catcatagat ggaaagtcca ggaaagaatg	2880
cccgttttca aaccgggtct ggaattcttt ccagatagag gagtttggga cgggagtgtt	2940
caccacacgc gtgtacatgg acgcagtctt tgaatacacc atagactgcg atggatctat	3000
cttgggtgca gcggtgaacg gaaaaaagag tgcccatggc tctccaacat tttggatggg	3060
aagtcataaa gtaaatggga catggatgat ccacaccttg gaggcattag attacaagga	3120
gtgtgagtgg ccaactgacac atacgattgg aacatcagtt gaagagagtg aaatgttcat	3180
gccgagatca atcggaggcc cagtttagctc tcacaatcat atccctggat acaaggttca	3240
gacgaacgga ccttggatgc aggtaccact agaagtgaag agagaagctt gccagggac	3300
tagcgtgatc attgatggca actgtgatgg acggggaaaa tcaaccagat ccaccacgga	3360
tagcgggaaa gttattcctg aatggtgttg ccgctcctgc acaatgccg ctgtgagctt	3420
ccatggtagt gatgggtgtt ggtatcccat ggaaattagg ccaaggaaaa cgcataaag	3480
ccatctggtg cgctcctggg ttacagctgg agaaatacat gctgtccctt ttggtttggt	3540
gagcatgatg atagcaatgg aagtggctct aaggaaaaga cagggaacca agcaaatgtt	3600
ggttgaggga gtagtgctct tgggagcaat gctggctggg caagtaactc tccttgattt	3660
gctgaaactc acagtggctg tgggattgca tttccatgag atgaacaatg gaggagacgc	3720
catgtatatg gcgttgattg ctgccttttc aatcagacca gggctgctca tcggcttttg	3780
gctcaggacc ctatggagcc ctcggaacg ccttgtgctg accctaggag cagccatggt	3840
ggagattgcc ttgggtggcg tgatggcgcg cctgtggaag tatctaaatg cagtttctct	3900
ctgcacctg acaataaatg ctgttgcttc taggaaagca tcaaatacca tcttgccct	3960
catggctctg ttgacacctg tcaatatggc tgaggtgaga cttgcgcaa tgttcttttg	4020
tgccgtggtt atcatagggg tccttcacca gaatttcaag gacacctcca tgcagaagac	4080
tatacctctg gtggccctca cactcacatc ttacctgggc ttgacacaac cttttttggg	4140
cctgtgtgca tttctggcaa cccgcatatt tgggcgaagg agtatcccag tgaatgaggc	4200
actcgcagca gctggtctag tgggagtgcg ggcaggactg gcttttcagg agatggagaa	4260

ES 2 718 187 T3

cttccttggg	ccgattgcag	ttggaggact	cctgatgatg	ctggtttagcg	tggctgggag	4320
ggtggatggg	ctagagctca	agaagcttgg	tgaagtttca	tgggaagagg	aggcggagat	4380
cagcgggagt	tccgcccgct	atgatgtggc	actcagtgaa	caaggggagt	tcaagctgct	4440
ttctgaagag	aaagtgccat	gggaccagg	tgtgatgacc	tcgctggcct	tggttggggc	4500
tgccctccat	ccatttgctc	ttctgctgg	ccttgctggg	tggctgtttc	atgtcagggg	4560
agctaggaga	agtggggatg	tcttgctggg	tattccact	cctaagatca	tcgaggaatg	4620
tgaacatctg	gaggatggga	tttatggcat	attccagtea	accttcttgg	gggcctccca	4680
gcgaggagtg	ggagtggcac	agggagggg	gttccacaca	atgtggcatg	tcacaagagg	4740
agctttcctt	gtcaggaatg	gcaagaagt	gattccatct	tgggcttcag	taaaggaaga	4800
ccttgctgcc	tatggtggct	catggaagt	ggaaggcaga	tgggatggag	aggaagaggt	4860
ccagtgtatc	gcggctgttc	caggaaagaa	cgtggccaac	gtccagacaa	aaccgagctt	4920
gttcaaagt	aggaatgggg	gagaaatcgg	ggctgtcgct	cttgactatc	cgagtggcac	4980
ttcaggatct	cctattgtta	acaggaacgg	agaggtgatt	gggctgtacg	gcaatggcat	5040
ccttgctcgt	gacaactcct	tcgtgtccgc	catatcccag	actgagggtg	aggaagaagg	5100
aaaggaggag	ctccaagaga	tcccgacaat	gctaaagaaa	ggaatgacaa	ctgtccttga	5160
ttttcatcct	ggagctggga	agacaagacg	tttcctccca	cagatcttgg	ccgagtgcgc	5220
acggagacgc	ttgcgcactc	ttgtgttggc	ccccaccagg	gttgttcttt	ctgaaatgaa	5280
ggaggctttt	cacggccttg	acgtgaaatt	ccacacacag	gctttttccg	ctcacggcag	5340
cgggagagaa	gtcattgatg	ccatgtgcc	tgccacccta	acttacagga	tgttgaacc	5400
aactaggggt	gttaactggg	aagtgatcat	tatggatgaa	gcccattttt	tggatccagc	5460
tagcatagcc	gctagagggt	gggcagcgca	cagagctagg	gcaaataaaa	gtgcaacaat	5520
cttgatgaca	gccacaccgc	ctgggactag	tgatgaattt	ccacattcaa	atggtgaaat	5580
agaagatggt	caaacggaca	taccagtgga	gccctggaac	acagggcatg	actggatcct	5640
agctgacaaa	aggcccacgg	catggttcc	tccatccatc	agagctgcaa	atgtcatggc	5700
tgcctctttg	cgtaaggctg	gaaagagtgt	ggtggtcctg	aacaggaaaa	cctttgagag	5760
agaatacccc	acgataaagc	agaagaaacc	tgactttata	ttggccactg	acatagctga	5820
aatgggagcc	aacctttgcg	tggagcgagt	gctggattgc	aggacggctt	ttaagcctgt	5880
gcttggtgat	gaagggagga	aggtggcaat	aaaagggcca	cttcgtatct	ccgcatcctc	5940
tgctgctcaa	aggagggggc	gcattgggag	aaatcccaac	agagatggag	actcatacta	6000
ctattctgag	cctacaagt	aaaataatgc	ccaccacgtc	tgctggttgg	aggcctcaat	6060
gctcttggac	aacatggagg	tgaggggtgg	aatggtcgcc	ccactctatg	gcgttgaagg	6120
aactaaaaca	ccagtttccc	ctggtgaaat	gagactgagg	gatgaccaga	ggaaagtctt	6180

ES 2 718 187 T3

cagagaacta gtgaggaatt gtgacctgcc cgtttggtt tctgggcaag tggccaaggc	6240
tggtttgaag acgaatgatc gtaagtgggtg ttttgaaggc cctgaggaac atgagatcctt	6300
gaatgacagc ggtgaaacag tgaagtgcag ggctcctgga ggagcaaaga agcctctgcg	6360
cccaagggtg tgtgatgaaa ggggtgcatc tgaccagagt gcgctgtctg aatttattaa	6420
gtttgctgaa ggtaggaggg gagctgctga agtgctagtt gtgctgagtg aactccctga	6480
tttcctggct aaaaaagtg gagaggcaat ggataccatc agtgtgttcc tccactctga	6540
ggaaggctct agggcttacc gcaatgcact atcaatgatg cctgaggcaa tgacaatagt	6600
catgtgtttt atactggctg gactactgac atcggaatg gtcactttt tcatgtctcc	6660
caaaggcatc agtagaatgt ctatggcgat gggcacaatg gccggctgtg gatatctcat	6720
gttccttgga ggcgtcaaac ccactcacat ctctatgtc atgctcatat tctttgtcct	6780
gatggtggtt gtgatccccg agccagggca acaaaggctc atccaagaca accaagtggc	6840
atacctcatt attggcatcc tgacgctggt ttcagcgggtg gcagccaacg agctaggcat	6900
gctggagaaa accaaagagg acctcttttg gaagaagaac ttaattccat ctagtgttc	6960
accctggagt tggccgcatc ttgacctgaa gccaggagct gcctggacag tgtacgttgg	7020
cattgttaca atgctctctc caatgttgca ccactggatc aaagtccaat atggcaacct	7080
gtctctgtct ggaatagccc agtcagcctc agtcctttct ttcattggaca aggggatacc	7140
attcatgaag atgaatatct cggtcataat gctgctggtc agtggctgga attcaataac	7200
agtgatgcct ctgctctgtg gcataggggtg cgccatgctc cactggctctc tcattttacc	7260
tggaatcaaa gcgcagcagt caaagcttgc acagagaagg gtgttccatg gcgttgccga	7320
gaaccctgtg gttgatggga atccaacagt tgacattgag gaagctcctg aaatgcctgc	7380
cctttatgag aagaaactgg ctctatatct ccttcttgct ctcagcctag cttctgttgc	7440
catgtgcaga acgccctttt cattggctga aggcattgtc ctatgcatcag ctgccttagg	7500
gccgctcata gagggaaaca ccagccttct ttggaatgga cccatggctg tctccatgac	7560
aggagtcagt aggggggaatc actatgcttt tgtgggagtc atgtacaatc tatggaagat	7620
gaaaactgga cgccggggga gcgcgaatgg aaaaactttg ggtgaagtct ggaagaggga	7680
actgaatctg ttggacaagc gacagtttga gttgtataaa aggaccgaca ttgtggaggt	7740
ggatcgtgat acggcacgca ggcatttggc cgaagggaag gtggacaccg gggtggcggt	7800
ctccaggggg accgcaaagt taagggtggt ccatgagcgt ggctatgtca agctggaagg	7860
tagggtgatt gacctggggt gtggccgagg aggctggtgt tactacgctg ctgcgcaaaa	7920
ggaagtgagt ggggtcaaag gatttactct tggaagagac ggccatgaga aacctatgaa	7980
tgtgcaaagt ctgggatgga acatcatcac cttcaaggac aaaactgata tccaccgcct	8040

ES 2 718 187 T3

agaaccagtg	aaatgtgaca	cccttttgtg	tgacattgga	gagtcacat	cgtcacatcgt	8100
cacagagggg	gaaaggaccg	tgagagttct	tgatactgta	gaaaaatggc	tggttgtg	8160
ggttgacaac	ttctgtgtga	aggtgttagc	tccatacatg	ccagatgttc	ttgagaaact	8220
ggaattgctc	caaaggaggt	ttggcggaac	agtgatcagg	aacctctct	ccaggaattc	8280
cactcatgaa	atgtactacg	tgtctggagc	ccgcagcaat	gtcacattta	ctgtgaacca	8340
aacatcccg	ctcctgatga	ggagaatgag	gcgtccaact	ggaaaagtga	ccctggaggc	8400
tgacgtcatc	ctcccaattg	ggacacgcag	tgttgagaca	gacaaggagc	ccctggacaa	8460
agaggccata	gaagaaaggg	ttgagaggat	aaaatctgag	tacatgacct	cttggtttta	8520
tgacaatgac	aacctctaca	ggacctggca	ctactgtggc	tcctatgtca	caaaaacctc	8580
aggaagtgcg	gcgagcatgg	taaatggtgt	tattaaaatt	ctgacatata	catgggacag	8640
gatagaggag	gtcacaagaa	tggcaatgac	tgacacaacc	cccttttgag	agcaaagagt	8700
gtttaagaa	aaagttgaca	ccagagcaaa	ggatccacca	gcgggaacta	ggaagatcat	8760
gaaagttgtc	aacaggtggc	tgttccgcca	cctggccaga	gaaaagaacc	ccagactgtg	8820
cacaaaggaa	gaatttattg	caaaagtccg	aagtcatgca	gccattggag	cttacctgga	8880
agaacaagaa	cagtgaaga	ctgccaatga	ggctgtccaa	gacccaaagt	tctgggaact	8940
ggtggatgaa	gaaaggaagc	tgaccaacaa	aggcaggtgt	cggacttgtg	tgtacaacat	9000
gatggggaaa	agagagaaga	agctgtcaga	gtttgggaaa	gcaaagggaa	gccgtgccat	9060
atggtatatg	tggtctggag	cgcggtatct	tgagtttgag	gccctgggat	tcctgaatga	9120
ggaccattgg	gcttccaggg	aaaactcagg	aggaggagtg	gaaggcattg	gcttacaata	9180
cctaggatat	gtgatcagag	acctggctgc	aatggatggg	ggtggattct	acgcggatga	9240
caccgctgga	tggtgacacg	gcatcacaga	ggcagacctt	gatgatgaac	aggagatctt	9300
gaactacatg	agcccacatc	acaaaaaact	ggcacaagca	gtgatggaaa	tgacatacaa	9360
gaacaaagtg	gtgaaagtgt	tgagaccagc	cccaggaggg	aaagcctaca	tggtatgtcat	9420
aagtcgacga	gaccagagag	gatccgggca	ggtagtgaact	tatgctctga	acaccatcac	9480
caacttgaaa	gtccaattga	tcagaatggc	agaagcagag	atggtgatac	atcaccaaca	9540
tgttcaagat	tgtgatgaat	cagttctgac	caggctggag	gcatggctca	ctgagcacgg	9600
atgtgacaga	ctgaagagga	tggcgtgtgag	tggagacgac	tgtgtggtcc	ggcccatcga	9660
tgacaggttc	ggcctggccc	tgtcccatct	caacgccatg	tccaaggtta	gaaaggacat	9720
atctgaatgg	cagccatcaa	aagggtggaa	tgattgggag	aatgtgccct	tctgttccca	9780
ccacttccat	gaactacagc	tgaaggatgg	caggaggatt	gtggtgcctt	gccgagaaca	9840
ggacgagctc	attgggagag	gaagggtgtc	tccaggaaac	ggctggatga	tcaaggaaac	9900
agcttgcctc	agcaaagcct	atgccaacat	gtggtcactg	atgtattttc	acaaaaggga	9960

ES 2 718 187 T3

catgaggcta ctgtcattgg ctgtttcctc agctgttccc acctcatggg ttccacaagg	10020
acgcacaaca tggtcgattc atgggaaagg ggagtggatg accacggaag acatgcttga	10080
ggtgtggaac agagtatgga taaccaacaa cccacacatg caggacaaga caatggtgaa	10140
aaaatggaga gatgtccctt atctaaccaa gagacaagac aagctgtgcg gatcactgat	10200
tggaatgacc aatagggcca cctgggcctc ccacatccat ttagtcatcc atcgtatccg	10260
aacgctgatt ggacaggaga aatacactga ctacctaaca gtcatggaca ggtattctgt	10320
ggatgctgac ctgcaactgg gtgagcttat ctgaaacacc atctaacagg aataaccggg	10380
atacaaaacca cgggtggaga accggactcc ccacaacctg aaaccgggat ataaaccacg	10440
gctggagaac cgggctccgc acttaaaatg aaacagaaac cgggataaaa actacggatg	10500
gagaaccgga ctccacacat tgagacagaa gaagttgtca gcccagaacc ccacacgagt	10560
tttgccactg ctaagctgtg aggcagtgca ggctgggaca gccgacctcc aggttgcgaa	10620
aaacctgggt tctgggacct cccaccccag agtaaaaaga acggagcctc cgctaccacc	10680
ctcccacgtg gtggtagaaa gacggggtct agaggttaga ggagacctc cagggaacaa	10740
atagtgggac catattgacg ccagggaaag accggagtgg ttctctgctt ttcctccaga	10800
ggtctgtgag cacagtttgc tcaagaataa gcagaccttt ggatgacaaa caaaaacca	10860
ctggccggca tgggccagc ctctcgtg gcgcggctg ggcaacattc cgaggggacc	10920
gtcccctcgg taatggcgaa tgggacgaat tctgaaccag tcctaaaacg agtaaatagg	10980
accggcaatt cttcaagcaa taaacaggaa taccaattat taaaagataa cttagtacga	11040
tcgtacaata aagctttgaa gaaaaatgcg ccttattcaa tctttgctat aaaaaatggc	11100
ccaaaatctc acattggaag acatttgatg acctcatttc tttcaatgaa gggcctaacg	11160
gagttgacta atgttggtgg aaattggagc gataagcgtg cttctgccgt ggccaggaca	11220
acgtatactc atcagataac agcaatacct gatcactact tcgcactagt ttctcggtac	11280
tatgcatatg atccaatatc aaaggaaatg atagcattga aggatgagac taatccaatt	11340
gaggagtggc agcatataga acagctaaag ggtagtgctg aaggaagcat acgatacccc	11400
gcatggaatg ggataatatc acaggaggta ctagactacc tttcatccta cataaataga	11460
cgcataatag tacgcattta agcataaaca cgcactatgc cgttcttctc atgtatatat	11520
atatacaggc aacacgcaga tataggtgctg acgtgaacag tgagctgtat gtgcgcagct	11580
cgcgttgcat tttcggaagc gctcgttttc ggaaacgctt tgaagttcct attccgaagt	11640
tcctattctc tagaaagtat aggaacttca gagcgctttt gaaaaccaa agcgctctga	11700
agacgcactt tcaaaaaacc aaaaacgcac cggactgtaa cgagctacta aaatattgag	11760
aataccgctt ccacaaacat tgctcaaaag tatctctttg ctatatatct ctgtgctata	11820

tccctatata acctacccat ccacctttcg ctcccttgaac ttgcatctaa actcgacctc	11880
tacatTTTTT atgtttatct ctagtattac tcttttagaca aaaaaattgt agtaagaact	11940
attcatagag tgaatcgaaa acaatacgaa aatgtaaaca tttcctatac gtagtatata	12000
gagacaaaat agaagaaacc gttcataatt ttctgaccaa tgaagaatca tcaacgctat	12060
cactttctgt tcacaaagta tgcgcaatcc acatcggtat agaataataat cggggatgcc	12120
tttatcttga aaaaatgcac cgcgagcttc gctagtaatc agtaaacgcg ggaagtggag	12180
tcaggctttt tttatggaag agaaaataga caccaaagta gccttcttct aaccttaacg	12240
gacctacagt gcaaaaagtt atcaagagac tgcattatag agcgcacaaa ggagaaaaaa	12300
agtaatctaa gatgctttgt tagaaaaata gcgctctcgg gatgcatttt tgtagaacaa	12360
aaaagaagta tagattcttt gttggtaaaa tagcgctctc gcgttgcat tctgttctgt	12420
aaaaatgcag ctacagattct ttgtttgaaa aattagcgct ctgcggttgc atttttgttt	12480
tacaaaaatg aagcacagat tcttcgttgg taaaatagcg ctttcgcgtt gcatttctgt	12540
tctgtaaaaa tgcagctcag attctttgtt tgaaaaatta gcgctctcgc gttgcatttt	12600
tgttctacaa aatgaagcac agatgcttcg ttaacaaaga tatgctattg aagtgcgaaga	12660
tggaaacgca gaaaatgaac cggggatgcg acgtgcaaga ttacctatgc aatagatgca	12720
atagtttctc caggaaccga aatacataca ttgtcttcog taaagcgcta gactatatat	12780
tattatacag gttcaaatat actatctggt tcagggaaaa ctcccagggt cggatgttca	12840
aaattcaatg atgggtaaca agtacgatcg taaatctgta aaacagtttg tcggatatta	12900
ggctgtatct cctcaaagcg tattcgaata tcattgagaa gctgcaggca agtgcacaaa	12960
caatacttaa ataaatacta ctacgtaata acctatttct tagcattttt gacgaaattt	13020
gctattttgt tagagtcttt tacaccattt gtctccacac ctccgcttac atcaacacca	13080
ataacgccat ttaatctaag cgcacacca acattttctg gcgtcagtc accagctaac	13140
ataaaatgta agctttcggg gctctcttgc cttccaaccc agtcagaaat cgagttccaa	13200
tccaaaagtt cacctgtccc acctgcttct gaatcaaaca agggaataaa cgaatgaggt	13260
ttctgtgaag ctgcactgag tagtatgttg cagtcttttg gaaatacgag tcttttaata	13320
actggcaaac cgaggaactc ttggtattct tgccacgact catctccatg cagttggacg	13380
atatcaatgc cgtaatcatt gaccagagcc aaaacatcct ccttaggttg attacgaaac	13440
acgccaacca agtatttcgg agtgctgaa ctatttttat atgcttttac aagacttgaa	13500
attttccctg caataaccgg gtcaattgtt ctctttctat tgggcacaca tataataccc	13560
agcaagtcag catcggaatc tagagcacat tctgcgcct ctgtgctctg caagccgcaa	13620
actttcacca atggaccaga actacctgtg aaattaataa cagacatact ccaagctgcc	13680
tttgtgtgct taatcacgta tactcacgtg ctcaatagtc accaatgcc tccctcttgg	13740

ES 2 718 187 T3

ccctcctcct	tttctttttt	cgaccgctag	cgtcgacagc	gacacacttg	catcggatgc	13800
agcccgggta	acgtgccggc	acggcctggg	taaccaggtg	ttttgtccac	ataaccgtgc	13860
gcaaaatggt	gtggataagc	aggacacagc	agcaatccac	agcaggcata	caaccgcaca	13920
ccgaggttac	tccgtttctac	aggttacgac	gacatgtcaa	tacttgccct	tgacaggcat	13980
tgatggaatc	gtagtctcac	gctgatagtc	tgatcgacaa	tacaagtggg	accgtggtcc	14040
cagaccgata	atcagaccga	caacacgagt	gggatcgtgg	tcccagacta	ataatcagac	14100
cgacgatacg	agtgggaccg	tggtcccaga	ctaataatca	gaccgacgat	acgagtggga	14160
ccgtgggtcc	agactaataa	tcagaccgac	gatacgagtg	ggaccgtggg	cccagactaa	14220
taatcagacc	gacgatacga	gtgggaccat	ggtcccagac	taataatcag	accgacgata	14280
cgagtgggac	cgtggtccca	gtctgattat	cagaccgacg	atacgagtgg	gaccgtggtc	14340
ccagactaat	aatcagaccg	acgatacgag	tgggaccgtg	gtcccagact	aataatcaga	14400
ccgacgatac	gagtgggacc	gtggtcccag	tctgattatc	agaccgacga	tacaagtgga	14460
acagtggggc	cagagagaat	attcaggcca	gttatgcttt	ctggcctgta	acaaaggaca	14520
ttaagtaaag	acagataaac	gtagactaaa	acgtggtcgc	atcagggtgc	tggcttttca	14580
agttccttaa	gaatggcctc	aattttctct	atacactcag	ttggaacacg	ggacctgtcc	14640
aggttaagca	ccattttatc	gcccttatac	aatactgtcg	ctccaggagc	aaactgatgt	14700
cgtgagctta	aactagtctt	tgatgcagat	gacgttttaa	gcacagaagt	taaaagagtg	14760
ataacttctt	cagcttcaaa	tatcacccca	gcttttttct	gctcatgaag	gttagatgcc	14820
tgctgcttaa	gtaattcctc	tttatctgta	aaggcttttt	gaagtgcac	acctgaccgg	14880
gcagatagtt	caccgggggtg	agaaaaaaga	gcaacaactg	atttaggcaa	tttggcggtg	14940
ttgatacagc	gggtaataat	cttactgtga	atattttccg	catcagccag	cgcagaaata	15000
tttccagcaa	atcattcttg	caatcggctt	gcataacgct	gaccacgttc	ataagcactt	15060
gttgggagat	aatcggtacc	caatctggat	aatgcagcca	tctgctcatc	atccagctcg	15120
ccaaccagaa	cacgataatc	actttcggta	agtgcagcag	ctttacgacg	gcgactccca	15180
tcggcaatth	ctatgacacc	agatactctt	cgaccgaacg	ccggtgtctg	ttgaccagtc	15240
agtagaaaag	aagggatgag	atcatccagt	gcgtcctcag	taagcagctc	ctggtcacgt	15300
tcattacctg	accatacccg	agaggtcttc	tcaacactat	caccccgag	cacttcaaga	15360
gtaaacttca	catcccgacc	acatacaggc	aaagtaatgg	cattaccgag	agccattact	15420
cctacgcgag	caattaacga	atccaccatc	ggggcagctg	gtgtcgataa	cgaagtatct	15480
tcaaccgggt	gagtattgag	cgtatgtttt	ggaataacag	gcgcacgctt	cattatctaa	15540
tctcccagcg	tggtttaatc	agacgatcga	aaatttcatt	gcagacaggt	tcccaaatag	15600

ES 2 718 187 T3

aaagagcatt	tctccaggca	ccagttgaag	agcgttgatc	aatggcctgt	tcaaaaacag	15660
ttctcatccg	gatctgacct	ttaccaactt	catccgtttc	acgtacaaca	ttttttagaa	15720
ccatgctttc	ccaggcatcc	cgaatttgct	cctccatcca	cggggactga	gagccattac	15780
tattgctgta	tttggttaagc	aaaatacgt	catcaggctc	gaacccttta	agatcaacgt	15840
tcttgagcag	atcacgaagc	atatcgaaaa	actgcagtgc	ggaggtgtag	tcaaaacaact	15900
cagcaggcgt	gggaacaatc	agcacatcag	cagcacatac	gacattaatc	gtgccgatac	15960
ccaggttagg	cgcgtgtca	ataactatga	catcatagtc	atgagcaaca	gtttcaatgg	16020
ccagtcggag	catcagggtgt	ggatcgggtg	gcagtttacc	ttcatcaaat	ttgccatta	16080
actcagtttc	aatacgggtgc	agagccagac	aggaaggaat	aatgtcaagc	cccggccagc	16140
aagtgggctt	tattgcataa	gtgacatcgt	ccttttcccc	aagatagaaa	ggcaggagag	16200
tgtcttctgc	atgaatatga	agatctggta	cccacccgtg	atacattgag	gctgttccct	16260
gggggtcgtt	accttccacg	agcaaaacac	gtagcccttc	cagagccaga	tcctgagcaa	16320
gatgaacaga	aactgagggt	ttgtaaacgc	cacctttatg	ggcagcaacc	ccgatcaccc	16380
gtggaatac	gtcttcagca	cgtcgcaatc	gcgtaccaaa	cacatcacgc	atatgattaa	16440
tttgttcaat	tgtataacca	acacgttgct	caaccctgcc	tcgaatttcc	atatccgggt	16500
gcggtagtcg	ccctgctttc	toggcatctc	tgatagcctg	agaagaaaac	ccaactaaat	16560
ccgtgcttc	acctattctc	cagcgcggg	ttattttcct	cgcttccggg	ctgtcatcat	16620
taaactgtgc	aatggcgata	gccttcgtca	tttcatgacc	agcgtttatg	cactgggtta	16680
gtgtttccat	gagtttcatt	ctgaacatcc	tttaatcatt	gctttgcgtt	tttttattaa	16740
atcttgcaat	ttactgcaaa	gcaacaacaa	aatcgcaaag	tcataaaaaa	accgcaaagt	16800
tgttttaaat	aagagcaaca	ctacaaaagg	agataagaag	agcacatacc	tcagtcactt	16860
attatcacta	gcgctcgccg	cagccgtgta	accgagcata	gcgagcgaac	tggcgaggaa	16920
gcaaagaaga	actgttctgt	cagatagctc	ttacgctcag	cgcaagaaga	aatatccacc	16980
gtgggaaaaa	ctccaggtag	aggtacacac	gcggatagcc	aattcagagt	aataaactgt	17040
gataatcaac	cctcatcaat	gatgacgaac	taacccccga	tatcagggtca	catgacgaag	17100
ggaaagagaa	ggaaatcaac	tgtgacaaac	tgccctcaaa	tttggcttcc	ttaaaaatta	17160
cagttcaaaa	agtatgagaa	aatccatgca	ggctgaagga	aacagcaaaa	ctgtgacaaa	17220
ttaccctcag	taggtcagaa	caaatgtgac	gaaccaccct	caaactctgtg	acagataacc	17280
ctcagactat	cctgtcgtca	tggaagtgat	atcgcggaag	gaaaatacga	tatgagtcgt	17340
ctggcggcct	ttctttttct	caatgtatga	gaggcgcatt	ggagttctgc	tgttgatctc	17400
attaacacag	acctgcagga	agcggcggcg	gaagtcaggc	atacgctggg	aactttgagg	17460
cagctggtaa	cgctctatga	tccagtcgat	tttcagagag	acgatgcctg	agccatccgg	17520

ES 2 718 187 T3

cttacgatac tgacacaggg attcgtataa acgcatggca tacggattgg tgatttcttt	17580
tgtttcacta agccgaaact gcgtaaaccg gttctgtaac ccgataaaga agggaatgag	17640
atatgggttg atatgtacac tgtaaagccc tctggatgga ctgtgcgcac gtttgataaa	17700
ccaaggaaaa gattcatagc ctttttcacg gccggcatcc tcttcagggc gataaaaaac	17760
cacttccttc cccgcgaaac tcttcaatgc ctgccgtata tccttactgg cttccgcaga	17820
ggtcaatccg aatatttcag catatttagc aacatggatc tcgcagatac cgtcatgttc	17880
ctgtagggtg ccatcagatt ttctgatctg gtcaacgaac agatacagca tacgtttttg	17940
atcccgaggag agactatatg ccgcctcagt gaggtcgttt gactggacga ttccggggct	18000
atttttacgt ttcttgtgat tgataaccgc tgtttccgcc atgacagatc catgtgaagt	18060
gtgacaagtt tttagattgt cactactaat aaaaaagagt caataagcag ggataacttt	18120
gtgaaaaaac agcttcttct gagggcaatt tgtcacaggg ttaagggcaa tttgtcacag	18180
acaggactgt catttgaggg tgatttgtca cactgaaagg gcaatttgtc acaacacctt	18240
ctctagaacc agcatggata aaggcctaca aggcgtcta aaaaagaaga tctaaaaact	18300
ataaaaaaaaa taattataaa aatatcccg tggataagt gataaccca agggaagt	18360
tttcaggcat cgtgtgtaag cagaatatat aagtgtgtt ccctgggtgt tctcgtctca	18420
ctcgaccggg aggggttcgag aagggggggc accccccttc ggcggtgcgcg gtcacgcgca	18480
caggggcgag ccctgggtta aaacaagggt tataaatatt ggtttaaaag cagggttaaa	18540
gacagggttag cgggtggccga aaaacgggcg gaaacccttg caaatgctgg attttctgcc	18600
tgtggacagc ccctcaaatg tcaatagggt cgccctcat ctgtcagcac tctgccctc	18660
aagtgtcaag gatcgcgccc ctcatctgtc agtagtcgcg ccctcaagt gtcaataccg	18720
caggggcactt atccccaggc ttgtccacat catctgtggg aaactcgcgt aaaatcaggc	18780
gttttcgccg atttgcgagg ctggccagct ccacgtcgcc ggccgaaatc gagcctgcc	18840
ctcatctgtc aacgccgcgc cgggtgagtc ggcccctcaa gtgtcaacgt ccgcccctca	18900
tctgtcagtg agggccaagt tttccgcgag gtatccacaa cgccggcggc cggccgcggt	18960
gtctcgaca cggcttcgac ggcgtttctg gcgcgtttgc agggccatag acggccgcca	19020
gccagcggc gagggcaacc agccgagggc ttcgccctgt cgctcgactg cggcgagcac	19080
tactggctgt aaaaggacag accacatcat ggttctgtgt tcattagggt gttctgtcca	19140
ttgctgacat aatccgctcc acttcaacgt aacaccgcac gaagatttct attgttctg	19200
aaggcatatt caaatcgttt tcgttaccgc ttgcaggcat catgacagaa cactacttcc	19260
tataaacgct acacaggctc ctgagattaa taatgcggat ctctacgata atgggagatt	19320
ttcccgactg tttcgttcgc ttctcagtg ataacagcca gcttctctgt ttaacagaca	19380

ES 2 718 187 T3

aaaacagcat atccactcag ttccacattt ccatataaag gccaaaggcat ttatttctcag	19440
gataattgtt tcagcatcgc aaccgcatca gactccggca tcgcaaactg cacccggtgc	19500
cgggcagcca catccagcgc aaaaaccttc gtgtagactt ccgttgaact gatggactta	19560
tgtcccata ggctttgcag aactttcagc ggtataccgg catacagcat gtgcatcgca	19620
taggaatggc ggaacgtatg tgggtgtgacc ggaacagaga acgtcacacc gtcagcagca	19680
gcggcggcaa ccgcctcccc aatccaggtc ctgaccgttc tgtccgtcac ttcccagatc	19740
cgcgctttct ctgtccttcc tgtgcgacgg ttacgccgct ccatgagctt atcggaata	19800
aatacctgtg acggaagatc acttcgcaga ataaataaat cctgggtgtcc ctggtgatac	19860
cgggaagccc tgggccaact tttggcgaaa atgagacggt gatcggcacg taagaggttc	19920
caactttcac cataatgaaa taagatcact accgggcgta ttttttgagt tatcgagatt	19980
ttcaggagct aaggaagcta aaatggagaa aaaaatcact ggatatacca ccgttgatat	20040
atcccaatgg catcgtaaag aacattttga ggcatttcag tcagttgctc aatgtacctc	20100
taaccagacc gttcagctgg atattacggc ctttttaaag accgtaaaga aaaataagca	20160
caagttttat ccggccttta ttacatttct tgcccgcctg atgaatgctc atccggaatt	20220
tcgtatggca atgaaagacg gtgagctggt gatatgggat agtggtcacc cttgttacac	20280
cgttttccat gagcaaactg aaacgttttc atcgctctgg agtgaatacc acgacgattt	20340
ccggcagttt ctacacatat attcgcaaga tgtggcgtgt tacggtgaaa acctggccta	20400
tttcctaaa gggtttattg agaatatgtt ttctgtctca gccaatccct ggggtgagttt	20460
caccagtttt gatttaaacc tggccaatat ggacaacttc ttccgccccg ttttcaccat	20520
gggcaaatat tatacgcaag gcgacaaggt gctgatgccg ctggcgattc aggttcacac	20580
tgccgtttgt gatggcttcc atgtcggcag aatgcttaat gaattacaac agtactgcga	20640
tgagtggcag ggcggggcgt aattttttta aggcagttat tgggtgccctt aaacgcctgg	20700
ttgctacgcc tgaataagtg ataataagcg gatgaatggc agaaattcga tgataagctg	20760
tcaaacatga gaattggtcg accctgtgga atgtgtgtca gttagggtgt ggaaagtccc	20820
caggctcccc agcaggcaga agtatgcaaa gcatgcatct caattagtca gcaaccaggt	20880
gtggaaagtc cccaggctcc ccagcaggca gaagtatgca aagcatgcat ctcaattagt	20940
cagcaaccat agtcccgccc ctaactccgc ccatcccgcc cctaactccg ccagttccg	21000
cccattctcc gccccatggc tgactaatth tttttattta tgacagaggcc gaggcgcct	21060
c	21061

<210> 5
 <211> 21091
 <212> ADN
 <213> sintético

 <400> 5

ES 2 718 187 T3

agtaaatcct gtgtgctaata tgaggtgcat tggctctgcaa atcgagttgc taggcaataa	60
acacatttgg attaatTTta atcgttcggt gagcgattag cagagaactg accagaacat	120
gtctggtcgt aaagctcagg gaaaaaccct gggcgtcaat atggtacgac gaggagtctg	180
ctccttgTca aacaaaataa aacaaaaaac aaaacaaatt ggaacagac ctggaccttc	240
aagaggtgtt caaggattta tctttttctt tttgttcaac attttgactg gaaaaagat	300
cacagccac ctaaagaggt tgtggaaaat gctggacca agacaaggct tggctgttct	360
aaggaaagt c aagagagtgg tggccagttt gatgagagga ttgtcctcga ggaaacgcg	420
ttcccatgat gttctgactg tgcaattcct aattttggga atgctgttga tgacgggtgg	480
aatgaagttg tcgaatttcc aggggaagct tttgatgacc atcaacaaca cggacattgc	540
agacgttatc tgattccca cctcaaaagg agagaacaga tgctgggtcc gggcaatcga	600
cgtcggctac atgtgtgagg acactatcac gtacgaatgt cctaagctta ccatgggcaa	660
tgatccagag gatgtggatt gctggtgtga caaccaagaa gtctacgtcc aatatggacg	720
gtgcacgcgg accaggcatt ccaagcgaag caggagatcc gtgtcgggtcc aaacacatgg	780
ggagagttca ctagtgaata aaaaagaggc ttggctggat tcaacgaaag ccacacgata	840
tctcatgaaa actgagaact ggatcataag gaatcctggc tatgctttcc tggcggcggt	900
acttggctgg atgcttgga gtaacaacgg tcaacgcgtg gtatttacca tcctcctgct	960
gttggtcgct ccggcttaca gttttaattg tctgggaatg ggcaatcgtg acttcataga	1020
aggagccagt ggagccactt ggggtggactt ggtgctagaa ggagacagct gcttgacaat	1080
catggcaaac gacaaaccaa cattggacgt ccgcatgatt aacatcgaag ctagccaact	1140
tgctgaggtc agaagttact gctatcatgc ttcagtcact gacatctcga cggtggtcgt	1200
gtgccccacg actggagaag cccacaacga gaagcgagct gatagtagct atgtgtgcaa	1260
acaaggttc actgaccgtg ggtggggcaa cggatgtgga ttttcggga agggaagcat	1320
tgacacatgt gcaaaattct cctgcaccag taaagcgatt gggagaacaa tccagccaga	1380
aaacatcaaa tacaaagtTg gcatttttgt gcatggaacc accacttcgTg aaaaccatgg	1440
gaattattca gcgcaagtTg gggcgtcca ggcggcaaag tttacagtaa cacccaatgc	1500
tccttcggta gccctcaaac ttggtgacta cggagaagtc aactggact gtgagccaag	1560
gagtggactg aacactgaag cgttttacgt catgaccgtg ggtcaaagt catttctggt	1620
ccatagggag tggtttcatg acctcgtct cccctggacg tccccttcga gcacagcgtg	1680
gagaaacaga gaactcctca tggaatttga aggggcgcac gccacaaaac agtccgttgt	1740
tgctcttggg tcacaggaag gaggcctcca tcatgcgttg gcaggagcca tcgtggtgga	1800
gtactcaagc tcagtgatgt taacatcagg ccacctgaaa tgtaggctga aaatggacaa	1860

ES 2 718 187 T3

actggctctg aaaggcacia cctatggcat gtgtacagaa aaattctcgt tcgcgaaaaa	1920
tccggtggac actggtcacg gaacagttgt cattgaactc tcctactctg ggagtgatgg	1980
cccctgcaaa attccgattg tttccgttgc gagcctcaat gacatgaccc ccgttgggcg	2040
gctggtgaca gtgaaccctc tcgtcgcgac ttccagtgcc aactcaaagg tgctggtcga	2100
gatggaaccc cccttcggag actcctacat cgtagtgtga aggggagaca agcagatcaa	2160
ccaccattgg caciaaagctg gaagcacgct gggcaaggcc ttttcaacia ctttgaaggg	2220
agctcaaaga ctggcagcgt tgggcgacac agcctgggac tttggctcta ttggaggggt	2280
cttcaactcc ataggaagag ccgttcacca agtgtttggt ggtgccttca gaacactctt	2340
tgggggaatg tcttgatca cacaagggct aatgggtgcc ctactgctct ggatgggctg	2400
caacgcacga gaccgatcaa ttgctttggc cttcttagcc acaggaggtg tgctcgtgtt	2460
cttagcgacc aatgtgggcg ccgatcaagg atgcgccatc aactttggca agagagagct	2520
caagtgcgga gatggtatct tcatatttag agactctgat gactggctga acaagtactc	2580
atactatcca gaagatcctg tgaagcttgc atcaatagtg aaagcctctt ttgaagaagg	2640
gaagtgtggc ctaaattcag ttgactccct tgagcatgag atgtggagaa gcagggcaga	2700
tgagatcaat gccatttttg aggaaaacga ggtggacatt tctgttctcg tgcaggatcc	2760
aaagaatgtt taccagagag gaactcatcc attttccaga attcgggatg gtctgcagta	2820
tgggttgaag acttggggta agaaccctgt gttctcccca gggaggaaga atggaagctt	2880
catcatagat ggaaagtcca ggaaagaatg ccggttttca aaccgggtct ggaattcttt	2940
ccagatagag gagtttggga cgggagtggt caccacacgc gtgtacatgg acgcagtctt	3000
tgaatacacc atagactgcy atggatctat cttgggtgca gcggtgaacg gaaaaaagag	3060
tgcccatggc tctccaacat tttggatggg aagtcatgaa gtaaatggga catggatgat	3120
ccacaccttg gaggcattag attacaagga gtgtgagtgg cactgacac atacgattgg	3180
aacatcagtt gaagagagtg aaatgttcat gccgagatca atcggaggcc cagttagctc	3240
tcacaatcat atccctggat acaaggttca gacgaacgga ccttggatgc aggtaccact	3300
agaagtgaag agagaagctt gcccagggac tagcgtgatc attgatggca actgtgatgg	3360
acggggaaaa tcaaccagat ccaccacgga tagcgggaaa gttattcctg aatggtgttg	3420
ccgctcctgc acaatgccgc ctgtgagctt ccatggtagt gatgggtgtt ggtatcccat	3480
ggaaattagg ccaaggaaaa cgcatgaaag ccatctggtg cgctcctggg ttacagctgg	3540
agaaatacat gctgtccctt ttggtttggt gagcatgatg atagcaatgg aagtggctct	3600
aaggaaaaga cagggaacca agcaaatgtt ggttgaggga gtagtgctct tgggagcaat	3660
gctggtcggg caagtaactc tccttgattt gctgaaactc acagtggctg tgggattgca	3720

ES 2 718 187 T3

tttccatgag atgaacaatg gaggagacgc catgtatatg gcgttgattg ctgccttttc	3780
aatcagacca gggctgctca tgggcttttg gctcaggacc ctatggagcc ctcggaacg	3840
ccttgctgctg accctaggag cagccatggt ggagattgcc ttgggtggcg tgatgggcgg	3900
cctgtggaag tatctaaatg cagtttctct ctgcatcctg acaataaatg ctgttgcttc	3960
taggaaagca tcaaatacca tcttgccct catggctctg ttgacaccgg tcaccatggc	4020
tgaggtgaga cttgccgcaa tgttcttttg tgccatgggt atcatagggg tccttcacca	4080
gaatttcaag gacacctcca tgcagaagac tatacctctg gtggccctca cactcacatc	4140
ttacctgggc ttgacacaac cttttttggg cctgtgtgca tttctggcaa cccgcatatt	4200
tgggcgaagg agtatcccag tgaatgaggc actcgcagca gctggctctag tgggagtgtc	4260
ggcaggactg gcttttcagg agatggagaa cttccttggg ccgattgcag ttggaggact	4320
cctgatgatg ctgggttagcg tggctgggag ggtggatggg ctagagctca agaagcttgg	4380
tgaagtttca tgggaagagg aggcggagat cagcgggagt tccgcccgt atgatgtggc	4440
actcagtga caaggggagt tcaagctgct ttctgaagag aaagtgccat gggaccaggt	4500
tgtgatgacc tcgctggcct tgggtggggc tgccctccat ccatttgctc ttctgctggt	4560
ccttgctggg tggctgtttc atgtcagggg agctaggaga agtggggatg tcttgctgga	4620
tattcccact cctaagatca tcgaggaatg tgaacatctg gaggatggga tttatggcat	4680
attccagtca accttcttgg gggcctccca gcgaggagtg ggagtggcac agggaggggt	4740
gttccacaca atgtggcatg tcacaagagg agctttcctt gtcaggaatg gcaagaagtt	4800
gattccatct tgggcttcag taaaggaaga ccttgtcgcc tatgggtggc catggaagtt	4860
ggaaggcaga tgggatggag aggaagaggt ccagttgatc gcggctgttc caggaaagaa	4920
cgtggtcaac gtccagacaa aaccgagctt gttcaaagtg aggaatgggg gagaaatcgg	4980
ggctgtcgct cttgactatc cgagtggcac ttcaggatct cctattgtta acaggaacgg	5040
agaggtgatt gggctgtacg gcaatggcat ccttgtcggg gacaactcct tcgtgtccgc	5100
catatcccag actgaggtga aggaagaagg aaaggaggag ctccaagaga tcccgacaat	5160
gctaaagaaa ggaatgacaa ctgtccttga ttttcatcct ggagctggga agacaagacg	5220
tttcctccca cagatcttgg ccgagtgcgc acggagacgc ttgcgcactc ttgtgttggc	5280
ccccaccagg gttgttcttt ctgaaatgaa ggaggctttt cacggcctgg acgtgaaatt	5340
ccacacacag gctttttccg ctcacggcag cgggagagaa gtcattgatg ccatgtgcca	5400
tgccacccta acttacagga tgttggaacc aactaggggt gttactggg aagtgatcat	5460
tatggatgaa gcccatTTTT ttgatccagc tagcatagcc gctagagggt gggcagcgca	5520
cagagctagg gcaaatgaaa gtgcaacaat cttgatgaca gccacaccgc ctgggactag	5580
tgatgaattt ccacattcaa atggtgaaat agaagatgtt caaacggaca taccagtgga	5640

ES 2 718 187 T3

gccctggaac acagggcatg actggatcct agctgacaaa aggccacg catggttcct	5700
tccatccatc agagctgcaa atgtcatggc tgcctctttg cgtaaggctg gaaagagtgt	5760
ggtggtcctg aacaggaaaa cctttgagag agaatacccc acgataaagc agaagaaacc	5820
tgactttata ttggccactg acatagctga aatgggagcc aacctttgcg tggagcgagt	5880
gctggattgc aggacggctt ttaagcctgt gcttgtggat gaagggagga aggtggcaat	5940
aaaagggcca ctctgtatct ccgcatcctc tgctgtctca aggagggggc gcattgggag	6000
aaatcccaac agagatggag actcatacta ctattctgag cctacaagtg aaaataatgc	6060
ccaccacgct tgctgggttg aggcctcaat gctcttggac aacatggagg tgaggggttg	6120
aatggtcgcc ccaactctatg gcgttgaagg aactaaaaca ccagtttccc ctggtgaaat	6180
gagactgagg gatgaccaga ggaaagtctt cagagaacta gtgaggaatt gtgacctgcc	6240
cgtttggtt tcgtggcaag tggccaaggc tggtttgaag acgaatgatc gtaagtgggtg	6300
ttttgaaggc cctgaggaac atgagatctt gaatgacagc ggtgaaacag tgaagtgcag	6360
ggctcctgga ggagcaaaga agcctctgcg cccaagggtg tgtgatgaaa ggggtgcatc	6420
tgaccagagt gcgctgtctg aatttattaa gtttgcgtgaa ggtaggagg gagctgctga	6480
agtgtagtt gtgctgagt aactccctga tttcctggct aaaaagggtg gagaggcaat	6540
ggataccatc agtgtgttcc tccactctga ggaaggctct agggcttacc gcaatgcaat	6600
atcaatgatg cctgaggcaa tgacaatagt catgctgttt atactggctg gactactgac	6660
atcggaatg gtcactcttt tcatgtctcc caaaggcatc agtagaatgt ctatggcgat	6720
gggcacaatg gccggctgtg gatctctcat gttccttggg gccgtcaaac ccactcacat	6780
ctcctatgtc atgtcatat tctttgtcct gatgggtggt gtgatcccc agccagggca	6840
acaaaggctc atccaagaca accaagtggc atacctcatt attggcatcc tgacgtggt	6900
ttcagcgggt gcagccaacg agctaggcat gctggagaaa accaaagagg acctctttgg	6960
gaagaagaac ttaattccat ctagtgttc accctggagt tggccggatc ttgacctgaa	7020
gccaggagct gcctggacag tgtacgttg cattgttaca atgctctctc caatgttgca	7080
ccactggatc aaagtcgaat atggcaacct gtctctgtct ggaatagccc agtcagcctc	7140
agtcctttct ttcattggaca aggggatacc attcatgaag atgaatatct cggtcataat	7200
gctgctggtc agtggctgga attcaataac agtgatgcct ctgctctgtg gcatagggtg	7260
cgccatgctc cactggctct catttttacc tggaatcaaa gcgcagcagt caaagctagc	7320
acagagaagg gtgttccatg gcgttgccga gaacctgtg gttgatggga atccaacagt	7380
tgacattgag gaagctcctg aaatgcctgc cctttatgag aagaaactgg ctctatatct	7440
ccttcttgct ctcagcctag cttctgttgc catgtgcaga acgcccttt cattggctga	7500

ES 2 718 187 T3

aggcattgtc ctagcatcag ctgccttagg gccgctcata gagggaaaca ccagccttct	7560
ttggaatgga cccatggctg tctccatgac aggagtcacg agggggaatc actatgcttt	7620
tgtgggagtc atgtacaatc tatggaagat gaaaactgga cgccggggga gcgcgaatgg	7680
aaaaactttg ggtgaagtct ggaagaggga actgaatctg ttggacaagc gacagtttga	7740
gttgtataaa aggaccgaca ttgtggagggt ggatcgtgat acggcacgca ggcattttgc	7800
cgaagggaag gtggacaccg ggggtggcgtt ctccaggggg accgcaaagt taaggtggtt	7860
ccatgagcgt ggctatgtca agctggaagg taggggtgatt gacctgggggt gtggccgcgg	7920
aggctgggtg tactacgctg ctgcgcaaaa ggaagtgagt ggggtcaaag gatttactct	7980
tggaagagac ggccatgaga aaccatgaa tgtgcaaagt ctgggatgga acatcatcac	8040
cttcaaggac aaaactgata tccaccgcct agaaccagtg aaatgtgaca ccctttttgtg	8100
tgacattgga gagtcacatc cgtcatcgggt cacagagggg gaaaggaccg tgagagttct	8160
tgatactgta gaaaaatggc tggcttgtgg ggttgacaac ttctgtgtga aggtgttagc	8220
tccatacatg ccagatgttc ttgagaaact ggaattgctc caaaggagggt ttggcggaac	8280
agtgatcagg aacctctctc ccaggaattc cactcatgaa atgtactacg tgtctggagc	8340
ccgcagcaat gtcacattta ctgtgaacca aacatccgcg ctctgatga ggagaatgag	8400
gcgtccaact ggaaaagtga ccctggaggc tgacgtcatc ctccaattg ggacacgcag	8460
tgttgagaca gacaagggac ccctggacaa agaggccata gaagaaagggt ttgagaggat	8520
aaaatctgag tacatgacct cttggtttta tgacaatgac aacctctaca ggacctggca	8580
ctactgtggc tcctatgtca caaaaacctc aggaagtgcg gcgagcatgg taaatggtgt	8640
tattaaaatt ctgacatata catgggacag gatagaggag gtcacaagaa tggcaatgac	8700
tgacacaacc ccttttggac agcaaagagt gtttaaagaa aaagttgaca ccagagcaaa	8760
ggatccacca gcgggaacta ggaagatcat gaaagttgtc aacagggtggc tgttccgcca	8820
cctggccaga gaaaagaacc ccagactgtg cacaaggaagaa gaattttattg caaaagtccg	8880
aagtcacgca gccattggag cttacctgga agaacaagaa cagtgggaaga ctgccaatga	8940
ggctgtccaa gacccaaagt tctgggaact ggtggatgaa gaaaggaagc tgcaccaaca	9000
aggcagggtg cggacttgtg tgtacaacat gatggggaaa agagagaaga agctgtcaga	9060
gtttgggaaa gcaaaggga gccgtgccat atggtatatg tggtctgggag cgcggtatct	9120
tgagtttgag gccctgggat tcctgaatga ggaccattgg gcttccaggg aaaactcagg	9180
aggaggagtg gaaggcattg gcttacaata cctaggatat gtgatcagag acctggctgc	9240
aatggatggt ggtggattct acgcggatga caccgctgga tgggacacgc gcatcacaga	9300
ggcagacctt gatgatgaac aggagatctt gaactacatg agccacatc acaaaaaact	9360
ggcacaagca gtgatggaaa tgacatacaa gaacaaagtg gtgaaagtgt tgagaccagc	9420

ES 2 718 187 T3

cccaggaggg	aaagcctaca	tggatgtcat	aagtcgacga	gaccagagag	gatccgggca	9480
ggtagtgact	tatgctctga	acaccatcac	caacttgaaa	gtccaattga	tcagaatggc	9540
agaagcagag	atggtgatac	atcaccaaca	tgttcaagat	tgtgatgaat	cagttctgac	9600
caggctggag	gcatggctca	ctgagcacgg	atgtgacaga	ctgaagagga	tggcggtgag	9660
tggagacgac	tgtgtggtcc	ggcccatcga	tgacaggttc	ggcctggccc	tgtcccatct	9720
caacgccatg	tccaaggtta	gaaaggacat	atctgaatgg	cagccatcaa	aagggtggaa	9780
tgattgggag	aatgtgccct	tctgttccca	ccacttccat	gaactacagc	tgaaggatgg	9840
caggaggatt	gtggtgcctt	gccgagaaca	ggacgagctc	attgggagag	gaagggtgtc	9900
tccaggaaac	ggctggatga	tcaaggaaac	agcttgccctc	agcaaagcct	atgccaacat	9960
gtggtcactg	atgtattttc	acaaaaggga	catgaggcta	ctgtcattgg	ctgtttcctc	10020
agctgttccc	acctcatggg	ttccacaagg	acgcacaaca	tggtcgattc	atgggaaagg	10080
ggagtggatg	accacggaag	acatgcttga	ggtgtggaac	agagtatgga	taaccaacaa	10140
cccacacatg	caggacaaga	caatggtgaa	aaaatggaga	gatgtccctt	atctaaccaa	10200
gagacaagac	aagctgtgcg	gatcactgat	tggaatgacc	aatagggcca	cctgggcctc	10260
ccacatccat	ttagtcatcc	atcgtatccg	aacgctgatt	ggacaggaga	aatacactga	10320
ctacctaaca	gtcatggaca	ggtattctgt	ggatgctgac	ctgcaactgg	gtgagcttat	10380
ctgaaacacc	atctaacagg	aataaccggg	atacaaacca	cgggtggaga	accggactcc	10440
ccacaacctg	aaaccgggat	ataaaccacg	gctggagaac	cgggctccgc	acttaaaatg	10500
aaacagaaac	cgggataaaa	actacggatg	gagaaccgga	ctccacacat	tgagacagaa	10560
gaagttgtca	gcccagaacc	ccacacgagt	tttgccactg	ctaagctgtg	aggcagtgca	10620
ggctgggaca	gccgacctcc	aggttgcgaa	aaacctggtt	tctgggacct	cccaccccag	10680
agtaaaaaga	acggagcctc	cgctaccacc	ctcccacgtg	gtggtagaaa	gacggggtct	10740
agagggttaga	ggagaccctc	cagggaaaca	atagtgggac	catattgacg	ccagggaag	10800
accggagtgg	ttctctgctt	ttcctccaga	ggtctgtgag	cacagtttgc	tcaagaataa	10860
gcagaccttt	ggatgacaaa	cacaaaacca	ctggccggca	tggcccagc	ctcctcgtg	10920
gcgccggctg	ggcaacattc	cgaggggacc	gtcccctcgg	taatggcgaa	tgggacgaat	10980
tctgaaccag	tcctaaaacg	agtaaatagg	accggcaatt	cttcaagcaa	taaacaggaa	11040
taccaattat	taaaagataa	cttagtcaga	tcgtacaata	aagctttgaa	gaaaaatgcg	11100
ccttattcaa	tctttgctat	aaaaaatggc	ccaaaatctc	acattggaag	acatttgatg	11160
acctcatttc	tttcaatgaa	gggcctaacg	gagttgacta	atgttggtgg	aaattggagc	11220
gataagcgtg	cttctgccgt	ggccaggaca	acgtatactc	atcagataac	agcaataacct	11280

ES 2 718 187 T3

gatcactact	tcgcactagt	ttctcggtag	tatgcatatg	atccaatatc	aaaggaaatg	11340
atagcattga	aggatgagac	taatccaatt	gaggagtggc	agcatataga	acagctaaag	11400
ggtagtgctg	aaggaagcat	acgatacccc	gcatggaatg	ggataatatc	acaggaggta	11460
ctagactacc	tttcatccta	cataaataga	cgcataatag	tacgcattta	agcataaaca	11520
cgcactatgc	cgttcttctc	atgtatatat	atatacaggc	aacacgcaga	tatagggtcg	11580
acgtgaacag	tgagctgtat	gtgcgcagct	cgcgttgcac	tttcggaagc	gctcgttttc	11640
ggaaacgctt	tgaagttcct	attccgaagt	tcctattctc	tagaaagtat	aggaacttca	11700
gagcgccttt	gaaaacccaa	agcgcctctg	agacgcactt	tcaaaaaacc	aaaaacgcac	11760
cggactgtaa	cgcagctact	aaatattgct	aataccgctt	ccacaaacat	tgctcaaaag	11820
tatctctttg	ctatatatct	ctgtgctata	tcctatatata	acctacccat	ccacctttcg	11880
ctccttgaac	ttgcatctaa	actcgacctc	tacatttttt	atgtttatct	ctagtattac	11940
tcttttagaca	aaaaaattgt	agtaagaact	attcatagag	tgaatcgaaa	acaatacgaa	12000
aatgtaaaca	tttctataac	gtagtatata	gagacaaaat	agaagaaacc	gttcataatt	12060
ttctgaccaa	tgaagaatca	tcaacgctat	cactttctgt	tcacaaagta	tgcgcaatcc	12120
acatcggtat	agaatataat	cggggatgcc	tttatcttga	aaaaatgcac	ccgcagcttc	12180
gctagtaatc	agtaaacgcg	ggaagtggag	tcaggctttt	tttatggaag	agaaaataga	12240
caccaaagta	gccttcttct	aaccttaacg	gacctacagt	gcaaaaagtt	atcaagagac	12300
tgcatatatg	agcgcacaaa	ggagaaaaaa	agtaatctaa	gatgctttgt	tagaaaaata	12360
gcgctctcgg	gatgcatttt	tgtagaacaa	aaaagaagta	tagattcttt	gttggtaaaa	12420
tagcgcctctc	gcgttgcat	tctgttctgt	aaaaatgcag	ctcagattct	ttgtttgaaa	12480
aattagcgct	ctcgcgttgc	atttttgttt	tacaaaaatg	aagcacagat	tcttcggttg	12540
taaaaatagc	ctttcgcgtt	gcatttctgt	tctgtaaaaa	tcagctcag	attctttgtt	12600
tgaaaaatta	gcgctctcgc	gttgcatttt	tggtctacaa	aatgaagcac	agatgcttcg	12660
ttaacaaaga	tatgctattg	aagtgcgaag	tggaacgcga	gaaaatgaac	cggggatgcg	12720
acgtgcaaga	ttacctatgc	aatagatgca	atagtttctc	caggaaccga	aatacataca	12780
ttgtcttccg	taaagcgcta	gactatatat	tattatacag	gttcaaatat	actatctgtt	12840
tcagggaaaa	ctcccagggt	cggatgttca	aaattcaatg	atgggtaaca	agtacgatcg	12900
taaatctgta	aaacagtttg	tcggatatta	ggctgtatct	cctcaaagcg	tattcgaata	12960
tcattgagaa	gctgcaggca	agtgacacaa	caatacttaa	ataaatacta	ctcagtaata	13020
acctatttct	tagcattttt	gacgaaattt	gctattttgt	tagagtcttt	tacaccattt	13080
gtctccacac	ctccgcttac	atcaacacca	ataacgccat	ttaatctaag	cgcacaccca	13140
acattttctg	gcgtcagtc	accagctaac	ataaaatgta	agctttcggg	gctctcttgc	13200

ES 2 718 187 T3

cttccaaccc agtcagaaat cgagttccaa tccaaaagtt cacctgtccc acctgcttct	13260
gaatcaaaca aggggaataaa cgaatgaggt ttctgtgaag ctgcactgag tagtatgttg	13320
cagtcttttg gaaatacgag tcttttaata actggcaaac cgaggaactc ttggtattct	13380
tgccacgact catctccatg cagttggacg atatcaatgc cgtaatcatt gaccagagcc	13440
aaaacatcct ccttaggttg attacgaaac acgccaacca agtatttcgg agtgcctgaa	13500
ctatttttat atgcttttac aagacttgaa attttccttg caataaccgg gtcaattggt	13560
ctctttctat tgggcacaca tataataccc agcaagtcag catcggaatc tagagcacat	13620
tctgcggcct ctgtgctctg caagccgcaa actttcacca atggaccaga actacctgtg	13680
aaattaataa cagacatact ccaagctgcc tttgtgtgct taatcacgta tactcacgtg	13740
ctcaatagtc accaatgccc tccctcttg ccctcctcct tttctttttt cgaccgctag	13800
cgtcgacagc gacacacttg catcggatgc agcccgggta acgtgccggc acggcctggg	13860
taaccaggta ttttgtccac ataaccgtgc gcaaaatgtt gtggataagc aggacacagc	13920
agcaatccac agcaggcata caaccgcaca ccgaggttac tccgttctac aggttacgac	13980
gacatgtcaa tacttgccct tgacaggcat tgatggaatc gtagtctcac gctgatagtc	14040
tgatcgacaa tacaagtggg accgtggtcc cagaccgata atcagaccga caacacgagt	14100
gggatcgtgg tcccagacta ataatcagac cgacgatacg agtgggaccg tgggtcccaga	14160
ctaataatca gaccgacgat acgagtggga ccgtggttcc agactaataa tcagaccgac	14220
gatacgagtg ggaccgtggt cccagactaa taatcagacc gacgatacga gtgggaccat	14280
ggtcccagac taataatcag accgacgata cgagtgggac cgtgggtcca gtctgattat	14340
cagaccgacg atacgagtgg gaccgtggtc ccagactaat aatcagaccg acgatacgag	14400
tgggaccgtg gtcccagact aataatcaga ccgacgatac gagtgggacc gtgggtcccag	14460
tctgattatc agaccgacga tacaagtgga acagtgggcc cagagagaat attcaggcca	14520
gttatgcttt ctggcctgta acaaaggaca ttaagtaaag acagataaac gtagactaaa	14580
acgtggtcgc atcagggtgc tggcttttca agttccttaa gaatggcctc aattttctct	14640
atacactcag ttggaacacg ggacctgtcc aggttaagca ccattttatc gcccttatac	14700
aatactgtcg ctccaggagc aaactgatgt cgtgagctta aactagttct tgatgcagat	14760
gacgttttaa gcacagaagt taaaagagtg ataacttctt cagcttcaa tatcacccca	14820
gcttttttct gctcatgaag gttagatgcc tgctgcttaa gtaattcctc tttatctgta	14880
aaggcttttt gaagtgcac acctgaccgg gcagatagtt caccgggggtg agaaaaaaga	14940
gcaacaactg atttaggcaa tttggcgggtg ttgatacagc gggtaataat cttacgtgaa	15000
atattttccg catcagccag cgcagaaata tttccagcaa attcattctg caatcggtt	15060

ES 2 718 187 T3

gcataacgct gaccacgttc ataagcactt gttgggcat aatcgttacc caatctggat	15120
aatgcagcca tctgctcatc atccagctcg ccaaccagaa cacgataatc actttcggta	15180
agtgcagcag ctttacgacg gcgactccca tcggcaatct ctatgacacc agatactctt	15240
cgaccgaacg ccggtgtctg ttgaccagtc agtagaaaag aagggatgag atcatccagt	15300
gcgtcctcag taagcagctc ctggtcacgt tcattacctg accatacccg agaggtcttc	15360
tcaacactat cccccggag cacttcaaga gtaaacttca catcccgacc acatacaggc	15420
aaagtaatgg cattaccgcg agccattact cctacgcgcg caattaacga atccaccatc	15480
ggggcagctg gtgtcgataa cgaagtatct tcaaccgggt gagtattgag cgtatgtttt	15540
ggaataacag gcgcacgctt cattatctaa tctcccagcg tggtttaatc agacgatcga	15600
aaatttcatt gcagacaggt tcccaaatag aaagagcatt tctccaggca ccagttgaag	15660
agcgttgatc aatggcctgt tcaaaaacag ttctcatccg gatctgacct ttaccaactt	15720
catccgtttc acgtacaaca ttttttagaa ccatgcttcc ccaggcatcc cgaatttgct	15780
cctccatcca cggggactga gagccattac tattgctgta tttggtaagc aaaatacgt	15840
catcaggctc gaaccttita agatcaacgt tcttgagcag atcacgaagc atatcgaaaa	15900
actgcagtgc ggaggtgtag tcaaacaact cagcagcgtt gggaacaatc agcacatcag	15960
cagcacatac gacattaatc gtgccgatac ccagggttagg cgcgctgtca ataactatga	16020
catcatagtc atgagcaaca gtttcaatgg ccagtcggag catcagggtg ggatcgggtg	16080
gcagtttacc ttcatcaaat ttgccatta actcagtttc aatacgggtc agagccagac	16140
aggaaggaat aatgtcaagc cccggccagc aagtgggctt tattgcataa gtgacatcgt	16200
ccttttccc aagatagaaa ggcaggagag tgtcttctgc atgaatatga agatctggta	16260
cccatccgtg atacattgag gctgttccct gggggtcggt accttccacg agcaaaacac	16320
gtagccccct cagagccaga tcctgagcaa gatgaacaga aactgaggtt ttgtaaacgc	16380
cacctttatg ggcagcaacc ccgatcaccg gtggaaatac gtcttcagca cgtcgcaatc	16440
gcgtacccaa cacatcacgc atatgattaa tttgttcaat tgtataacca acacgttgct	16500
caaccggtcc tcgaatttcc atatccgggt gcggtagtcg ccctgcttcc tcggcatctc	16560
tgatagcctg agaagaaacc ccaactaaat ccgctgcttc acctattctc cagcgccggg	16620
ttattttcct cgcttccggg ctgtcatcat taaactgtgc aatggcgata gccttcgtca	16680
tttcatgacc agcgtttatg cactggttaa gtgtttccat gagtttcatt ctgaacatcc	16740
tttaatcatt gctttgcgtt tttttattaa atcttgcaat ttactgcaa gcaacaacaa	16800
aatcgcaaag tcatcaaaaa accgcaaagt tgtttaaaat aagagcaaca ctacaaaagg	16860
agataagaag agcacatacc tcagtcactt attatcacta gcgctcgccg cagccgtgta	16920
accgagcata gcgagcgaac tggcgaggaa gcaaagaaga actgttctgt cagatagctc	16980

ES 2 718 187 T3

ttacgctcag	cgcaagaaga	aatatccacc	gtgggaaaaa	ctccaggtag	aggtacacac	17040
gcggatagcc	aattcagagt	aataaactgt	gataatcaac	cctcatcaat	gatgacgaac	17100
taacccccga	tatcaggtca	catgacgaag	ggaaagagaa	ggaaatcaac	tgtgacaaac	17160
tgccctcaaa	tttggcttcc	ttaaaaatta	cagttcaaaa	agtatgagaa	aatccatgca	17220
ggctgaagga	aacagcaaaa	ctgtgacaaa	ttaccctcag	taggtcagaa	caaatgtgac	17280
gaaccaccct	caaatctgtg	acagataacc	ctcagactat	cctgtcgtca	tggaagtgat	17340
atcgcggaag	gaaaatacga	tatgagtcgt	ctggcggcct	ttctttttct	caatgtatga	17400
gaggcgcat	ggagttctgc	tgttgatctc	attaacacag	acctgcagga	agcggcgggc	17460
gaagtcaggc	atacgctggt	aactttgagg	cagctggtaa	cgctctatga	tccagtcgat	17520
tttcagagag	acgatgcctg	agccatccgg	cttacgatac	tgacacaggg	attcgtataa	17580
acgcatggca	tacggattgg	tgatttcttt	tgtttcacta	agccgaaact	gcgtaaaccg	17640
gttctgtaac	ccgataaaga	agggaatgag	atatgggttg	atatgtacac	tgtaaaagccc	17700
tctggatgga	ctgtgcgcac	gtttgataaa	ccaaggaaaa	gattcatagc	ctttttcatc	17760
gccggcatcc	tcttcagggc	gataaaaaac	cacttccttc	cccgcgaaac	tcttcaatgc	17820
ctgccgtata	tccttactgg	cttccgcaga	ggtcaatccg	aatatttcag	catatttagc	17880
aacatggatc	tcgcagatac	cgtcatgttc	ctgtagggtg	ccatcagatt	ttctgatctg	17940
gtcaacgaac	agatacagca	tacgtttttg	atcccgggag	agactatatg	ccgcctcagt	18000
gaggtcgttt	gactggacga	ttcgcgggct	atttttacgt	ttcttgtgat	tgataaccgc	18060
tgtttccgcc	atgacagatc	catgtgaagt	gtgacaagtt	tttagattgt	cacactaaat	18120
aaaaaagagt	caataagcag	ggataaactt	gtgaaaaaac	agcttcttct	gagggcaatt	18180
tgtcacaggg	ttaagggcaa	tttgtcacag	acaggactgt	catttgaggg	tgatttgtca	18240
cactgaaagg	gcaatttgtc	acaacacctt	ctctagaacc	agcatggata	aaggcctaca	18300
aggcgctcta	aaaaagaaga	tctaaaaact	ataaaaaaaa	taattataaa	aatatccccg	18360
tggataagtg	gataacccca	agggaggttt	tttcaggcat	cgtgtgtaag	cagaatatat	18420
aagtgcgtgt	ccctgggtgt	tcctcgctca	ctcgaccggg	agggttcgag	aagggggggc	18480
accccccttc	ggcgtgcgcg	gtcacgcgca	cagggcgag	ccctgggtta	aaacaagggt	18540
tataaatatt	ggtttaaaag	caggttaaaa	gacaggttag	cggtggccga	aaaacggggc	18600
gaaacccttg	caaatgctgg	attttctgcc	tgtggacagc	ccctcaaata	tcaataggtg	18660
cgcctctcat	ctgtcagcac	tctgccccct	aagtgtcaag	gatcgcgccc	ctcatctgtc	18720
agtagtcgcg	cccctcaagt	gtcaataacc	cagggcactt	atccccaggc	ttgtccacat	18780
catctgtggg	aaactcgcgt	aaaatcaggc	gttttcgccc	atttgcgagg	ctggccagct	18840

ES 2 718 187 T3

ccacgtcgcc	ggccgaaatc	gagcctgccc	ctcatctgtc	aacgccgcgc	cgggtgagtc	18900
ggccctcaa	gtgtcaacgt	cgcctcctca	tctgtcagtg	agggccaagt	tttcgcgcag	18960
gtatccacaa	cgcgcgcggc	cggccgcggg	gtctcgcaca	cggcttcgac	ggcgtttctg	19020
gcgcgtttgc	agggccatag	acggccgcga	gccagcggc	gagggcaacc	agccgagggc	19080
ttcgccctgt	cgctcgactg	cggcgagcac	tactggctgt	aaaaggacag	accacatcat	19140
ggttctgtgt	tcattagggt	gttctgtcca	ttgctgacat	aatccgctcc	acttcaacgt	19200
aacacgcgac	gaagattttc	attgttcctg	aaggcatatt	caaatcgttt	tcgttaccgc	19260
ttgcaggcat	catgacagaa	cactacttcc	tataaacgct	acacaggctc	ctgagattaa	19320
taatgcggat	ctctacgata	atgggagatt	ttcccagctg	tttcgttcgc	ttctcagtgg	19380
ataacagcca	gcttctctgt	ttaacagaca	aaaacagcat	atccactcag	ttccacattt	19440
ccatataaag	gccaaaggcat	ttattctcag	gataattgtt	tcagcatcgc	aaccgcatca	19500
gactccggca	tcgcaaaactg	cacccgggtg	cgggcagcca	catccagcgc	aaaaaccttc	19560
gtgtagactt	ccgttgaact	gatggactta	tgtcccatca	ggctttgcag	aactttcagc	19620
ggtataccgg	catacagcat	gtgcatcgca	taggaatggc	ggaacgtatg	tgggtgacc	19680
ggaacagaga	acgtcacacc	gtcagcagca	gcggcgccaa	ccgcctcccc	aatccaggtc	19740
ctgaccgttc	tgtccgtcac	ttcccagatc	cgcgctttct	ctgtccttcc	tgtgcgacgg	19800
ttacgccgct	ccatgagctt	atcggaata	aatacctgtg	acggaagatc	acttcgcaga	19860
ataaataaat	cctggtgtcc	ctgttgatac	cgggaagccc	tgggccaact	tttggcgaaa	19920
atgagacgtt	gatcggcacg	taagaggttc	caactttcac	cataatgaaa	taagatcact	19980
accgggcgta	ttttttgagt	tatcgagatt	ttcaggagct	aaggaagcta	aaatggagaa	20040
aaaaatcact	ggatatacca	cgtttgatat	atcccaatgg	catcgtaaag	aacattttga	20100
ggcattttcag	tcagttgtct	aatgtaccta	taaccagacc	gttcagctgg	atattacggc	20160
cttttttaaag	accgtaaaga	aaaataagca	caagttttat	ccggccttta	ttcacattct	20220
tgccgcctg	atgaatgtct	atccggaatt	tcgtatggca	atgaaagacg	gtgagctggt	20280
gatatgggat	agtgttcacc	cttgttacac	cgttttccat	gagcaaaactg	aaacgttttc	20340
atcgctctgg	agtgaatacc	acgacgattt	ccggcagttt	ctacacatat	attcgcaaga	20400
tgtggcgtgt	tacggtgaaa	acctggccta	tttccttaaa	gggtttattg	agaatatgtt	20460
tttcgtctca	gccaatccct	gggtgagttt	caccagtttt	gattttaaag	tggccaatat	20520
ggacaacttc	ttcgcccccg	ttttcccat	gggcaaatat	tatacgcaag	gcgacaaggt	20580
gctgatgccg	ctggcgattc	aggttcacat	tgccgtttgt	gatggcttcc	atgtcggcag	20640
aatgcttaat	gaattacaac	agtactgcca	tgagtggcag	ggcggggcgt	aattttttta	20700
aggcagttat	tggtgccctt	aaacgcctgg	ttgctacgcc	tgaataagtg	ataataagcg	20760
gatgaatggc	agaaattcga	tgataagctg	tcaaacatga	gaattggctg	accctgtgga	20820
atgtgtgtca	gttaggggtg	ggaaagtccc	caggctcccc	agcaggcaga	agtatgcaaa	20880
gcatgcatct	caattagtca	gcaaccaggt	gtggaagtc	cccaggctcc	ccagcaggca	20940
gaagtatgca	aagcatgcat	ctcaattagt	cagcaacat	agtcccgccc	ctaactccgc	21000
ccatcccgcc	cctaactccg	cccagttccg	cccattctcc	gccccatggc	tgactaattt	21060
tttttattta	tgacagaggc	gaggccgcct	c			21091

5

<210> 6
<211> 21094
<212> ADN
<213> sintético

<400> 6
agtaaatcct gtgtgctaata tgaggtgcat tggctcgcaa atcgagttgc taggcaataa 60
acacatttgg attaatTTTA atcgttcgtt gagcgattag cagagaactg accagaacat 120
gtctggctcg aaagctcagg gaaaaaccct gggcgtaaat atggtacgac gaggagttcg 180
ctccttgtca aacaaaataa aacaaaaaac aaaacaaatt ggaaacagac ctggaccttc 240
aagaggtgtt caaggattta tctttttctt tttgttcaac attttgactg gaaaaaagat 300
cacagccac ctaaagaggt tgtggaaaat gctggacca agacaaggct tggctgttct 360
aaggaaagtc aagagagtgg tggccagttt gatgagagga ttgtcctcga ggaaacgccg 420
ttcccatgat gttctgactg tgcaattcct aattttggga atgctgttga tgacgggtgg 480
agttaccctc tctaacttcc aagggaaggt gatgatgacg gtaaagtcta ctgacgtcac 540
agatgtcatc acgattccaa cagctgctgg aaagaacctg tgcatgtca gagcaatgga 600
tgtgggatac atgtgcgatg atactatcac ttatgaatgc ccagtgtgtg cggctggtaa 660
tgatccagaa gacatcgact gttggtgcac aaagtcagca gtctacgtca ggtatggaag 720
atgcaccaag acacgccact caagacgcag tcggaggtca ctgacagtgc agacacacgg 780
agaaagcact ctagcgaaca agaagggggc ttggatggac agcaccaagg ccacaaggta 840
tttggtaaaa acagaatcat ggatcttgag gaaccctgga tatgccctgg tggcagccgt 900
cattggttgg atgcttggga gcaacaccat gcagagagtt gtgtttgtcg tgctattgct 960
tttggtggcc ccagcttaca gcttcaactg ccttggaatg agcaacagag acttcttggga 1020
aggagtgtct ggagcaacat ggggtgattt ggttctcgaa ggcgacagct gcgtgactat 1080
catgtctaag gacaagccta ccatcgatgt gaagatgatg aatatggagg cggccaacct 1140
ggcagaggtc cgagttatt gctatttggc taccgtcagc gatctctcca ccaaagctgc 1200
gtgcccgacc atgggagaag ctcaaatga caaacgtgct gaccagctt ttgtgtgcag 1260
acaaggagtg gtggacaggg gctggggcaa cggctgcgga ttctttggaa aaggatccat 1320

ES 2 718 187 T3

tgacacatgc gccaaatttg cctgctctac caaggcaata ggaagaacca tcttgaaaga	1380
gaatatcaag tacgaagtgg ccatttttgt ccatggacca actactgtgg agtcgcacgg	1440
aaactactcc acacaggttg gagccactca ggcagggaga ttcagcatca ctctgcggc	1500
gccttcatac acactaaagc ttggagaata tggagaggtg acagtggact gtgaaccacg	1560
gtcagggatt gacaccaatg catactacgt gatgactgtt ggaacaaaga cgttcttgg	1620
ccatcgtgag tggttcatgg acctcaacct cccttgagc agtgctggaa gtactgtgtg	1680
gaggaacaga gagacgttaa tggagtttga ggaaccacac gccacgaagc agtctgtgat	1740
agcattgggc tcacaagagg gagctctgca tcaagctttg gctggagcca ttcctgtgga	1800
atthttcaagc aacactgtca agttgacgtc gggctatttg aagtgtagag tgaagatgga	1860
aaaattgcag ttgaaggga caacctatgg cgtctgttca aaggttttca agtttcttgg	1920
gactcccgtc gacacaggtc acggcactgt ggtgttgga ttgcagtaca ctggcacgga	1980
tggaccttgc aaagttccta tctcgtcagt ggcttcattg aacgacctaa cgccagtggg	2040
cagattgggc actgtcaacc cttttgtttc agtgggcacg gccaacgcta aggtcctgat	2100
tgaattggaa ccacccttg gagactcata catagtgggtg ggcagaggag aacaacagat	2160
caatcaccat tggcacaagt ctggaagcag cattggcaaa gcctttacaa ccaccctcaa	2220
aggagcgcag agactagccg ctctaggaga cacagcttgg gactttggat cagttggagg	2280
ggtgttcacc tcagttgggc gcgctgtcca tcaagtgttc ggaggagcat tccgctcact	2340
gttcggaggc atgtcctgga taacgcaagg attgctgggg gctctcctgt tgtggatggg	2400
catcaatgct cgtgataggt ccatagctct cacgtttctc gcagttggag gaggttctgct	2460
cttcctctcc gtgaacgtgg gcgccgatca aggatgcgcc atcaactttg gcaagagaga	2520
gctcaagtgc ggagatggta tcttcataatt tagagactct gatgactggc tgaacaagta	2580
ctcatactat ccagaagatc ctgtgaagct tgcataata gtgaaagcct cttttgaaga	2640
agggaaagtgt ggcctaaatt cagttgactc ccttgagcat gagatgtgga gaagcagggc	2700
agatgagatc aatgccatth ttgaggaaaa cgaggtggac atttctgttg tcgtgcagga	2760
tccaaagaat gtttaccaga gaggaactca tccattttcc agaattcggg atggtctgca	2820
gtatggttg aagacttggg gtaagaacct tgtgttctcc ccaggaggga agaattggaag	2880
cttcatacata gatggaaagt ccaggaaaga atgcccgttt tcaaaccggg tctggaattc	2940
tttcagata gaggagtth ggacgggagt gttcaccaca cgcgtgtaca tggacgcagt	3000
ctttgaatac accatagact gcgatggatc tatcttgggt gcagcgggtga acggaaaaa	3060
gagtgcccat ggctctccaa catthttggat gggaagtcat gaagtaaag ggacatggat	3120
gatccacacc ttggaggcat tagattacaa ggagtgtgag tggccactga cacatacgat	3180

ES 2 718 187 T3

tggaacatca gttgaagaga gtgaaatggt catgccgaga tcaatcggag gccagttag	3240
ctctcacaat catatccctg gatacaaggt tcagacgaac ggaccttga tgcaggtacc	3300
actagaagtg aagagagaag cttgccagg gactagcgtg atcattgatg gcaactgtga	3360
tggacgggga aaatcaacca gatccaccac ggatagcggg aaagtatttc ctgaatggtg	3420
ttgccgctcc tgcacaatgc cgcctgtgag cttccatggt agtgatgggt gttggtatcc	3480
catggaaatt aggccaagga aaacgcatga aagccatctg gtgcgctcct gggttacagc	3540
tggagaaata catgctgtcc cttttggttt ggtgagcatg atgatagcaa tggaaagtgt	3600
cctaaggaaa agacagggac caaagcaaat gttggttga ggagtagtgc tcttgggagc	3660
aatgctggtc gggcaagtaa ctctccttga tttgctgaaa ctcacagtgg ctgtgggatt	3720
gcatttccat gagatgaaca atggaggaga cgccatgtat atggcgttga ttgctgcctt	3780
ttcaatcaga ccagggtgc tcatcggtt tgggctcagg accctatgga gccctcggga	3840
acgccttgtg ctgaccctag gagcagccat ggtggagatt gccttgggtg gcgtgatggg	3900
cggcctgtgg aagtatctaa atgcagtttc tctctgcac ctgacaataa atgctgttgc	3960
ttctaggaaa gcatcaaata ccatcttgc cctcatggct ctgttgacac cggtcacccat	4020
ggctgaggtg agacttgccg caatgttctt ttgtgccatg gttatcatag gggtccttca	4080
ccagaatttc aaggacacct ccatgcagaa gactatacct ctggtggccc tcacactcac	4140
atcttacctg ggcttgacac aacctttttt gggcctgtgt gcatttctgg caaccgcgat	4200
atttgggcga aggagtatcc cagtgaatga ggcactcgca gcagctggtc tagtgggagt	4260
gctggcagga ctggcttttc aggagatgga gaacttcctt ggtccgattg cagttggagg	4320
actcctgatg atgctggtta gcgtggctgg gaggggtgat gggctagagc tcaagaagct	4380
tggatgaagt tcatgggaag aggagcgga gatcagcggg agttccgccc gctatgatgt	4440
ggcactcagt gaacaagggg agttcaagct gctttctgaa gagaaagtgc catgggacca	4500
ggttgtgatg acctcgctgg ccttggttgg ggctgccctc catccatttg ctcttctgct	4560
ggctcctgct ggggtgctgt ttcatgtcag gggagctagg agaagtgggg atgtcctgtg	4620
ggatattccc actcctaaga tcatcgagga atgtgaacat ctggaggatg ggatttatgg	4680
catattccag tcaaccttct tgggggcctc ccagcgagga gtgggagtgg cacagggagg	4740
ggtgtccac acaatgtggc atgtcacaag aggagcttcc cttgtcagga atggcaagaa	4800
gttgattcca tcttgggctt cagtaaagga agacctgtc gcctatggtg gctcatggaa	4860
gttggaaggc agatgggatg gagaggaaga ggtccagttg atcgcgctg ttccaggaaa	4920
gaacgtggtc aacgtccaga caaaaccgag cttgttcaaa gtgaggaatg ggggagaaat	4980
cggggctgtc gctcttgact atccgagtgg cacttcagga tctcctattg ttaacaggaa	5040
cggagaggtg attgggctgt acggcaatgg catccttgtc ggtgacaact ccttcgtgtc	5100

ES 2 718 187 T3

cgccatatcc cagactgagg tgaaggaaga aggaaaggag gagctccaag agatcccgac 5160
aatgctaaag aaaggaatga caactgtcct tgattttcat cctggagctg ggaagacaag 5220
acgtttcctc ccacagatct tggccgagtg cgcacggaga cgcttgcgca ctcttggtt 5280
ggccccacc agggttgttc tttctgaaat gaaggaggct tttcacggcc tggacgtgaa 5340
attccacaca caggcttttt ccgctcacgg cagcgggaga gaagtcattg atgccatgtg 5400
ccatgccacc ctaacttaca ggatgttgga accaactagg gttgttaact ggaagtgtat 5460
cattatggat gaagcccatt ttttggatcc agctagcata gccgctagag gttgggcagc 5520
gcacagagct agggcaaatg aaagtgaac aatcttgatg acagccacac cgcctgggac 5580
tagtgatgaa tttccacatt caaatggtga aatagaagat gttcaaacgg acatacccag 5640
tgagccctgg aacacagggc atgactggat cctagctgac aaaaggccca cggcatggtt 5700
ccttccatcc atcagagctg caaatgtcat ggctgcctct ttgcgtaagg ctggaaagag 5760
tgtggtggtc ctgaacagga aaacctttga gagagaatac cccacgataa agcagaagaa 5820
acctgacttt atattggcca ctgacatagc tgaaatggga gccaaccttt gcgtggagcg 5880
agtgtctggat tgcaggacgg cttttaagcc tgtgcttggt gatgaaggga ggaagtggtc 5940
aataaaaggg ccacttcgta tctccgcatc ctctgctgct caaaggaggg ggcgcattgg 6000
gagaaatccc aacagagatg gagactcata ctactattct gagcctaca gtgaaaataa 6060
tgcccaccac gtctgctggt tggaggcctc aatgctcttg gacaacatgg aggtgagggg 6120
tggaatggtc gcccactct atggcgttga aggaactaaa acaccagttt cccctggtga 6180
aatgagactg agggatgacc agaggaaagt cttcagagaa ctagtgagga attgtgacct 6240
gcccgtttgg ctttcgtggc aagtggccaa ggctggtttg aagacgaatg atcgtaagtg 6300
gtgttttgaa ggccctgagg aacatgagat cttgaatgac agcggtgaaa cagtgaagtg 6360
cagggctcct ggaggagcaa agaagcctct cgcgccaaagg tgggtgatg aaaggtgtc 6420
atctgaccag agtgcgctgt ctgaatttat taagtttgct gaaggtagga ggggagctgc 6480
tgaagtgcta gttgtgctga gtgaactccc tgatttcctg gctaaaaaag gtggagaggg 6540
aatggatacc atcagtgtgt tcctccactc tgaggaaggc tctagggctt accgcaatgc 6600
actatcaatg atgcctgagg caatgacaat agtcatgctg tttatactgg ctggactact 6660
gacatcggga atggtcatct ttttcatgtc tcccaaaggc atcagtagaa tgtctatggc 6720
gatgggcaca atggccggct gtggatatct catgttcctt ggaggcgtca aaccactca 6780
catctcctat gtcatgtc tattctttgt cctgatgggt gttgtgatcc ccgagccagg 6840
gcaacaaagg tccatccaag acaaccaagt ggcatacctc attattggca tcctgacgct 6900
ggtttcagcg gtggcagcca acgagctagg catgctggag aaaaccaaag aggacctctt 6960

ES 2 718 187 T3

tggaagaag aacttaattc catctagtgc ttcaccctgg agttggccgg atcttgacct	7020
gaagccagga gctgcctgga cagtgtacgt tggcattggt acaatgctct ctccaatggt	7080
gcaccactgg atcaaagtcg aatattggcaa cctgtctctg tctggaatag cccagtcagc	7140
ctcagtcctt tctttcatgg acaaggggat accattcatg aagatgaata tctcgggtcat	7200
aatgtcgtctg gtcagtggct ggaattcaat aacagtgatg cctctgctct gtggcatagg	7260
gtgcgccatg ctccactgggt ctctcatctt acctggaatc aaagcgcagc agtcaaagct	7320
agcacagaga aggggtgttc atggcggtgc cgagaaccct gtgggtgatg ggaatccaac	7380
agttgacatt gaggaagctc ctgaaatgcc tgccctttat gagaagaaac tggctctata	7440
tctccttctt gctctcagcc tagcttctgt tgccatgtgc agaacgccct tttcattggc	7500
tgaaggcatt gtcctagcat cagctgcctt agggccgctc atagaggga acaccagcct	7560
tctttggaat ggaccatgg ctgtctccat gacaggagtc atgaggggga atcactatgc	7620
ttttgtggga gtcatgtaca atctatggaa gatgaaaact ggacgccggg ggagcgcgaa	7680
tggaaaaact ttgggtgaag tctggaagag ggaactgaat ctgttgga caagcagatt	7740
tgagttgtat aaaaggaccg acattgtgga ggtggatcgt gatacggcac gcaggcattt	7800
ggccgaaggg aaggtggaca cgggggtggc ggtctccagg gggaccgcaa agttaagggtg	7860
gttccatgag cgtggctatg tcaagctgga aggtagggtg attgacctgg ggtgtggccg	7920
cggaggctgg tgttactacg ctgctgcgca aaaggaagtg agtgggttca aaggatttac	7980
tcttggaaga gacggccatg agaaacccat gaatgtgcaa agtctgggat ggaacatcat	8040
cacctcaag gacaaaactg atatccaccg cctagaacca gtgaaatgtg acacctttt	8100
gtgtgacatt ggagagtcac catcgtcatc ggtcacagag ggggaaagga ccgtgagagt	8160
tcttgatact gtagaaaaat ggctggcttg tggggttgac aacttctgtg tgaagggtgt	8220
agctccatac atgccagatg ttcttgagaa actggaattg ctccaaagga ggtttggcgg	8280
aacagtgatc aggaaccctc tctccaggaa ttccactcat gaaatgtact acgtgtctgg	8340
agcccgagc aatgtcacat ttactgtgaa ccaaacatcc cgcctcctga tgaggagaat	8400
gaggcgtcca actggaagag tgaccctgga ggctgacgtc atcctcccaa ttgggacacg	8460
cagtgttgag acagacaagg gaccttgga caaaggaggc atagaagaaa gggttgagag	8520
gataaaatct gagtacatga cctcttggtt ttatgacaat gacaaccct acaggacctg	8580
gcactactgt ggctcctatg tcacaaaaac ctcaggaagt gcggcgagca tggtaaatgg	8640
tgttatataa attctgacat atccatggga caggatagag gaggtcacia gaatggcaat	8700
gactgacaca accccttttg gacagcaaag agtgtttata gaaaaagttg acaccagagc	8760
aaaggatcca ccagcgggaa ctagggaagt catgaaagt gtcaacagggt ggtgttccg	8820
ccacctggcc agagaaaaga accccagact gtgcacaaag gaagaattta ttgcaaaagt	8880

ES 2 718 187 T3

ccgaagtc	cat	gcagccattg	gagcttacct	ggaagaacaa	gaacagtgga	agactgccaa	8940
tgaggctgtc	caagacccaa	agttctggga	actggtggat	gaagaaagga	agctgcacca		9000
acaaggcagg	tgctcgactt	gtgtgtacaa	catgatgggg	aaaagagaga	agaagctgtc		9060
agagtttggg	aaagcaaagg	gaagccgtgc	catatggtat	atgtggctgg	gagcgcggta		9120
tcttgagttt	gagggcctgg	gattcctgaa	tgaggaccat	tgggcttcca	gggaaaactc		9180
aggaggagga	gtggaaggca	ttggcttaca	atacctagga	tatgtgatca	gagacctggc		9240
tgcaatggat	ggtggtggat	tctacgogga	tgacaccgct	ggatgggaca	cgcgcacac		9300
agaggcagac	cttgatgatg	aacaggagat	cttgaactac	atgagccac	atcacaaaa		9360
actggcacia	gcagtgatgg	aatgacata	caagaacaaa	gtggtgaaag	tgttgagacc		9420
agccccagga	gggaaagcct	acatggatgt	cataagtcca	cgagaccaga	gaggatccgg		9480
gcaggtagtg	acttatgtct	tgaacaccat	caccaacttg	aaagtccaat	tgatcagaat		9540
ggcagaagca	gagatggtga	tacatcacca	acatgttcaa	gattgtgatg	aatcagttct		9600
gaccaggctg	gaggcatggc	tactgagca	cggatgtgac	agactgaaga	ggatggcggg		9660
gagtggagac	gactgtgtgg	tccggcccat	cgatgacagg	ttcggcctgg	ccctgtccca		9720
tctcaacgcc	atgtccaagg	ttagaaagga	catatctgaa	tggcagccat	caaaaggggtg		9780
gaatgattgg	gagaatgtgc	ccttctgttc	ccaccacttc	catgaactac	agctgaagga		9840
tggcaggagg	attgtggtgc	cttgccgaga	acaggacgag	ctcattggga	gaggaagggt		9900
gtctccagga	aacggctgga	tgatcaagga	aacagcttgc	ctcagcaaag	cctatgccaa		9960
catgtggtca	ctgatgtatt	ttcacaaaag	ggacatgagg	ctactgtcat	tggctgtttc	10020	
ctcagctggt	cccacctcat	gggttccaca	aggacgcaca	acatggtcca	ttcatgggaa	10080	
aggggagtg	atgaccacgg	aagacatgct	tgagggtgtg	aacagagtat	ggataaccaa	10140	
caaccacac	atgcaggaca	agacaatggt	gaaaaaatgg	agagatgtcc	cttatctaac	10200	
caagagacia	gacaagctgt	gcggatcact	gattggaatg	accaataggg	ccacctgggc	10260	
ctccacatc	catttagtca	tccatcgat	ccgaacgctg	attggacagg	agaaatacac	10320	
tgactacct	acagtcattg	acaggtattc	tgtggatgct	gacctgcaac	tgggtgagct	10380	
tatctgaaac	accatctaac	aggaataacc	gggatacaaa	ccacgggtgg	agaaccggac	10440	
tccccacaa	ctgaaaccgg	gatataaacc	acggctggag	aaccgggctc	cgcacttaaa	10500	
atgaaacaga	aaccgggata	aaaactacgg	atggagaacc	ggactccaca	cattgagaca	10560	
gaagaagttg	tcagcccaga	acccacacg	agttttgcca	ctgctaagct	gtgaggcagt	10620	
gcaggctggg	acagccgacc	tccaggttgc	gaaaaacctg	gtttctggga	cctcccaccc	10680	
cagagtaaaa	agaacggagc	ctccgctacc	accctccac	gtggtggtag	aaagacgggg	10740	

ES 2 718 187 T3

tctagaggtt	agaggagacc	ctccaggga	caaatagtgg	gaccatattg	acgccaggga	10800
aagaccggag	tggttctctg	cttttcctcc	agaggtctgt	gagcacagtt	tgctcaagaa	10860
taagcagacc	tttggatgac	aaacacaaaa	ccactggccg	gcatgggtccc	agcctcctcg	10920
ctggcgccgg	ctgggcaaca	ttccgagggg	accgtcccct	cggtaatggc	gaatgggacg	10980
aattctgaac	cagtcctaaa	acgagtaaat	aggaccggca	attcttcaag	caataaacag	11040
gaataccaat	tattaaaaga	taacttagtc	agatcgtaca	ataaagcttt	gaagaaaaat	11100
gcgcttatt	caatctttgc	tataaaaaat	ggcccaaaat	ctcacattgg	aagacatttg	11160
atgacctcat	ttctttcaat	gaagggccta	acggagtga	ctaagtgtgt	gggaaattgg	11220
agcgataagc	gtgcttctgc	cgtggccagg	acaacgtata	ctcatcagat	aacagcaata	11280
cctgatcact	acttcgcact	agtttctcgg	tactatgcat	atgatccaat	atcaaaggaa	11340
atgatagcat	tgaaggatga	gactaatcca	attgaggagt	ggcagcatat	agaacagcta	11400
aagggtagtg	ctgaaggaag	catacgatac	cccgcatgga	atgggataat	atcacaggag	11460
gtactagact	acctttcatc	ctacataaat	agacgcatat	aagtacgcat	ttaagcataa	11520
acacgcacta	tgccgttctt	ctcatgtata	tatatataca	ggcaacacgc	agatataggt	11580
gcgacgtgaa	cagtgaagtg	tatgtgcgca	gctcgcgttg	catttttcgga	agcgcctcgtt	11640
ttcggaaacg	ctttgaagtt	cctattccga	agttcctatt	ctctagaaag	tataggaact	11700
tcagagcgct	tttgaaaacc	aaaagcgctc	tgaagacgca	ctttcaaaaa	accaaaaaacg	11760
caccggactg	taacgagcta	ctaaaatatt	gcgaataccg	cttcacaaaa	cattgctcaa	11820
aagtatctct	ttgctatata	tctctgtgct	atatccctat	ataacctacc	catccacctt	11880
tcgctccttg	aacttgcata	taaactcgac	ctctacattt	tttatgttta	tctctagtat	11940
tactctttag	acaaaaaaat	tgtagtaaga	actattcata	gagtgaatcg	aaaacaatac	12000
gaaaaatgta	acatttccta	tacgtagtat	atagagacaa	aatagaagaa	accgttcata	12060
attttctgac	caatgaagaa	tcatacaacg	tatcactttc	tgttcacaaa	gtatgcgcaa	12120
tccacatcgg	tatagaatat	aatcggggat	gcctttatct	tgaaaaaatg	caccgcgacg	12180
ttcgctagta	atcagtaaac	gcgggaagtg	gagtcaggct	ttttttatgg	aagagaaaaat	12240
agacacccaa	gtagccttct	tctaacctta	acggacctac	agtgcacaaa	gttatcaaga	12300
gactgcatta	tagagcgcac	aaaggagaaa	aaaagtaatc	taagatgctt	tgtagaaaaa	12360
atagcgctct	cgggatgcat	ttttgtagaa	caaaaaagaa	gtatagattc	tttggttgta	12420
aaatagcgct	ctcgcgttgc	atttctgttc	tgtaaaaaatg	cagctcagat	tctttgtttg	12480
aaaaattagc	gctctcgcgt	tgcatttttg	ttttacaaaa	atgaagcaca	gattcttcgt	12540
tggtaaaaata	gcgctttcgc	gttgcatttc	tgttctgtaa	aaatgcagct	cagattcttt	12600
gtttgaaaaa	ttagcgctct	cgcgttgcat	ttttgttcta	caaaatgaag	cacagatgct	12660

ES 2 718 187 T3

tcgttaacaa agatatgcta ttgaagtgca agatggaaac gcagaaaatg aaccggggat	12720
gcgacgtgca agattaccta tgcaatagat gcaatagttt ctccaggaac cgaaatacat	12780
acattgtctt ccgtaaagcg ctagactata tattattata caggttcaaa tatactatct	12840
gtttcagggg aaactcccag gttcggatgt tcaaaattca atgatgggta acaagtacga	12900
tcgtaaatct gtaaaacagt ttgtcggata ttaggctgta tctcctcaaa gcgtattcga	12960
atatcattga gaagctgcag gcaagtgcac aaacaatact taaataaata ctactcagta	13020
ataacctatt tcttagcatt tttgacgaaa tttgctattt tgttagagtc ttttacacca	13080
tttgtctcca cacctccgct tacatcaaca ccaataacgc catttaatct aagcgcacga	13140
ccaacatttt ctggcgctcag tccaccagct aacataaaaat gtaagctttc ggggctctct	13200
tgccttccaa ccagtcaga aatcgagttc caatccaaa gttcacctgt ccacctgct	13260
tctgaatcaa acaagggaat aaacgaatga ggtttctgtg aagctgcact gagtagtatg	13320
ttgcagtctt ttggaaatac gagtctttta ataactggca aaccgaggaa ctcttggtat	13380
tcttgccacg actcatctcc atgcagttgg acgatatcaa tgccgtaatc attgaccaga	13440
gcaaaaacat cctccttagg ttgattacga aacacgcaa ccaagtatct cgagtgccct	13500
gaactatttt tatatgcttt tacaagactt gaaattttcc ttgcaataac cgggtcaatt	13560
gttctctttc tattgggcac acatataata ccagcaagt cagcatcgga atctagagca	13620
cattctcgcg cctctgtgct ctgcaagccg caaactttca ccaatggacc agaactacct	13680
gtgaaattaa taacagacat actccaagct gcctttgtgt gcttaatcac gtatactcac	13740
gtgctcaata gtcaccaatg ccctccctct tggccctcct ccttttcttt tttcgaccgc	13800
tagcgtcgac agcgacacac ttgcatcgga tgcagcccgg ttaacgtgcc ggcacggcct	13860
gggtaaccag gtatttttgtc cacataaccg tgcgcaaaat gttgtggata agcaggacac	13920
agcagcaatc cacagcaggc atacaaccgc acaccgaggt tactccgttc tacaggttac	13980
gacgacatgt caatacttgc ccttgacagg cattgatgga atcgtagtct cacgctgata	14040
gtctgatcga caatacaagt gggaccgtgg tcccagaccg ataatacagac cgacaacacg	14100
agtgggatcg tgggccaga ctaataatca gaccgacgat acgagtggga ccgtgggtccc	14160
agactaataa tcagaccgac gatacagtg ggaccgtggt tccagactaa taatcagacc	14220
gacgatacga gtgggaccgt ggtcccagac taataatcag accgacgata cgagtgggac	14280
catggtccca gactaataat cagaccgacg atacgagtgg gaccgtggtc ccagtctgat	14340
tatcagaccg acgatacag tgggaccgtg gtcccagact aataatcaga ccgacgatac	14400
gagtgggacc gtgggtccag actaataatc agaccgacga tacgagtggg accgtggtcc	14460
cagtctgatt atcagaccga cgatacaagt ggaacagtgg gccagagag aatattcagg	14520

ES 2 718 187 T3

ccagttatgc	tttctggcct	gtaacaaagg	acattaagta	aagacagata	aacgtagact	14580
aaaacgtggt	cgcatcaggg	tgctggcttt	tcaagttcct	taagaatggc	ctcaattttc	14640
tctatacact	cagttggaac	acgggacctg	tccagggtta	gcaccatttt	atcgccctta	14700
tacaatactg	tcgctccagg	agcaaaactga	tgctcgtgagc	ttaaactagt	tcttgatgca	14760
gatgacgttt	taagcacaga	agttaaaaga	gtgataactt	cttcagcttc	aaatatcacc	14820
ccagcttttt	tctgctcatg	aaggttagat	gcctgctgct	taagtaattc	ctctttatct	14880
gtaaaggcct	tttgaagtgc	atcacctgac	cgggcagata	gttcaccggg	gtgagaaaaa	14940
agagcaacaa	ctgatttagg	caatttggcg	gtgttgatac	agcgggtaat	aatottacgt	15000
gaaatatctt	ccgcatcagc	cagcgcagaa	atatttccag	caaattcatt	ctgcaatcgg	15060
cttgcataac	gctgaccacg	ttcataagca	cttgttgggc	gataatcgtt	acccaatctg	15120
gataatgcag	ccatctgctc	atcatccagc	tcgccaaacca	gaacacgata	atcactttcg	15180
gtaagtgcag	cagctttacg	acggcgactc	ccatcggcaa	tttctatgac	accagatact	15240
cttcgaccga	acgccggtgt	ctgttgacca	gtcagtagaa	aagaagggat	gagatcatcc	15300
agtgcgtcct	cagtaagcag	ctcctggtca	cggttcattac	ctgaccatac	ccgagaggtc	15360
ttctcaacac	tatcaccccg	gagcacttca	agagtaaact	tcacatcccg	accacatata	15420
ggcaaagtaa	tggcattacc	gcgagccatt	actcctacgc	gcgcaattaa	cgaatccacc	15480
atcggggcag	ctggtgtcga	taacgaagta	tcttcaaccg	gttgagtatt	gagcgtatgt	15540
tttggaaata	caggcgcacg	cttcattatc	taatctccca	gcgtgggtta	atcagacgat	15600
cgaaaatttc	attgcagaca	ggttcccaaa	tagaaagagc	atttctccag	gcaccagttg	15660
aagagcgttg	atcaatggcc	tgttcaaaaa	cagttctcat	ccggatctga	cctttacca	15720
cttcataccg	ttcacgtaca	acatttttta	gaaccatgct	tcccaggca	tccgaattt	15780
gctcctccat	ccacggggac	tgagagccat	tactattgct	gtatttggtg	agcaaaatac	15840
gtacatcagg	ctcgaaccct	ttaagatcaa	cggttcttgag	cagatcacga	agcatatcga	15900
aaaactgcag	tgcgagggtg	tagtcaaaca	actcagcagg	cgtgggaaca	atcagcacat	15960
cagcagcaca	tacgacatta	atcgtgccga	taccaggtt	aggcgcgctg	tcaataacta	16020
tgacatcata	gtcatgagca	acagtttcaa	tggccagtcg	gagcatcagg	tgtggatcgg	16080
tgggcagttt	accttcatca	aatttgccca	ttaactcagt	ttcaatacgg	tgagagacca	16140
gacaggaagg	aataatgtca	agccccggcc	agcaagtggg	ctttattgca	taagtacat	16200
cgtccttttc	cccaagatag	aaaggcagga	gagtgtcttc	tgcatgaata	tgaagatctg	16260
gtacccatcc	gtgatacatt	gaggctgttc	cctgggggtc	gttaccttcc	acgagcaaaa	16320
cacgtagccc	cttcagagcc	agatcctgag	caagatgaac	agaaactgag	gttttgtaaa	16380
cgccaccttt	atgggcagca	accccgatca	ccggtggaaa	tacgtcttca	gcacgtcgca	16440

ES 2 718 187 T3

atcgcgtacc aaacacatca cgcataatgat taatttggtc aattgtataa ccaacacggt	16500
gctcaacccg tcctcgaatt tccatatccg ggtgcggtag tcgccctgct ttctcggcat	16560
ctctgatagc ctgagaagaa accccaacta aatccgctgc ttcacctatt ctccagcgcc	16620
gggttatttt cctcgcttcc gggctgtcat cattaaactg tgcaatggcg atagccttcg	16680
tcatttcatg accagcggtt atgcactggg taagtgtttc catgagtttc attctgaaca	16740
tcctttaatc attgctttgc gtttttttat taaatcttgc aatttactgc aaagcaacaa	16800
caaaatcgca aagtcacaa aaaaccgcaa agttgtttta aataagagca aactacaaa	16860
aggagataag aagagcacat acctcagtca cttattatca ctacgcctcg ccgcagccgt	16920
gtaaccgagc atagcgagcg aactggcgag gaagcaaaga agaactgttc tgtcagatag	16980
ctcttacgct cagcgcaaga agaaatatcc accgtgggaa aaactccagg tagaggtaca	17040
cacgcggata gccaatcag agtaataaac tgtgataatc aaccctcatc aatgatgacg	17100
aactaaccct cgatatcagg tcacatgacg aagggaaga gaaggaaatc aactgtgaca	17160
aactgccctc aaatttggtc tccttaaaaa ttacagttca aaaagtatga gaaaatccat	17220
gcaggctgaa ggaacagca aaactgtgac aaattaccct cagtaggtca gaacaaatgt	17280
gacgaaccac cctcaaatct gtgacagata accctcagac tatcctgtcg tcatggaagt	17340
gatatcgcgg aaggaaaata cgatatgagt cgtctggcgg cctttctttt tctcaatgta	17400
tgagaggcgc attggagtgc tgctgttgat ctcatataca cagacctgca ggaagcgcg	17460
gcggaagtca ggcatacgtc ggtaactttg aggcagctgg taacgctcta tgatccagtc	17520
gattttcaga gagacgatgc ctgagccatc cggcttacga tactgacaca gggattcgta	17580
taaacgcatg gcatacggat tgggtgatttc ttttgtttca ctaagccgaa actgcgtaaa	17640
ccggttctgt aacccgataa agaagggaat gagatatggg ttgatatgta cactgtaaag	17700
ccctctggat ggactgtgcg cacgtttgat aaaccaagga aaagattcat agcctttttc	17760
atcgccggca tcctcttcag ggcgataaaa aaccacttcc ttccccgca aactcttcaa	17820
tgcctgccgt atatccttac tggcttccgc agagggtcaat ccgaatatat cagcatatct	17880
agcaacatgg atctcgaga taccgtcatg ttcctgtagg gtgccatcag attttctgat	17940
ctggtcaacg aacagataca gcatacgttt ttgatcccg gagagactat atgccgcctc	18000
agtgaggtcg tttgactgga cgattcgcg gctattttta cgtttcttgt gattgataac	18060
cgctgtttcc gccatgacag atccatgtga agtgtgacaa gtttttagat tgtcacacta	18120
aataaaaaag agtcaataag cagggataac tttgtgaaaa aacagcttct tctgagggca	18180
atgtgtcaca ggggttaagg caatttgtca cagacaggac tgtcatttga ggggtgattg	18240
tcacactgaa agggcaattt gtcacaacac cttctctaga accagcatgg ataaaggcct	18300

ES 2 718 187 T3

acaaggcgct	ctaaaaaaga	agatctaaaa	actataaaaa	aaataattat	aaaaatatcc	18360
ccgtggataa	gtggataacc	ccaaggaag	ttttttcagg	catcgtgtgt	aagcagaata	18420
tataagtgc	gttccctgg	gcttcctcgc	tcactcgacc	gggaggggtc	gagaaggggg	18480
ggcaccccc	ttcggcgtgc	gcggtcacgc	gcacagggcg	cagccctggt	taaaaacaag	18540
gtttataaat	attggtttta	aagcaggtta	aaagacaggt	tagcgggtggc	cgaaaaacgg	18600
gcggaaaccc	ttgcaaatgc	tggattttct	gcctgtggac	agccctcaa	atgtcaatag	18660
gtgcgcccc	catctgtcag	cactctgccc	ctcaagtgtc	aaggatcgcg	cccccatct	18720
gtcagtagtc	gcgccccca	agtgtcaata	ccgcagggca	cttatcccca	ggcttgtcca	18780
catcatctgt	gggaaactcg	cgtaaaatca	ggcgttttcg	ccgatttgcg	aggctggcca	18840
gctccacgtc	gccggccgaa	atcgagcctg	cccccatct	gtcaacgccg	cgccgggtga	18900
gtcggcccc	caagtgtcaa	cgtccgcccc	tcatctgtca	gtgagggcca	agttttccgc	18960
gaggtatcca	caacgcgggc	ggccggccgc	ggtgtctcgc	acacggcttc	gacggcgttt	19020
ctggcgcggt	tgcagggcca	tagacggccg	ccagccagc	ggcgagggca	accagccgag	19080
ggcttcgccc	tgtcgcctga	ctgcggcgag	cactactggc	tgtaaaagga	cagaccacat	19140
catggttctg	tgttcattag	gttgttctgt	ccattgctga	cataatccgc	tccacttcaa	19200
cgtaacaccg	cacgaagatt	tctattgttc	ctgaaggcat	attcaaacgc	ttttcggtac	19260
cgcttgacgg	catcatgaca	gaacactact	tcctataaac	gctacacagg	ctcctgagat	19320
taataatgcg	gatctctacg	ataatgggag	attttcccca	ctgtttcggt	cgcttctcag	19380
tggataacag	ccagcttctc	tgtttaacag	acaaaaacag	catatccact	cagttccaca	19440
tttccatata	aaggccaagg	catttattct	caggataatt	gtttcagcat	cgcaaccgca	19500
tcagactccg	gcatcgcaaa	ctgcaccggg	tgccgggcag	ccacatccag	cgcaaaaacc	19560
ttcgtgtaga	cttccgttga	actgatggac	ttatgtccca	tcaggctttg	cagaactttc	19620
agcggatatac	cggcatacag	catgtgcac	gcataaggaat	ggcggaacgt	atgtgggtgtg	19680
accggaacag	agaacgtcac	accgtcagca	gcagcggcgg	caaccgcctc	cccaatccag	19740
gtcctgaccg	ttctgtccgt	cacttcccag	atccgcgctt	tctctgtcct	tcctgtgcga	19800
cggttacgcc	gctccatgag	cttatcgcca	ataaatacct	gtgacggaag	atcacttcgc	19860
agaataaata	aatcctgggtg	tcctgttga	taccgggaag	ccctgggcca	acttttggcg	19920
aaaatgagac	gttgatcggc	acgtaagagg	ttccaacttt	caccataatg	aaataagatc	19980
actaccgggc	gtattttttg	agttatcgag	attttcagga	gctaaggaag	ctaaaatgga	20040
gaaaaaaatc	actggatata	ccaccgttga	tatatcccaa	tggcatcgta	aagaacattt	20100
tgaggcattt	cagtcagttg	ctcaatgtac	ctataaccag	accgttcagc	tggatattac	20160
ggccttttta	aagaccgtaa	agaaaaataa	gcacaagttt	tatccggcct	ttattcacat	20220

tcttgccgcg	ctgatgaatg	ctcatccgga	atttcgtatg	gcaatgaaag	acgggtgagct	20280
ggtgatatgg	gatagtgttc	acccttggtta	caccgttttc	catgagcaaa	ctgaaacggt	20340
ttcatcgctc	tggagtgaat	accacgacga	tttccggcag	tttctacaca	tatattcgca	20400
agatgtggcg	tgttacgggtg	aaaacctggc	ctatttcctc	aaagggttta	ttgagaatat	20460
gtttttcgtc	tcagccaatc	cctgggtgag	tttcaccagt	tttgatttaa	acgtggccaa	20520
tatggacaac	ttcttcgccc	ccgttttcac	catgggcaaa	tattatacgc	aaggcgacaa	20580
ggtgctgatg	ccgctggcga	ttcaggttca	tcatgccgtt	tgtgatggct	tccatgtcgg	20640
cagaatgctt	aatgaattac	aacagtactg	cgatgagtgg	cagggcgggg	cgtaattttt	20700
ttaaggcagt	tattgggtgcc	cttaaaccgc	tgggttgctac	gcctgaataa	gtgataataa	20760
gcggatgaat	ggcagaaatt	cgatgataag	ctgtcaaaca	tgagaattgg	tcgaccctgt	20820
ggaatgtgtg	tcagttaggg	tgtggaaagt	ccccaggtc	cccagcaggc	agaagtatgc	20880
aaagcatgca	tctcaattag	tcagcaacca	ggtgtggaaa	gtccccaggc	tccccagcag	20940
gcagaagtat	gcaaagcatg	catctcaatt	agtcagcaac	catagtcccg	cccctaactc	21000
cgcccatccc	gccctaact	ccgcccagtt	ccgcccattc	tccgcccct	ggctgactaa	21060
ttttttttat	ttatgcagag	gccgaggccg	cctc			21094

<210> 7
 <211> 17639
 <212> ADN
 <213> sintético

<400> 7						
ttaaaacagc	ctgtgggttg	caccactca	cagggccac	tgggcgctag	tacactggta	60
tctcggtacc	ttgtacgcc	tgttttatac	cccctccctg	atttgcaact	tagaagcaac	120
gcaaaccaga	tcaatagtag	gtgtgacata	ccagtcgcat	cttgatcaag	cacttctgta	180
tccccggacc	gagtatcaat	agactgtgca	cacggttgaa	ggagaaaacg	tccgttacct	240
ggctaactac	ttcgagaaac	ctagtaacgc	cattgaagtt	gcagagtgtt	tcgctcagca	300
ctccccccgt	gtagatcagg	tcgatgagtc	accgcattcc	ccacgggcga	ccgtggcggg	360
ggctgcgttg	gcggcctgcc	tatggggtaa	cccataggac	gctctaatac	ggacatggcg	420
tgaagagtct	attgagctag	ttagtagtcc	tccggcccct	gaatgcgggt	aatcctaact	480
gcggagcaca	tacccttaat	caaagggca	gtgtgtcgta	acgggcaact	ctgcagcgga	540
accgactact	ttgggtgtcc	gtgtttcttt	ttattcttgt	attggctgct	tatggtgaca	600
attaaagaat	tgttaccata	tagctattgg	attggccatc	cagtgtcaaa	cagagctatt	660
gtatatctct	ttgttggtat	tacacctctc	actcttgaaa	cgttacacac	cctcaattac	720
attatactgc	tgaacacgaa	gcgatgggct	cccagggtct	cacacagcga	tccggctcgc	780

ES 2 718 187 T3

atgagaattc caactcagcc acggaaggct ccactataaa ttacacaacc attaattact	840
acaaagactc gtatgctgcc actgctggaa agcaaagtct caaacaagat cctgacaagt	900
ttgcgaaccc tgtgaaggac atctttactg aaatggcagc gcccttaaag tctccctctg	960
ctgaagcatg tggctatagc gaccgagtgg cacagcttac cattggaaat tccaccatta	1020
ctacacaaga agcagcaaac ataatagttg ggtatggtga gtggccttca tactgctctg	1080
ataatgatgc aacagcggta gacaaacctc cacggcctga tgtctcagta aatagatttt	1140
acacgctaga cactaagcta tgggagaaat catccaaggg gtggtactgg aagttcccag	1200
atgtactgac tgaaaccgga gtttttggtc aaaatgcaca atttcactac ttataccggt	1260
cagggttctg catccacgtt caatgtaacg ctagcaaatt tcaccaaggg gcgctactcg	1320
ttgcggtatt gcccgagtat gtcattggaa cagtggcagg cggcacaggc acagagaaca	1380
gtcaccctcc ttatatacaa acccaaccgc gcgctgatgg atttgaatta caacatccat	1440
atgttcttga tgctggaatt ccaatatctc agttgacagt gtgccctcac cagtggatca	1500
atttcagAAC caacaattgt gccaccataa tagtgccata catgaacaca ctaccttttg	1560
attccgcatt gaaccactgt aatttcggac tattggtggt gcctatcagc ccgctggatt	1620
tcgaccaagg ggcgacaccg gtaattccta tcactatcac gttggctccg atgtgtctg	1680
agtttgccgg tctcaggcag gcagttgcgc agggtttccc cactgaattg aaacctggca	1740
ctaatacgtt cttaaccacg gatgatggtg tgtcagcacc tatattgcca aatttccacc	1800
ccaccccggt cattcacata cctggcgagg ttagaaactt actagaactg tgccaggtag	1860
aaaccatttt agaagtcaac aatgtgccca ccaacgcaac cagtttgatg gaaaggctac	1920
ggtttccagt gtcagcccaa gcagggaaag gtgagttgtg tgcaagtgtc agggccgacc	1980
ctgggaggga tggtccttgg caatccacca tgctaggcca gttgtgtgga tattacaccc	2040
aatggtcagg gtctttggaa gtcactttta tgttcaccgg atcctttatg gcaactggta	2100
aaatgcttat agcttacaca ccccagggg gccctttgcc taaagataga gccacagcta	2160
tgctggggac gcacgtcatc tgggactttg gcttgcaatc gtccgtcacc ctcgtcatc	2220
catggatcag taacactcac tataggcgc atgctcgaga tggggtgttt gattactaca	2280
ccacaggttt ggtagtata tggtagcaaa caaattatgt agtccctatt ggagcaccta	2340
atactgccta tataatagcg ttggcagcag cccaaaagaa tttcactatg aaattgtgca	2400
aggacaccag tgacattttg caaacggcca ctattcaagg ggacagagtg gcagatgtga	2460
ttgagagctc tataggagat agtgtgagta aggccctcac ccaagcttta cctgcaccca	2520
caggccaaaa caccgaagt agcagtcac gcttagacac tggaaaagta ccagcacttc	2580
aagccgccga aatcggagct tcgtcgaatg ctagtgatga gagtatgatt gagactcgg	2640

ES 2 718 187 T3

gtgtttcttaa ctcacatagc acagctgaaa ccacccttga tagtttcttc agtagagcag	2700
gcttagttgg ggagatagat cttcctctaa agggcaccac caatccgaac gggtagcca	2760
actgggacat agacataacc ggttatgcgc agatgcgcag aaaagtggaa ctattcacct	2820
atatgcgctt tgacgcagag ttcaacttttgc tgcgctgcac acctaccgga gaggtcgctt	2880
cacagctgct tcaatacatg tttgttccac ccggggcccc caaaccagac tccagagact	2940
ctttggcttg gcaaacggcc acgaaccctt cagtttttgc caaattatcc gaccaccag	3000
cacaagtctc agtgccattt atgtcacctg caagcgcata ccaatggtt tatgacggat	3060
acctacatt tggagagcac aagcaagaga aggatctcga gtatggggca tgcccgaata	3120
acatgatggg cacattctca gtgcggactg tgggatcgtc acagtcaaaa tatcccttag	3180
tcatcagaat atacatgaga atgaagcacg tcagagcgtg gatacctcgg ccgatgcgca	3240
atcagaacta tttgttcaaa tccaacccaa actatgctgg taattccatt aaaccaactg	3300
gtaccagccg aacggcaatc actacgctcg ggaaattcgg tcagcagctt ggggctattt	3360
atgtgggcaa ccttagggta gtaaacagac acctagccac ccatactgac tgggccaact	3420
tggtgtggga agacagctct agagacctcc tagtttcttc aactaccgct caagggtgtg	3480
acaccattgc tcgatgtaac tgccaaaccg gagtgtatta ctgtaactct cgcagaaaac	3540
actatccagt cagtttttgc aaacctagtt tgggtgttgc agaagctagt gagtattatc	3600
cagctagata tcagtcccat cttatgcttg ctgagggcca ttcagaacct ggtgattgtg	3660
gcggtattct tagatgccaa cacggtgtgg tgggaattgt ctccactggc ggaagtggcc	3720
ttgtgggatt tgctgacgtt agagatcttc tgtggctaga tgaggaagcg atggagcagg	3780
gggtatctga ttacatcaaa ggtctcgggtg atgccttcgg cacaggtttc actgacgcag	3840
tgtctaggga agtggaagcg ttgaagaacc acttaatcgg ctccgaaggg gctgttgaga	3900
agatcttgaa gaacttggtg aagctaattt cagccttagt tatagtcac agaagtgatt	3960
atgatatggt caccctcaca gccacactag ctctgatcgg gtgccacggg agtccttggt	4020
cgtggatcaa atcaaagaca gcttccatac tgggcattcc catggcacia aaacagagtg	4080
cctcatggct aaagaagttc aatgacatgg caaatgctgc aaaagggtt gagtggattt	4140
ccaacaagat cagtaagttc attgactggc ttaaagagaa gatcattcca gctgccaaag	4200
agaaagtga gtttttgaac aacctaaaac agctccctt gttggagaac caggctctca	4260
atcttgaaca gtctgctgcc tcacaagaag acctagaagc tatgtttggt aatgtgtcat	4320
atctggctca cttttgccgc aaattccaac cactctacgc aactgaggcc aagagagtct	4380
acgctttaga gaaaaggatg aataactaca tgcagttcaa gagcaaacac cgtattgaac	4440
ctgtatgctt gatcatcaga ggttccccag gaacgggcaa atcgctcgcc acaggcatta	4500
tagctagagc cattgctgac aagtatcgct ctagtgtata ctcaactcccc ccagaccag	4560

ES 2 718 187 T3

atcactttga tgggtataag caacaggtgg tcacgggtcat ggatgatctc tgccagaacc	4620
cggacggaaa agacatgtcc ctattttgtc aaatggtttc tacagtagat tttataccac	4680
ccatggcatc actagaggag aaaggagtgt ccttcacctc taagtttgtc attgcatcga	4740
ccaatgctag taacatcata gtccccacag tttcagattc agatgcaatt cgcaggcgat	4800
tctatatgga ctgcgatata gaagtgcagc attcttaca gacagacctc ggtcggctgg	4860
acgcaggtag agctgccaaag ctttgtacag aaaataacac tgctaatttc aagagatgca	4920
gccactgggt gtgtggtaag gctattcagc tgagagacag gaagtccaaa gtgagatata	4980
gcgtcgacac cgtggtatcg gaactgatca gagagtacaa caatagatct gctattggga	5040
atactataga agcactcttt caaggacccc cttaaattcag gcctataaga attagtctcg	5100
aagaaaagcc agccccagat gccattgggtg atttgctcgc tagtgtcgat agcgaggagg	5160
tccgacagta ctgcagggaa caagggtgga taatcccga aacaccaact aatgtggaac	5220
gtcacctcaa tagagcagta ttggtaatgc agtccatcgc cactgtgggt gcagtttgtt	5280
ctcttgttta tgtcatttat aagctgtttg cggggttcca ggtgcttac tctggagcgc	5340
ccaagcaaat tctcaagaag cccgtgttaa gaacagccac ggtccaaggg cccagcttag	5400
acttcgcctt gtctcttttg aggcgaaca ttagacaagc gcaaactgac caaggacact	5460
tcaccatgct aggagtgcga gatcgccctag ccacctgcc gcgccactcg caaccaggga	5520
agaccatctg ggtagagcat aaattaatca atgtactaga tgcagttgag ttggtggatg	5580
agcaaggtgt aaacttgga ctcacactgg taactttgga caccaatgaa aaatttaggg	5640
atatcaccaa gtttatccca gaagtgatca cgggggcgag tgacgcaact ctagtcatca	5700
acactgagca catgccctca atgtttgtgc cgggtgggtga cgttgtgcag tacgggtttc	5760
tgaaccttag tggtaaacc acacacagaa ccatgatgta taacttcccc acgaaggcag	5820
gacagtgtgg gggggtgggt acctcagttg gtaagatcat tggaatccac attggcggga	5880
atggacgcca gggcttttgc gctggcctaa agaggagtta ttttgccagc gagcaaggag	5940
agatccagtg gatgaagcct aacagagaaa cggggagggtt gaatattaat ggtccaaccc	6000
gaactaagct ggaaccctgt gtattccatg atgtgttcga gggcaacaag gaaccagcgg	6060
tcctgactag taaggacccc agacttgagg ttgattttga gcaagctttg ttctccaagt	6120
atgtgggtaa caccctgcat gaacctgatg agtacgtgac acaggctgct ctccactacg	6180
caaatcagct gaagcaactg gacatcaaca ccagcaagat gagcatggaa gaagcgtgct	6240
atggcacaga atatttagaa gctatagact tgcacaccag tgctggatac cettatagtg	6300
ctttgggcat caagaaaaga gacatcctcg acccagttac cagagacacc tccaggatga	6360
agttatatat ggataagtat gggttggact tgccttattc cacttatgta aaggatgagc	6420

ES 2 718 187 T3

ttagatctct agataagatc agaaaaggga agtctcgcct gattgaggct agcagcttaa	6480
atgattctgt ctacctaga atgacttttg gacaccttta tgaagtgttt cacgcccaacc	6540
cagggactgt aacaggatct gcagttgggt gcaaccctga tgtattttgg agcaagttac	6600
caattttgtt accgggttca ctctttgcat ttgactactc aggatatgat gcaagcctta	6660
gtcctgtgtg gttcagagct ctagagttgg ttctgagaga gatcggttac tcggaggagg	6720
ctgtgtcact catagaaggg atcaatcaca cccaccacgt gtaccgaaac aagacatatt	6780
gtgtacttgg tggaatgccc tcaggctgct ccggtacttc cattttcaat tccatgatta	6840
acaacataat catcagaacc ctcttgatta aaacattcaa aggtatagac ttagatgagc	6900
tgaaaatggt agcttatgga gatgacgtgt tggccagcta ccggtttcct attgattgct	6960
tggaattggc taaaacaggc aaagaatatg ggctgactat gactcctgct gataaatcac	7020
cttgtttcaa tgaggttacc tgggagaatg caaccttctt aaaacgcggt tttctaccgg	7080
accatcagtt cccttttctg atccatccca ctatgcccat gagggaaatc catgagtcca	7140
tccgctggac caaggacgcg cgcaatactc aagatcatgt gcgctccctt tgtctcctgg	7200
catggcataa tggaaaagag gagtatgaga aatttgtgag tacaattaga tcagtcccca	7260
ttggaagggc tttagcaata ccaaattttg agaacttgag aagaaattgg ctcgagttat	7320
tttaaaactta cagctcaatg ctgaacccca ccagaaatct ggtcgtgtca atgactggtg	7380
ggggtaaatt tgttataacc agaatagcaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	7440
ggccggcatg gtcccagcct cctcgctggc gccggctggg caacattccg aggggaccgt	7500
cccctcggtg atggcgaatg ggacgaattc tgaaccagtc ctaaaacgag taaataggac	7560
cggcaattct tcaagcaata aacaggaata ccaattatta aaagataact tagtcagatc	7620
gtacaataaa gctttgaaga aaaatgcgcc ttattcaatc tttgctataa aaaatggccc	7680
aaaatctcac attggaagac atttgatgac ctcatctctt tcaatgaagg gcctaacgga	7740
gttgactaat gttgtgggaa attggagcga taagcgtgct tctgccgtgg ccaggacaac	7800
gtatactcat cagataacag caatacctga tcaactactc gcactagttt ctcggtacta	7860
tgcataatgat ccaatatcaa aggaaatgat agcattgaag gatgagacta atccaattga	7920
ggagtggcag catatagaac agctaaaggg tagtgctgaa ggaagcatac gatacccgc	7980
atggaatggg ataatatcac aggaggtact agactacctt tcatcctaca taaatagacg	8040
catataagta cgcatttaag cataaacacg cactatgccg ttcttctcat gtatatatat	8100
atacaggcaa cacgcagata taggtgcgac gtgaacagtg agctgtatgt gcgcagctcg	8160
cgttgcattht tcggaagcgc tcggtttcgg aaacgccttg aagttcctat tccgaagttc	8220
ctattctcta gaaagtatag gaacttcaga gcgcttttga aaacccaaag cgtctgaag	8280
acgcactttc aaaaaaccaa aaacgcaccg gactgtaacg agctactaaa atattgcgaa	8340

ES 2 718 187 T3

taccgcttcc	acaaacattg	ctcaaaagta	tctctttgct	atatatctct	gtgctatatc	8400
cctatataac	ctacccatcc	acctttcgct	ccttgaactt	gcatctaaac	tcgacctcta	8460
cattttttat	gtttatctct	agtattactc	tttagacaaa	aaaattgtag	taagaactat	8520
tcatagagtg	aatcgaaaac	aatacgaaaa	tgtaaacatt	tcctatacgt	agtatataga	8580
gacaaaatag	aagaaaccgt	tcataatttt	ctgaccaatg	aagaatcatc	aacgctatca	8640
ctttctgttc	acaaagtatg	cgcaatccac	atcggtatag	aataataatcg	gggatgcctt	8700
tatcttgaaa	aaatgcaccc	gcagcttcgc	tagtaatcag	taaacgcggg	aagtggagtc	8760
aggctttttt	tatggaagag	aaaatagaca	ccaaagtagc	cttcttctaa	ccttaacgga	8820
cctacagtgc	aaaaagttat	caagagactg	cattatagag	cgcacaaaag	agaaaaaaag	8880
taatctaaga	tgctttgtta	gaaaaatagc	gctctcggga	tgcatTTTTTg	tagaacaaaa	8940
aagaagtata	gattctttgt	tggtaaaata	gcgctctcgc	gttgcatTTTc	tgTtctgtaa	9000
aaatgcagct	cagattcttt	gtttgaaaaa	ttagcgctct	cgcggttgc	ttttgtttta	9060
caaaaatgaa	gcacagattc	ttcgttggtg	aaatagcgct	ttcgcgttgc	atttctgttc	9120
tgtaaaaatg	cagctcagat	tctttgtttg	aaaaattagc	gctctcgcgt	tgcatTTTTg	9180
ttctacaaaa	tgaagcacag	atgcttcggt	aacaaagata	tgctattgaa	gtgcaagatg	9240
gaaacgcaga	aatgaaccg	gggatgcgac	gtgcaagatt	acctatgcaa	tagatgcaat	9300
agtttctcca	ggaaccgaaa	tacatacatt	gtcttccgta	aagcgctaga	ctatatatta	9360
ttatacaggt	tcaaataatac	tatctgtttc	agggaaaact	cccaggttcg	gatgttcaaa	9420
attcaatgat	gggtaacaag	tacgatcgta	aatctgtaaa	acagtttgtc	ggatattag	9480
ctgtatctcc	tcaaagcgta	ttcgaatatc	attgagaagc	tgcaaggcaag	tgcaacaaaca	9540
atacttaaat	aaatactact	cagtaataac	ctatttctta	gcatttttga	cgaaatttgc	9600
tattttgtta	gagtctttta	caccatttgt	ctccacacct	ccgcttacat	caacaccaat	9660
aacgccattt	aatctaagcg	catcaccaac	atTTTctggc	gtcagtccac	cagctaacat	9720
aaaatgtaag	ctttcggggc	tctcttgcc	tccaaccag	tcagaaatcg	agttccaatc	9780
caaaagttca	cctgtccac	ctgcttctga	atcaaacaag	ggaataaacg	aatgaggttt	9840
ctgtgaagct	gcaactgagta	gtatgttgca	gtcttttgga	aatacgagtc	ttttaataac	9900
tggcaaacgg	aggaactctt	ggtattcttg	ccacgactca	tctccatgca	gttggaacgat	9960
atcaatgccg	taatcattga	ccagagccaa	aacatcctcc	ttaggttgat	tacgaaacac	10020
gccaaccaag	tatttcggag	tgctgaact	atTTTtatat	gcttttacia	gacttgaaat	10080
tttcttgca	ataaccgggt	caattgttct	ctttctattg	ggcacacata	taatacccag	10140
caagtcagca	tcggaatcta	gagcacattc	tgccgcctct	gtgctctgca	agccgcaaac	10200

ES 2 718 187 T3

tttcaccaat	ggaccagaac	tacctgtgaa	attaataaca	gacatactcc	aagctgcctt	10260
tgtgtgctta	atcacgtata	ctcacgtgct	caatagtcac	caatgccctc	cctcttggcc	10320
ctcctccttt	tcttttttcg	accgctagcg	tcgacagcga	cacacttgca	tcggatgcag	10380
cccggttaac	gtgccggcac	ggcctgggta	accaggtatt	ttgtccacat	aaccgtgcgc	10440
aaaatgttgt	ggataagcag	gacacagcag	caatccacag	caggcataca	accgcacacc	10500
gaggttactc	cgtttctacag	gttacgcga	catgtcaata	cttgcccttg	acaggcattg	10560
atggaatcgt	agtctcacgc	tgatagtctg	atcgacaata	caagtgggac	cgtgggtccca	10620
gaccgataat	cagaccgaca	acacgagtgg	gatcgtggtc	ccagactaat	aatcagaccg	10680
acgatacgag	tgggaccgtg	gtcccagact	aataatcaga	ccgacgatac	gagtgggacc	10740
gtggttccag	actaataatc	agaccgcga	tacgagtggg	accgtgggcc	cagactaata	10800
atcagaccga	cgatacgagt	gggaccatgg	tcccagacta	ataatcagac	cgacgatacg	10860
agtgggaccg	tggtcccagt	ctgattatca	gaccgacgat	acgagtggga	ccgtgggtccc	10920
agactaataa	tcagaccgac	gatacgagtg	ggaccgtggg	cccagactaa	taatcagacc	10980
gacgatacga	gtgggaccgt	ggtcccagtc	tgattatcag	accgacgata	caagtggaac	11040
agtgggcccc	gagagaatat	tcaggccagt	tatgctttct	ggcctgtaac	aaaggacatt	11100
aagtaaagac	agataaacgt	agactaaaac	gtggtcgcct	cagggtgctg	gcttttcaag	11160
ttccttaaga	atggcctcaa	ttttctctat	acactcagtt	ggaacacggg	acctgtccag	11220
gttaagcacc	attttatcgc	ccttatacaa	tactgtcgct	ccaggagcaa	actgatgtcg	11280
tgagcttaaa	ctagttcttg	atgcagatga	cgtttttaagc	acagaagtta	aaagagtgat	11340
aacttcttca	gcttcaaata	tcaccccagc	ttttttctgc	tcatgaagg	tagatgcctg	11400
ctgcttaagt	aattcctctt	tatctgtaaa	ggctttttga	agtgcacac	ctgaccgggc	11460
agatagttca	ccggggtgag	aaaaaagagc	aacaactgat	ttaggcaatt	tggcgggtgtt	11520
gatacagcgg	gtaataatct	tacgtgaaat	attttccgca	tcagccagcg	cagaaatatt	11580
tccagcaa	at	ctgcttgc	ataacgctga	ccacgttcat	aagcaactgt	11640
tgggcgataa	tcgttacc	atctggataa	tgcagccatc	tgctcatcat	ccagctcgcc	11700
aaccagaaca	cgataatcac	tttcggtaag	tgcagcagct	ttacgacggc	gactcccac	11760
ggcaatttct	atgacaccag	atactcttcg	accgaacgcc	ggtgtctgtt	gaccagtcag	11820
tagaaaagaa	gggatgagat	catccagtgc	gtcctcagta	agcagctcct	ggtcacgttc	11880
attacctgac	catacccgag	aggtcttctc	aacactatca	ccccggagca	cttcaagagt	11940
aaacttcaca	tcccgaaccac	atacaggcaa	agtaatggca	ttaccgcgag	ccattactcc	12000
tacgcgcgca	attaacgaat	ccaccatcgg	ggcagctggg	gtcgataacg	aagtatcttc	12060
aaccgggtga	gtattgagcg	tatgttttgg	aataacaggc	gcacgcttca	ttatctaata	12120

ES 2 718 187 T3

tcccagcgtg gtttaatcag acgatcgaaa atttcattgc agacaggttc ccaaatagaa	12180
agagcatttc tccaggcacc agttgaagag cgttgatcaa tggcctgttc aaaaacagtt	12240
ctcatccgga tctgaccttt accaacttca tccgtttcac gtacaacatt ttttagaacc	12300
atgcttcccc aggcattccc aatttgctcc tccatccacg gggactgaga gccattacta	12360
ttgctgtatt tggtaagcaa aatacgtaca tcaggctcga accctttaag atcaacgttc	12420
ttgagcagat cacgaagcat atcgaaaaac tgcagtgcgg aggtgtagtc aaacaactca	12480
gcaggcgtgg gaacaatcag cacatcagca gcacatacga cattaatcgt gccgataccc	12540
aggttaggcg cgctgtcaat aactatgaca tcatagtcac gagcaacagt ttcaatggcc	12600
agtcggagca tcagggtgtg atcgggtggc agtttacctt catcaaattt gccattaac	12660
tcagtttcaa tacggtgcag agccagacag gaaggaataa tgtcaagccc cggccagcaa	12720
gtgggcttta ttgcataagt gacatcgtcc ttttcccaa gatagaaagg caggagagtg	12780
tcttctgcat gaatatgaag atctggtacc catccgtgat acattgaggc tgttccctgg	12840
gggctgttac ctccacgag caaaacacgt agccccttca gagccagatc ctgagcaaga	12900
tgaacagaaa ctgaggtttt gtaaacgcca cctttatggg cagcaacccc gatcacgggt	12960
ggaaatacgt ctccagcacg tcgcaatcgc gtaccaaaca catcacgcat atgattaatt	13020
tgttcaattg tataaccaac acgttgctca acccgctctc gaatttccat atccgggtgc	13080
ggtagtcgcc ctgctttctc ggcattctctg atagcctgag aagaaacccc aactaaatcc	13140
gctgcttcac ctattctcca gcgccgggtt attttctctg cttccgggct gtcattatta	13200
aactgtgcaa tggcgatagc cttcgtcatt tcatgaccag cgtttatgca ctggttaagt	13260
gtttccatga gtttcattct gaacatcctt taatcattgc tttgcgtttt tttattaaat	13320
cttgcaattt actgcaaagc aacaacaaaa tcgcaaagtc atcaaaaaac cgcaaagttg	13380
tttaaaataa gagcaacact acaaaaggag ataagaagag cacatacctc agtcacttat	13440
tatcactagc gctcgccgca gccgtgtaac cgagcatagc gagcgaactg gcgagggaagc	13500
aaagaagaac tgttctgtca gatagctctt acgctcagcg caagaagaaa tatccaccgt	13560
gggaaaaact ccaggtagag gtacacacgc ggatagccaa ttcagagtaa taaactgtga	13620
taatcaaccc tcatcaatga tgacgaacta acccccgata tcaggtcaca tgacgaaggg	13680
aaagagaagg aaatcaactg tgacaaactg ccctcaaatt tggcttcctt aaaaattaca	13740
gttcaaaaag tatgagaaaa tccatgcagg ctgaaggaaa cagcaaaact gtgacaaatt	13800
accctcagta ggtcagaaca aatgtgacga accaccctca aatctgtgac agataaccct	13860
cagactatcc tgtcgtcatg gaagtgatat cgcggaagga aaatacgata tgagtcgtct	13920
ggcggccttt ctttttctca atgtatgaga ggcgcattgg agttctgctg ttgatctcat	13980

ES 2 718 187 T3

taacacagac	ctgcaggaag	cggcggcgga	agtcaggcat	acgctggtaa	ctttgaggca	14040
gctggtaacg	ctctatgata	cagtcgattt	tcagagagac	gatgcctgag	ccatccggct	14100
tacgatactg	acacagggat	tcgtataaac	gcattggcata	cggattgggtg	atttcttttg	14160
tttactaag	ccgaaactgc	gtaaaccggt	tctgtaaccc	gataaagaag	ggaatgagat	14220
atgggttgat	atgtacactg	taaagccctc	tggatggact	gtgcgcacgt	ttgataaacc	14280
aaggaaaaga	ttcatagcct	ttttcatcgc	cggcatcctc	ttcagggcga	taaaaacca	14340
cttccttccc	cgcgaaactc	ttcaatgcct	gcgtatatac	cttactggct	tccgcagagg	14400
tcaatccgaa	tatttcagca	tatttagcaa	catggatctc	gcagataccg	tcatgttctt	14460
gtagggtgcc	atcagatttt	ctgatctggt	caacgaacag	atacagcata	cgtttttgat	14520
cccgggagag	actatatgcc	gcctcagtga	ggtcgtttga	ctggacgatt	cgcgggctat	14580
ttttacgttt	cttgtgattg	ataaccgctg	tttccgccat	gacagatcca	tgtgaagtgt	14640
gacaagtttt	tagattgtca	cactaaataa	aaaagagtca	ataagcaggg	ataactttgt	14700
gaaaaaacag	cttcttctga	gggcaatttg	tcacaggggt	aagggaattt	tgtcacagac	14760
aggactgtca	tttgaggggtg	atttgtcaca	ctgaaagggc	aatttgtcac	aacaccttct	14820
ctagaaccag	catggataaa	ggcctacaag	gcgctctaaa	aaagaagatc	taaaaactat	14880
aaaaaaaaata	attataaaaa	tatcccctg	gataagtggg	taaccccaag	ggaagttttt	14940
tcaggcatcg	tgtgtaagca	gaatatataa	gtgctgttcc	ctggtgcttc	ctcgcctcact	15000
cgaaccgggag	ggttcgagaa	gggggggcac	cccccttcgg	cgtgcgcggt	cacgcgcaca	15060
gggcgcgacc	ctggttaaaa	acaaggttta	taaatattgg	tttaaaagca	ggttaaaaga	15120
caggttagcg	gtggccgaaa	aacgggcgga	aacccttgca	aatgctggat	tttctgcctg	15180
tggacagccc	ctcaaagtgc	aataggtgcg	cccctcatct	gtcagcactc	tgccccctcaa	15240
gtgtcaagga	tcgcgccccct	catctgtcag	tagtcgcgcc	cctcaagtgt	caataccgca	15300
gggcacttat	ccccaggcctt	gtccacatca	tctgtgggaa	actcgcgtaa	aatcaggcgt	15360
tttcgccgat	ttgcgaggct	ggccagctcc	acgtcgcggg	ccgaaatcga	gcctgccccct	15420
catctgtcaa	cgcgcgcggg	ggtgagtcgg	cccctcaagt	gtcaacgtcc	gccccctcatc	15480
tgtcagtgag	ggccaagttt	tccgcgaggt	atccacaacg	ccggcgcccg	gccgcgggtgt	15540
ctcgcacacg	gcttcgacgg	cgtttctggc	gcgtttgcag	ggccatagac	ggccgcccagc	15600
ccagcggcga	gggcaaccag	ccgagggcctt	cgcctctgtg	ctcgactgcg	gcgagcacta	15660
ctggctgtaa	aaggacagac	cacatcatgg	ttctgtgttc	attaggttgt	tctgtccatt	15720
gctgacataa	tccgctccac	ttcaacgtaa	caccgcacga	agattttctat	tgttcctgaa	15780
ggcatattca	aatcgttttc	gttaccgctt	gcaggcatca	tgacagaaca	ctacttccta	15840
taaacgctac	acaggctcct	gagattaata	atgcggatct	ctacgataat	gggagatttt	15900

ES 2 718 187 T3

cccgactggt tcgttcgctt ctccagtggat aacagccagc ttctctgttt aacagacaaa 15960
 aacagcatat ccactcagtt ccacatttcc atataaaggc caaggcattt attctcagga 16020
 taattgtttc agcatcgcaa ccgcatcaga ctccggcatc gcaaactgca cccggtgccg 16080
 ggcagccaca tccagcgcaa aaaccttcgt gtagacttcc gttgaactga tggacttatg 16140
 tcccatcagg ctttgcagaa ctttcagcgg tataccggca tacagcatgt gcatcgcata 16200
 ggaatggcgg aacgtatgtg gtgtgaccgg aacagagaac gtcacaccgt cagcagcagc 16260
 ggcggcaacc gcctcccaa tccaggtcct gaccgttctg tccgtcactt cccagatccg 16320
 cgctttctct gtccttcctg tgcgacgggt acgccgctcc atgagcttat cggaataaa 16380
 tacctgtgac ggaagatcac ttgcgagaat aaataaatcc tgggtgtccct gttgataccg 16440
 ggaagccctg ggccaacttt tggcgaaaat gagacgttga tcggcacgta agaggttcca 16500
 actttcacca taatgaaata agatcactac cgggcgtatt ttttgagtta tcgagatttt 16560
 caggagctaa ggaagctaaa atggagaaaa aaatcactgg atataccacc gttgatatat 16620
 cccaatggca tcgtaaagaa cattttgagg catttcagtc agttgctcaa tgtacctata 16680
 accagaccgt tcagctggat attacggcct ttttaaagac cgtaaagaaa aataagcaca 16740
 agttttatcc ggcctttatt cacattcttg cccgcctgat gaatgctcat ccggaatttc 16800
 gtatggcaat gaaagacggt gagctggtga tatgggatag tgttcaccct tgttacaccg 16860
 ttttccatga gcaaactgaa acgttttcat cgctctggag tgaataccac gacgatttcc 16920
 ggcagtttct acacatatat tcgcaagatg tggcgtgtta cggtgaaaac ctggcctatt 16980
 tccctaaagg gtttattgag aatatgtttt tcgtctcagc caatccctgg gtgagtttca 17040
 ccagttttga tttaaacgtg gccaatatgg acaacttctt cgcctccgtt ttcacatgg 17100
 gcaaataatta tacgcaaggc gacaagggtc tgatgccgct ggcgattcag gttcatcatg 17160
 ccgtttgtga tggcttccat gtcggcagaa tgcttaatga attacaacag tactgcgatg 17220
 agtggcaggg cggggcgtaa tttttttaag gcagttattg gtgcccttaa acgcctggtt 17280
 gctacgcctg aataagtgat aataagcgga tgaatggcag aaattcgatg ataagctgtc 17340
 aaacatgaga attggtcgac cctgtggaat gtgtgtcagt tagggtgtgg aaagtcccca 17400
 ggctccccag caggcagaag tatgcaaagc atgcatctca attagtcagc aaccaggtgt 17460
 ggaaagtccc caggctcccc agcaggcaga agtatgcaaa gcatgcatct caattagtca 17520
 gcaaccatag tcccgcctt aactccgcc atcccgcct taactccgcc cagttccgcc 17580
 cattctccgc cccatggctg actaattttt tttatttatg cagaggccga ggccgcctc 17639

<210> 8

<211> 36

<212> ADN

<213> artificial

<220>

<223> cebador sintético

<400> 8

atccaccggt ccacaacct ggcctctcc gaggac 36

<210> 9

<211> 39
 <212> ADN
 <213> artificial
 5 <220>
 <223> cebador sintético
 <400> 9
 10 tgatctagag tcgcgccgc ttaggcgc ggtggagtg 39
 <210> 10
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> artificial
 15 <220>
 <223> cebador sintético
 <400> 10
 20 agtggtttg tttgtcat cc 22
 <210> 11
 <211> 51
 <212> ADN
 25 <213> artificial
 <220>
 <223> cebador sintético
 30 <400> 11
 ggatgacaaa cacaaaacca ctggcggca tggcccagc ctctcgctg g 51
 <210> 12
 <211> 46
 35 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 <223> cebador sintético
 40 <400> 12
 ggtcccagcc tctcgctgg cgccggctgg gcaacattcc gagggg 46
 <210> 13
 <211> 47
 45 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 50 <223> cebador sintético
 <400> 13
 gtcccattcg ccattaccga ggggacggtc ccctcggaat gttgcc 47
 55 <210> 14
 <211> 60
 <212> ADN
 <213> artificial
 60 <220>
 <223> cebador sintético
 <400> 14
 65 cccgggcggc cgcgcatagc attaggtga cactatagag taaatcctgt gtgctaattg 60
 <210> 15

<211> 40
 <212> ADN
 <213> artificial
 5 <220>
 <223> cebador sintético
 <400> 15
 atgcatgctgg ccgctgac ggtcgaaaa agaaaaggag 40
 10 <210> 16
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> artificial
 15 <220>
 <223> cebador sintético
 <400> 16
 20 atgcatgccg gcgaattctg aaccagtct aaaacgag 38
 <210> 17
 <211> 51
 <212> ADN
 25 <213> artificial
 <220>
 <223> cebador sintético
 30 <400> 17
 cccggcgccg cgctaatacg actcactata gggagttgtt agtctacgtg g 51
 <210> 18
 <211> 17
 35 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 <223> cebador sintético
 40 <400> 18
 accccgcctc aatcctc 17
 <210> 19
 45 <211> 27
 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 50 <223> cebador sintético
 <400> 19
 ggttctggg acctcccacc ccagagt 27
 55 <210> 20
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> artificial
 60 <220>
 <223> cebador sintético
 <400> 20
 ctgtaggcac catcaat 17
 65 <210> 21

<211> 30
 <212> ADN
 <213> artificial
 5 <220>
 <223> cebador sintético
 <400> 21
 gtcgacgcta gcgattgatg gtgcctacag 30
 10 <210> 22
 <211> 49
 <212> ADN
 <213> artificial
 15 <220>
 <223> cebador sintético
 <400> 22
 20 ggaggctggg accatgccgg ccaggtcacc ggtagctctt gatccggca 49
 <210> 23
 <211> 49
 <212> ADN
 25 <213> artificial
 <220>
 <223> cebador sintético
 30 <400> 23
 tgccggatca agagctaccg gtgacctggc cggcattggtc ccagcctcc 49
 <210> 24
 <211> 60
 35 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 <223> cebador sintético
 40 <400> 24
 ctccgccag ttccgccat tctccgccc atggctgact aattttttt atttatgcag 60
 <210> 25
 <211> 60
 45 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 50 <223> cebador sintético
 <400> 25
 gactaatattt tttatttat gcagaggccg aggccgcctc agtaaactct gtgtgcta 60
 55 <210> 26
 <211> 60
 <212> ADN
 <213> artificial
 60 <220>
 <223> cebador sintético
 <400> 26
 gactaatattt tttatttat gcagaggccg aggccgcctc agttgttagt ctacgtggac 60
 65 <210> 27

<211> 55
 <212> ADN
 <213> artificial
 5 <220>
 <223> cebador sintético
 <400> 27
 ccctcggaat gttgccagc cggcgccagc gaggaggctg ggaccatgcc ggcca 55
 10 <210> 28
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> artificial
 15 <220>
 <223> cebador sintético
 <400> 28
 20 gaggctggga ccatgccggc cagtggttt gtgtttgtca tcc 43
 <210> 29
 <211> 45
 <212> ADN
 25 <213> artificial
 <220>
 <223> cebador sintético
 30 <400> 29
 gaggctggga ccatgccggc cagaacctgt tgattcaaca gcacc 45
 <210> 30
 <211> 60
 35 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 <223> cebador sintético
 40 <400> 30
 cgaggaggct gggaccatgc cggccaggtc accgtttaa cggccgaggc ggcctcgcc 60
 <210> 31
 <211> 60
 45 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 50 <223> cebador sintético
 <400> 31
 ttatgcaga ggccgaggcc gcctcgccg tttaaactgt gacctggccg gcatggtccc 60
 55 <210> 32
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> artificial
 60 <220>
 <223> cebador sintético
 <400> 32
 gaggcggcct cggcctctgc a 21
 65 <210> 33

<211> 21
 <212> ADN
 <213> artificial
 5 <220>
 <223> cebador sintético
 <400> 33
 10 tggccggcat ggtcccagcc t 21
 <210> 34
 <211> 60
 <212> ADN
 <213> artificial
 15 <220>
 <223> cebador sintético
 <400> 34
 20 gactaatatt tttatttat gcagaggccg aggccgcctc agttgttagt ctgtgtggac 60
 <210> 35
 <211> 45
 <212> ADN
 25 <213> artificial
 <220>
 <223> cebador sintético
 30 <400> 35
 gaggctggga ccatgccggc cagaacctgt tggatcaaca acacc 45
 <210> 36
 <211> 36
 35 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 <223> cebador sintético
 40 <400> 36
 ttatgcatag tcaggcacgt catatggata ggatcc 36
 <210> 37
 <211> 44
 45 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 50 <223> cebador sintético
 <400> 37
 tcgactaata cgactcacta taggggggagc gcgaatggaa aaac 44
 55 <210> 38
 <211> 47
 <212> ADN
 <213> artificial
 60 <220>
 <223> cebador sintético
 <400> 38
 65 cgcgcatacg atttagtga cactataggt atcaagaact ctacgg 47
 <210> 39

<211> 21
 <212> ADN
 <213> artificial
 5 <220>
 <223> cebador sintético
 <400> 39
 agtaaatcct gtgtgcta t 21
 10 <210> 40
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> artificial
 15 <220>
 <223> cebador sintético
 <400> 40
 20 ggcaatcacg actcgttgcg 20
 <210> 41
 <211> 23
 <212> ADN
 25 <213> artificial
 <220>
 <223> cebador sintético
 30 <400> 41
 agatggtatc ttcatttta gag 23
 <210> 42
 <211> 22
 35 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 <223> cebador sintético
 40 <400> 42
 acatttgctt tggccctgt ct 22
 <210> 43
 <211> 60
 45 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 50 <223> cebador sintético
 <400> 43
 ctccgccag ttcgccat tctccgcc atggctgact aattttttt atttatgcag 60
 55 <210> 44
 <211> 58
 <212> ADN
 <213> artificial
 60 <220>
 <223> cebador sintético
 <400> 44
 65 gactaatttt tttatttat gcagaggccg aggccgcctc taaaacagc ggatgggt 58
 <210> 45

<211> 60
 <212> ADN
 <213> artificial
 5 <220>
 <223> cebador sintético
 <400> 45
 10 gaggctggga ccatgccggc cttttttt tttttttt tttttttt tataaactcc 60
 <210> 46
 <211> 58
 <212> ADN
 <213> artificial
 15 <220>
 <223> cebador sintético
 <400> 46
 20 gactaatttt tttttttat gcagaggccg aggccgcctc taaaacagc ctgtgggt 58
 <210> 47
 <211> 60
 <212> ADN
 25 <213> artificial
 <220>
 <223> cebador sintético
 30 <400> 47
 gaggctggga ccatgccggc cttttttt tttttttt tttttttt tgctattctg 60
 <210> 48
 <211> 54
 35 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 <223> cebador sintético
 40 <400> 48
 ccctcggaat gttgccagc cggcgccagc gaggaggctg ggaccatgcc ggcc 54
 <210> 49
 45 <211> 48
 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 50 <223> cebador sintético
 <400> 49
 agaggccgag gccgcctcgg ccgttaaac ggtgacctg ccggcatg 48
 55 <210> 50
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> artificial
 60 <220>
 <223> cebador sintético
 <400> 50
 65 cggatatcag taaatcctg 19
 <210> 51

	<211> 19
	<212> ADN
	<213> artificial
5	<220>
	<223> cebador sintético
	<400> 51
10	cacaaaacca ctctgtagg 19

REIVINDICACIONES

1. Un cromosoma artificial bacteriano (BAC) para uso como vacuna, en donde el BAC comprende:

- una secuencia de ori bacteriana inducible para la amplificación de dicho BAC a más de 10 copias por célula bacteriana, y

- un casete de expresión viral que comprende un ADNc de un genoma de virus de ARN atenuado y que comprende elementos reguladores en cis para la transcripción de dicho ADNc viral en células de mamífero y para el procesamiento del ARN transcrito en un virus de ARN infeccioso.

2. El BAC según la reivindicación 1 para uso como vacuna, en donde dicho ADNc de un genoma de virus de ARN atenuado es una construcción de ADNc viral quimérico de un genoma de virus de ARN, en donde se ha insertado una secuencia de ADN heteróloga o en donde se ha eliminado, truncado o mutado una secuencia viral nativa.

3. El BAC según la reivindicación 1 para uso como vacuna, en donde dicho casete de expresión viral comprende:

un ADNc de un genoma de virus de ARN de cadena positiva

un promotor dirigido por ARN polimerasa que precede al extremo 5' de dicho ADNc para iniciar la transcripción de dicho ADNc, y

un elemento para la autoescisión del ARN después del extremo 3' de dicho ADNc para escindir el transcrito de ARN de dicho ADNc viral en una posición establecida.

, preferiblemente el ADNc de la ribozima genómica del virus de la hepatitis delta.

4. El BAC según la reivindicación 3 para uso como vacuna, en donde dicho virus de ARN de cadena positiva se selecciona del grupo que consiste en flavivirus, hepacivirus, pestivirus, togavirus, picornavirus, coronavirus, hepevirus y calicivirus.

5. El BAC según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para uso como vacuna, en donde dicho casete de expresión viral comprende un ADNc de un virus de fiebre amarilla, preferiblemente el ADNc de la vacuna viva atenuada contra el virus de la fiebre amarilla YFV-17D.

6. El BAC según la reivindicación 1 para uso como vacuna contra virus de ARN, en donde dicho casete de expresión viral comprende un ADNc de un virus que pertenece al grupo de virus de ARN de cadena negativa, virus de ARN de doble cadena o virus de ARN ambisentido.

7. El BAC según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para uso como vacuna, en donde dicho cromosoma artificial bacteriano comprende además una secuencia de replicación de manera autónoma en levadura para transportar y mantener dicho cromosoma artificial bacteriano en levadura, preferiblemente el origen de plásmido de 2μ o el ARS1 (Secuencia de replicación de manera autónoma 1).

8. El BAC según la reivindicación 3 para uso como vacuna, en donde dicho promotor dirigido por ARN polimerasa es un promotor de ARN polimerasa II, preferiblemente seleccionado del promotor temprano inmediato de Citomegalovirus (CMV-IE), el promotor del virus Simian 40, o en donde dicho promotor de ARN polimerasa es un promotor de ARN polimerasa I o III.

9. El BAC según la reivindicación 5 para uso como vacuna, en donde dicho casete de expresión viral comprende un ADNc de la vacuna viva atenuada contra YFV-17D, en donde una o más de las secuencias de ADNc que codifican las proteínas superficiales del virión están eliminadas, truncadas, o mutadas, de modo que dicha proteína superficial del virión funcional de YFV-17D no se expresa y en donde se inserta una secuencia de ADNc que codifica una proteína heteróloga en el ADNc de YFV-17D.

10. El BAC según la reivindicación 9 para uso como vacuna, en donde dicha proteína heteróloga es una proteína superficial del virión de un flavivirus.

11. El BAC según la reivindicación 9 o 10 para uso como vacuna, en donde dicho casete de expresión viral comprende un ADNc de la vacuna viva atenuada contra YFV-17D, en donde una o más secuencias de ADNc no relacionadas se insertan para expresarse como una o más proteínas heterólogas dentro de la poliproteína viral o en donde dicho casete de expresión viral comprende un ADNc viral en donde se insertan secuencias de ADNc extrañas para ser expresadas de forma heteróloga por dichos virus recombinantes.

12. Un método para preparar una vacuna contra virus de ARN que comprende las etapas de:

a) proporcionar un huésped bacteriano transfectado con un BAC que comprende:

- una secuencia de ori bacteriana inducible para la amplificación de dicho BAC a más de 10 copias por célula bacteriana, y

- un casete de expresión viral que comprende un ADNc de un genoma de virus de ARN atenuado y que comprende elementos reguladores en cis para la transcripción de dicho ADNc viral en células de mamífero y para el procesamiento del ARN transcrito en ARN viral infeccioso,

b) amplificar el BAC añadiendo un compuesto que activa dicho ori inducible,

5 c) aislar el BAC amplificado,

d) formular el BAC en una vacuna.

13. Un cromosoma artificial bacteriano (BAC) que comprende:

- una secuencia de ori bacteriana inducible para la amplificación de dicho BAC a más de 10 copias por célula bacteriana, y

10 - un casete de expresión viral que comprende un ADNc de un genoma de virus de ARN atenuado, o

- un casete de expresión viral que comprende un ADNc de un genoma de virus de ARN atenuado y que comprende elementos reguladores en cis para la transcripción de dicho ADNc viral en células de mamífero y para el procesamiento del ARN transcrito en ARN viral infeccioso,

para uso en la prevención de una infección por virus ARN.

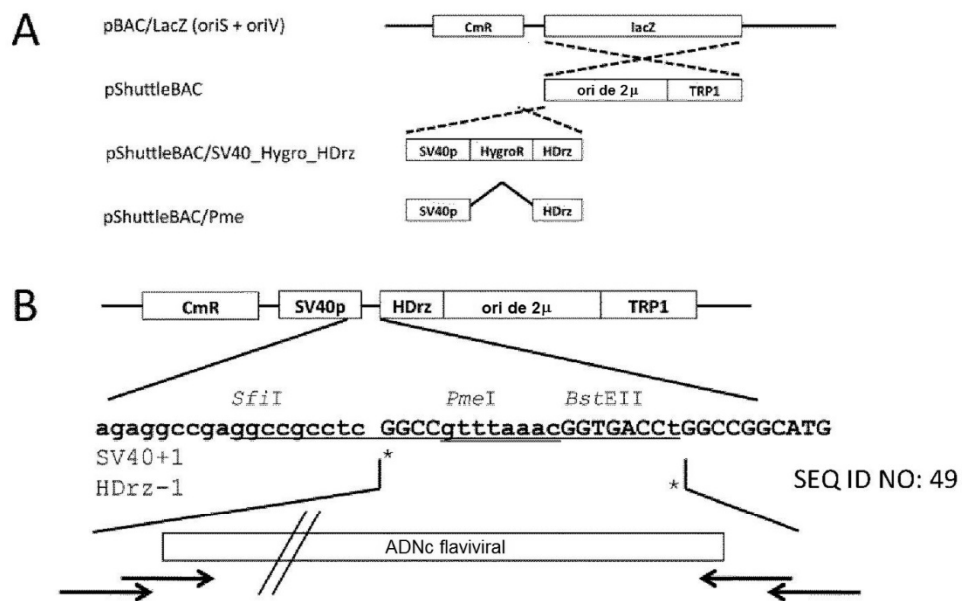


Figura 1

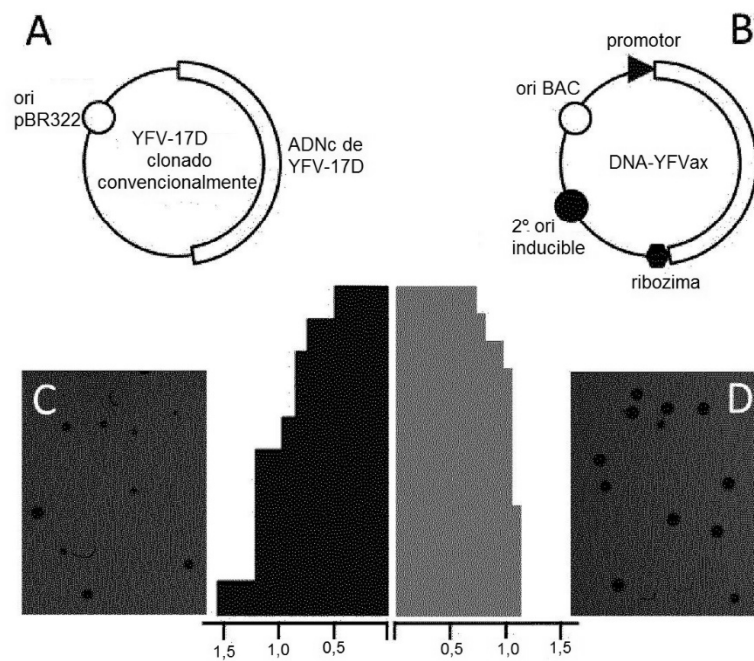


Figura 2

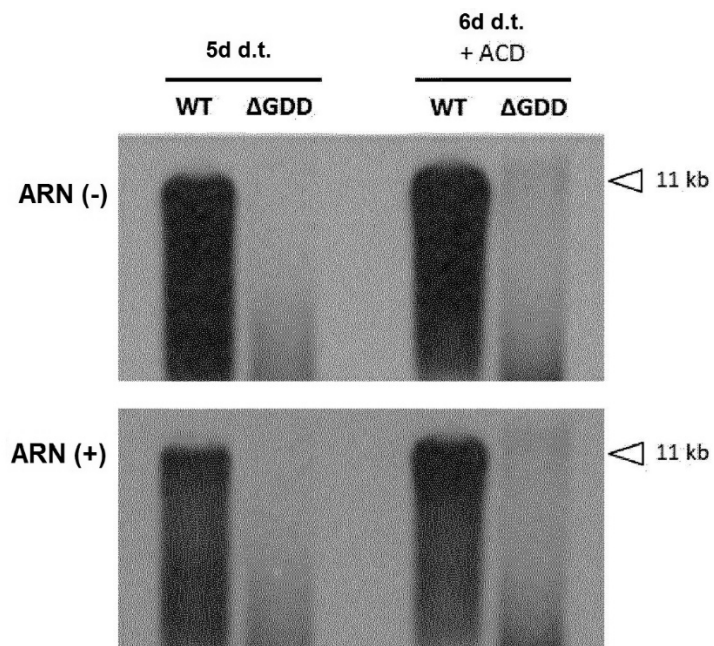


Figura 3 A

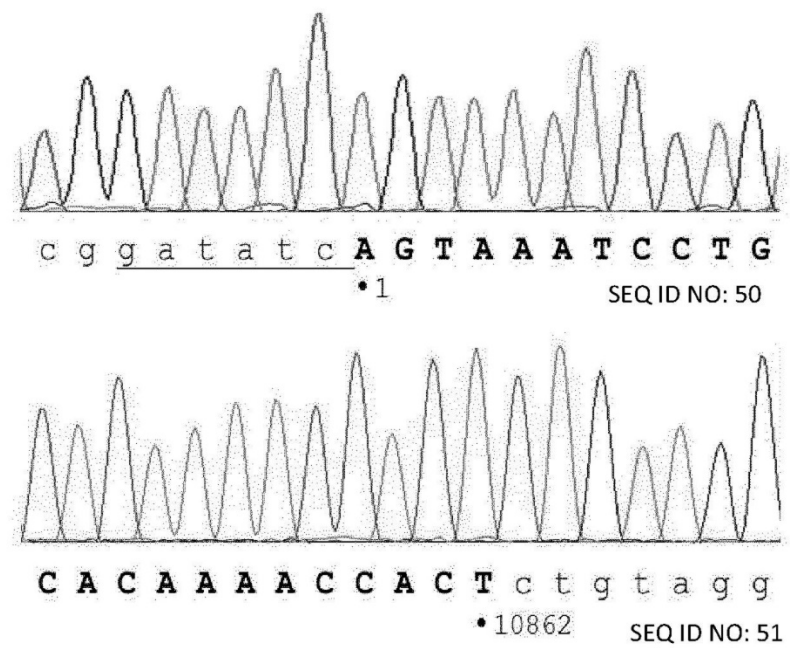


Figura 3B

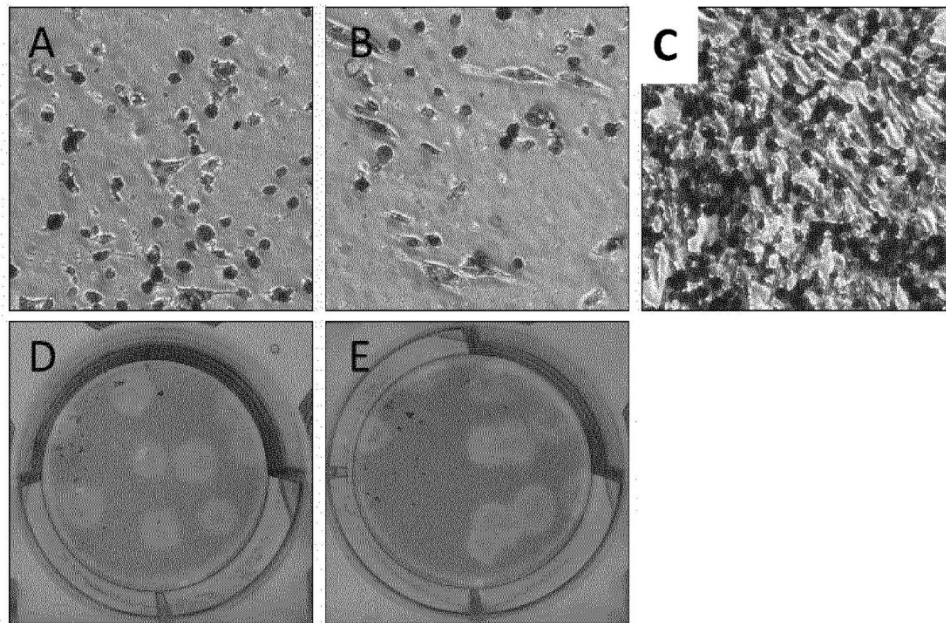


Figura 4

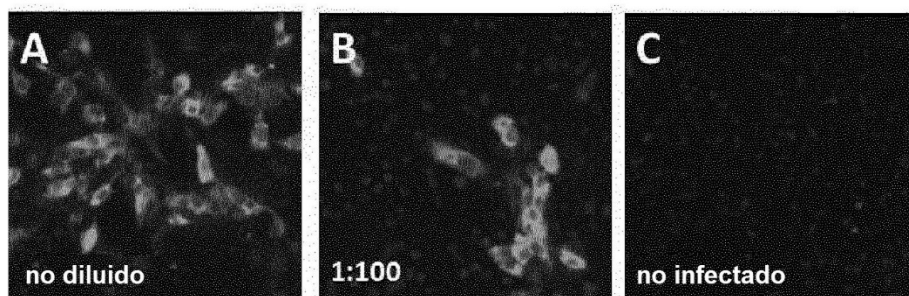


Figura 5

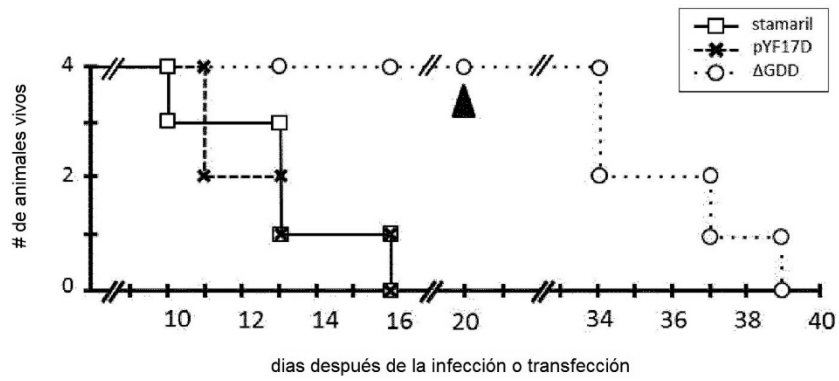


Figura 6

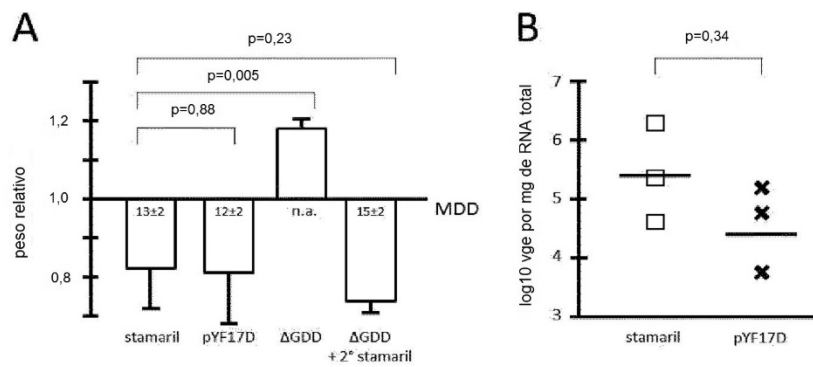


Figura 7

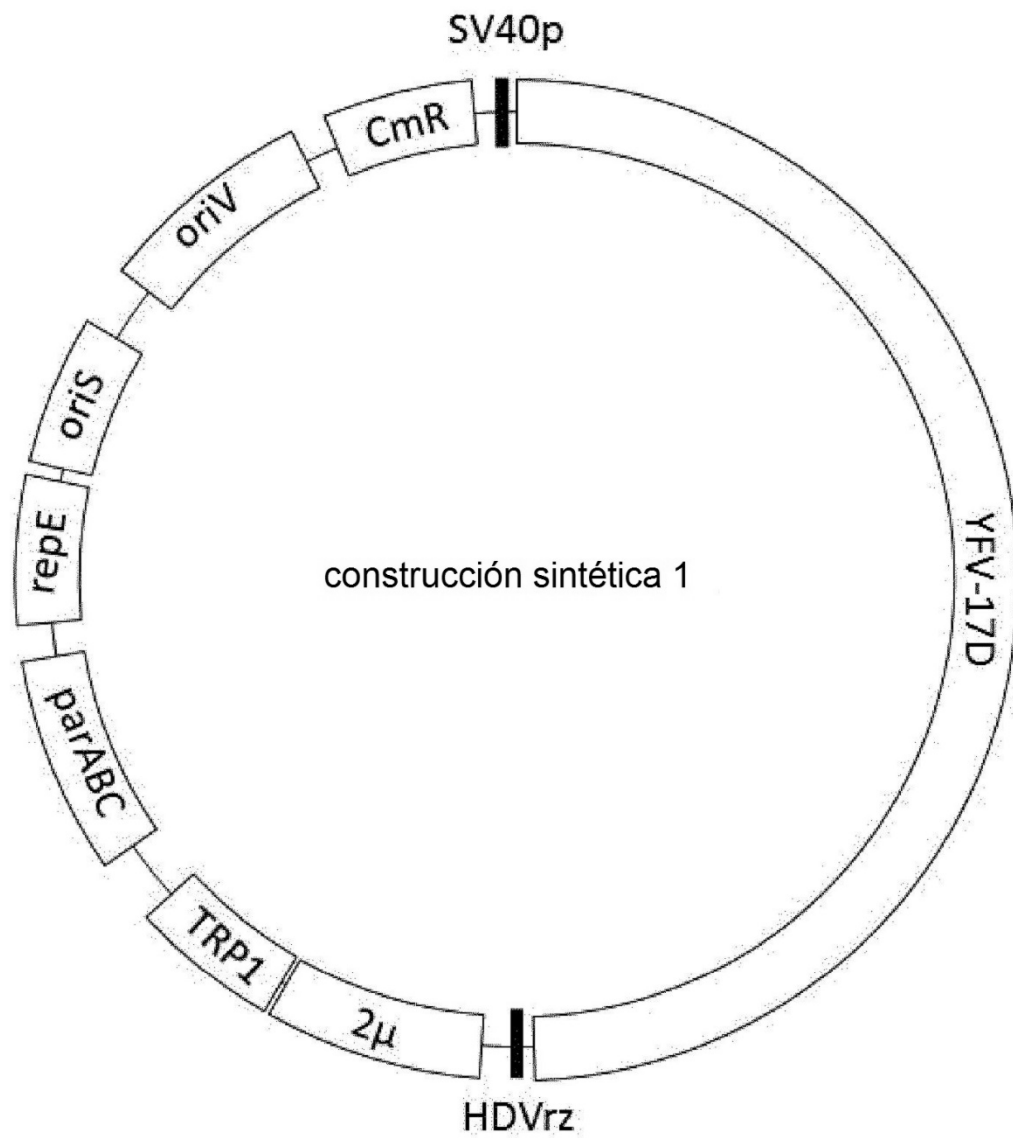


Figura 8

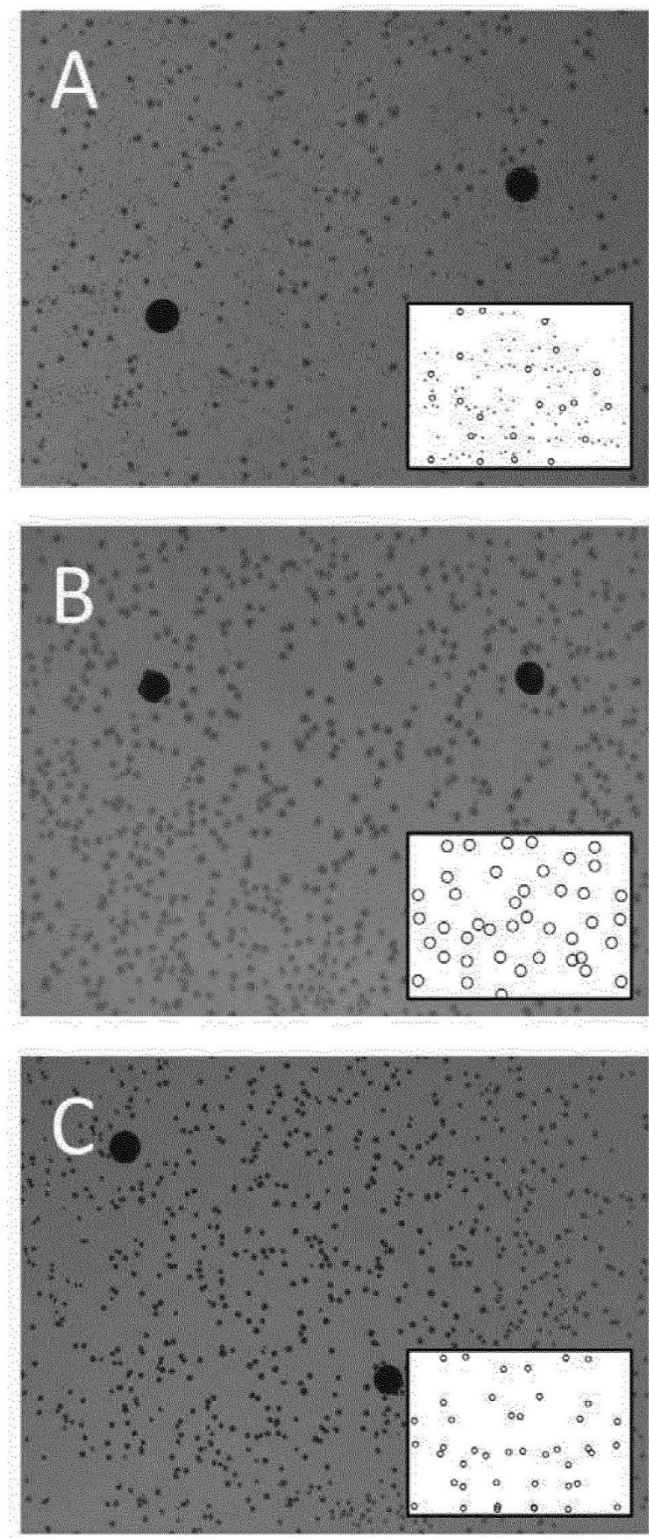


Figura 9

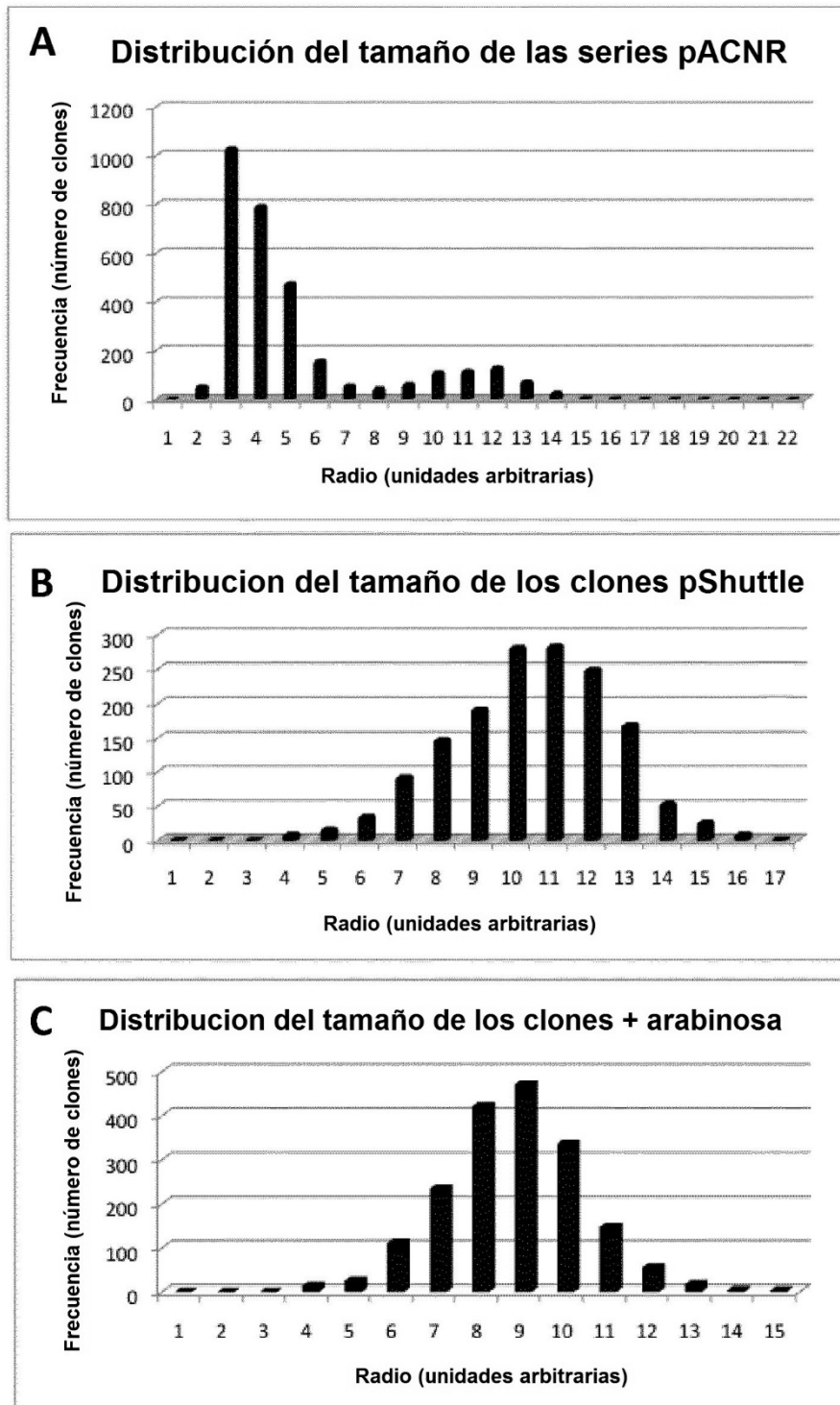
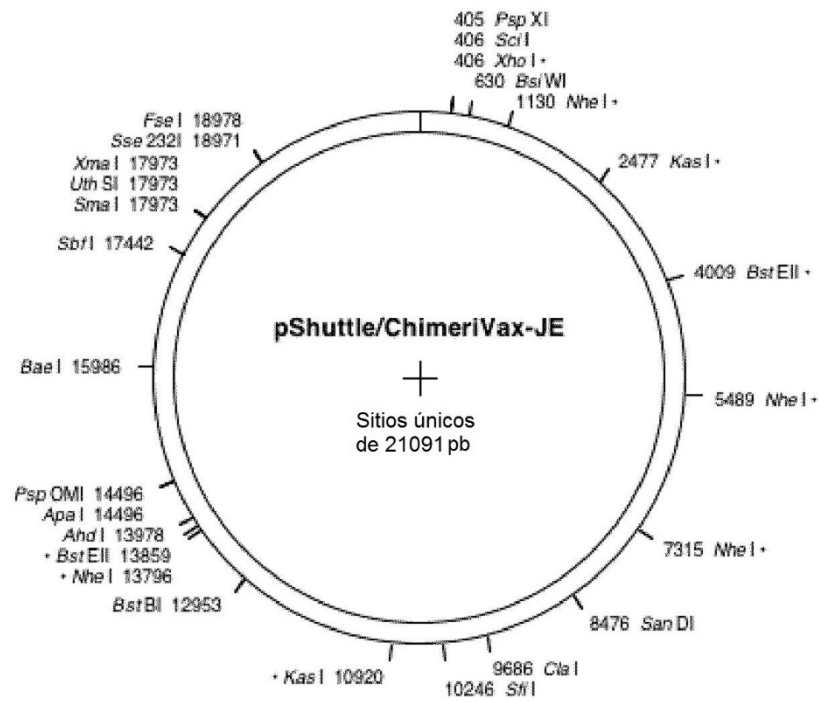


Figura 10

A



B

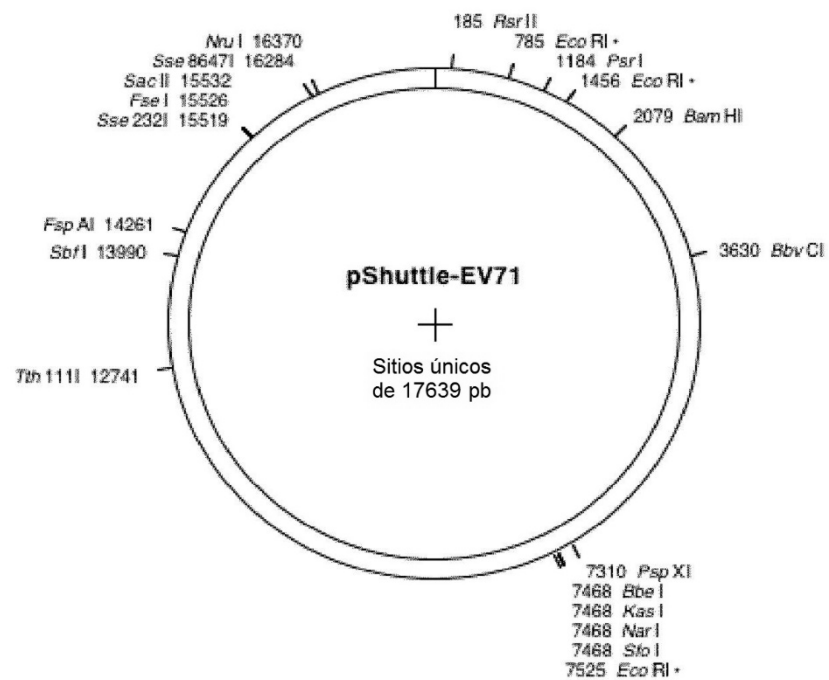


Figura 11

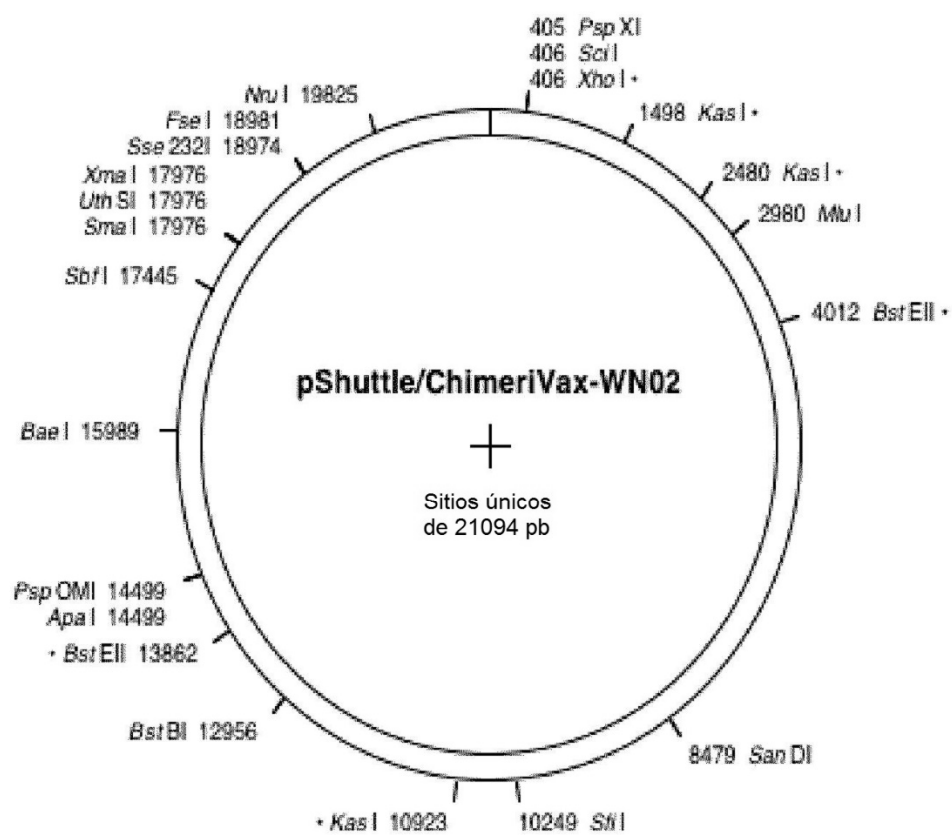


Figura 12

FIGURA 13 : secuencias con SEQ ID NO 1 a 7

SEQ ID NO 1: promotor de SV40 (Ghosh et al.(1981) citado anteriormente)

CCTGTGGAATGTGTGTCAGTTAGGGTGTGGAAAGTCCCCAGGCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAAGCATG
CATCTCAATTAGTCAGCAACCAGGTGTGGAAAGTCCCCAGGCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAAGCATGC
ATCTCAATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCCTAACTCCGCCCATCCCGCCCCCTAACTCCGCCCAGTTCCGC
CCATTCTCCGCCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCCTCGGCC

SEQ ID NO 2: HDV de 85nt (+) ribozima (Chaladavda 2007 citado anteriormente)

TGGCCGGCATGGTCCCAGCCTCCTCGCTGGCGCCGGCTGGGCAACATTCCGAGGGGACCGTCCCCCTCGGTAAAT
GGCGAATGGGAC

SEQ ID NO 3: YFV-17D (Bredenbeek et al.(2003) citado anteriormente)

AGTAAATCCTGTGTGCTAATTGAGGTGCATTGGTCTGCAAATCGAGTTGCTAGGCAATAAACACATTTGGATT
AATTTTAATCGTTCGTTGAGCGATTAGCAGAGAAGTACAGCAACATGTCTGGTTCGTAAAGCTCAGGGAAAAA
CCCTGGGCGTCAATATGGTACGACGAGGAGTTTCGCTCCTTGTCAAACAAAAATAAAACAAAAACAAAAACAAAT
TGGAACAGACCTGGACCTTCAAGAGGTGTTCAAGGATTTATCTTTTTCTTTTGTTCACATTTTGACTGGA
AAAAAGATCACAGCCACCTAAAGAGGTGTGGAAAATGCTGGACCCAAGACAAGGCTTGGCTGTTCTAAGGA
AAGTCAAGAGAGTGGTGGCCAGTTTGATGAGAGGATTGTCTCAAGGAAACGCCGTTCCCATGATGTTCTGAC
TGTGCAATTCTAATTTTGGGAATGCTGTTGATGACGGGTGGAGTGACCTTGGTGCAGAAAAACAGATGGTTG
CTCCTAAATGTGACATCTGAGGACCTCGGGAAAAACATTCTCTGTGGGCACAGGCAACTGCACAACAAACATTT
TGGAAGCCAAGTACTGGTGGCCAGACTCAATGGAATACAACGTGCTCCAATCTCAGTCCAAGAGAGGAGCCAGA
TGACATTGATTGCTGGTGTCTATGGGGTGGAAAACGTTAGAGTGCATATGGTAAGTGTGACTCAGCAGGCAGG
TCTAGGAGGTCAAGAAGGGCCATTGACTTGCCTACGCATGAAAACCATGGTTTGAAGACCCGGCAAGAAAAAT
GGATGACTGGAAGAATGGGTGAAAGGCAACTCCAAAAGATTGAGAGATGGTTTCGTGAGGAACCCCTTTTTTGC
AGTGACGGCTCTGACCATTGCCTACCTTGTGGGAAGCAACATGACGCAACGAGTCGTGATTGCCCTACTGGTC
TTGGCTGTTGGTCCGGCCTACTCAGCTCACTGCATTGGAATTACTGACAGGGATTTTATTGAGGGGGTGCATG
GAGGAACCTTGGGTTTTAGCTACCTTGGAGCAAGACAAGTGTGTCACTGTTATGGCCCCCTGACAAGCCCTTCATT
GGACATCTCACTAGAGACAGTAGCCATTGATAGACCTGCTGAGGTGAGGAAAGTGTGTTACAATGCAGTTCTC
ACTCATGTGAAGATTAATGACAAGTGCCCCAGCACTGGAGAGGCCACCTAGCTGAAGAGAACGAAGGGGACA
ATGCGTGCAAGCGCACTTATTCTGATAGAGGCTGGGGCAATGGCTGTGGCCTATTTGGGAAAGGGAGCATTGT
GGCATGCGCCAAATTCATTGTGCCAAATCCATGAGTTTGTGTTGAGGTTGATCAGACCAAAATTCAGTATGTC
ATCAGAGCACAATTGCATGTAGGGGCCAAGCAGGAAAATTGGAATACCGACATTAAGACTCTCAAGTTTGTATG
CCCTGTGACGGCTCCCAGGAAGTCGAGTTTATTGGGTATGGAAAAGCTACACTGGAATGCCAGGTGCAAACTGC
GGTGGACTTTGGTAACAGTTACATCGCTGAGATGGAAACAGAGAGCTGGATAGTGACAGACAGTGGGCCCAG
GACTTGACCCTGCCATGGCAGAGTGGAAGTGGCGGGGTGTGGAGAGAGATGCATCATCTTGTGCAATTTGAAC
CTCCGCATGCCGCCACTATCAGAGTACTGGCCCTGGGAAACCAGGAAGGCTCCTTGAAAACAGCTCTTACTGG
CGCAATGAGGGTTACAAAGGACACAAATGACAACAACCTTTACAAACTACATGGTGGACATGTTTCTTGCAGA
GTGAAATTGTCAGCTTTGACACTCAAGGGGACATCCTACAAAATATGCACTGACAAAATGTTTTTTGTCAAGA
ACCCAAGTACACTGGCCATGGCACTGTTGTGATGCAGGTGAAAGTGTCAAAAGGAGCCCCCTGCAGGATTCC
AGTGATAGTAGCTGATGATCTTACAGCGGCAATCAATAAAGGCATTTTGGTTACAGTTAACCCCATCGCCTCA
ACCAATGATGATGAAGTGTGATTGAGGTGAACCCACCTTTTGGAGACAGCTACATTATCGTTGGGAGAGGAG
ATTCACGTCTCACTTACCAGTGGCACAAGAGGGGAAGCTCAATAGGAAAGTTGTTCACTCAGACCATGAAAGG

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 3 (CONTINÚA)

CGTGGAAACGCCTGGCCGTCATGGGAGACACCGCCTGGGATTTTCAGCTCCGCTGGAGGGTTCTTCACTTCGGTT
 GGGAAAGGAATTCATACGGTGTGTTGGCTCTGCCTTTTCAGGGGCTATTTGGCGGCTTGAACCTGGATAACAAAGG
 TCATCATGGGGGCGGTACTTATATGGGTTGGCATCAACACAAGAAACATGACAATGTCCATGAGCATGATCTT
 GGTAGGAGTGATCATGATGTTTTTGTCTCTAGGAGTTGGGGCGGATCAAGGATGCGCCATCAACTTTGGCAAG
 AGAGAGCTCAAGTGCGGAGATGGTATCTTCATATTTAGAGACTCTGATGACTGGCTGAACAAGTACTCATACT
 ATCCAGAAGATCCTGTGAAGCTTGCATCAATAGTGAAAGCCTCTTTTGAAGAAGGGAAGTGTGGCCTAAATTC
 AGTTGACTCCCTTGAGCATGAGATGTGGAGAAGCAGGGCAGATGAGATCAATGCCATTTTGGAGAAAACGAG
 GTGGACATTTCTGTTGTCGTGCAGGATCCAAAGAATGTTTACCAGAGAGGAACCTCATCCATTTTCCAGAATTC
 GGGATGGTCTGCAGTATGGTTGGAAGACTTGGGGTAAGAACCTTGTGTTCTCCCCAGGGAGGAAGAATGGAAG
 CTTTCATCATAGATGGAAGTCCAGGAAAGAATGCCCGTTTTTCAAACCGGGTCTGGAATTCTTTCCAGATAGAG
 GAGTTTGGGACGGGAGTGTTCACCACACGCGTGTACATGGACGCGAGTCTTTGAATACACCATAGACTGCGATG
 GATCTATCTTGGGTGCAGCGGTGAACGGAAAAAGAGTGCCCATGGCTCTCCAACATTTTGGATGGGAAGTCA
 TGAAGTAAATGGGACATGGATGATCCACACCTTGGAGGCATTAGATTACAAGGAGTGTGAGTGGCCACTGACA
 CATACGATTGGAACATCAGTTGAAGAGAGTGAAATGTTTCATGCCGAGATCAATCGGAGGCCCCAGTTAGCTCTC
 ACAATCATATCCCTGGATAACAAGTTTCAGACGAACGGACCTTGGATGCAGGTACCACTAGAAGTGAAGAGAGA
 AGCTTGCCCAGGGACTAGCGTGATCATTGATGGCAACTGTGATGGACGGGGAAAAATCAACCAGATCCACCACG
 GATAGCGGGAAAGTTATTCTGAATGGTGTGTCGCTCCTGCACAATGCCGCTGTGAGCTTCCATGGTAGTG
 ATGGGTGTTGGTATCCCATGGAAATTAGGCCAAGGAAAACGCATGAAAGCCATCTGGTGCCTCTCTGGGTTAC
 AGCTGGAGAAATACATGCTGTCCCTTTTGGTTTTGGTGAGCATGATGATAGCAATGGAAGTGGTCCTAAGGAAA
 AGACAGGGACCAAAGCAAATGTTGGTTGGAGGAGTAGTGCTCTTGGGAGCAATGCTGGTTCGGGCAAGTAACTC
 TCCTTGATTTGCTGAAACTCACAGTGGCTGTGGGATTGCATTTCCATGAGATGAACAATGGAGGAGACGCCAT
 GTATATGGCGTTGATTGCTGCCTTTTCAATCAGACCAGGGCTGCTCATCGGCTTTGGGCTCAGGACCCTATGG
 AGCCCTCGGGAACGCCTTGTGCTGACCCTAGGAGCAGCCATGGTGGAGATTGCCTTGGGTGGCGTGATGGGCG
 GCCTGTGGAAGTATCTAAATGCAGTTTTCTCTCTGCATCCTGACAATAAATGCTGTTGCTTCTAGGAAAGCATC
 AAATACCATCTTGGCCCTCATGGCTCTGTTGACACCTGTCACTATGGCTGAGGTGAGACTTGCCGCAATGTTTC
 TTTTGTGCCGTGGTTATCATAGGGGTCCTTCACCAGAATTTCAAGGACACCTCCATGCAGAAGACTATACCTC
 TGGTGGCCCTCACACTCACATCTTACCTGGGCTTGACACAACCTTTTTTGGGCCTGTGTGCATTTCTGGCAAC
 CCGCATATTTGGGCGAAGGAGTATCCCAGTGAATGAGGCACTCGCAGCAGCTGGTCTAGTGGGAGTGTGGCA
 GGACTGGCTTTTTCAGGAGATGGAGAACTTCCTTGGTCCGATTGCAGTTGGAGGACTCCTGATGATGCTGGTTA
 GCGTGGCTGGGAGGGTGGATGGGCTAGAGCTCAAGAAGCTTGGTGAAGTTTTATGGGAAGAGGAGGCGGAGAT
 CAGCGGGAGTTCCGCCCGCTATGATGTGGCACTCAGTGAACAAGGGGAGTTCAAGCTGCTTTCTGAAGAGAAA
 GTGCCATGGGACCAGGTTGTGATGACCTCGCTGGCCTTGGTTGGGGCTGCCCTCCATCCATTTGCTCTTCTGC
 TGGTCTTTGCTGGGTGGCTGTTTCATGTCAGGGGAGCTAGGAGAAGTGGGGATGTCTTGTGGGATATTCCCAC
 TCCTAAGATCATCGAGGAATGTGAACATCTGGAGGATGGGATTTATGGCATATTCCAGTCAACCTTCTTGGGG
 GCCTCCCAGCGAGGAGTGGGAGTGGCACAGGGAGGGGTGTTCCACACAATGTGGCATGTACAAGAGGAGCTT
 TCCTTGTGAGGAATGGCAAGAAGTTGATTCCATCTTGGGCTTCAGTAAAGGAAGACCTTGTGCGCTATGGTGG
 CTCATGGAAGTTGGAAGGCAGATGGGATGGAGAGGAAGAGGTCCAGTTGATCGCGGCTGTTCCAGGAAAGAAC
 GTGGTCAACGTCCAGACAAACCGAGCTTGTTCAAAGTGAGGAATGGGGGAGAAATCGGGGCTGTGCTCTTG
 ACTATCCGAGTGGCACTTCAGGATCTCCTATTGTTAACAGGAACGGAGAGGTGATTGGGCTGTACGGCAATGG
 CATCCTTGTGCGTGACAACCTCCTTCGTGTCCGCCATATCCCAGACTGAGGTGAAGGAAGAAGGAAAGGAGGAG
 CTCCAAGAGATCCCGACAATGCTAAAGAAAGGAATGACAACCTGTCTTGATTTTCATCCTGGAGCTGGGAAGA
 CAAGACGTTTCTCTCCACAGATCTTGGCCGAGTGCGCACGGAGACGCTTGCGCACTCTTGTGTTGGCCCCCAC
 CAGGGTTGTTCTTTCTGAAATGAAGGAGGCTTTTACGGCCTGGACGTGAAATTCCACACACAGGCTTTTTC
 GCTCACGGCAGCGGGAGAGAAGTCATTGATGCCATGTGCCATGCCACCCTAACTTACAGGATGTTGGAACCAA
 CTAGGGTTGTTAACTGGGAAGTGATCATTATGGATGAAGCCATTTTTTGGATCCAGCTAGCATAGCCGCTAG
 AGGTTGGGCAGCGCACAGAGCTAGGGCAAATGAAAGTGCAACAATCTTGATGACAGCCACACCGCCTGGGACT

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 3 (CONTINÚA)

AGTGATGAATTTCCACATTCAAATGGTGAAATAGAAGATGTTCAAACGGACATACCCAGTGAGCCCTGGAACA
CAGGGCATGACTGGATCCTAGCTGACAAAAGGGCCACGGCATGGTTTCCTTCCATCCATCAGAGCTGCAAATGT
CATGGCTGCCTCTTTGCGTAAGGCTGGAAAGAGTGTGGTGGTCCTGAACAGGAAAACCTTTGAGAGAGAATAC
CCCACGATAAAGCAGAAGAAACCTGACTTTATATTGGCCACTGACATAGCTGAAATGGGAGCCAACCTTTGCG
TGGAGCGAGTGCTGGATTGCAGGACGGCTTTTAAGCCTGTGCTTGTGGATGAAGGGAGGAAGGTGGCAATAAA
AGGGCCACTTCGTATCTCCGCATCCTCTGCTGCTCAAAGGAGGGGGCGCATTGGGAGAAATCCCAACAGAGAT
GGAGACTCATACTACTATTCTGAGCCTACAAGTGAAAATAATGCCACCACGTCTGCTGGTTGGAGGCCTCAA
TGCTCTTGGACAACATGGAGGTGAGGGGTGGAATGGTCGCCCCACTCTATGGCGTTGAAGGAACTAAAACACC
AGTTTCCCTGGTGAAATGAGACTGAGGGATGACCAGAGGAAAGTCTTCAGAGAAGTAGTGAGGAATTGTGAC
CTGCCCCGTTTGGCTTTTCGTGGCAAGTGGCCAAGGCTGGTTTGAAGACGAATGATCGTAAGTGGTGTTTTGAAG
GCCCTGAGGAACATGAGATCTTGAATGACAGCGGTGAAACAGTGAAGTGCAGGGCTCCTGGAGGAGCAAAGAA
GCCTCTGCGCCCAAGGTGGTGTGATGAAAGGGTGTCTGACAGAGTGCCTGTCTGAATTTATTAAGTTT
GCTGAAGGTAGGAGGGGAGCTGCTGAAGTGTAGTTGTGCTGAGTGAAGTCCCTGATTTCTGGCTAAAAAAG
GTGGAGAGGCAATGGATACCATCAGTGTGTTCTCCACTCTGAGGAAGGCTCTAGGGCTTACCGCAATGCACT
ATCAATGATGCCTGAGGCAATGACAATAGTCATGCTGTTTATACTGGCTGGACTACTGACATCGGGAATGGTC
ATCTTTTTCATGTCTCCCAAAGGCATCAGTAGAATGTCTATGGCGATGGGCACAATGGCCGGCTGTGGATATC
TCATGTTCCCTGGAGGCGTCAAACCCACTCACATCTCCTATGTCTATGCTCATATTCTTTGTCTGATGGTGGT
TGTGATCCCCGAGCCAGGGCAACAAAGGTCCATCCAAGACAACCAAGTGGCATACTCATTATTGGCATCCTG
ACGCTGGTTTCAGCGGTGGCAGCCAACGAGCTAGGCATGCTGGAGAAAACCAAAGAGGACCTCTTTGGGAAGA
AGAAGTTAATTCATCTAGTGCTTCACCCTGGAGTTGGCCGGATCTTGACCTGAAGCCAGGAGCTGCCTGGAC
AGTGTACGTTGGCATTGTTACAATGCTCTCTCCAATGTTGCACCACTGGATCAAAGTCAATATGGCAACCTG
TCTCTGTCTGGAATAGCCCAGTCAGCCTCAGTCCTTTCTTTTCATGGACAAGGGGATACCATTTCATGAAGATGA
ATATCTCGGTGCATAATGCTGCTGGTTCAGTGGCTGGAATTCATAACAGTGATGCCTCTGCTCTGTGGCATAGG
GTGCGCCATGCTCCACTGGTCTCTCATTTTACCTGGAATCAAAGCGCAGCAGTCAAAGCTTGCACAGAGAAGG
GTGTTCCATGGCGTTGCCGAGAACCCTGTGGTTGATGGGAATCCAACAGTTGACATTGAGGAAGCTCCTGAAA
TGCCTGCCCTTTATGAGAAGAACTGGCTCTATATCTCCTTCTTGTCTCTCAGCCTAGCTTCTGTTGCCATGTG
CAGAACGCCCTTTTCATTGGCTGAAGGCATTGTCTTAGCATCAGCTGCCTTAGGGCCGCTCATAGAGGGAAC
ACCAGCCTTCTTTGGAATGGACCCATGGCTGTCTCCATGACAGGAGTCATGAGGGGGAATCACTATGCTTTTG
TGGGAGTCATGTACAATCTATGGAAGATGAAAACCTGGACGCCGGGGGAGCGCAATGGAAAACTTTGGGTGA
AGTCTGGAAGAGGGAACTGAATCTGTTGGACAAGCGACAGTTTGAAGTTGTATAAAAGGACCGACATTGTGGAG
GTGGATCGTGATACGGCACGCAGGCATTTGGCCGAAGGGAAGGTGGACACCGGGGTGGCGGTCTCCAGGGGGA
CCGCAAAGTTAAGGTGGTTCCATGAGCGTGGCTATGTCAAGCTGGAAGGTAGGGTGATTGACCTGGGGTGTGG
CCGCGGAGGCTGGTGTACTACGCTGCTGCGCAAAAGGAAGTGAAGTGGGGTCAAAGGATTTACTCTTGAAGA
GACGGCCATGAGAAACCCATGAATGTGCAAAGTCTGGGATGGAACATCATCACCTTCAAGGACAAAACCTGATA
TCCACCGCCTAGAACCAGTGAAATGTGACACCCTTTTGTGTGACATTGGAGAGTCATCATCGTCATCGGTAC
AGAGGGGGAAAGGACCGTGAGAGTTCTTGATACTGTAGAAAAATGGCTGGCTTGTGGGGTTGACAACCTCTGT
GTGAAGGTGTTAGCTCCATACATGCCAGATGTTCTTGAGAACTGGAATTGCTCCAAAGGAGGTTTGGCGGAA
CAGTGATCAGGAACCCCTCTCTCCAGGAATTCCACTCATGAAATGTACTACGTGTCTGGAGCCCGCAGCAATGT
CACATTTACTGTGAACCAAACATCCCGCCTCCTGATGAGGAGAATGAGGCGTCCAAGTGGAAAAGTGACCCTG
GAGGCTGACGTATCCTCCCAATTGGGACACGCAGTGTGAGACAGACAAGGACCCCTGGACAAAGAGGCCA
TAGAAGAAAGGGTTGAGAGGATAAAATCTGAGTACATGACCTCTTGGTTTTATGACAATGACAACCCCTACAG
GACCTGGCACTACTGTGGCTCCTATGTCAAAAAACCTCAGGAAGTGCAGGCGAGCATGGTAAATGGTGTATT
AAAATTCTGACATATCCATGGGACAGGATAGAGGAGGTGACAAGAATGGCAATGACTGACACAACCCCTTTTG
GACAGCAAAGAGTGTTTTAAAGAAAAAGTTGACACCAGAGCAAAGGATCCACCAGCGGGAAGTAGGAAGATCAT
GAAAGTTGTCAACAGGTGGCTGTTCCGCCACCTGGCCAGAGAAAAGAACCCAGACTGTGCACAAAGGAAGAA
TTTATTGCAAAAGTCCGAAGTCATGCAGCCATTGGAGCTTACCTGGAAGAACAAGAACAGTGAAGACTGCCA

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 3 (CONTINÚA)

ATGAGGCTGTCCAAGACCCAAAGTTCTGGGAACTGGTGGATGAAGAAAGGAAGCTGCACCAACAAGGCAGGTG
TCGGAATTGTGTGTACAACATGATGGGGAAAAGAGAGAAGAAGCTGTCAGAGTTTGGGAAAGCAAAGGGAAGC
CGTGCCATATGGTATATGTGGCTGGGAGCGCGGTATCTTGAGTTTGAGGCCCTGGGATTCTGAATGAGGACC
ATTGGGCTTCCAGGAAAACTCAGGAGGAGGAGTGAAGGCATTGGCTTACAATACCTAGGATATGTGATCAG
AGACCTGGCTGCAATGGATGGTGGTGGATTCTACGCGGATGACACCGCTGGATGGGACACGCGCATCACAGAG
GCAGACCTTGATGATGAACAGGAGATCTTGAACATGAGCCACATCACAAAAAAGTGGCACAAGCAGTGA
TGAAATGACATACAAGAACAAAGTGGTGAAGTGTGAGACCAGCCCCAGGAGGGAAAGCCTACATGGATGT
CATAAGTCGACGAGACCAGAGAGGATCCGGGCAGGTAGTGACTTATGCTCTGAACACCATCACCAACTTGAAA
GTCCAATTGATCAGAATGGCAGAAGCAGAGATGGTGATACATCACCAACATGTTCAAGATTGTGATGAATCAG
TTCTGACCAGGCTGGAGGCATGGCTCACTGAGCACGGATGTGACAGACTGAAGAGGATGGCGGTGAGTGGAGA
CGACTGTGTGGTCCGGCCCATCGATGACAGGTTCCGGCTGGCCCTGTCCCATCTCAACGCCATGTCCAAGGTT
AGAAAGGACATATCTGAATGGCAGCCATCAAAAGGGTGAATGATTGGGAGAATGTGCCCTTCTGTTCCACC
ACTTCCATGAACTACAGCTGAAGGATGGCAGGAGGATTGTGGTGCCTTGCCGAGAACAGGACGAGCTCATTGG
GAGAGGAAGGGTGTCTCCAGGAAACGGCTGGATGATCAAGGAAACAGCTTGCCCTCAGCAAAGCCTATGCCAAC
ATGTGGTCACTGATGTATTTTCAAAAAGGGACATGAGGCTACTGTGATTGGCTGTTTCTCAGCTGTTCCCA
CCTCATGGGTTCCACAAGGACGCACAACATGGTCGATTTCATGGGAAAGGGGAGTGGATGACCACGGAAGACAT
GCTTGAGGTGTGGAACAGAGTATGGATAACCAACAACCCACACATGCAGGACAAGACAATGGTGAAAAAATGG
AGAGATGTCCCTTATCTAACCAAGAGACAAGACAAGCTGTGCGGATCACTGATTGGAATGACCAATAGGGCCA
CCTGGGCTCCACATCCATTTAGTCATCCATCGTATCCGAACGCTGATTGGACAGGAGAAATACACTGACTA
CCTAACAGTCATGGACAGGTATTCTGTGGATGCTGACCTGCAACTGGGTGAGCTTATCTGAAACACCATCTAA
CAGGAATAACCGGGATACAAACCACGGGTGGAGAACCGGACTCCCCACAACCTGAAACCGGGATATAAACAC
GGCTGGAGAACC GGCTCCGCACTTAAATGAAACAGAAACCGGGATAAAAACTACGGATGGAGAACCGGACT
CCACACATTGAGACAGAAGAAGTTGTCAGCCAGAACCCACACGAGTTTTGCCACTGCTAAGCTGTGAGGCA
GTGCAGGCTGGGACAGCCGACCTCCAGGTTGCGAAAAACCTGGTTTCTGGGACCTCCACCCACAGAGTAAAAA
GAACGGAGCTCCGCTACCACCTCCACGTTGGTGGTAGAAAGACGGGTCTAGAGGTTAGAGGAGACCCTCC
AGGGAACAAATAGTGGGACCATATTGACGCCAGGGAAGACCGGAGTGGTTCTCTGCTTTTCTCCAGAGGTC
TGTGAGCACAGTTTGTCTAAGAATAAGCAGACCTTTGGATGACAAACACAAAACCACT

SEQ ID NO. 4 : pShuttle/YF17D (constructo #1)

AGTAAATCCTGTGTGCTAATTGAGGTGCATTGGTCTGCAATCGAGTTGCTAGGCAATAAACACATTTGGATT
AATTTTAATCGTTTCGTTGAGCGATTAGCAGAGAACTGACCAGAACATGTCTGGTTCGTAAGCTCAGGGAAAAA
CCCTGGGCGTCAATATGGTACGACGAGGAGTTTCGCTCCTTGTCAAACAAAATAAAAAACAAAAACAAAT
TGGAACAGACCTGGACCTTCAAGAGGTGTTCAAGGATTTATCTTTTCTTTTGTTCACATTTTGACTGGA
AAAAAGATCACAGCCACCTAAAGAGGTGTGGAAAATGCTGGACCCAAGACAAGGCTTGGCTGTTCTAAGGA
AAGTCAAGAGAGTGGTGGCCAGTTTGATGAGAGGATTGTCTCAAGGAAACGCCGTTCCTATGATGTTCTGAC
TGTGCAATTCTAATTTTGGGAATGCTGTTGATGACGGGTGGAGTGACCTTGGTGGGAAAAACAGATGGTTG
CTCCTAAATGTGACATCTGAGGACCTCGGGAAAAACATTCTCTGTGGGCACAGGCAACTGCACAACAAACATTT
TGGAAGCCAAGTACTGGTGGCCAGACTCAATGGAATACAACCTGTCCCAATCTCAGTCCAAGAGAGGAGCCAGA
TGACATTGATTGCTGGTGTATGGGGTGGAAAACGTTAGAGTCGCATATGGTAAGTGTGACTCAGCAGGCAGG
TCTAGGAGGTCAAGAAGGGCCATTGACTTGCCTACGCATGAAAACCATGGTTTGAAGACCCGGCAAGAAAAAT
GGATGACTGGAAGAATGGGTGAAAGGCAACTCCAAAAGATTGAGAGATGGTTTCGTGAGGAACCCCTTTTTTGC
AGTGACGGCTCTGACCATTGCCTACCTTGTGGGAAGCAACATGACGCAACGAGTCGTGATTGCCCTACTGGTC
TTGGCTGTTGGTCCGGCCTACTCAGCTCACTGCATTGGAATTACTGACAGGGATTTCATTGAGGGGGTGCATG
GAGGAACCTGGGTTTTCAGCTACCCTGGAGCAAGACAAGTGTGTCACTGTTATGGCCCTGACAAGCCTTCATT
GGACATCTCACTAGAGACAGTAGCCATTGATAGACCTGCTGAGGTGAGGAAAGTGTGTTACAATGCAGTTCTC

FIGURA 13 (CONTINÚA)

ACTCATGTGAAGATTAATGACAAGTGCCCCAGCACTGGAGAGGCCACCTAGCTGAAGAGAACGAAGGGGACA
 ATGCGTGCAAGCGCACTTATTCTGATAGAGGCTGGGGCAATGGCTGTGGCCTATTTGGGAAAGGGAGCATTGT
 GGCATGCGCCAAATTCACCTTGTGCCAAATCCATGAGTTTGTITGAGGTTGATCAGACCAAATTCAGTATGTC
 ATCAGAGCACAATTGCATGTAGGGGCCAAGCAGGAAAATTGGAATACCGACATTAAGACTCTCAAGTTTGTATG
 CCCTGTGAGGCTCCAGGAAGTCGAGTTCATTGGGTATGGAAAAGCTACACTGGAATGCCAGGTGCAAACCTGC
 GGTGGACTTTGGTAACAGTTACATCGCTGAGATGGAAACAGAGAGCTGGATAGTGGACAGACAGTGGGCCCAG
 GACTTGACCCTGCCATGGCAGAGTGGAAAGTGGCGGGGTGTGGAGAGAGATGCATCATCTTGTCTGAATTTGAAC
 CTCCGCATGCCGCCACTATCAGAGTACTGGCCCTGGGAAACCAGGAAGGCTCCTTGAAAACAGCTCTTACTGG
 CGCAATGAGGGTTACAAAGGACACAAATGACAACAACCTTTACAAACTACATGGTGGACATGTTTCTTGCAGA
 GTGAAATTGTGAGCTTTGACACTCAAGGGGACATCCTACAAAATATGCACTGACAAAATGTTTTTGTCAAGA
 ACCCAACTGACACTGGCCATGGCACTGTTGTGATGCAGGTGAAAGTGTCAAAGGAGCCCCCTGCAGGATTCC
 AGTGATAGTAGCTGATGATCTTACAGCGCAATCAATAAAGGCATTTTGGTTACAGTTAACCCCATCGCCTCA
 ACCAATGATGATGAAGTGCTGATTGAGGTGAACCCACCTTTTGGAGACAGCTACATTATCGTTGGGAGAGGAG
 ATTCACGTCTCACTTACCAGTGGCACAAGAGGGAAGCTCAATAGGAAAGTTGTTCACTCAGACCATGAAAGG
 CGTGGAAACGCCTGGCCGTATGGGAGACACCGCCTGGGATTTTCACTCCGCTGGAGGGTTCTTCACTTCGGTT
 GGGAAAGGAATTCATACGGTGTGTTGGCTCTGCCTTTTCAAGGGCTATTTGGCGGCTTGAAGTGGATAACAAAGG
 TCATCATGGGGGCGGTACTTATATGGGTTGGCATCAACACAAGAAACATGACAATGTCCATGAGCATGATCTT
 GGTAGGAGTGATCATGATGTTTTTGTCTCTAGGAGTTGGGGCGGATCAAGGATGCGCCATCAACTTTGGCAAG
 AGAGAGCTCAAGTGCGGAGATGGTATCTTCATATTTAGAGACTCTGATGACTGGCTGAACAAGTACTCATACT
 ATCCAGAAGATCCTGTGAAGCTTGCAATAGTGAAAGCCTCTTTTGAAGAAGGGAAGTGTGGCCTAAATTC
 AGTTGACTCCCTTGAGCATGAGATGTGGAGAAGCAGGGCAGATGAGATCAATGCCATTTTGGAGAAAACGAG
 GTGGACATTTCTGTTGTGCTGCAGGATCCAAAGAATGTTTACCAGAGAGGAACCTATCCATTTTCCAGAATTC
 GGGATGGTCTGCAGTATGGTTGGAAGACTTGGGGTAAGAACCTTGTGTTCTCCCCAGGGAGGAAGAATGGAAG
 CTTTCATCATAGATGGAAAGTCCAGGAAAGAATGCCCGTTTTTCAAACCGGGTCTGGAATTCCTTCCAGATAGAG
 GAGTTTGGGACGGGAGTGTTCACCACACGCGTGTACATGGACGCAGTCTTTGAATACACCATAGACTGCGATG
 GATCTATCTTGGGTGCAGCGGTGAACGGAAAAAGAGTGGCCATGGCTCTCCAACATTTTGGATGGGAAGTCA
 TGAAGTAAATGGGACATGGATGATCCACACCTTGGAGGCATTAGATTACAAGGAGTGTGAGTGGCCACTGACA
 CATACGATTGGAACATCAGTTGAAGAGAGTGAATGTTTCATGCCGAGATCAATCGGAGGCCAGTTAGCTCTC
 ACAATCATATCCCTGGATACAAGGTTTACAGACGAACGGACCTTGGATGCAGGTACCACTAGAAGTGAAGAGAGA
 AGCTTGCCAGGGACTAGCGTGATCAITGATGGCAACTGTGATGGACGGGGAAAATCAACCAGATCCACCACG
 GATAGCGGGAAAGTTATTCCTGAATGGTGTGCGCTCCTGCACAATGCCGCCTGTGAGCTTCCATGGTAGTG
 ATGGGTGTTGGTATCCCATGGAAATTAGGCCAAGGAAAACGCATGAAAGCCATCTGGTGCCTCCTGGGTAC
 AGCTGGAGAAATACATGCTGTCCCTTTTGGTTTGGTGAGCATGATGATAGCAATGGAAGTGGTCCTAAGGAAA
 AGACAGGGACCAAAGCAAATGTTGGTTGGAGGAGTAGTGCTCTTGGGAGCAATGCTGGTCCGGCAAGTAACTC
 TCCTTGATTTGCTGAAACTCACAGTGGCTGTGGGATTGCATTTCCATGAGATGAACAATGGAGGAGACGCCAT
 GTATATGGCGTTGATTGCTGCCTTTTCAATCAGACCAGGGCTGCTCATCGGCTTTGGGCTCAGGACCCTATGG
 AGCCCTCGGGAACGCCTTGTGCTGACCCTAGGAGCAGCCATGGTGGAGATTGCCTTGGGTGGCGTGATGGGCG
 GCCTGTGGAAGTATCTAAATGCAGTTTCTCTGTCATCCTGACAATAAATGCTGTTGCTTCTAGGAAAGCATC
 AAATACCATCTTGGCCCTCATGGCTCTGTTGACACCTGTCACTATGGCTGAGGTGAGACTTGCCGCAATGTTT
 TTTTGTGCCGTGGTTATCATAGGGGTCCTTACCAGAATTTCAAGGACACCTCCATGCAGAAGACTATACCTC
 TGGTGGCCCTCACACTCACATCTTACCTGGGCTTGACACAACCTTTTTTGGGCTGTGTGCATTTCTGGCAAC
 CCGCATATTTGGGCGAAGGAGTATCCAGTGAATGAGGCACTCGCAGCAGCTGGTCTAGTGGGAGTGCTGGCA
 GGAAGTGGCTTTTTCAGGAGATGGAGAACTTCCTTGGTCCGATTGCAGTTGGAGGACTCCTGATGATGCTGGTTA
 GCGTGGCTGGGAGGGTGGATGGGCTAGAGCTCAAGAAGCTTGGTGAAGTTTCATGGGAAGAGGAGGCGGAGAT
 CAGCGGGAGTTCCGCCCCGCTATGATGTGGCACTCAGTGAACAAGGGGAGTTCAAGCTGCTTTCTGAAGAGAAA

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 4 (CONTINÚA)

GTGCCATGGGACCAGGTTGTGATGACCTCGCTGGCCTTGGTTGGGGCTGCCCTCCATCCATTTGCTCTTCTGC
 TGGTCCTTGCTGGGTGGCTGTTTCATGTGAGGGGAGCTAGGAGAAGTGGGGATGTCTTGTGGGATATTCCAC
 TCCTAAGATCATCGAGGAATGTGAACATCTGGAGGATGGGATTTATGGCATATTCCAGTCAACCTTCTTGGGG
 GCCTCCCAGCGAGGAGTGGGAGTGGCACAGGGAGGGGTGTTCCACACAATGTGGCATGTGACAAGAGGAGCTT
 TCCTTGTGAGGAATGGCAAGAAGTTGATTCCATCTTGGGCTTCAGTAAAGGAAGACCTTGTGCGCTATGGTGG
 CTCATGGAAGTTGGAAGGCAGATGGGATGGAGAGGAAGAGGTCCAGTTGATCGCGGCTGTTCCAGGAAAGAAC
 GTGGTCAACGTCCAGACAAAACCGAGCTTGTTCAAAGTGAGGAATGGGGGAGAAATCGGGGCTGTGCTCTTG
 ACTATCCGAGTGGCACTTCAGGATCTCCTATTGTTAACAGGAACGGAGAGGTGATTGGGCTGTACGGCAATGG
 CATCCTTGTCGGTGACAACCTCCTTCGTGTCCGCCATATCCAGACTGAGGTGAAGGAAGAAGGAAAGGAGGAG
 CTCCAAGAGATCCCAGACAATGCTAAAGAAAGGAATGACAACCTGTCTTGATTTTTCATCCTGGAGCTGGGAAGA
 CAAGACGTTTTCTCCCACAGATCTTGGCCGAGTGCACAGGAGACGCTTGCACACTCTTGTGTTGGCCCCCAC
 CAGGGTTGTTCTTTCTGAAATGAAGGAGGCTTTTTACGGCCTGGACGTGAAATTCACACACAGGCTTTTTTCC
 GCTCACGGCAGCGGGAGAGAAGTCATTGATGCCATGTGCCATGCCACCCTAACTTACAGGATGTTGGAACCAA
 CTAGGGTTGTTAACTGGGAAGTGATCATTATGGATGAAGCCCATTTTTTGGATCCAGCTAGCATAGCCGCTAG
 AGGTTGGGCAGCGCACAGAGCTAGGGCAAATGAAAGTGCAACAATCTTGATGACAGCCACACCGCCTGGGACT
 AGTGATGAATTTCCACATTCAAATGGTGAAATAGAAGATGTTCAAACGGACATACCCAGTGAGCCCTGGAACA
 CAGGGCATGACTGGATCCTAGCTGACAAAAGGCCACGGCATGGTTCTTCCATCCATCAGAGCTGCAAATGT
 CATGGCTGCCTCTTTGCGTAAGGCTGGAAAGAGTGTTGGTGGTCTGAACAGGAAAACCTTTGAGAGAGAATAC
 CCCACGATAAAGCAGAAGAAACCTGACTTTATATTGGCCACTGACATAGCTGAAATGGGAGCCAACCTTTGCG
 TGGAGCGAGTGCTGGATTGCAGGACGGCTTTTAAAGCCTGTGCTTGTGGATGAAGGGAGGAAGGTGGCAATAAA
 AGGGCCACTTCGTATCTCCGCATCCTCTGCTGCTCAAAGGAGGGGGCGCATTGGGAGAAATCCCAACAGAGAT
 GGAGACTCATACTACTATTCTGAGCCTACAAGTGAAAATAATGCCACCACGTCTGCTGGTTGGAGGCCTCAA
 TGCTCTTGGACAACATGGAGGTGAGGGGTGGAATGGTCGCCCCACTCTATGGCGTTGAAGGAATAAAACACC
 AGTTTTCCCTGGTGAAATGAGACTGAGGGATGACCAGAGGAAAGTCTTCAGAGAACTAGTGAGGAATTGTGAC
 CTGCCCCGTTTGGCTTTTCGTGGCAAGTGGCCAAGGCTGGTTTGAAGACGAATGATCGTAAGTGGTGTGTTGAAG
 GCCCTGAGGAACATGAGATCTTGAATGACAGCGGTGAAACAGTGAAGTGCAGGGCTCCTGGAGGAGCAAAGAA
 GCCTCTGCGCCCAAGGTGGTGTGATGAAAGGGTGTCTGCTGACCAGAGTGCCTGTCTGAATTTATTAAGTTT
 GCTGAAGGTAGGAGGGGAGCTGCTGAAGTGCTAGTTGTGCTGAGTGAACCTCCTGATTTCTGGCTAAAAAAG
 GTGGAGAGGCAATGGATACCATCAGTGTGTTTCTTCCACTCTGAGGAAGGCTCTAGGGCTTACCGCAATGCACT
 ATCAATGATGCCTGAGGCAATGACAATAGTCATGCTGTTTATACTGGCTGGACTACTGACATCGGGAATGGTC
 ATCTTTTTTCATGTCTCCCAAAGGCATCAGTAGAATGTCTATGGCGATGGGCACAATGGCCGGCTGTGGATATC
 TCATGTTTCTTGGAGGCGTCAAACCCACTCACATCTCCTATGTGCTGCTCATATTCTTTGTCTGATGGTGGT
 TGTGATCCCCGAGCCAGGGCAACAAAGGTCCATCCAAGACAACCAAGTGGCATACTCATTATTGGCATCCTG
 ACGCTGGTTTCAGCGGTGGCAGCCAACGAGCTAGGCATGCTGGAGAAAACCAAAGAGGACCTCTTTGGGAAGA
 AGAACTTAATTCCATCTAGTGCTTCACCCTGGAGTTGGCCGGATCTTGACCTGAAGCCAGGAGCTGCCTGGAC
 AGTGACGTTGGCATTGTTACAATGCTCTCTCCAATGTTGCACCACTGGATCAAAGTGAATATGGCAACCTG
 TCTCTGTCTGGAATAGCCAGTCAGCCTCAGTCCTTTCTTTTCATGGACAAGGGGATACCATTCATGAAGATGA
 ATATCTCGGTCAATAATGCTGCTGGTCAGTGGCTGGAATTCAATAACAGTGATGCCTCTGCTCTGTGGCATAGG
 GTGCGCCATGCTCCACTGGTCTCTCATTTTTACCTGGAATCAAAGCGCAGCAGTCAAAGCTTGACAGAGAAGG
 GTGTTCCATGGCGTTGCCGAGAACCCTGTGGTTGATGGGAATCCAACAGTTGACATTGAGGAAGCTCCTGAAA
 TGCCTGCCCTTTATGAGAAGAACTGGCTCTATATCTCCTTCTTGTCTCAGCCTAGCTTCTGTTGCCATGTG
 CAGAACGCCCTTTTCATTGGCTGAAGGCATTGTCCTAGCATCAGCTGCCTTAGGGCCGCTCATAGAGGGAAAC
 ACCAGCCTTCTTTGGAATGGACCCATGGCTGTCTCCATGACAGGAGTCATGAGGGGGAATCACTATGCTTTTG
 TGGGAGTCATGTACAATCTATGGAAGATGAAAACCTGGACGCCGGGGGAGCGGAATGGAACAACTTTGGGTGA
 AGTCTGGAAGAGGGAACTGAATCTGTTGGACAAGCGACAGTTTGAGTTGTATAAAAGGACCGACATTGTGGAG
 GTGGATCGTGATACGGCACGCAGGCATTTGGCCGAAGGGAAGGTGGACACCGGGGTGGCGGTCTCCAGGGGGA

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 4 (CONTINÚA)

CCGCAAAGTTAAGGTGGTTCCATGAGCGTGGCTATGTCAAGCTGGAAGGTAGGGTGATTGACCTGGGGTGTGG
 CCGCGGAGGCTGGTGTACTACGCTGCTGCGCAAAAGGAAGTGAGTGGGGTCAAAGGATTTACTCTTGGAAGA
 GACGGCCATGAGAAACCCATGAATGTGCAAAGTCTGGGATGGAACATCATCACCTTCAAGGACAAAAGTATA
 TCCACCGCCTAGAACAGTGAAATGTGACACCCCTTTTGTGTGACATTGGAGAGTCATCATCGTCATCGGTAC
 AGAGGGGGAAAGGACCGTGAGAGTCTTGATACTGTAGAAAAATGGCTGGCTGTGGGGTTGACAACCTTCTGT
 GTGAAGGTGTTAGCTCCATACATGCCAGATGTTCTTGAGAACTGGAATTGCTCCAAAGGAGGTTTGGCGGAA
 CAGTGATCAGGAACCCCTCTCTCCAGGAATTCCACTCATGAAATGTACTACGTGTCTGGAGCCCGCAGCAATGT
 CACATTTACTGTGAACCAACATCCCGCCTCCTGATGAGGAGAATGAGGCGTCCAAGTGGAAAAGTGACCCTG
 GAGGCTGACGTATCTCTCCCAATTGGGACACGCAGTGTTGAGACAGACAAGGGACCCCTGGACAAAGAGGCCA
 TAGAAGAAAGGGTTGAGAGGATAAAATCTGAGTACATGACCTCTTGGTTTTATGACAATGACAACCCCTACAG
 GACCTGGCACTACTGTGGCTCCTATGTCAAAAAACCTCAGGAAGTGCGGCGAGCATGGTAAATGGTGTATT
 AAAATTCTGACATATCCATGGGACAGGATAGAGGAGGTGACAAGAATGGCAATGACTGACACAACCCCTTTTG
 GACAGCAAAGAGTGTAAAGAAAAAGTTGACACCAGAGCAAAGGATCCACGAGCGGGAAGTGGAAAGATCAT
 GAAAGTTGTCAACAGGTGGCTGTTCGCCACCTGGCCAGAGAAAAGAACCCAGACTGTGCACAAAGGAAGAA
 TTTATTGCAAAGTCCGAAGTCATGCAGCCATTGGAGCTTACCTGGAAGAACAGAAGTGGAAAGTGGCA
 ATGAGGCTGTCCAAGACCCAAAGTTCTGGGAAGTGGTGGATGAAGAAAGGAAGCTGCACCAACAAGGCAGGTG
 TCGGACTTGTGTGTACAACATGATGGGGAAAAGAGAGAAGAAGCTGTCAGAGTTTGGGAAAGCAAAGGGAAGC
 CGTGCCATATGGTATATGTGGCTGGGAGCGCGGTATCTTGAGTTTGGAGCCCTGGGATTCTGAATGAGGACC
 ATTGGGCTTCCAGGGAAAAGTCAAGGAGGAGTGGAAAGGCATTGGCTTACAATACCTAGGATATGTGATCAG
 AGACCTGGCTGCAATGGATGGTGGTGGATTCTACGCGGATGACACCGCTGGATGGGACACGCGCATCACAGAG
 GCAGACCTTGATGATGAACAGGAGATCTTGAAGTACATGAGCCACATCACAAAAAAGTGGCACAAGCAGTGA
 TGGAAATGACATACAAGAACAAGTGGTGAAAGTGTGAGACCAGCCCCAGGAGGGAAAGCCTACATGGATGT
 CATAAGTCGACGAGACCAGAGAGGATCCGGGCAGGTAGTGACTTATGCTCTGAACACCATCACCAACTTGAAA
 GTCCAATTGATCAGAATGGCAGAAGCAGAGATGGTGATACATCACCAACATGTTCAAGATTGTGATGAATCAG
 TTCTGACCAGGCTGGAGGCATGGCTCACTGAGCACGGATGTGACAGACTGAAGAGGATGGCGGTGAGTGGAGA
 CGACTGTGTGGTCCGGCCATCGATGACAGGTTCCGGCTGGCCCTGTCCCATCTCAACGCCATGTCCAAGGTT
 AGAAAGGACATATCTGAATGGCAGCCATCAAAAGGGTGGAAATGATTGGGAGAATGTGCCCTTCTGTTCCCACC
 ACTTCCATGAAGTACAGCTGAAGGATGGCAGGAGGATTGTGGTGCCTTGGCGAGAACAGGACGAGCTCATTGG
 GAGAGGAAGGGTGTCTCCAGGAAACGGCTGGATGATCAAGGAAACAGCTTGCCCTCAGCAAAGCCTATGCCAAC
 ATGTGGTCACTGATGTATTTTCAAAAAAGGGACATGAGGCTACTGTATTGGCTGTTTCTCAGCTGTTCCCA
 CCTCATGGGTTCCACAAGGACGCACAACATGGTTCGATTTCATGGGAAAGGGGAGTGGATGACCACGGAAGACAT
 GCTTGAGGTGTGGAACAGAGTATGGATAACCAACAACCCACACATGCAGGACAAGACAATGGTGAAAAATGG
 AGAGATGTCCCTTATCTAACCAAGAGACAAGACAAGCTGTGCGGATCACTGATTGGAATGACCAATAGGGCCA
 CCTGGGCCTCCACATCCATTAGTCATCCATCGTATCCGAACGCTGATTGGACAGGAGAAATACACTGACTA
 CCTAACAGTCATGGACAGGTATTCTGTGGATGCTGACCTGCAACTGGGTGAGCTTATCTGAAACACCATCTAA
 CAGGAATAACCGGGATACAAACCACGGGTGGAGAACCGGACTCCCCACAACCTGAAACCGGGATATAAACAC
 GGCTGGAGAACCGGGCTCCGCACTTAAAAAGAAACAGAAACCGGGATAAAAACTACGGATGGAGAACCGGACT
 CCACACATTGAGACAGAAGAAGTTGTCAGCCAGAACCCACACGAGTTTTGCCACTGCTAAGCTGTGAGGCA
 GTGCAGGCTGGGACAGCCGACCTCCAGGTTGCGAAAAACCTGGTTTCTGGGACCTCCACCCAGAGTAAAAA
 GAACGGAGCCTCCGCTACCAACCTCCACGTTGGTGGTAGAAAGACGGGGTCTAGAGGTTAGAGGAGACCTCC
 AGGGAACAAATAGTGGGACCATATTGACGCCAGGGAAGACCGGAGTGGTTCTCTGCTTTTCTCCAGAGGTC
 TGTGAGCACAGTTTGTCTAAGAATAAGCAGACCTTTGGATGACAAACACAAAACCACTGGCCGGCATGGTCCC
 AGCCTCCTCGCTGGCGCCGGCTGGGCAACATTCCGAGGGGACCGTCCCTCGGTAATGGCGAATGGGACGAAT
 TCTGAACAGTCCTAAACAGTAAATAGGACCGGCAATTCTTCAAGCAATAAACAGGAATACCAATTATTAA
 AAGATAACTTAGTCAGATCGTACAATAAAGCTTTGAAGAAAAATGCGCCTTATTCAATCTTTGCTATAAAAAA
 TGGCCCAAAATCTCACATTGGAAGACATTTGATGACCTCATTTCTTTCAATGAAGGGCCTAACGGAGTTGACT

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 4 (CONTINÚA)

AATGTTGTGGGAAATTGGAGCGATAAGCGTGCTTCTGCCGTGGCCAGGACAACGTATACTCATCAGATAACAG
 CAATACCTGATCACTACTTTCGCACTAGTTTCTCGGTACTATGCATATGATCCAATATCAAAGGAAATGATAGC
 ATTGAAGGATGAGACTAATCCAATTGAGGAGTGGCAGCATATAGAACAGCTAAAGGGTAGTGCTGAAGGAAGC
 ATACGATACCCCGCATGGAATGGGATAATATCACAGGAGGTACTAGACTACCTTTTCATCCTACATAAATAGAC
 GCATATAAGTACGCATTTAAGCATAAACACGCACTATGCCGTTCTTCTCATGTATATATATATACAGGCAACA
 CGCAGATATAGGTGCGACGTGAACAGTGAGCTGTATGTGCGCAGCTCGCGTTGCATTTTCGGAAGCGCTCGTT
 TTCGGAACGCTTTGAAGTTCCTATTCCGAAGTTCCTATTCTCTAGAAAGTATAGGAACCTTCAGAGCGCTTTT
 GAAAACCAAAGCGCTCTGAAGACGCACTTTCAAAAAACCAAACCGCACCAGGACTGTAACGAGCTACTAAAA
 TATTGCGAATACCGCTTCCACAAACATTGCTCAAAAAGTATCTCTTTGCTATATATCTCTGTGCTATATCCCTA
 TATAACCTACCCATCCACCTTTTCGCTCCTTGAACCTGCATCTAACTCGACCTCTACATTTTTTATGTTTATC
 TCTAGTATTACTCTTTAGACAAAAAATTGTAGTAAGAACTATTCTATAGAGTGAATCGAAAAACAATACGAAAA
 TGTAACATTTTCTATACGTAGTATATAGAGACAAAAATAGAAGAAACCGTTCATAATTTTCTGACCAATGAAG
 AATCATCAACGCTATCACTTTCTGTTTCAAAAGTATGCGCAATCCACATCGGTATAGAATATAATCGGGGATG
 CCTTTATCTTGAAAAAATGCACCCGCGAGCTTCGCTAGTAATCAGTAAACGCGGGAAGTGGAGTCAGGCTTTTT
 TTATGGAAGAGAAAAATAGACACCAAAGTAGCCTTCTTCTAACCTTAACGGACCTACAGTGCAAAAAGTTATCA
 AGAGACTGCATTATAGAGCGCACAAAGGAGAAAAAAGTAATCTAAGATGCTTTGTTAGAAAAATAGCGCTCT
 CGGGATGCATTTTTGTAGAACAAAAAGAAGTATAGATTCTTTGTTGGTAAAATAGCGCTCTCGCGTTGCATT
 TCTGTTCTGTAAAAATGCAGCTCAGATTCTTTGTTTGA AAAAATTAGCGCTCTCGCGTTGCATTTTTGTTTTAC
 AAAAATGAAGCACAGATTCTTCGTTGGTAAAAATAGCGCTTTTCGCGTTGCATTTCTGTTCTGTAAAAATGCAGC
 TCAGATTCTTTGTTTGA AAAAATTAGCGCTCTCGCGTTGCATTTTTGTTCTACAAAATGAAGCACAGATGCTTC
 GTTAACAAAGATATGCTATTGAAGTGCAAGATGGAAACGCAGAAAAATGAACCGGGGATGCGACGTGCAAGATT
 ACCTATGCAATAGATGCAATAGTTTCTCCAGGAACCGAAATACATACATTGTCTTCCGTAAAGCGCTAGACTA
 TATATTATTATACAGGTTCAAATATACTATCTGTTTCAGGGAAAACTCCCAGGTTCCGATGTTCAAATTTCAA
 TGATGGGTAACAAGTACGATCGTAAATCTGTAAAAACAGTTTGTGCGATATTAGGCTGTATCTCCTCAAAGCGT
 ATTCGAATATCATTGAGAAGCTGCAGGCAAGTGCACAAACAATACTTAAATAAATACTACTCAGTAATAACCT
 ATTTCTTAGCATTTTTTGACGAAATTTGCTATTTTTGTTAGAGTCTTTTACACCATTTGTCTCCACACCTCCGCT
 TACATCAACACCAATAACGCCATTTAATCTAAGCGCATCACCAACATTTTCTGGCGTCAGTCCACCAGCTAAC
 ATAAATGTAAGCTTTTCGGGGCTCTCTTGCCCTTCCAACCCAGTCAGAAATCGAGTTCCAATCCAAAAGTTTAC
 CTGTCCACCTGCTTCTGAATCAAACAAGGGAATAAACGAATGAGGTTTCTGTGAAGCTGCACTGAGTAGTAT
 GTTGCACTTTTTTGAAATACGAGTCTTTTAATAACTGGCAAACCGAGGAACCTCTGGTATTCTTGCCACGAC
 TCATCTCCATGCAGTTGGACGATATCAATGCCGTAATCATTGACCAGAGCCAAAACATCCTCCTTAGGTTGAT
 TACGAAACACGCCAACCAAGTATTTCCGAGTGCCTGAACATTTTTATATGCTTTTACAAGACTTGAAATTTT
 CCTTGCAATAACCGGGTCAATTGTTCTCTTTCTATTGGGCACACATATAATACCAGCAAGTCAGCATCGGAA
 TCTAGAGCACATTCTGCGGCCTCTGTGCTCTGCAAGCCGCAAACTTTCACCAATGGACCAGAACTACCTGTGA
 AATTAATAACAGACATACTCCAAGCTGCCTTTGTGTGCTTAATCACGTATACTCACGTGCTCAATAGTCACCA
 ATGCCCTCCCTCTTGGCCCTCCTCCTTTTTCTTTTTTCGACCGCTAGCGTCGACAGCGACACACTTGCATCGGA
 TGCAGCCCGGTTAACGTGCCGGCACGGCCTGGGTAACCAAGGTATTTTGTCCACATAACCGTGCGCAAAATGTT
 GTGGATAAGCAGGACACAGCAGCAATCCACAGCAGGCATACAACCGCACACCGAGGTTACTCCGTTCTACAGG
 TTACGACGACATGTCAATACTTGCCCTTGACAGGCATTGATGGAATCGTAGTCTCACGCTGATAGTCTGATCG
 ACAATACAAGTGGGACCGTGGTCCAGACCGATAATCAGACCGACAACACGAGTGGGATCGTGGTCCAGACT
 AATAATCAGACCGACGATACGAGTGGGACCGTGGTCCAGACTAATAATCAGACCGACGATACGAGTGGGACC
 GTGGTTCCAGACTAATAATCAGACCGACGATACGAGTGGGACCGTGGTCCAGACTAATAATCAGACCGACGA
 TACGAGTGGGACCATGGTCCAGACTAATAATCAGACCGACGATACGAGTGGGACCGTGGTCCAGTCTGATT
 ATCAGACCGACGATACGAGTGGGACCGTGGTCCAGACTAATAATCAGACCGACGATACGAGTGGGACCGTGG
 TCCAGACTAATAATCAGACCGACGATACGAGTGGGACCGTGGTCCAGTCTGATTATCAGACCGACGATACA
 AGTGAACAGTGGGCCCAGAGAGAATATTCAGGCCAGTTATGCTTTCTGGCCTGTAACAAAGGACATTAAGTA

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 4 (CONTINÚA)

AAGACAGATAAACGTAGACTAAAACGTGGTCGCATCAGGGTGCTGGCTTTTCAAGTTCCTTAAGAATGGCCTC
 AATTTTCTCTATACACTCAGTTGGAACACGGGACCTGTCCAGGTTAAGCACCATTTTATCGCCCTTATACAAT
 ACTGTCGCTCCAGGAGCAAACCTGATGTCGTGAGCTTAACTAGTTCTTGATGCAGATGACGTTTTAAGCACAG
 AAGTTAAAAAGAGTGATAACTTCTTCAGCTTCAAATATCACCCAGCTTTTTTCTGCTCATGAAGGTTAGATGC
 CTGCTGCTTAAAGTAATTCCCTCTTTATCTGTAAAGGCTTTTTGAAGTGCATCACCTGACCGGGCAGATAGTTCA
 CCGGGTGAGAAAAAAGAGCAACAACCTGATTTAGGCAATTTGGCGGTGTTGATACAGCGGGTAATAATCTTAC
 GTGAAATATTTTCCGCATCAGCCAGCGCAGAAATATTTCCAGCAAATTCATTCTGCAATCGGCTTGCATAACG
 CTGACCACGTTTATAAGCACTTGTTGGGCGATAATCGTTACCCAATCTGGATAATGCAGCCATCTGCTCATCA
 TCCAGCTCGCCAACCAGAACACGATAATCACTTTCCGTAAGTGCAGCAGCTTTACGACGGCGACTCCCATCGG
 CAATTTCTATGACACCAGATACTCTTCGACCGAACGCCGGTGTCTGTTGACCAGTCAGTAGAAAAGAAGGGAT
 GAGATCATCCAGTGCCTCAGTAAGCAGCTCCTGGTCACGTTTATTACCTGACCATACCCGAGAGGTCTTC
 TCAACACTATCACCCCGGAGCACTTCAAGAGTAACTTCACATCCCGACCACATACAGGCAAAGTAATGGCAT
 TACCGCGAGCCATTACTCCTACGCGCGCAATTAACGAATCCACCATCGGGGCAGCTGGTGTGATAACGAAGT
 ATCTTCAACCGGTTGAGTATTGAGCGTATGTTTTGGAATAACAGGCGCACGTTTATTATCTAATCTCCCAGC
 GTGGTTAATCAGACGATCGAAAATTTCAATGCAGACAGGTTCCCAAATAGAAAGAGCATTCTCCAGGCACC
 AGTTGAAGAGCGTTGATCAATGGCCTGTTCAAAAACAGTTCTCATCCGGATCTGACCTTTACCAACTTCATCC
 GTTTACAGTACAACATTTTTTAGAACCATGCTTCCCCAGGCATCCCGAATTTGCTCCTCCATCCACGGGGACT
 GAGAGCCATTACTATTGCTGTATTTGGTAAGCAAATACGTACATCAGGCTCGAACCTTTAAGATCAACGTT
 CTTGAGCAGATCACGAAGCATATCGAAAACTGCAGTGGGAGGTGTAGTCAAACAACCTCAGCAGGCGTGGGA
 ACAATCAGCACATCAGCAGCACATACGACATTAATCGTGCCGATACCCAGGTTAGGCGCGCTGTCAATAACTA
 TGACATCATAGTCATGAGCAACAGTTTCAATGGCCAGTCGGAGCATCAGGTGTGGATCGGTGGGCAGTTTACC
 TTCATCAAATTTGCCCATTAACTCAGTTTCAATACGGTGCAGAGCCAGACAGGAAGGAATAATGTCAAGCCCC
 GGCCAGCAAGTGGGCTTTATTGCATAAGTGACATCGTCTTTTCCCAAGATAGAAAGGCAGGAGAGTGTCTT
 CTGCATGAATATGAAGATCTGGTACCCATCCGTGATACATTGAGGCTGTTCCCTGGGGGTGCTTACCTTCCAC
 GAGCAAAACACGTAGCCCCCTTCAGAGCCAGATCCTGAGCAAGATGAACAGAACTGAGGTTTTGTAAACGCCA
 CCTTTATGGGCAGCAACCCCGATCACCGGTGGAAATACGTCTTCAGCACGTGCAATCGCGTACCAAACACAT
 CACGCATATGATTAATTTGTTCAATTGTATAACCAACACGTTGCTCAACCCGTCTCGAATTTCCATATCCGG
 GTGCGGTAGTCGCCCTGCTTTCTCGGCATCTCTGATAGCCTGAGAAGAAACCCCAACTAAATCCGCTGCTTCA
 CCTATTCTCCAGCGCCGGGTATTTTCTCGCTTCCGGGCTGTCTATTAACTGTGCAATGGCGATAGCCT
 TCGTCATTTTCATGACCAGCGTTTATGCACTGGTTAAGTGTCTTCATGAGTTTCTTCTGAACATCCTTTAATC
 ATTGCTTTGCGTTTTTTTTATTAAATCTTGCAATTTACTGCAAAGCAACAACAAAATCGCAAAGTCATCAAAA
 ACCGCAAAGTTGTTTAAATAAGAGCAACACTACAAAAGGAGATAAGAAGAGCACATACCTCAGTCACCTATT
 ATCACTAGCGCTCGCCGAGCCGTGTAACCGAGCATAGCGAGCGAACTGGCGAGGAAGCAAAGAAGAACTGTT
 CTGTCAGATAGCTCTTACGCTCAGCGCAAGAAGAAATATCCACCGTGGGAAAAACTCCAGGTAGAGGTACACA
 CGCGGATAGCCAATTCAGAGTAATAAACTGTGATAATCAACCCTCATCAATGATGACGAACCTAACCCCGATA
 TCAGGTCACATGACGAAGGGAAGAGAAGGAAATCAACTGTGACAAACTGCCCTCAAATTTGGCTTCCTTAAA
 AATTACAGTTCAAAAAGTATGAGAAAATCCATGCAGGCTGAAGGAAACAGCAAACTGTGACAAATTACCCTC
 AGTAGGTCAGAACAAATGTGACGAACCAACCTCAAATCTGTGACAGATAACCTCAGACTATCCTGTCGTCAT
 GGAAGTGATATCGCGGAAGGAAAATACGATATGAGTCGTCTGGCGGCCTTTCTTTTTCTCAATGTATGAGAGG
 CGCATTGGAGTTCTGCTGTTGATCTCATTAAACACAGACCTGCAGGAAGCGGCGGCGGAAGTCAGGCATACGCT
 GGTAACCTTTGAGGCAGCTGGTAACGCTCTATGATCCAGTCGATTTTTCAGAGAGACGATGCCTGAGCCATCCGG
 CTTACGATACTGACACAGGGATTCTGTATAAACGCATGGCATAACGATTGGTGATTTCTTTTGTTCCTAAGC
 CGAAACTGCGTAAACCGGTTCTGTAACCCGATAAAGAAGGGAATGAGATATGGGTTGATATGTACACTGTAAA
 GCCCTCTGGATGGACTGTGCGCACGTTTGATAAACCAAGGAAAAGATTATAGCCTTTTTTCATCGCCGGCATC
 CTCTTCAGGGCGATAAAAAACCACTTCCTTCCCCGCGAACTCTTCAATGCCTGCCGTATATCCTTACTGGCT

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 4 (CONTINÚA)

TCCGCAGAGGTCAATCCGAATATTTTCAGCATATTTAGCAACATGGATCTCGCAGATACCGTCATGTTCTGTGTA
 GGGTGCCATCAGATTTTCTGATCTGGTCAACGAACAGATACAGCATACGTTTTTGTATCCCGGGAGAGACTATA
 TGCCGCCTCAGTGAGGTGCTTTGACTGGACGATTGCGGGGCTATTTTTACGTTTTCTTGTGATTGATAACCGCT
 GTTTCCGCCATGACAGATCCATGTGAAGTGTGACAAAGTTTTTAGATTGTCACACTAAATAAAAAAGAGTCAAT
 AAGCAGGGATAACTTTGTGAAAAACAGCTTCTTCTGAGGGCAATTTGTACAGGGTTAAGGGCAATTTGTCA
 CAGACAGGACTGTCAATTTGAGGGTGATTTGTACACTGAAAGGGCAATTTGTACACACCTTCTCTAGAACC
 AGCATGGATAAAGGCCTACAAGGCGCTCTAAAAAAGAAGATCTAAAACTATAAAAAAATAATTATAAAAAAT
 ATCCCCGTGGATAAGTGGATAACCCCAAGGGAAGTTTTTTCAGGCATCGTGTGTAAGCAGAATATATAAGTGC
 TGTTCCCTGGTGCTTCCTCGCTCACTCGACCGGGAGGGTTCGAGAAGGGGGGGCACCCCCCTTCGGCGTGCGC
 GGTCACGCGCACAGGGCGCAGCCCTGGTTAAAAACAAGGTTTATAAATATTGGTTTAAAAGCAGGTTAAAAGA
 CAGGTTAGCGGTGGCCGAAAAACGGGCGGAAACCCTTGCAAATGCTGGATTTTCTGCCTGTGGACAGCCCCCTC
 AAATGTCAATAGGTGCGCCCCCTCATCTGTACGACTCTGCCCCCTCAAGTGTCAAGGATCGCGCCCCCTCATCTG
 TCAGTAGTCGCGCCCCCTCAAGTGTCAATACCGCAGGGCACTTATCCCCAGGCTTGTCCACATCATCTGTGGGA
 AACTCGCGTAAATCAGGCGTTTTTCGCCGATTTCGAGGGCTGGCCAGCTCCACGTCGCCGGCCGAAATCGAGC
 CTGCCCCCTCATCTGTCAACGCCGCGCCGGGTGAGTCGGCCCCCTCAAGTGTCAACGTCGCCCCCTCATCTGTCA
 GTGAGGGCCAAGTTTTTCCGCGAGGTATCCACAACGCCGGCGGCCGCGGTGTCTCGCACACGGCTTCGAC
 GCGTTTTCTGGCGCGTTTTGCAGGGCCATAGACGGCCGCGCCAGCCAGCGGCGAGGGCAACCAGCCGAGGGCTTC
 GCCCTGTGCTCGACTGCGGCGAGCACTACTGGCTGTAAAAGGACAGACCACATCATGGTTCTGTGTTTATTA
 GGTGTTTCTGTCCATTGCTGACATAATCCGCTCCACTTCAACGTAACACCGCACGAAGATTTCTATTGTTTCT
 GAAGGCATATTCAAATCGTTTTTCGTTACCGCTTGCAGGCATCATGACAGAACACTACTTCTATAAACGCTAC
 ACAGGCTCCTGAGATTAATAATGCGGATCTCTACGATAATGGGAGATTTTCCCGACTGTTTCGTTTCGCTTCTC
 AGTGGATAACAGCCAGCTTCTCTGTTTAACAGACAAAAACAGCATATCCACTCAGTTCCACATTTCCATATAA
 AGGCCAAGGCATTTATTCTCAGGATAATTGTTTCAGCATCGCAACCGCATCAGACTCCGGCATCGCAAACCTGC
 ACCCGGTGCCGGGCAGCCACATCCAGCGCAAAAAACCTTCGTGTAGACTTCCGTTGAACTGATGGACTTATGTC
 CCATCAGGCTTTTGAGAATTTTCAGCGGTATACCGGCATACAGCATGTGCATCGCATAGGAATGGCGGAACGT
 ATGTGGTGTGACCGGAACAGAGAACGTACACCGTCAGCAGCAGCGCGGCAACCGCCTCCCCAATCCAGGTC
 CTGACCGTTCTGTCCGTCACTTCCAGATCCGCGCTTTCTCTGTCTTCTGTGCGACGGTTACGCCGCTCCA
 TGAGCTTATCGCGAATAAATAACCTGTGACGGAAGATCACTTCGCAGAATAAATAAATCCTGGTGTCCCTGTTG
 ATACCGGGAAGCCCTGGGCCAACTTTTGGCGAAAAATGAGACGTTGATCGGCACGTAAGAGGTTCCAACCTTTCA
 CCATAATGAAATAAGATCACTACCGGGCGTATTTTTTGTAGTTATCGAGATTTTCAGGAGCTAAGGAAGCTAAA
 ATGGAGAAAAAATCACTGGATATAACCACCGTTGATATATCCCAATGGCATCGTAAAGAACATTTTGAGGCAT
 TTCAGTCAGTTGCTCAATGTACCTATAACCAGACCGTTTTCAGCTGGATATTACGGCCTTTTAAAGACCGTAAA
 GAAAAATAAGCACAAGTTTTATCCGGCCTTTATTACATTTCTTGGCCGCTGATGAATGCTCATCCGGAATTT
 CGTATGGCAATGAAAGACGGTGAGCTGGTGATATGGGATAGTGTTCACCCTTGTTACACCGTTTTCCATGAGC
 AAACGTAAACGTTTTTCATCGCTCTGGAGTGAATACCACGACGATTTCCGGCAGTTTCTACACATATATTGCA
 AGATGTGGCGTGTACGGTGAAAACCTGGCCTATTTCCCTAAAGGGTTTATTGAGAATATGTTTTTCGTCTCA
 GCCAATCCCTGGGTGAGTTTACCAGTTTTGATTTAAACGTGGCCAATATGGACAACCTTCTTCGCCCCCGTTT
 TCACCATGGGCAATATTATACGCAAGGCGACAAGGTGCTGATGCCGCTGGCGATTACAGGTTTCATCATGCCGT
 TTGTGATGGCTTCCATGTGCGCAGAATGCTTAATGAATTACAACAGTACTGCGATGAGTGGCAGGGCGGGGCG
 TAATTTTTTTTAAAGGCAGTTATTGGTGCCCTTAAACGCCTGGTTGCTACGCCTGAATAAGTGATAATAAGCGGA
 TGAATGGCAGAAATTCGATGATAAGCTGTCAAACATGAGAATTGGTCGACCCTGTGGAATGTGTGTCAGTTAG
 GGTGTGGAAAGTCCCCAGGCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAAGCATGCATCTCAATTAGTCAGCAACCAG
 GTGTGGAAAGTCCCCAGGCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAAGCATGCATCTCAATTAGTCAGCAACCATA
 GTCCCGCCCCCTAACTCCGCCCATCCCCCCCCCTAACTCCGCCCAGTTCCGCCCATTTCTCGCCCCCATGGCTGAC
 TAATTTTTTTTTTATTATGACAGAGGCCGAGGCCGCTC

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 4 (CONTINÚA)

SECUENCIA SEQ ID NO:5

CONSTRUCTO SINTÉTICO: PSHUTTLE/CHIMERIVAX-JE (21091 PB)

AGTAAATCCTGTGTGCTAATTGAGGTGCATTGGTCTGCAAATCGAGTTGCTAGGCAATAAACACATTTGGATT
AATTTTAATCGTTCGTTGAGCGATTAGCAGAGAACTGACCAGAACATGTCTGGTCGTAAAGCTCAGGGAAAAA
CCCTGGGCGTCAATATGGTACGACGAGGAGTTCGCTCCTTGTCAAACAAAATAAAACAAAAACAAAACAAAT
TGGAACAGACCTGGACCTTCAAGAGGTGTTCAAGGATTTATCTTTTTCTTTTTGTTCAACATTTTGGACTGGA
AAAAAGATCACAGCCCACCTAAAGAGGTGTTGGAATGCTGGACCCAAGACAAGGCTTGGCTGTTCTAAGGA
AAGTCAAGAGAGTGGTGGCCAGTTTGATGAGAGGATTGTCTCGAGGAAACGCCGTTCCCATGATGTTCTGAC
TGTGCAATTCTAATTTTGGGAATGCTGTTGATGACGGGTGGAATGAAGTTGTGCAATTTCCAGGGGAAGCTT
TTGATGACCATCAACAACACGGACATTGCAGACGTTATCGTGATTCCACCTCAAAGGAGAGAACAGATGCT
GGGTCCGGGCAATCGACGTCGGCTACATGTGTGAGGACACTATCACGTACGAATGTCTAAGCTTACCATGGG
CAATGATCCAGAGGATGTGGATTGCTGGTGTGACAACCAAGAAGTCTACGTCCAATATGGACGGTGCACGCGG
ACCAGGCATTCCAAGCGAAGCAGGAGATCCGTGTGGTCCAAACACATGGGGAGAGTTCACTAGTGAATAAAA
AAGAGGCTTGGCTGGATTCAACGAAAGCCACACGATATCTCATGAAAACAGAACTGGATCATAAGGAATCC
TGGCTATGCTTTCTGGCGGCGGTACTTGGCTGGATGCTTGGCAGTAACAACGGTCAACGCGTGGTATTTACC
ATCCTCCTGCTGTTGGTCGCTCCGGCTTACAGTTTTAATTGTCTGGGAATGGGCAATCGTGACTTCATAGAAG
GAGCCAGTGGAGCCACTTGGGTGGACTTGGTGCTAGAAGGAGACAGCTGCTTGACAATCATGGCAAACGACAA
ACCAACATTGGACGTCCGCATGATTAACATCGAAGCTAGCCAACCTTGCTGAGGTGAGAAGTTACTGCTATCAT
GCTTCAGTCACTGACATCTCGACGGTGGCTCGGTGCCCCACGACTGGAGAAGCCCACAACGAGAAGCGAGCTG
ATAGTAGCTATGTGTGCAACAAGGCTTCACTGACCGTGGGTGGGGCAACGGATGTGGATTTTTCGGGAAGGG
AAGCATTGACACATGTGCAAAATCTCCTGCACCAGTAAAGCGATTGGGAGAACAATCCAGCCAGAAAACATC
AAATACAAAGTTGGCATTTTTGTGCATGGAACCACCACTTCGGAACCATGGGAATTATTAGCGCAAGTTG
GGGCGTCCCAGGCGGCAAAAGTTTACAGTAACACCCAATGCTCCTTCGGTAGCCCTCAAACCTGGTGACTACGG
AGAAGTCACACTGGACTGTGAGCCAAGGAGTGGACTGAACACTGAAGCGTTTTACGTATGACCGTGGGGTCA
AAGTCATTTCTGGTCCATAGGGAGTGGTTTCATGACCTCGCTCTCCCCTGGACGTCCCCTTCGAGCACAGCGT
GGAGAAACAGAGAACTCCTCATGGAATTTGAAGGGGCGCACGCCACAAACAGTCCGTTGTTGCTCTTGGGTC
ACAGGAAGGAGGCTCCATCATGCGTTGGCAGGAGCCATCGTGGTGGAGTACTCAAGCTCAGTGATGTTAACA
TCAGGCCACCTGAAATGTAGGCTGAAAAATGGACAACTGGCTCTGAAAGGCACAACCTATGGCATGTGTACAG
AAAAATTCTCGTTTCGCGAAAAATCCGGTGGACACTGGTTCACGGAACAGTTGTCAATGAACTCTCCTACTCTGG
GAGTGATGGCCCCCTGCAAAATTCGATTGTTTCCGTTGCGAGCCTCAATGACATGACCCCCGTTGGGCGGCTG
GTGACAGTGAACCCCTTCGTCGCGACTTCCAGTGCCAACTCAAAGGTGCTGGTGCAGATGGAACCCCTTCG
GAGACTCCTACATCGTAGTTGGAAGGGGAGACAAGCAGATCAACCACCATTTGGCACAAGCTGGAAGCACGCT
GGGCAAGGCCTTTTCAACAACCTTTGAAGGGAGCTCAAAGACTGGCAGCGTTGGGCGACACAGCCTGGGACTTT
GGCTCTATTGGAGGGGTCTTCAACTCCATAGGAAGAGCCGTTACCAAGTGTGTTGGTGGTGCCTTCAGAACAC
TCTTTGGGGGAATGTCTTGGATCACACAAGGGCTAATGGGTGCCCTACTGCTCTGGATGGGCGTCAACGCACG
AGACCGATCAATTGCTTTGGCCTTCTTAGCCACAGGAGGTGTGCTCGTGTTCTTAGCGACCAATGTGGGCGCC
GATCAAGGATGCGCCATCAACTTTGGCAAGAGAGAGCTCAAGTGCGGAGATGGTATCTTCATATTTAGAGACT
CTGATGACTGGCTGAACAAGTACTCATACTATCCAGAAGATCCTGTGAAGCTTGATCAATAGTGAAAGCCTC
TTTTGAAGAAGGGAAGTGTGGCCTAAATTCAGTTGACTCCCTTGAGCATGAGATGTGGAGAAGCAGGGCAGAT
GAGATCAATGCCATTTTTGAGGAAAACGAGGTGGACATTTCTGTTGTGTCGAGGATCCAAAGAATGTTTACC
AGAGAGGAACATCATCCATTTCCAGAATTCGGGATGGTCTGCAGTATGGTTGGAAGACTTGGGGTAAGAACCT
TGTGTTCTCCCCAGGGAGGAAGAATGGAAGCTTCATCATAGATGGAAGTCCAGGAAAGAATGCCCGTTTTCA
AACC GGCTCTGGAATCTTTCCAGATAGAGGAGTTTGGGACGGGAGTGTTCACCACACGCGTGTACATGGACG
CAGTCTTTGAATACACCATAGACTGCGATGGATCTATCTTGGGTGCAGCGGTGAACGGAAAAAAGAGTGCCCA

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 5

TGGCTCTCCAACATTTTGGATGGGAAGTCATGAAGTAAATGGGACATGGATGATCCACACCTTGGAGGCATTA
 GATTACAAGGAGTGTGAGTGGCCACTGACACATACGATTGGAACATCAGTTGAAGAGAGTGAAATGTTTCATGC
 CGAGATCAATCGGAGGCCAGTTAGCTCTCACAATCATATCCCTGGATACAAGGTTTCAGACGAACGGACCTTG
 GATGCAGGTACCACTAGAAGTGAAGAGAGAAGCTTGCCAGGACTAGCGTGATCATTGATGGCAACTGTGAT
 GGACGGGGAAAATCAACCAGATCCACCACGGATAGCGGGAAAAGTTATTCTGAATGGTGTGCGCTCCTGCA
 CAATGCCGCCTGTGAGCTTCCATGGTAGTGATGGGTGTGGTATCCCATGGAAATTAGGCCAAGGAAAACGCA
 TGAAAGCCATCTGGTGCCTCCTGGGTACAGCTGGAGAAATACATGCTGTCCCTTTTGGTTTGGTGAGCATG
 ATGATAGCAATGGAAGTGGTCCTAAGGAAAAGACAGGGACCAAGCAAAATGTTGGTTGGAGGAGTAGTGCTCT
 TGGGAGCAATGCTGGTCGGGCAAGTAACCTCTCCTTGATTTGCTGAAACTCACAGTGGCTGTGGGATTGCATTT
 CCATGAGATGAACAATGGAGGAGACGCCATGTATATGGCGTTGATTGCTGCCTTTTCAATCAGACCAGGGCTG
 CTCATCGGCTTTGGGCTCAGGACCCATGGAGCCCTCGGGAACGCCCTTGTGCTGACCTAGGAGCAGCCATGG
 TGGAGATTGCCCTTGGGTGGCGTGATGGGCGGCTGTGGAAGTATCTAAATGCAGTTTCTCTCTGCATCCTGAC
 AATAAATGCTGTTGCTTCTAGGAAAGCATCAAATACCATCTTGCCCTCATGGCTCTGTTGACACCGGTCACC
 ATGGCTGAGGTGAGACTTGCCGCAATGTTCTTTTGTGCCATGGTTATCATAGGGGTCTTACCAGAATTTCA
 AGGACACCTCCATGCAGAAGACTATACCTCTGGTGGCCCTCACACTCACATCTTACCTGGGCTTGACACAACC
 TTTTTTGGGCTGTGTGCATTTCTGGCAACCCGCATATTTGGGCGAAGGAGTATCCAGTGAATGAGGCACTC
 GCAGCAGCTGGTCTAGTGGGAGTGCTGGCAGGACTGGCTTTTCAGGAGATGGAGAACTTCTTGGTCCGATTG
 CAGTTGGAGGACTCCTGATGATGCTGGTTAGCGTGGCTGGGAGGGTGGATGGGCTAGAGCTCAAGAAGCTTGG
 TGAAGTTTCATGGGAAGAGGAGGCGGAGATCAGCGGGAGTTCCGCCCCGCTATGATGTGGCACTCAGTGAACAA
 GGGGAGTTCAAGCTGCTTTCTGAAGAGAAAGTGCCATGGGACCAGGTTGTGATGACCTCGCTGGCCTTGGTTG
 GGGCTGCCCTCCATCCATTTGCTCTTCTGCTGGTCTTGTGGGTGGCTGTTTCATGTGAGGGGAGCTAGGAG
 AAGTGGGGATGTCTTGTGGGATATTTCCACTCCTAAGATCATCGAGGAATGTGAACATCTGGAGGATGGGATT
 TATGGCATATTCCAGTCAACCTTCTTGGGGGCTCCACGCGAGGAGTGGGAGTGGCACAGGGAGGGGTGTTCC
 ACACAATGTGGCATGTGACAAGAGGAGCTTTCTTGTGAGGAATGGCAAGAAGTTGATTCCATCTTGGGCTTC
 AGTAAAGGAAGACCTTGTGCTATGGTGGCTCATGGAAGTTGGAAGGCAGATGGGATGGAGAGGAAGAGGTC
 CAGTTGATCGCGGCTGTTCCAGGAAAGAACGTGGTCAACGTCCAGACAAAACCGAGCTTGTTCAAAGTGAGGA
 ATGGGGGAGAAATCGGGGCTGTGCTCTTGACTATCCGAGTGGCACTTCAGGATCTCCTATTGTTAACAGGAA
 CGGAGAGGTGATTGGGCTGTACGGCAATGGCATCCTTGTGCGTGACAACTCCTTCGTGTCCGCCATATCCAG
 ACTGAGGTGAAGGAAGAAGGAAAGGAGGAGCTCCAAGAGATCCCGACAATGCTAAAGAAAGGAATGACAACCTG
 TCCTTGATTTTTCATCCTGGAGCTGGGAAGACAAGACGTTTCTCCACAGATCTTGGCCGAGTGCACAGGAG
 ACGCTTGCGCACTCTTGTGTTGGCCCCCACCAGGGTTGTTCTTCTGAAATGAAGGAGGCTTTTACGGCCTG
 GACGTGAAATTCCACACACAGGCTTTTCCGCTCACGGCAGCGGGAGAGAAGTCATTGATGCCATGTGCCATG
 CCACCCCTAACTTACAGGATGTTGGAACCACTAGGGTTGTTAACTGGGAAGTGATCATTATGGATGAAGCCCA
 TTTTTTGGATCCAGCTAGCATAGCCGCTAGAGGTTGGGCGAGCGACAGAGCTAGGGCAAATGAAAGTGCAACA
 ATCTTGATGACAGCCACACCGCTGGGACTAGTGATGAATTTCCACATTCAAATGGTGAATAGAAAGATGTTT
 AAACGGACATACCCAGTGAGCCCTGGAACACAGGGCATGACTGGATCCTAGCTGACAAAAGGCCACGGCATG
 GTTCCTTCCATCCATCAGAGCTGCAATGTGATGGCTGCCTCTTTGCGTAAGGCTGGAAAGAGTGTGGTGGTC
 CTGAACAGGAAAACCTTTGAGAGAGAATACCCACGATAAAGCAGAAGAAACCTGACTTTATATTGGCCACTG
 ACATAGCTGAAATGGGAGCCAACCTTTGCGTGGAGCGAGTGCTGGATTGCAGGACGGCTTTTAAGCCTGTGCT
 TGTGGATGAAGGGAGGAAGGTGGCAATAAAAGGGCCACTTCGTATCTCCGCATCCTCTGCTGCTCAAAGGAGG
 GGGCGCATTGGGAGAAATCCCAACAGAGATGGAGACTCATACTACTATTCTGAGCCTACAAGTGAATAATG
 CCCACCACGTCTGCTGGTTGGAGGCTCAATGCTCTTGACAACATGGAGGTGAGGGGTGGAATGGTCGCCCC
 ACTCTATGGCGTTGAAGGAACTAAAACACCAGTTTCCCTGGTGAAATGAGACTGAGGGATGACCAGAGGAAA
 GTCTTCAGAGAACTAGTGAGGAATTGTGACCTGCCCCGTTTGGCTTTCGTGGCAAGTGGCAAGGCTGGTTTGA
 AGACGAATGATCGTAAGTGGTGTGTTTGAAGGCCCTGAGGAACATGAGATCTTGAATGACAGCGGTGAAACAGT
 GAAGTGCAGGGCTCCTGGAGGAGCAAAGAAGCCTCTGCGCCCAAGGTGGTGTGATGAAAGGGTGTGATCTGAC

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 5 (CONTINÚA)

CAGAGTGCCTGTCTGAATTTATTAAGTTTGTCTGAAGGTAGGAGGGGAGCTGCTGAAGTGCTAGTTGTGCTGA
 GTGAACTCCCTGATTTCTTGCTAAAAAGGTGGAGAGGCAATGGATACCATCAGTGTGTTCTCCACTCTGA
 GGAAGGCTCTAGGGCTTACCGCAATGCACTATCAATGATGCCTGAGGCAATGACAATAGTCATGCTGTTTATA
 CTGGCTGGACTACTGACATCGGGAATGGTCATCTTTTTTCATGTCTCCCAAAGGCATCAGTAGAATGTCTATGG
 CGATGGGCACAATGGCCGGCTGTGGATATCTCATGTTCTTGGAGGCGTCAAACCCACTCACATCTCCTATGT
 CATGCTCATATTCTTTGTCTGATGGTGGTTGTGATCCCCGAGCCAGGGCAACAAAGGTCCATCCAAGACAAC
 CAAGTGGCATACTCATATTGTCATCCTGACGCTGGTTTCAGCGGTGGCAGCCAACGAGCTAGGCATGCTGG
 AGAAAACCAAAGAGGACCTCTTTGGGAAGAAGAACTTAATTCCATCTAGTGCTTCACCTGGAGTTGGCCGGA
 TCTTGACCTGAAGCCAGGAGCTGCCTGGACAGTGTACGTTGGCATTGTTACAATGCTCTCTCCAATGTTGCAC
 CACTGGATCAAAGTCGAATATGGCAACCTGTCTCTGTCTGGAATAGCCCAGTCAGCCTCAGTCCTTTCTTTCA
 TGGACAAGGGGATACCATTCATGAAGATGAATATCTCGGTCCATAATGCTGCTGGTTCAGTGGCTGGAATTCAAT
 AACAGTGATGCCTCTGCTCTGTGGCATAGGGTGCGCCATGCTCCACTGGTCTCTCATTTTACCTGGAATCAAA
 GCGCAGCAGTCAAAGCTAGCACAGAGAAGGGTGTTCATGGCGTTGCCGAGAACCCTGTGGTTGATGGGAATC
 CAACAGTTGACATTGAGGAAGCTCCTGAAATGCCTGCCCTTTATGAGAAGAACTGGCTCTATATCTCCTTCT
 TGCTCTCAGCCTAGCTTCTGTTGCCATGTGCAGAACGCCCTTTTCATTGGCTGAAGGCATTGTCTAGCATCA
 GCTGCCCTTAGGGCCGCTCATAGAGGGAAACACCAGCCTTCTTTGGAATGGACCCATGGCTGTCTCCATGACAG
 GAGTCATGAGGGGAATCACTATGCTTTTGTGGGAGTCATGTACAATCTATGGAAGATGAAAACCTGGACGCCG
 GGGGAGCGCGAATGGAAAACTTTGGGTGAAGTCTGGAAGAGGGAACTGAATCTGTTGGACAAGCGACAGTTT
 GAGTTGTATAAAAGGACCGACATTGTGGAGGTGGATCGTGATACGGCACGCAGGCATTTGGCCGAAGGGAAGG
 TGGACACCGGGGTGGCGGTCTCCAGGGGGACCGCAAAGTTAAGGTGGTTCCATGAGCGTGGCTATGTCAAGCT
 GGAAGGTAGGGTGATTGACCTGGGGTGTGGCCGCGGAGGCTGGTGTACTACGCTGCTGCGCAAAAGGAAGTG
 AGTGGGGTCAAAGGATTTACTCTTGAAGAGACGGCCATGAGAAACCCATGAATGTGCAAAGTCTGGGATGGA
 ACATCATCACCTTCAAGGACAAAACCTGATATCCACCGCTAGAACCAGTGAAATGTGACACCTTTTGTGTGA
 CATTGGAGAGTCATCATCGTCATCGGTACAGAGGGGGAAAGGACCGTGAGAGTTCTTGATACTGTAGAAAAA
 TGGCTGGCTTGTGGGGTTGACAACCTTCTGTGTGAAGGTGTTAGCTCCATACATGCCAGATGTTCTTGAGAAAC
 TGAATTGCTCCAAAGGAGGTTTGGCGGAACAGTGATCAGGAACCCCTCTCTCCAGGAATTCCACTCATGAAAT
 GTACTACGTGTCTGGAGCCCGCAGCAATGTACATTTACTGTGAACCAAACATCCCGCCTCCTGATGAGGAGA
 ATGAGGCGTCCAACCTGGAAAAGTGACCCCTGGAGGCTGACGTATCCTCCCAATTGGGACACGCAGTGTTGAGA
 CAGACAAGGGACCCCTGGACAAAAGAGGCCATAGAAGAAAGGGTTGAGAGGATAAAAATCTGAGTACATGACCTC
 TTGGTTTTATGACAATGACAACCCCTACAGGACCTGGCACTACTGTGGCTCCTATGTCAAAAAACCTCAGGA
 AGTGC GGCGAGCATGGTAAATGGTGTATTATAAAATTTCTGACATATCCATGGGACAGGATAGAGGAGGTCACAA
 GAATGGCAATGACTGACACAACCCCTTTTGGACAGCAAAGAGTGTTTAAAGAAAAAGTTGACACCAGAGCAAA
 GGATCCACCAGCGGGAACCTAGGAAGATCATGAAAGTTGTCAACAGGTGGCTGTTCCGCCACCTGGCCAGAGAA
 AAGAACCCAGACTGTGCACAAAAGGAAGAATTTATTGCAAAAGTCCGAAGTCATGCAGCCATTGGAGCTTACC
 TGGGAAGAACAAGAACAGTGGAAAGACTGCCAATGAGGCTGTCCAAGACCCAAAGTTCTGGGAACTGGTGGATGA
 AGAAAGGAAGCTGCACCAACAAGGCAGGTGTGCGACTTGTGTGTACAACATGATGGGGAAAAGAGAGAAGAAG
 CTGTGAGAGTTTGGGAAAGCAAAGGGAAGCCGTGCCATATGGTATATGTGGCTGGGAGCGCGGTATCTTGAGT
 TTGAGGCCCTGGGATTCTGAATGAGGACCATTTGGCTTCCAGGGAAAACCTCAGGAGGAGGAGTGGAAAGGCAT
 TGGCTTACAATACCTAGGATATGTGATCAGAGACCTGGCTGCAATGGATGGTGGTGGATTCTACGCGGATGAC
 ACCGCTGGATGGGACACGCGCATCACAGAGGCAGACCTTGATGATGAACAGGAGATCTTGAACTACATGAGCC
 CACATCACAAAAAAGTGGCACAAGCAGTGATGGAAATGACATACAAGAACAAGTGGTGAAGTGTGAGACC
 AGCCCCAGGAGGGAAAGCCTACATGGATGTCATAAGTCGACGAGACCAGAGAGGATCCGGGCAGGTAGTGACT
 TATGCTCTGAACACCATCACCAACTTGAAAGTCCAATTGATCAGAATGGCAGAAGCAGAGATGGTGATACATC
 ACCAACATGTTCAAGATTGTGATGAATCAGTTCTGACCAGGCTGGAGGCATGGCTCACTGAGCACGGATGTGA
 CAGACTGAAGAGGATGGCGGTGAGTGGAGACGACTGTGTGGTCCGGCCCATCGATGACAGGTTCCGGCCTGGCC

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 5 (CONTINÚA)

CTGTCCCATCTCAACGCCATGTCCAAGGTTAGAAAGGACATATCTGAATGGCAGCCATCAAAAAGGGTGGAAATG
 ATTTGGGAGAATGTGCCCTTCTGTTCCCACTTCCATGAACTACAGCTGAAGGATGGCAGGAGGATTGTGGT
 GCCTTGCCGAGAACAGGACGAGCTCATTGGGAGAGGAAGGGTGTCTCCAGGAAACGGCTGGATGATCAAGGAA
 ACAGCTTGCCCTCAGCAAAGCCTATGCCAACATGTGGTCACTGATGTATTTTCACAAAAGGGACATGAGGCTAC
 TGTCATTGGCTGTTTCTCAGCTGTTCCACCTCATGGGTTCCACAAGGACGCACAACATGGTCGATTTCATGG
 GAAAGGGGAGTGGATGACCACGGAAGACATGCTTGAGGTGTGGAACAGAGTATGGATAACCAACAACCCACAC
 ATGCAGGACAAGACAATGGTGAAAAATGGAGAGATGTCCCTTATCTAACCAAGAGACAAGACAAGCTGTGCG
 GATCACTGATTGGAATGACCAATAGGGCCACCTGGGCCTCCACATCCATTTAGTCATCCATCGTATCCGAAC
 GCTGATTGGACAGGAGAAATACACTGACTACCTAACAGTCATGGACAGGTATTCTGTGGATGCTGACCTGCAA
 CTGGGTGAGCTTATCTGAAACACCATCTAACAGGAATAACCGGGATACAAACCACGGGTGGAGAACCGGACTC
 CCCACAACCTGAAACCGGGATATAAACACCGGTGGAGAACCGGGCTCCGCACTTAAAAATGAAACAGAAACCG
 GGATAAAAACTACGGATGGAGAACCGGACTCCACACATTGAGACAGAAGAAGTTGTTCAGCCCAGAAACCCACA
 CGAGTTTTTGCCACTGCTAAGCTGTGAGGCAGTGCAGGCTGGGACAGCCGACCTCCAGGTTGCGAAAAACCTGG
 TTTCTGGGACCTCCACCCAGAGTAAAAAGAACGGAGCCTCCGCTACCACCTCCACGTGGTGGTAGAAAG
 ACGGGGTCTAGAGGTTAGAGGAGACCTCCAGGGAACAAATAGTGGGACCATATTGACGCCAGGGAAAGACCG
 GAGTGGTTCTCTGCTTTTCTCCAGAGGTCTGTGAGCACAGTTTGCTCAAGAATAAGCAGACCTTTGGATGAC
 AAACACAAAACCACTGGCCGGCATGGTCCCAGCCTCCTCGCTGGCGCCGGCTGGGCAACATTCCGAGGGGACC
 GTCCCCTCGGTAATGGCGAATGGGACGAATTCTGAACCAGTCTTAAACAGAGTAAATAGGACCGGCAATTCTT
 CAAGCAATAAACAGGAATACCAATTATTAAGATAAAGATAAAGTCTAGTCAGATCGTACAATAAAGCTTTGAAGAAAA
 TGCGCCTTATTCAATCTTTGCTATAAAAAATGGCCCAAATCTCACATTGGAAGACATTTGATGACCTCATTT
 CTTTCAATGAAGGGCCTAACGGAGTTGACTAATGTTGTGGGAAATTGGAGCGATAAGCGTGCTTCTGCCGTGG
 CCAGGACAACGTATACTCATCAGATAACAGCAATACCTGATCACTACTTCGCACTAGTTTCTCGGTACTATGC
 ATATGATCCAATATCAAAGGAAATGATAGCATTGAAGGATGAGACTAATCCAATTGAGGAGTGGCAGCATATA
 GAACAGCTAAAGGGTAGTGCTGAAGGAAGCATACGATAACCCCGCATGGAATGGGATAATATCACAGGAGGTAC
 TAGACTACCTTTTCATCTACATAAATAGACGCATATAAGTACGCATTTAAGCATAAACACGCACACTATGCCGTT
 CTTCTCATGTATATATATATACAGGCAACACGCAGATATAGGTGCGACGTGAACAGTGAGCTGTATGTGCGCA
 GCTCGCGTTGCATTTTTCGGAAGCGCTCGTTTTTCGGAACCGCTTTGAAGTTCTTATCCGAAGTTCTTATCTC
 TAGAAAGTATAGGAACTTCAGAGCGCTTTTGAAGAACAAAAGCGCTCTGAAGACGCACCTTCAAAAAACCAAA
 AACGCACCGGACTGTAACGAGCTACTAAAATATTGCGAATACCGCTTCCACAAACATTGCTCAAAAGTATCTC
 TTTGCTATATATCTCTGTGCTATATCCCTATATAACCTACCCATCCACCTTTTCGCTCCTTGAACTTGCATCTA
 AACTCGACCTCTACATTTTTTATGTTTATCTCTAGTATTACTCTTTAGACAAAAAAATTGTAGTAAGAACTAT
 TCATAGAGTGAATCGAAAAAATACGAAAATGTAAACATTTCTATACGTAGTATATAGAGACAAAATAGAAG
 AAACCGTTCATAATTTTCTGACCAATGAAGAATCATCAACGCTATCACTTTCTGTTTCAAAAGTATGCGCAAT
 CCACATCGGTATAGAATATAATCGGGGATGCCTTTATCTTGAAAAATGCACCCGAGCTTCGCTAGTAATCA
 GTAAACGCGGGAAGTGGAGTCAGGCTTTTTTTATGGAAGAGAAAAATAGACACCAAAGTAGCCTTCTTCTAACC
 TTAACGGACCTACAGTGCAAAAAGTTATCAAGAGACTGCATTATAGAGCGCACAAAGGAGAAAAAAGTAATC
 TAAGATGCTTTGTTAGAAAAATAGCGCTCTCGGGATGCATTTTTTGTAGAACAAAAAAGAAGTATAGATTCTTT
 GTTGGTAAAATAGCGCTCTCGCGTTGCATTTCTGTTCTGTAAAAATGCAGCTCAGATTCTTTGTTTGAAGAAAT
 TAGCGCTCTCGCGTTGCATTTTTGTTTTACAAAAATGAAGCACAGATTCTTCGTTGGTAAAATAGCGCTTTCG
 CGTTGCATTTCTGTTCTGTAAAAATGCAGCTCAGATTCTTTGTTTGAAGAAATAGCGCTCTCGCGTTGCATTT
 TTGTTCTACAAAATGAAGCACAGATGCTTCGTTAACAAAGATATGCTATTGAAGTGCAAGATGGAAACGCAGA
 AAATGAACCGGGGATGCGACGTGCAAGATTACCTATGCAATAGATGCAATAGTTTCTCCAGGAACCGAAATAC
 ATACATTGTCTTCCGTAAAGCGCTAGACTATATATTATTATACAGGTTCAAATATACTATCTGTTTCAGGGAA
 AACTCCCAGGTTTCGGATGTTCAAAATTCAATGATGGGTAACAAGTACGATCGTAAATCTGTAAACAGTTTGT
 CGGATATTAGGCTGTATCTCTCAAAGCGTATTGCAATATCATTGAGAAGCTGCAGGCAAGTGCAAAACAAT

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 5 (CONTINÚA)

ACTTAAATAAATACTACTCAGTAATAACCTATTTCTTAGCATTTTTGACGAAATTTGCTATTTTGTAGAGTC
 TTTTACACCATTTTGTCTCCACACCTCCGCTTACATCAACACCAATAACGCCATTTAATCTAAGCGCATCACCA
 ACATTTTCTGGCGTCAGTCCACCAGCTAACATAAAATGTAAGCTTTTCGGGGCTCTCTTGCCTTCCAACCCAGT
 CAGAAATCGAGTTCCAATCCAAAAGTTCACCTGTCCCACCTGCTTCTGAATCAAACAAGGGAATAAACGAATG
 AGGTTTCTGTGAAGCTGCACTGAGTAGTATGTTGCAGTCTTTTGGAAATACGAGTCTTTTAATAACTGGCAAA
 CCGAGGAACTCTTGGTATTCTTGCCACGACTCATCTCCATGCAGTTGGACGATATCAATGCCGTAATCATTGA
 CCAGAGCCAAAACATCCTCCTTAGGTTGATTACGAAACACGCCAACCAAGTATTTTCGGAGTGCCTGAACTATT
 TTTATATGCTTTTACAAGACTTGAAATTTTCCTTGCAATAACCGGGTCAATTGTTCTCTTTCTATTGGGCACA
 CATATAATACCCAGCAAGTCAGCATCGGAATCTAGAGCACATTCTGCGGCCTCTGTGCTCTGCAAGCCGCAAA
 CTTTCACCAATGGACCAGAACTACCTGTGAAATTAATAACAGACATACTCCAAGCTGCCTTTGTGTGCTTAAT
 CACGTATACTCACGTGCTCAATAGTCACCAATGCCCTCCCTCTTGGCCCTCCTCCTTTTCTTTTTTCGACCGC
 TAGCGTCGACAGCGACACACTTGCCATCGGATGCAGCCCGGTTAACGTGCCGGCACGGCTGGGTAAACCAGGTA
 TTTTGTCCACATAACCGTGCGCAAAATGTTGTGGATAAGCAGGACACAGCAGCAATCCACAGCAGGCATACAA
 CCGCACACCGAGGTTACTCCGTTCTACAGGTTACGACGACATGTCAATACTTGCCCTTGACAGGCATTGATGG
 AATCGTAGTCTCACGCTGATAGTCTGATCGACAATAACAAGTGGGACCGTGGTCCCAGACCGATAATCAGACCG
 ACAACACGAGTGGGATCGTGGTCCCAGACTAATAATCAGACCGACGATACGAGTGGGACCGTGGTCCCAGACT
 AATAATCAGACCGACGATACGAGTGGGACCGTGGTTCAGACTAATAATCAGACCGACGATACGAGTGGGACC
 GTGGTCCCAGACTAATAATCAGACCGACGATACGAGTGGGACCATGGTCCCAGACTAATAATCAGACCGACGA
 TACGAGTGGGACCGTGGTCCCAGTCTGATTATCAGACCGACGATACGAGTGGGACCGTGGTCCCAGACTAATA
 ATCAGACCGACGATACGAGTGGGACCGTGGTCCCAGACTAATAATCAGACCGACGATACGAGTGGGACCGTGG
 TCCCAGTCTGATTATCAGACCGACGATACAAGTGGAAACAGTGGGCCAGAGAGAATATTAGGCCAGTTATGC
 TTTCTGGCCTGTAACAAAGGACATTAAGTAAAGACAGATAAACGCTAGACTAAAACGTTGGTCGCATCAGGGTGC
 TGGCTTTTCAAGTTCCTTAAGAATGGCCTCAATTTTCTCTATACACTCAGTTGGAACACGGGACCTGTCCAGG
 TTAAGCACCATTTTATCGCCCTTATACAATACTGTGCTCCAGGAGCAAACCTGATGTGCTGAGCTTAAACTAG
 TTCTTGATGCAGATGACGTTTTAAGCACAGAAGTTAAAGAGTGATAACTTCTTCAGCTTCAAATATCACCCC
 AGCTTTTTTCTGCTCATGAAGTTAGATGCCTGCTGCTTAAGTAATTCCTCTTTATCTGTAAAGGCTTTTTGA
 AGTGCATCACCTGACCGGGCAGATAGTTACCGGGGTGAGAAAAAGAGCAACAACCTGATTTAGGCAATTTGG
 CGGTGTTGATACAGCGGGTAATAATCTTACGTGAAATATTTTCCGCATCAGCCAGCGCAGAAATATTTCCAGC
 AAATTCATTTCTGCAATCGGCTTGCCATAACGCTGACCACGTTTCATAAGCACTTGTTGGGCGATAATCGTTACCC
 AATCTGGATAATGCAGCCATCTGCTCATCATCCAGCTCGCCAACCAGAACACGATAATCACTTTTCGGTAAGTG
 CAGCAGCTTTACGACGGCGACTCCCATCGGCAATTTCTATGACACCAGATACTCTTCGACCGAACGCCGGTGT
 CTGTTGACCAGTCAGTAGAAAAGAAGGGATGAGATCATCCAGTGCCTCCTCAGTAAGCAGCTCCTGGTCACGT
 TCATTACCTGACCATACCCGAGAGGTCTTCTCAACACTATCACCCGGAGCACTTCAAGAGTAAACTTCACAT
 CCCGACCACATACAGGCAAAGTAATGGCATTACCGCGAGCCATTACTCCTACGCGCGCAATTAACGAATCCAC
 CATCGGGGCAGCTGGTGTGATAACGAAGTATCTTCAACCGGTTGAGTATTGAGCGTATGTTTTGGAATAACA
 GGCGCACGCTTCATTATCTAATCTCCCAGCGTGGTTTTAATCAGACGATCGAAAATTTCAATTGCAGACAGGTTT
 CCAAATAGAAAGAGCATTTCTCCAGGCACAGTTGAAGAGCGTTGATCAATGGCCTGTTCAAAAACAGTTCTC
 ATCCGGATCTGACCTTTACCAACTTCATCCGTTTACGTACAACATTTTTTAGAACCATGCTTCCCCAGGCAT
 CCCGAATTTGCTCCTCCATCCACGGGGACTGAGAGCCATTACTATTGCTGTATTTGGTAAGCAAAAATACGTAC
 ATCAGGCTCGAACCCTTTAAGATCAACGTTCTTGAGCAGATCACGAAGCATATCGAAAACTGCAGTGGCGAG
 GTGTAGTCAAACAACCTCAGCAGGCGTGGGAACAATCAGCACATCAGCAGCACATACGACATTAATCGTGCCGA
 TACCCAGGTTAGGCGCGCTGTCAATAACTATGACATCATAGTCATGAGCAACAGTTTCAATGGCCAGTCGGAG
 CATCAGGTGTGGATCGGTGGGCAGTTTACCTTCATCAAATTTGCCCATTAACCTCAGTTTCAATACGGTGCAGA
 GCCAGACAGGAAGGAATAATGTCAAGCCCCGGCCAGCAAGTGGGCTTTATTGCATAAGTGACATCGTCTCTTT
 CCCCAGATAGAAAGGCAGGAGAGTGTCTTCTGCATGAATATGAAGATCTGGTACCCATCCGTGATACATTGA
 GGCTGTTCCCTGGGGTTCGTTACCTTCCACGAGCAAAACACGTAGCCCTTCAGAGCCAGATCCTGAGCAAGA

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 5 (CONTINÚA)

TGAACAGAACTGAGGTTTTGTAAACGCCACCTTTATGGGCAGCAACCCCGATCACCGGTGGAAATACGTCTT
 CAGCACGTCGCAATCGCGTACCAAACACATCACGCATATGATTAATTTGTTCAAATTGTATAACCAACACGTTG
 CTCAACCCGTCCTCGAATTTCCATATCCGGGTGCGGTAGTCGCCCTGCTTTCTCGGCATCTCTGATAGCCTGA
 GAAGAAACCCCAACTAAATCCGCTGCTTCACCTATTCTCCAGCGCCGGTTATTTTCTCGCTTCCGGGCTGT
 CATCATTAACCTGTGCAATGGCGATAGCCTTCGTCAATTTTCATGACCAGCGTTTATGCACGTGGTTAAGTGTTC
 CATGAGTTTCATTTCTGAACATCCTTTAATCATTTGCTTTTGCCTTTTTTTATTAATCTTGCAATTTACTGCAAA
 GCAACAACAAAATCGCAAGTCATCAAAAAACCGCAAGTTGTTTAAAAATAAGAGCAACACTACAAAAGGAGA
 TAAGAAGAGCACATACCTCAGTCACTTATTATCACTAGCGCTCGCCGAGCCGTGTAACCGAGCATAGCGAGC
 GAACCTGGCGAGGAAGCAAAGAAGAACTGTTCTGTGATAGCTCTTACGCTCAGCGCAAGAAGAAATATCCAC
 CGTGGGAAAACTCCAGGTAGAGGTACACACGCGGATAGCCAATTCAGAGTAATAAACTGTGATAATCAACCC
 TCATCAATGATGACGAACTAACCCCGATATCAGGTCACATGACGAAGGGAAGAGAAGGAAATCAACTGTGA
 CAACTGCCCCCAAATTTGGCTTCCTTAAAAATTACAGTTCAAAAAGTATGAGAAAATCCATGCAGGCTGAAG
 GAAACAGCAAACTGTGACAAATTACCTCAGTAGGTGAGAACAAATGTGACGAACACCCCTCAAATCTGTGA
 CAGATAACCCCTCAGACTATCCTGTGTCATGGAAGTGATATCGCGGAAGGAAAATACGATATGAGTCGTCTGG
 CGGCCCTTTCTTTTTCTCAATGTATGAGAGGCGCAATTGGAGTTCTGCTGTTGATCTCATTAACACAGACCTGCA
 GGAAGCGGCGGCGGAAGTCAGGCATACGCTGGTAACCTTTGAGGCAGCTGGTAACGCTCTATGATCCAGTCGAT
 TTTTCAGAGAGACGATGCCGTAGCCATCCGGCTTACGATACTGACACAGGGATTCGTATAAACGCATGGCATA
 GGATTTGGTGATTTCTTTTGTTCCTAACCCGAACTGCGTAAACCGGTTCTGTAACCCGATAAAGAAGGGAA
 TGAGATATGGGTGATATGTACACTGTAAAGCCCTCTGGATGGACTGTGCGCACGTTTGATAAACCAAGGAAA
 AGATTCATAGCCTTTTTCATCGCCGGCATCCTCTTCAGGGCGATAAAAAACCACTTCTTCCCCGCGAACTC
 TTCAATGCCTGCCGTATATCCTTACTGGCTTCCGCAGAGGTCAATCCGAATATTTTCAGCATATTTAGCAACAT
 GGATCTCGCAGATACCGTCATGTTCCGTGTAGGGTGCCATCAGATTTTCTGATCTGGTCAACGAACAGATACAG
 CATACTTTTTTGATCCCGGAGAGACTATATGCCGCCCTCAGTGAGGTGCTTTGACTGGACGATTCGCGGGCTA
 TTTTACGTTTCTGTGATTGATAACCGCTGTTTCCGCCATGACAGATCCATGTGAAGTGTGACAAGTTTTTA
 GATTTGTACACTAAATAAAAAAGAGTCAATAAGCAGGGATAACTTTGTGAAAAAACAGCTTCTTCTGAGGGCA
 ATTTGTACAGGGTTAAGGGCAATTTGTACAGACAGGACTGTCAATTTGAGGGTGATTTGTACACTGAAAGG
 GCAATTTGTACAAACACCTTCTCTAGAACCAGCATGGATAAAGGCCCTACAAGGCGCTCAAAAAAGAAGATCT
 AAAAATATAAAAAAATAAATTATAAAAAATATCCCCGTGGATAAAGTGGATAACCCCAAGGGAAGTTTTTTCAG
 GCATCGTGTGTAAGCAGAAATATATAAGTGTGTTCCCTGGTGCTTCTCGCTCACTCGACCGGGAGGGTTTTCGA
 GAAGGGGGGGCACCCCCCTTCGGCGTGCGGGTCACGCGCACAGGGCGCAGCCCTGGTTAAAAACAAGTTTTTA
 TAAATATTTGGTTTTAAAGCAGGTTAAAAGACAGGTTAGCGGTGGCCGAAAAACGGGCGGAAACCCCTTGCAAAT
 GCTGGATTTTCTGCCGTGTGGACAGCCCCCTCAAATGTCAATAGGTGCGCCCCCTCATCTGTCTGACACTCTGCCCC
 TCAAGTGTCAAGGATCGCGCCCCCTCATCTGTCTGAGTAGTCGCGCCCCCTCAAGTGTCAATACCGCAGGGCACTTA
 TCCCCAGGCTTGTCCACATCATCTGTGGGAACTCGCGTAAAAATCAGGCGTTTTTCGCCGATTTGCGAGGCTGG
 CCAGCTCCACGTCGCCGGCCGAAATCGAGCCTGCCCTCATCTGTCAACGCCGCGCGGGTGAGTCGGCCCCCT
 CAAGTGTCAACGTCCGCCCCCTCATCTGTCTGAGTGGGCAAGTTTTTCCGCGAGGTATCCACAACGCCGGCGGC
 CGGCCGCGGTGCTTCGCACACGGCTTCGACGGCGTTTCTGGCGCGTTTGACAGGGCCATAGACGGCCGCCAGCC
 CAGCGGCGAGGGCAACCAGCCGAGGGCTTCGCCCCGTGCTGCTGACTGCGGCGAGCACTACTGGCTGTAAAAGG
 ACAGACCACATCATGGTTCTGTGTTTCAATAGGTTGTTCTGTCCATTGCTGACATAATCCGCTCCACTTCAACG
 TAACACCGCACGAAGATTTCTATTTGTTCCGTGAAGGCATATTCAAATCGTTTTTCGTTACCGCTTGACGGCATCA
 TGACAGAACACTACTTCCCTATAAACGCTACACAGGCTCCTGAGATTAATAATGCGGATCTCTACGATAATGGG
 AGATTTTCCCGACTGTTTTGCTTCTCTCAGTGGATAACAGCCAGCTTCTCTGTTTAAACAGACAAAAACAGC
 ATATCCACTCAGTTCCACATTTCCATATAAAGGCCAAGGCATTTATTTCTCAGGATAATTGTTTTCAGCATCGCA
 ACCGCATCAGACTCCGGCATCGCAAACGACCCCGTGCCGGGCGAGCCACATCCAGCGCAAAAACCTTCGTGT
 AGACTTCCGTTGAACGTATGGACTTATGTCCCATCAGGCTTTGCAGAACTTTCAGCGGTATACCGGCATACAG
 CATGTGCATCGCATAGGAATGGCGGAACGTATGTGGTGTGACCGGAACAGAGAAGTCTACACCGTCTCAGCAGCA

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 5 (CONTINÚA)

CGGGCGGCAACCGCCTCCCCAATCCAGGTCCTGACCGTTCTGTCCGTCACCTCCCAGATCCGCGCTTTCTCTG
 TCCTTCCTGTGCGACGGTTACGCCGCTCCATGAGCTTATCGCGAATAAATACCTGTGACGGAAGATCACTTCG
 CAGAATAAAATAAATCCTGGTGTCCCTGTTGATACCGGGAAGCCCTGGGCCAACTTTTGGCGAAAATGAGACGT
 TGATCGGCACGTAAGAGGTTCCAACCTTCCACCATAATGAAATAAGATCACTACCGGGCGTATTTTTTGTAGTTA
 TCGAGATTTTCAGGAGCTAAGGAAGCTAAAATGGAGAAAAAATCACTGGATATACCACCGTTGATATATCCC
 AATGGCATCGTAAAGAACATTTTGAAGGCATTTTCAGTCAGTTGCTCAATGTACCTATAACCAGACCGTTTCAGCT
 GGATATTACGGCCTTTTTTAAAGACCGTAAAGAAAAATAAGCACAAGTTTTATCCGGCCTTTATTACATTCTT
 GCGCGCCTGATGAATGCTCATCCGAATTTTCGTATGGCAATGAAAGACGGTGAGCTGGTGATATGGGATAGTG
 TTCACCTTGTACACCGTTTTTCATGAGCAAACGTTTTCATCGCTCTGGAGTGAATACCACGACGA
 TTTCCGGCAGTTTCTACACATATATTGCAAGATGTGGCGTGTACGGTGAAAACCTGGCCTATTTCCCTAAA
 GGGTTTATTGAGAATATGTTTTTCTGCTCAGCCAATCCCTGGGTGAGTTTCACAGTTTTGATTTAAACGTGG
 CCAATATGGACAACCTTCTTCGCCCCCGTTTTACCATGGGCAAATATTATACGCAAGGCGACAAGGTGCTGAT
 GCCGCTGGCGATTTCAGGTTTCATCATGCCGTTTGTGATGGCTTCCATGTCGGCAGAATGCTTAATGAATTACAA
 CAGTACTGCGATGAGTGGCAGGGCGGGCGTAATTTTTTTAAGGCAGTTATTGGTGCCCTTAAACGCCTGGTT
 GCTACGCCTGAATAAGTGATAATAAGCGGATGAATGGCAGAAATTCGATGATAAGCTGTCAAACATGAGAATT
 GGTGCGACCTGTGGAATGTGTGTGAGTTAGGGTGTGGAAAGTCCCCAGGCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCA
 AAGCATGCATCTCAATTAGTCAGCAACCAGGTGTGGAAAGTCCCCAGGCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAA
 AGCATGCATCTCAATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACCTCCGCCATCCCGCCCCTAACCTCCGCCCA
 GTTCCGCCCATCTCCGCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTATTATGCAGAGGCCGAGGCCGCTC

SEQ ID NO 5 (CONTINÚA)

SECUENCIA ID NO:6

CONSTRUCTO SINTÉTICO: PSHUTTLE/CHIMERIVAX-WN (21094 PB)

AGTAAATCCTGTGTGCTAATTGAGGTGCATTGGTCTGCAAATCGAGTTGCTAGGCAATAAACACATTTGGATT
 AATTTTAAATCGTTTCGTTGAGCGATTAGCAGAGAACTGACCAGAACATGTCTGGTCGTAAAGCTCAGGGAAAAA
 CCCTGGGCGTCAATATGGTACGACGAGGAGTTCGCTCCTTGTCAAACAAAATAAAACAAAAACAAAAACAAAT
 TGGAAACAGACCTGGACCTTCAAGAGGTGTTCAAGGATTTATCTTTTCTTTTGTTCACATTTTGACTGGA
 AAAAGATCAGACCCACCTAAAGAGGTGTGGAAAATGCTGGACCCAAGACAAGGCTTGGCTGTTCTAAGGA
 AAGTCAAGAGAGTGGTGGCCAGTTTGATGAGAGGATTGTCCTCGAGGAAACGCCGTTCCCATGATGTTCTGAC
 TGTGCAATTCCTAATTTTGGGAATGCTGTTGATGACGGGTGGAGTTACCTCTCTAACTTCCAAGGGAAGGTG
 ATGATGACGGTAAATGCTACTGACGTCACAGATGTCATCAGATTCCAACAGCTGCTGGAAAGAACCTATGCA
 TTGTCAGAGCAATGGATGTGGGATACATGTGCGATGATACTATCACTTATGAATGCCAGTGCTGTCGGCTGG
 TAATGATCCAGAAGACATCGACTGTTGGTGCACAAAGTCAGCAGTCTACGTCAGGTATGGAAGATGCACCAAG
 ACACGCCACTCAAGACGCAGTCGGAGGTCACTGACAGTGCAGACACACGGAGAAAGCACTCTAGCGAACAAGA
 AGGGGGCTTGGATGGACAGCACCAAGGCCACAAGGTATTTGGTAAAAACAGAATCATGGATCTTGAGGAACCC
 TGGATATGCCCTGGTGGCAGCCGTCATTGGTTGGATGCTTGGGAGCAACACCATGCAGAGAGTTGTGTTTGTG
 GTGCTATTGCTTTTGGTGGCCCCAGCTTACAGCTTCAACTGCCTTGGAAATGAGCAACAGAGACTTCTTGGAAG
 GAGTGTCTGGAGCAACATGGGTGGATTTGGTTCTCGAAGGCGACAGCTGCGTGACTATCATGTCTAAGGACAA
 GCCTACCATCGATGTGAAGATGATGAATATGGAGGCGGCCAACCTGGCAGAGGTCCGCAGTTATTGCTATTG
 GCTACCGTCAGCGATCTCTCCACCAAAGCTGCGTGCCCGACCATGGGAGAAGCTCACAATGACAAACGTGCTG
 ACCCAGCTTTTGTGTGACAGACAAGGAGTGGTGGACAGGGGCTGGGGCAACGGCTGCGGATTCTTTGAAAAGG
 ATCCATTGACACATGCGCCAAATTTGCCTGCTCTACCAAGGCAATAGGAAGAACCATCTTGAAAGAGAATATC
 AAGTACGAAGTGCCATTTTGTCCATGGACCAACTACTGTGGAGTCGCACGGAACTACTCCACACAGGTTG
 GAGCCACTCAGGCAGGGAGATTTCAGCATCACTCTGCGGCGCCTTCATACACACTAAAGCTTGAGAGAATATGG

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 6

AGAGGTGACAGTGGACTGTGAACCACGGTCAGGGATTGACACCAATGCATACTACGTGATGACTGTTGGAACA
 AAGACGTTCTTGGTCCATCGTGAGTGGTTCATGGACCTCAACCTCCCTTGGAGCAGTGCTGGAAGTACTGTGT
 GGAGGAACAGAGAGACGTTAATGGAGTTTGAGGAACCACACGCCACGAAGCAGTCTGTGATAGCATTTGGGCTC
 ACAAGAGGGAGCTCTGCATCAAGCTTTGGCTGGAGCCATTCTGTGGAATTTTCAAGCAACACTGTCAAGTTG
 ACGTCGGGTCAATTTGAAGTGTAGAGTGAAGATGGAAAAATTGCAGTTGAAGGGAACAACCTATGGCGTCTGTT
 CAAAGGCTTTCAAGTTTCTTGGGACTCCCGTCGACACAGGTACGGCACTGTGGTGTGGAAATTGCAGTACAC
 TGGCACGGATGGACCTTGCAAAGTTCTATCTCGTCAGTGGCTTCATTGAACGACCTAACGCCAGTGGGCAGA
 TTGGTCACTGTCAACCTTTTGTTCAGTGGCCACGGCCAACGCTAAGGTCCTGATTGAATTGGAACCACCTT
 TTGGAGACTCATACTAGTGGTGGGCAGAGGAGAACAACAGATCAATCACCATTGGCACAAGTCTGGAAGCAG
 CATTGGCAAAGCCTTTACAACCACCCTCAAAGGAGCGCAGAGACTAGCCGCTCTAGGAGACACAGCTTTGGGAC
 TTTGGATCAGTTGGAGGGGTGTTACCTCAGTTGGGCGCGCTGTCCATCAAGTGTTCGGAGGAGCATTCCGCT
 CACTGTTTCGGAGGCATGTCTGGATAACGCAAGGATTGTCTGGGGGCTCTCTGTTGTGGATGGGCATCAATGC
 TCGTGATAGGTCCATAGCTCTCACGTTTCTCGCAGTTGGAGGAGTTCTGCTCTTCCCTCTCCGTGAACGTGGGC
 GCCGATCAAGGATGCGCCATCAACTTTGGCAAGAGAGAGCTCAAGTGCAGGAGATGGTATCTTCATATTTAGAG
 ACTCTGATGACTGGCTGAACAAGTACTCATACTATCCAGAAGATCCTGTGAAGCTTGCATCAATAGTGAAAGC
 CTCTTTTGAAGAAGGGAAGTGTGGCCTAAATTCAAGTTGACTCCCTTGAGCATGAGATGTGGAGAAGCAGGGCA
 GATGAGATCAATGCCATTTTGGAGAAAACGAGGTGGACATTTCTGTTGTCTGTCAGGATCCAAAGAATGTTT
 ACCAGAGAGGAACATCCATTTTCCAGAATTCGGGATGGTCTGCAGTATGGTTGGAAGACTTTGGGGTAAGAA
 CTTGTGTTCTCCCAGGGAGGAAGAATGGAAGCTTCATCATAGATGGAAAGTCCAGGAAAGAATGCCCGTTT
 TCAAACCGGGTCTGGAATTCTTCCAGATAGAGGAGTTTGGGACGGGAGTGTTCACCACACGCGTGTACATGG
 ACGCAGTCTTTGAATACACCATAGACTGCGATGGATCTATCTTGGGTGCAGCGGTGAACGGAAAAAGAGTGC
 CCATGGCTCTCCAACATTTTGGATGGGAAGTCATGAAGTAAATGGGACATGGATGATCCACACCTTGGAGGCA
 TTAGATTACAAGGAGTGTGAGTGGCCACTGACACATACGATTGGAACATCAGTTGAAGAGAGTGAAATGTTCA
 TGCCGAGATCAATCGGAGGCCAGTTAGCTCTCACAATCATATCCCTGGATACAAGGTTTCAGACGAACGGACC
 TTGGATGCAGGTACCACTAGAAGTGAAGAGAGAAGCTTGCCAGGGACTAGCGTGATCATTGATGGCAACTGT
 GATGGACGGGGAATCAACCAGATCCACCACGGATAGCGGGAAAGTTATTCCTGAATGGTGTGCGCTCCT
 GCACAATGCCGCTGTGAGCTTCCATGGTAGTGATGGGTGTTGGTATCCCATGGAATTAGGCCAAGGAAAAC
 GCATGAAAGCCATCTGGTGCCTCCTGGGTACAGCTGGAGAAATACATGCTGTCCCTTTTGGTTTGGTGAGC
 ATGATGATAGCAATGGAAGTGGTCTAAGGAAAAGACAGGGACCAAAGCAAATGTTGGTTGGAGGAGTAGTGC
 TCTTGGGAGCAATGCTGGTGGGCAAGTAAGTCTCCTTGATTGTGTAAGTCAACAGTGGCTGTGGGATTGCA
 TTTCCATGAGATGAACAATGGAGGAGACGCCATGTATATGGCGTTGATTGCTGCCCTTTTCAATCAGACCAGGG
 CTGCTCATCGGCTTTGGGCTCAGGACCCTATGGAGCCCTCGGGAACGCCCTGTGCTGACCCTAGGAGCAGCCA
 TGGTGGAGATTGCCCTTGGGTGGCGTGATGGGCGGCTGTGGAAGTATCTAAATGCAGTTCTCTCTGCATCCT
 GACAATAAATGCTGTTGCTTCTAGGAAAGCATCAAATACCATCTTGCCCTCATGGCTCTGTTGACACCGGTC
 ACCATGGCTGAGGTGAGACTTGCCGCAATGTTCTTTTGTGCCATGGTTATCATAGGGGTCTTTCACCAGAAAT
 TCAAGGACACCTCCATGCAGAAGACTATACCTCTGGTGGCCCTCACACTCACATCTTACCTGGGCTTGACACA
 ACCTTTTTTGGGCTGTGTGCATTTCTGGCAACCCGCATATTTGGGCGAAGGAGTATCCAGTGAATGAGGCA
 CTCGCAGCAGCTGGTCTAGTGGGAGTGCTGGCAGGACTGGCTTTTCAGGAGATGGAGAACTTCCTTGGTCCGA
 TTGCAGTTGGAGGACTCCTGATGATGCTGGTTAGCGTGGCTGGGAGGGTGGATGGGCTAGAGCTCAAGAAGCT
 TGGTGAAGTTTCATGGGAAGAGGAGGCGGAGATCAGCGGGAGTTCCGCGCTATGATGTGGCACTCAGTGAA
 CAAGGGGAGTTCAAGCTGCTTTCTGAAGAGAAAGTGCCATGGGACCAGGTTGTGATGACCTCGCTGGCCTTGG
 TTGGGGCTGCCCTCCATCCATTTGCTCTTCTGCTGGTCTTGTGCTGGGTGGCTGTTTCATGTGAGGGAGCTAG
 GAGAAGTGGGGATGTCTTGTGGGATATTCCCACTCCTAAGATCATCGAGGAATGTGAACATCTGGAGGATGGG
 ATTTATGGCATATTCCAGTCAACCTTCTTGGGGCCTCCAGCGAGGAGTGGGAGTGGCACAGGGAGGGGTGT
 TCCACACAATGTGGCATGTCAAGAGGAGCTTTCTTGTGAGGAATGGCAAGAAGTTGATTCCATCTTGGGC
 TTCAGTAAAGGAAGACCTTGTGCGCTATGGTGGCTCATGGAAGTTGGAAGGCAGATGGGATGGAGAGGAAGAG

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 6 (CONTINÚA)

GTCCAGTTGATCGCGGCTGTTCCAGGAAAGAACGTGGTCAACGTCCAGACAAAACCGAGCTTGTTCAAAAGTGA
 GGAATGGGGGAGAAATCGGGGCTGTGCTCTTGACTATCCGAGTGGCACTTCAGGATCTCCTATTGTTAACAG
 GAACGGAGAGGTGATTGGGCTGTACGGCAATGGCATCCTTGTCGGTGACAACCTCCTTCGTGTCCGCCATATCC
 CAGACTGAGGTGAAGGAAGAAGGAAAGGAGGAGCTCCAAGAGATCCCGACAATGCTAAAGAAAGGAATGACAA
 CTGTCTTTGATTTTTCATCCTGGAGCTGGGAAGACAAGACGTTTCTCCACAGATCTTGCCGAGTGCGCACG
 GAGACGCTTGCGCACTCTTGTTGGCCCCCACCAGGGTTGTTCTTTCTGAAATGAAGGAGGCTTTTTCACGGC
 CTGGACGTGAAATTCCACACACAGGCTTTTTCCGCTCACGGCAGCGGGAGAGAAGTCATTGATGCCATGTGCC
 ATGCCACCCTAACTTACAGGATGTTGGAACCAACTAGGGTTGTTAACTGGGAAGTGATCATTATGGATGAAGC
 CCATTTTTTGGATCCAGCTAGCATAGCCGCTAGAGGTTGGGCAGCGCACAGAGCTAGGGCAAATGAAAGTGCA
 ACAATCTTGATGACAGCCACACCGCTGGGACTAGTGATGAATTTCCACATTCAAATGGTGAAATAGAAGATG
 TTCAAACGGACATACCCAGTGAGCCCTGGAACACAGGGCATGACTGGATCCTAGCTGACAAAAGGCCACGGC
 ATGGTTCTTCCATCCATCAGAGCTGCAAAATGTCATGGCTGCCTCTTTGCGTAAGGCTGGAAAGAGTGTTGGT
 GTCCTGAACAGGAAAACCTTTGAGAGAGAAATACCCACGATAAAGCAGAAGAAACCTGACTTTATATTGGCCA
 CTGACATAGCTGAAATGGGAGCCAACCTTTGCGTGGAGCGAGTGCTGGATTGCAGGACGGCTTTTAAGCCTGT
 GCTTGTGGATGAAGGGAGGAAGGTGGCAATAAAAGGGCCACTTCGTATCTCCGCATCCTCTGCTGCTCAAAGG
 AGGGGGCGCATTGGGAGAAATCCCAACAGAGATGGAGACTCATACTACTATTCTGAGCCTACAAGTGAAAATA
 ATGCCCACCACGTCTGCTGGTTGGAGGCCCTCAATGCTCTTGACAACATGGAGGTGAGGGGTGGAATGGTCGC
 CCCACTCTATGGCGTTGAAGGAACTAAAACACCAGTTTCCCCTGGTGAAATGAGACTGAGGGATGACCAGAGG
 AAAGTCTTCAGAGAACTAGTGAGGAATTGTGACCTGCCCGTTTGGCTTTCTGTCGCAAGTGGCCAAGGCTGGTT
 TGAAGACGAATGATCGTAAGTGGTGTGTTGAAGGCCCTGAGGAACATGAGATCTTGAATGACAGCGGTGAAAC
 AGTGAAGTGCAGGGCTCCTGGAGGAGCAAGAAGCCTCTGCGCCCAAGGTGGTGTGATGAAAGGGTGTCTCT
 GACCAGAGTGCGCTGTCTGAATTTATTAAGTTTGCTGAAGGTAGGAGGGGAGCTGCTGAAGTGCTAGTTGTGC
 TGAGTGAACCTCCCTGATTTCTTGCTGCTAAAAAGGTGGAGAGGCAATGGATACCATCAGTGTGTTCTCTCCACTC
 TGAGGAAGGCTCTAGGGCTTACCGCAATGCACATCAATGATGCCTGAGGCAATGACAATAGTCATGCTGTTT
 ATACTGGCTGGACTACTGACATCGGGAATGGTCATCTTTTTTTCATGTCTCCCAAAGGCATCAGTAGAATGTCTA
 TGGCGATGGGCACAATGGCCGGCTGTGGATATCTCATGTTTCTTGGAGGCGTCAAACCCACTCACATCTCCTA
 TGTCTGCTCATATTCTTTGTCCTGATGGTGGTTGTGATCCCCGAGCCAGGGCAACAAAGGTCCATCCAAGAC
 AACCAAGTGGCATACCTCATTATTGGCATCCTGACGCTGGTTTTCAGCGGTGGCAGCCAACGAGCTAGGCATGC
 TGGAGAAAACCAAAGAGGACCTCTTTGGGAAGAAGAACTTAATTCATCTAGTGCTTCACCCTGGAGTTGGCC
 GGATCTTGACCTGAAGCCAGGAGCTGCCTGGACAGTGTACGTTGGCATTGTTACAATGCTCTCTCCAATGTTG
 CACCACTGGATCAAAGTGAATATGGCAACCTGTCTCTGTCTGGAATAGCCAGTCAGCCTCAGTCTTTCTT
 TCATGGACAAGGGGATACCATTCATGAAGATGAATATCTCGGTATAATGCTGCTGGTCACTGGCTGGAATTC
 AATAACAGTGATGCCTCTGCTCTGTGGCATAGGGTGCGCCATGCTCCACTGGTCTCTCATTTTTACCTGGAATC
 AAAGCGCAGCAGTCAAAGCTAGCACAGAGAAGGGTGTTCATGGCGTTGCCGAGAACCCTGTGGTTGATGGGA
 ATCCAACAGTTGACATTGAGGAAGCTCCTGAAATGCCTGCCCTTTATGAGAAGAACTGGCTCTATATCTCCT
 TCTTGCTCTCAGCCTAGCTTCTGTTGCCATGTGCAGAACGCCCTTTTCATTGGCTGAAGGCATTGTCCTAGCA
 TCAGCTGCCTTAGGGCCGCTCATAGAGGGAAACACCAGCCTTCTTTGGAATGGACCCATGGCTGTCTCCATGA
 CAGGAGTCATGAGGGGGAATCACTATGCTTTTGTGGGAGTCATGTACAATCTATGGAAGATGAAAACCTGGACG
 CCGGGGGAGCGGAATGGAACAACTTTGGGTGAAGTCTGGAAGAGGGAAGTGAATCTGTTGGACAAGCGACAG
 TTTGAGTTGTATAAAAGGACCGACATTGTGGAGGTGGATCGTGATACGGCACGCAGGCATTTGGCCGAAGGGA
 AGGTGGACACCGGGGTGGCGGTCTCCAGGGGGACCGCAAAGTTAAGGTGGTTCCATGAGCGTGGCTATGTCAA
 GCTGGAAGGTAGGGTGATTGACCTGGGGTGTGGCCGCGGAGGCTGGTGTACTACGCTGCTGCGCAAAAGGAA
 GTGAGTGGGGTCAAAGGATTTACTCTTGAAGAGACGGCCATGAGAAACCCATGAATGTGCAAAGTCTGGGAT
 GGAACATCATCACCTTCAAGGACAAAACCTGATATCCACCGCCTAGAACCAGTGAATGTGACACCCCTTTTGTG
 TGACATTGGAGAGTCATCATCGTCATCGGTACAGAGGGGGAAGGACCGTGAGAGTTCTTGATACTGTAGAA
 AAATGGCTGGCTTGTGGGGTTGACAACCTTCTGTGTGAAGGTGTTAGCTCCATACATGCCAGATGTTCTTGAGA

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 6 (CONTINÚA)

AACTGGAATTGCTCCAAAGGAGGTTTGGCGGAACAGTGATCAGGAACCTCTCTCCAGGAATTCCACTCATGA
 AATGTACTACGTGTCTGGAGCCCGCAGCAATGTCACATTTACTGTGAACCAAACATCCCGCCTCCTGATGAGG
 AGAATGAGGCGTCCAACCTGGAAAAGTGACCCTGGAGGCTGACGTCATCTCCCAATTGGGACACGCAGTGTTG
 AGACAGACAAGGGACCCCTGGACAAAGAGGCCATAGAAGAAAGGGTTGAGAGGATAAAATCTGAGTACATGAC
 CTCTTGGTTTTATGACAATGACAACCCCTACAGGACCTGGCACTACTGTGGCTCCTATGTCACAAAAACCTCA
 GGAAGTGCGGCGAGCATGGTAAATGGTGTATTAAAAATTCTGACATATCCATGGGACAGGATAGAGGAGGTCA
 CAAGAATGGCAATGACTGACACAACCCCTTTTGGACAGCAAAGAGTGTTTAAAGAAAAAGTTGACACCAGAGC
 AAAGGATCCACCAGCGGGAACCTAGGAAGATCATGAAAGTTGTCAACAGGTGGCTGTTCCGCCACCTGGCCAGA
 GAAAAGAACCCAGACTGTGCACAAAGGAAGAATTTATTGCAAAAGTCCGAAGTCATGCAGCCATTGGAGCTT
 ACCTGGAAGAACAAGAACAGTGGAAGACTGCCAATGAGGCTGTCCAAGACCCAAAGTTCTGGGAACTGGTGGA
 TGAAGAAAGGAAGCTGCACCAACAAGGCAGGTGTGGACTTGTGTGTACAACATGATGGGGAAAAGAGAGAAG
 AAGCTGTCAGAGTTTGGGAAAGCAAAGGGAAGCCGTGCCATATGGTATATGTGGCTGGGAGCGCGGTATCTTG
 AGTTTGAGGCCCTGGGATTCTTGAATGAGGACCATTGGGCTTCAGGGAAAACCTCAGGAGGAGGAGTGGAAGG
 CATTGGCTTACAATACCTAGGATATGTGATCAGAGACCTGGCTGCAATGGATGGTGGTGGATTCTACGCGGAT
 GACACCGCTGGATGGGACACGCGCATCACAGAGGCAGACCTTGATGATGAACAGGAGATCTTGAACATACATGA
 GCCCACATCACAAAAAACTGGCACAAGCAGTGATGGAATGACATACAAGAACAAGTGGTGAAAGTGTTGAG
 ACCAGCCCCAGGAGGGAAAGCCTACATGGATGTCTAAGTCGACGAGACCAGAGAGGATCCGGGCAGGTAGTG
 ACTTATGCTCTGAACACCATCACCAACTTGAAAGTCCAATTGATCAGAATGGCAGAAGCAGAGATGGTGATAC
 ATCACCAACATGTTCAAGATTGTGATGAATCAGTTCTGACCAGGCTGGAGGCATGGCTCACTGAGCACGGATG
 TGACAGACTGAAGAGGATGGCGGTGAGTGGAGACGACTGTGTGGTCCGGCCCATCGATGACAGGTTCCGGCTG
 GCCCTGTCCCATCTCAACGCCATGTCCAAGGTTAGAAAGGACATATCTGAATGGCAGCCATCAAAAGGGTGGA
 ATGATTGGGAGAAATGTGCCCCCTCTGTTCCCACTTCCATGAACATACAGCTGAAGGATGGCAGGAGGATTGT
 GGTGCCCTTGCCGAGAACAGGACGAGCTCATTTGGGAGAGGAAGGGTGTCTCCAGGAAACGGCTGGATGATCAAG
 GAAACAGCTTGCCCTCAGCAAAGCCTATGCCAACATGTGGTCACTGATGTATTTTCAAAAAGGGACATGAGGC
 TACTGTCAATTGGCTGTTTCCCTCAGCTGTTCCACCTCATGGGTTCCACAAGGACGCACAACATGGTCGATTCA
 TGGGAAAGGGGAGTGATGACCACGGAAGACATGCTTGAGGTGTGGAACAGAGTATGGATAACCAACAACCCA
 CACATGCAGGACAAGACAATGGTGAAAAAATGGAGAGATGTCCCTTATCTAACCAAGAGACAAGACAAGCTGT
 GCGGATCACTGATTGGAATGACCAATAGGGCCACCTGGGCCTCCACATCCATTTAGTCATCCATCGTATCCG
 AACGCTGATTGGACAGGAGAAATACACTGACTACCTAACAGTCATGGACAGGTATTCTGTGGATGCTGACCTG
 CAACTGGGTGAGCTTATCTGAAACACCATCTAACAGGAATAACCGGGATACAAACCACGGGTGGAGAACCGGA
 CTCCCCACAACCTGAAACCGGGATATAAACCACGGCTGGAGAACCGGGCTCCGCACTTAAAATGAAACAGAAA
 CCGGGATAAAAACTACGGATGGAGAACCGGACTCCACACATTGAGACAGAAGAAGTTGTGAGCCCAAGACCCC
 ACACGAGTTTTGCCACTGCTAAGCTGTGAGGCAGTGCAGGCTGGGACAGCCGACCTCCAGGTTGCGAAAAACC
 TGGTTTTCTGGGACCTCCACCCCAGAGTAAAAAGAACGGAGCCTCCGCTACCACCTCCACGTGGTGGTAGA
 AAGACGGGGTCTAGAGGTTAGAGGAGACCCCTCCAGGGAACAAATAGTGGGACCATATTGACGCCAGGGAAAGA
 CCGGAGTGGTTCTCTGCTTTTCCCTCCAGAGGTCTGTGAGCACAGTTTGCTCAAGAATAAGCAGACCTTTGGAT
 GACAAACACAAAACCACTGGCCGGCATGGTCCCAGCCTCCTCGCTGGCGCCGGCTGGGCAACATTCCGAGGGG
 ACCGTCCCCCTCGGTAATGGCGAATGGGACGAATTCTGAACAGTCCTAAAACGAGTAAATAGGACCGGCAATT
 CTTCAAGCAATAAACAGGAATACCAATTATTAAAAAGATAACTTAGTCAGATCGTACAATAAAGCTTTGAAGAA
 AAATGCGCCTTATTCAATCTTTGCTATAAAAAATGGCCCAAAATCTCACATTGGAAGACATTTGATGACCTCA
 TTTCTTTCAATGAAGGGCCTAACGGAGTTGACTAATGTTGTGGGAAATTGGAGCGATAAGCGTGCTTCTGCCG
 TGGCCAGGACAACGTATACTCATCAGATAACAGCAATACCTGATCACTACTTCGCACTAGTTTCTCGGTACTA
 TGCATATGATCCAATATCAAAGGAAATGATAGCATTGAAGGATGAGACTAATCCAATTGAGGAGTGGCAGCAT
 ATAGAACAGCTAAAGGGTAGTGCTGAAGGAAGCATACGATACCCGCATGGAATGGGATAATATCACAGGAGG
 TACTAGACTACCTTTTCATCCTACATAAATAGACGCATATAAGTACGCATTTAAGCATAAACACGCACTATGCC
 GTTCTTCTCATGTATATATATATACAGGCAACACGCAGATATAGGTGCGACGTGAACAGTGAGCTGTATGTGC

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 6 (CONTINÚA)

GCAGCTCGCGTTGCATTTTCGGAAGCGCTCGTTTTTCGGAACGCTTTGAAGTTCCTATTCCGAAGTTCCTATT
 CTCTAGAAAGTATAGGAACCTCAGAGCGCTTTTGAAAACCAAAGCGCTCTGAAGACGCACTTTCAAAAAACC
 AAAACGCACCGGACTGTAACGAGCTACTAAAATATTGCGAATACCGCTTCCACAAACATTGCTCAAAAGTAT
 CTCTTTGCTATATATCTCTGTGCTATATCCCTATATAACCTACCCATCCACCTTTTCGCTCCTTGAAGTTCAT
 CTAAACTCGACCTCTACATTTTTTTATGTTTATCTCTAGTATTACTCTTTAGACAAAAAATTGTAGTAAGAAC
 TATTCATAGAGTGAATCGAAAACAATACGAAAATGTAAACATTTCTTATACGTAGTATATAGAGACAAAATAG
 AAGAAACCGTTTATAATTTTCTGACCAATGAAGAATCATCAACGCTATCACTTTCTGTTTACAAAAGTATGCGC
 AATCCACATCGGTATAGAATATAATCGGGGATGCCTTTATCTTGAAAAAATGCACCCGCAGCTTCGCTAGTAA
 TCAGTAAACGCGGGAAGTGGAGTCAGGCTTTTTTTATGGAAGAGAAAATAGACACCAAAGTAGCCTTCTTCTA
 ACCTTAACGGACCTACAGTGCAAAAAGTTATCAAGAGACTGCATTATAGAGCGCACAAAGGAGAAAAAAGTA
 ATCTAAGATGCTTTGTTAGAAAAATAGCGCTCTCGGGATGCATTTTTGTAGAACAAAAAGAAGTATAGATTCT
 TTTGTTGGTAAATAGCGCTCTCGCGTTGCATTTCTGTTCTGTAAAAATGCAGCTCAGATTCTTTGTTTGA
 AATTAGCGCTCTCGCGTTGCATTTTTGTTTTACAAAAATGAAGCACAGATTCTTCGTTGGTAAATAGCGCTT
 TCGCGTTGCATTTCTGTTCTGTAAAAATGCAGCTCAGATTCTTTGTTTGA AAAATAGCGCTCTCGCGTTGCA
 TTTTTGTTCTACAAAATGAAGCACAGATGCTTCGTTAACAAAGATATGCTATTGAAGTGCAAGATGGAAACGC
 AGAAAAATGAACCGGGGATGCGACGTGCAAGATTACCTATGCAATAGATGCAATAGTTTCTCCAGGAACCGAAA
 TACATACATTGTCTTCCGTAAAGCGCTAGACTATATATTATATACAGGTTCAAATATACTATCTGTTTCAGG
 GAAAACTCCAGGTTTCGGATGTTCAAAATTCAATGATGGGTAACAAGTACGATCGTAAATCTGTAAAAACAGTT
 TGTTCGGATATTAGGCTGTATCTCCTCAAAGCGTATTGCAATATCATTTGAGAAGCTGCAGGCAAGTGACAAAC
 AATACTTAAATAAATACTACTCAGTAATAACCTATTTCTTAGCATTTTTTGACGAAATTTGCTATTTTGTTAGA
 GTCTTTTACACCATTTGTCTCCACACCTCCGCTTACATCAACACCAATAACGCCATTTAATCTAAGCGCATCA
 CCAACATTTTCTGGCGTCAGTCCACCAGCTAACATAAAATGTAAGCTTTTCGGGGCTCTCTTGCTTCCAACCC
 AGTCAGAAATCGAGTTCCAATCCAAAAGTTTACCTGTCCACCTGCTTCTGAATCAAACAAGGGAATAACGA
 ATGAGGTTTCTGTGAAGCTGCACTGAGTAGTATGTTGCAGTCTTTTGGAATACGAGTCTTTTAATAACTGGC
 AAACCGAGGAACTCTTGGTATTCTTGCCACGACTCATCTCCATGCAGTTGGACGATATCAATGCCGTAATCAT
 TGACCAGAGCCAAAACATCCTCCTTAGGTTGATTACGAAACACGCCAACCAAGTATTTTCGGAGTGCCTGAACT
 ATTTTTATATGCTTTTACAAGACTTGAAATTTTCTTTCGCAATAACCGGGTCAATTGTTCTCTTTCTATTGGGC
 ACACATATAATACCCAGCAAGTCAGCATCGGAATCTAGAGCACATTCTGCGGCCTCTGTGCTCTGCAAGCCGC
 AAACTTTCACCAATGGACCAGAACTACCTGTGAAATTAATAACAGACATACTCCAAGCTGCCTTTGTGTGCTT
 AATCACGTATACTCACGTGCTCAATAGTCACCAATGCCCTCCCTCTTGGCCCTCCTCCTTTTCTTTTTTCGAC
 CGCTAGCGTCGACAGCGACACACTTGCATCGGATGCAGCCCGGTTAACGTGCCGGCACGGCTGGGTAAACAG
 GTATTTTGTCCACATAACCGTGCGCAAAATGTTGTGGATAAGCAGGACACAGCAGCAATCCACAGCAGGCATA
 CAACCGCACACCGAGGTTACTCCGTTCTACAGGTTACGACGACATGTCAATACTTGCCCTTGACAGGCATTGA
 TGGAATCGTAGTCTCACGCTGATAGTCTGATCGACAATACAAGTGGGACCGTGGTCCCAGACCGATAATCAGA
 CCGACAACACGAGTGGGATCGTGGTCCCAGACTAATAATCAGACCGACGATACGAGTGGGACCGTGGTCCCAG
 ACTAATAATCAGACCGACGATACGAGTGGGACCGTGGTTCAGACTAATAATCAGACCGACGATACGAGTGGG
 ACCGTGGTCCCAGACTAATAATCAGACCGACGATACGAGTGGGACCATGGTCCCAGACTAATAATCAGACCGA
 CGATACGAGTGGGACCGTGGTCCCAGTCTGATTATCAGACCGACGATACGAGTGGGACCGTGGTCCCAGACTA
 ATAATCAGACCGACGATACGAGTGGGACCGTGGTCCCAGACTAATAATCAGACCGACGATACGAGTGGGACCG
 TGGTCCCAGTCTGATTATCAGACCGACGATACAAGTGGAAACAGTGGGCCAGAGAGAATATTACAGGCCAGTTA
 TGCTTTCTGGCCTGTAAACAAAGGACATTAAGTAAAGACAGATAAACCGTAGACTAAAACGTGGTTCGCATCAGGG
 TGCTGGCTTTTTCAAGTTCCTTAAGAATGGCTCAATTTTTCTCTATACACTCAGTTGGAACACGGGACCTGTCC
 AGGTTAAGCACCATTTTTATCGCCCTTATACAATACTGTCTGCTCCAGGAGCAAACGTGATGTCGTGAGCTTAAAC
 TAGTTCTTGATGCAGATGACGTTTTAAGCACAGAAGTTAAAAGAGTGATAACCTTCTCAGCTTCAAATATCAC
 CCCAGCTTTTTTCTGCTCATGAAGGTTAGATGCCTGCTGCTTAAGTAATTCCTCTTTATCTGTAAAGGCTTTT
 TGAAGTGCATCACCTGACCGGGCAGATAGTTACCGGGGTGAGAAAAAGAGCAACAACCTGATTTAGGCAATT

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 6 (CONTINÚA)

TGGCGGTGTTGATACAGCGGGTAATAATCTTACGTGAAATATTTTCCGCATCAGCCAGCGCAGAAATATTTCC
 AGCAAATTCATTCTGCAATCGGCTTGCATAACGCTGACCACGTTTCATAAGCACTTGTTGGGCGATAATCGTTA
 CCCAATCTGGATAATGCAGCCATCTGCTCATCATCCAGCTCGCCAACCAGAACACGATAATCACTTTCCGGTAA
 GTGCAGCAGCTTTACGACGGCGACTCCCATCGGCAATTTCTATGACACCAGATACTCTTCGACCGAACGCCGG
 TGTCTGTTGACCAGTCAGTAGAAAAGAAGGGATGAGATCATCCAGTGCCTCAGTAAGCAGCTCCTGGTCA
 CGTTCATTACCTGACCATAACCGAGAGGTCTTCTCAACACTATCACCCCGGAGCACTTCAAGAGTAACTTCA
 CATCCCGACCACATACAGGCAAAGTAATGGCATTACCGCGAGCCATTACTCCTACGCGCGCAATTAACGAATC
 CACCATCGGGGCGAGCTGGTGTGATAACGAAGTATCTTCAACCGGTTGAGTATTGAGCGTATGTTTTGGAATA
 ACAGGCGCACGCTTCATTATCTAATCTCCAGCGTGGTTTTAATCAGACGATCGAAAATTTTATTGACAGACAGG
 TTCCCAAATAGAAAGAGCATTTCTCCAGGCACAGTTGAAGAGCGTTGATCAATGGCCTGTTCAAAAACAGTT
 CTCATCCGGATCTGACCTTTTACCAACTTCATCCGTTTTACGTACAACATTTTTTTAGAACCATGCTTCCCGAGG
 CATCCCGAATTTGCTCCTCCATCCACGGGGACTGAGAGCCATTACTATTGCTGTATTTGGTAAGCAAAATACG
 TACATCAGGCTCGAACCTTTAAGATCAACGTTCTTGAGCAGATCACGAAGCATATCGAAAACTGCAGTGCG
 GAGGTGTAGTCAAACAACTCAGCAGGCGTGGGAACAATCAGCACATCAGCAGCACATACGACATTAATCGTGC
 CGATACCCAGGTTAGGCGCGCTGTCAATAACTATGACATCATAGTCATGAGCAACAGTTTCAATGGCCAGTCG
 GAGCATCAGGTGTGGATCGGTGGGCAGTTTACCTTCATCAAATTTGCCCATTAACCTCAGTTTCAATACGGTGC
 AGAGCCAGACAGGAAGGAATAATGTCAAGCCCCGGCCAGCAAGTGGGCTTTATTGCATAAGTGACATCGTCCT
 TTTCCCAAGATAGAAAGGCAGGAGAGTGTCTTCTGCATGAATATGAAGATCTGGTACCCATCCGTGATACAT
 TGAGGCTGTTCCCTGGGGGTCTTACCTTCCACGAGCAAAACACGTAGCCCCCTCAGAGCCAGATCCTGAGCA
 AGATGAACAGAACTGAGGTTTTGTAAACGCCACCTTTATGGGCAGCAACCCCGATCACCGGTGGAATACGT
 CTTTCAGCACGTGCAATCGCGTACCAAACACATCACGCATATGATTAATTTGTTCAATTGTATAACCAACACG
 TTGCTCAACCCGTCCTCGAATTTCCATATCCGGGTGCGGTAGTCGCCCTGCTTTCTCGGCATCTCTGATAGCC
 TGAGAAGAAACCCCAACTAAATCCGCTGCTTACCTATTCTCCAGCGCCGGGTTATTTTCTCGCTTCCGGGC
 TGTCTCATTAATACTGTGCAATGGCGATAGCCTTCTGTCATTTTCATGACCAGCGTTTATGCACTGGTTAAGTGT
 TTCCATGAGTTTCATTCTGAACATCCTTTAATCATTGCTTTGCGTTTTTTTTATTAAATCTTGCAATTTACTGC
 AAAGCAACAACAAATCGCAAAGTCATCAAAAAACCGCAAAGTTGTTTAAAAATAAGAGCAACACTACAAAAGG
 AGATAAGAAGAGCACATACCTCAGTCACTTATTATCACTAGCGCTCGCCGACGCCGTGTAACCGAGCATAGCG
 AGCGAACTGGCGAGGAAGCAAAGAAGAACTGTTCTGTGATAGCTCTTACGCTCAGCGCAAGAAGAAATATC
 CACCGTGGGAAAACTCCAGGTAGAGGTACACACGCGGATAGCCAATTCAGAGTAATAAACTGTGATAATCAA
 CCCTCATCAATGATGACGAACTAACCCCGATATCAGGTTCATGACGAAGGAAAGAGAAGGAAATCAACTG
 TGACAACTGCCCTCAAATTTGGCTTCTTAAAAATTACAGTTCAAAAAGTATGAGAAAATCCATGCAGGCTG
 AAGGAAACAGCAAACTGTGACAAATTACCCTCAGTAGGTGAGAACTGTGACGAACACCCTCAAATCTG
 TGACAGATAACCTCAGACTATCCTGTGTCATGGAAGTGATATCGCGGAAGGAAAATACGATATGAGTCGTC
 TGGCGGCCTTTCTTTTTCTCAATGTATGAGAGGCGCATTGGAGTTCTGCTGTTGATCTCATTAACACAGACCT
 GCAGGAAGCGGCGGCGGAAGTCAGGCATACGCTGGTAACTTTGAGGCAGCTGGTAAACGCTCTATGATCCAGTC
 GATTTTTCAGAGAGACGATGCCTGAGCCATCCGGCTTACGATACTGACACAGGGATTTCGTATAAACGCATGGCA
 TACGGATTGGTGATTTCTTTTGTCTTCACTAAGCCGAACTGCGTAAACCGGTTCTGTAACCCGATAAAGAAGG
 GAATGAGATATGGTTGATATGTACACTGTAAAGCCCTCTGGATGGACTGTGCGCACGTTTGATAAACCAAGG
 AAAAGATTATAGCCTTTTTTCATCGCCGGCATCCTCTTCAGGGCGATAAAAAACCACTTCTTCCCGCGAAA
 CTCTTCAATGCCTGCCGTATATCCTTACTGGCTTCCGACAGAGTCAATCCGAATATTTTACGATATTTAGCAA
 CATGGATCTCGCAGATACCGTCATGTTCTGTAGGGTGCCATCAGATTTTCTGATCTGGTCAACGAACAGATA
 CAGCATACGTTTTTTGATCCCGGGAGAGACTATATGCCGCCTCAGTGAGGTGCTTTGACTGGACGATTCGCGGG
 CTATTTTTACGTTTCTTGTGATTGATAACCGCTGTTTCCGCCATGACAGATCCATGTGAAGTGTGACAAGTTT
 TTAGATTGTCACTAAATAAAAAAGAGTCAATAAGCAGGGATAAATTTGTGAAAAACAGCTTCTTCTGAGG
 GCAATTTGTACAGGGTTAAGGGCAATTTGTACAGACAGGACTGTCAATTTGAGGGTGATTTGTACACTGAA
 AGGGCAATTTGTACAAACACCTTCTCTAGAACCAGCATGGATAAAGGCCTACAAGGCGCTCTAAAAAAGAAGA

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 6 (CONTINÚA)

TCTAAAAACTATAAAAAAATAATTATAAAAAATATCCCCGTGGATAAGTGGATAACCCCAAGGGAAGTTTTTT
 CAGGCATCGTGTGTAAGCAGAATATATAAGTGCTGTTCCCTGGTGCTTCCTCGCTCACTCGACCGGGAGGGTT
 CGAGAAGGGGGGGCACCCCCCTTCGGCGTGCGCGGTACGCGCACAGGGCGCAGCCCTGGTTAAAAACAAGGT
 TTATAAATATTGGTTTAAAAGCAGGTTAAAAGACAGGTTAGCGGTGGCCGAAAAACGGGCGGAAACCCCTTGCA
 AATGCTGGATTTTCTGCCTGTGGACAGCCCCCTCAAATGTCAATAGGTGCGCCCCCTCATCTGTCAGCACTCTGC
 CCTCAAGTGTCAAGGATCGCGCCCCCTCATCTGTGAGTAGTTCGCGCCCCCTCAAGTGTCAATACCGCAGGGCAC
 TTATCCCCAGGCTTGTCCACATCATCTGTGGGAAACTCGCGTAAAATCAGGCGTTTTTCGCGGATTTGCGAGGC
 TGGCCAGCTCCACGTGCGCGGCCGAAATCGAGCCTGCCCCCTCATCTGTCAACGCCGCGCGGGTGAGTCGGCC
 CCTCAAGTGTCAACGTCCGCCCCCTCATCTGTGAGTAGGCGCAAGTTTTTCGCGAGGTATCCACAACGCCGGC
 GGCCGGCCGCGGTGTCTCGCACACGGCTTCGACGGCGTTTTCTGGCGCGTTTTGCAGGGCCATAGACGGCCGCCA
 GCCCAGCGGCGAGGGCAACCAGCCGAGGGCTTCGCCCTGTGCTCGACTGCGGCGAGCACTACTGGCTGTAAA
 AGGACAGACCACATCATGGTTCTGTGTTTATTAGGTTGTTCTGTCCATTGCTGACATAATCCGCTCCACTTCA
 ACGTAACACCGCACGAAGATTTCTATTGTTCTGAAGGCATATTCAAATCGTTTTTCGTTACCGCTTGCCAGGCA
 TCATGACAGAACTACTTCTATAAAACGCTACACAGGCTCCTGAGATTAATAATGCGGATCTCTACGATAAT
 GGGAGATTTTCCCGACTGTTTCGTTTCGTTCTCAGTGGATAACAGCCAGCTTCTCTGTTTAAACAGACAAAAAC
 AGCATATCCACTCAGTTCCACATTTCCATATAAAGGCCAAGGCATTTATTCTCAGGATAATTGTTTCAGCATC
 GCAACCGCATCAGACTCCGGCATCGCAAACTGCACCCGGTGCCGGGCAGCCACATCCAGCGCAAAAACCTTCG
 TGTAAGTTCGGTTGAACTGATGGACTTATGTCCCATCAGGCTTTGCAGAACTTTTCAGCGGTATACCGGCATA
 CAGCATGTGCATCGCATAGGAATGGCGGAACGTATGTGGTGTGACCGGAACAGAGAACGTACACCGTCCAGCA
 GCAGCGGCGGCAACCGCCTCCCCAATCCAGGTCTGACCGTTCTGTCCGTCACTTCCAGATCCGCGCTTTCT
 CTGTCTTCTGTGCGACGGTTACGCCGCTCCATGAGCTTATCGCGAATAAATACCTGTGACGGAAGATCACT
 TCGCAGAATAAATAAATCCTGGTGTCCCTGTTGATACCGGGAAGCCCTGGGCCAACTTTTGGCGAAAATGAGA
 CGTTGATCGGCACGTAAGAGGTTCCAACTTTACCATAATGAAATAAGATCACTACCGGGCGTATTTTTTGAG
 TTATCGAGATTTTTCAGGAGCTAAGGAAGCTAAAATGGAGAAAAAATCACTGGATATAACCACGTTGATATAT
 CCAATGGCATCGTAAAGAACATTTTGAGGCATTTTCAGTCAGTTGCTCAATGTACCTATAACCAGACCGTTCA
 GCTGGATATTACGGCCTTTTTTAAAGACCGTAAAGAAAAATAAGCACAAGTTTTTATCCGGCCTTTATTTCACATT
 CTTGCCCCGCTGATGAATGCTCATCCGGAATTTTCGTATGGCAATGAAAGACGGTGAGCTGGTGATATGGGATA
 GTGTTACCCCTGTGTACACCGTTTTCCATGAGCAAACTGAAACGTTTTTCATCGCTCTGGAGTGAATACCACGA
 CGATTTCCGGCAGTTTCTACACATATATTGCAAGATGTGGCGTGTACGGTGAAAACCTGGCCTATTTCCCT
 AAAGGGTTTATTGAGAAATATGTTTTTCGTCTCAGCCAATCCCTGGGTGAGTTTACCAGTTTTGATTTAAACG
 TGGCCAAATATGGACAACTTCTTCGCCCCCGTTTTTACCATGGGCAATATTATACGCAAGGCGACAAGGTGCT
 GATGCCGCTGGCGATTTCAGGTTTCATCATGCCGTTTTGTGATGGCTTCCATGTGCGGCAGAATGCTTAATGAATTA
 CAACAGTACTGCGATGAGTGGCAGGGCGGGGCGTAATTTTTTTTAAAGCAGTTATTGGTGCCCTTAAACGCCTG
 GTTGCTACGCCCTGAATAAGTGATAATAAGCGGATGAATGGCAGAAATTTCATGATAAGCTGTCAAACATGAGA
 ATTGGTCGACCCTGTGGAATGTGTGTGTCAGTTAGGGTGTGGAAAGTCCCCAGGCTCCCCAGCAGGCAGAAGTAT
 GCAAAGCATGCATCTCAATTAGTCAGCAACCAGGTGTGGAAAGTCCCCAGGCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATG
 CAAAGCATGCATCTCAATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCCTAACTCCGCCCATCCGCCCCCTAACTCCGC
 CCAGTTCCGCCCCATTCTCCGCCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTATTATGAGAGGCCGAGGCCGCCTC

SEQ ID NO 6 (CONTINÚA)

FIGURA 13 (CONTINÚA)

SECUENCIA ID N:7

CONSTRUCTO SINTÉTICO: PSHUTTLE/EV71 (17368 PB)

TTAAACAGCCTGTGGGTTGCACCCACTCACAGGGCCACTGGGCGCTAGTACACTGGTATCTCGGTACCTTT
GTACGCCTGTTTTATACCCCTCCCTGATTTGCAACTTAGAAGCAACGCAAACCAGATCAATAGTAGGTGTGA
CATACCAGTCGCATCTTGATCAAGCACTTCTGTATCCCGGACCGAGTATCAATAGACTGTGCACACGGTTGA
AGGAGAAAACGTCCGTTACCCGGCTAACTACTTCGAGAAACCTAGTAACGCCATTGAAGTTGCAGAGTGTTC
GCTCAGCACTCCCCCGTGTAGATCAGGTCGATGAGTCACCGCATTCCCCACGGGCGACCGTGGCGGTGGCTG
CGTTGGCGGCCTGCCTATGGGGTAACCCATAGGACGCTCTAATACGGACATGGCGTGAAGAGTCTATTGAGCT
AGTTAGTAGTCCTCCGGCCCTGAATGCGGTTAATCCTAAGTGCAGGAGCACATACCCCTTAATCCAAAGGGCAG
TGTGTCGTAACGGGCAACTCTGCAGCGGAACCGACTACTTTGGGTGTCCGTGTTTCTTTTATTCTTGTATTG
GCTGCTTATGGTGACAATTAAAGAATTGTTACCATATAGCTATTGGATTGGCCATCCAGTGTCAAACAGAGCT
ATTGTATATCTCTTTGTTGGATTTACACCTCTCACTCTTGAAACGTTACACACCCCTCAATTACATTATACTGC
TGAACACGAAGCGATGGGCTCCAGGTCTCCACACAGCGATCCGGCTCGCATGAGAATTCCTCACTCAGCCACG
GAAGGCTCCACTATAAATTACACAACCATTAATTACTACAAAGACTCGTATGCTGCCACTGCTGGAAAGCAAA
GTCTCAAACAAGATCCTGACAAGTTTGCGAACCTGTGAAGGACATCTTTACTGAAATGGCAGCGCCCTTAAA
GTCTCCCTCTGCTGAAGCATGTGGCTATAGCGACCGAGTGGCACAGCTTACCATTGGAAATTCACCATTACT
ACACAAGAAGCAGCAACATAATAGTTGGGTATGGTGAGTGGCCTTCATACTGCTCTGATAATGATGCAACAG
CGGTAGACAAACCTACACGGCCTGATGTCTCAGTAAATAGATTTTACACGCTAGACACTAAGCTATGGGAGAA
ATCATCCAAGGGGTGGTACTGGAAGTTCCAGATGTACTGACTGAAACCGGAGTTTTTGGTCAAAATGCACAA
TTTCACTACTTATACCGTTCCAGGTTCTGCATCCACGTTCAATGTAACGCTAGCAAATTTACCAAGGGGCGC
TACTCGTTGCGGTATTGCCCAGTATGTCAATTGGAACAGTGGCAGGCGGCACAGGCACAGAGAACAGTCACCC
TCCTTATATACAAACCAACCCGGCGCTGATGGATTTGAATTACAACATCCATATGTTCTTGATGCTGGAATT
CCAATATCTCAGTTGACAGTGTGCCCTCACCAGTGGATCAATTTACGAACCAACAATTGTGCCACCATAATAG
TGCCATACATGAACACACTACCTTTTGATTCCGCATTGAACCACTGTAATTTCCGACTATTGGTGGTGCCAT
CAGCCCGCTGGATTTGACCAAGGGGCGACACCGGTAATTCCTATCACTATCACGTTGGCTCCGATGTGTTCT
GAGTTTGCGGTCTCAGGCAGGCAGTTGCGCAGGGTTTCCCCACTGAATTGAAACCTGGCACTAATCAGTTCT
TAACCACGGATGATGGTGTGTGTCAGCACCTATATTGCCAAATTTCCACCCACCCCGTGCATTACATACCTGG
CGAGGTTAGAACTTACTAGAACTGTGCCAGGTAGAAACCATTTTAGAAGTCAACAATGTGCCACCAACGCA
ACCAGTTTGATGGAAGGCTACGGTTTCCAGTGTGAGCCCAAGCAGGGAAGGTGAGTTGTGTGAGTGTTC
GGGCCGACCTGGGAGGGATGGTCCTTGGCAATCCACCATGCTAGGCCAGTTGTGTGGATATTACACCAATG
GTCAGGGTCTTTGGAAGTCACTTTTATGTTTACCGGATCCTTTATGGCAACTGGTAAATGCTTATAGCTTAC
ACACCCCGAGGGGGCCCTTTGCTTAAAGATAGAGCCACAGCTATGCTGGGGACGCACGTCATCTGGGACTTTG
GCTTGCAATCGTCCGTCACCCCTCGTCATACCATGGATCAGTAACACTCACTATAGGGCGCATGCTCGAGATGG
GGTGTGTTGATTACTACACCACAGGTTTGGTTAGTATATGGTACCAACAAATTTATGTAGTCCCATTGGAGCA
CCTAATACTGCCTATATAATAGCGTTGGCAGCAGCCCAAAGAATTTCACTATGAAATTTGTGCAAGGACACCA
GTGACATTTTGCAAACGGCCACTATTCAAGGGGACAGAGTGGCAGATGTGATTGAGAGCTCTATAGGAGATAG
TGTGAGTAAGGCCCTCACCAAGCTTTACCTGCACCCACAGGCCAAACACCCAAGTGAGCAGTCATCGCTTA
GACACTGGAAAAGTACCAGCACTTCAAGCCGCCGAAATCGGAGCTTCGTGCAATGCTAGTGATGAGAGTATGA
TTGAGACTCGGTGTGTTCTTAACTCACATAGCACAGCTGAAACCACCCCTTGATAGTTTCTTCACTAGAGCAGG
CTTAGTTGGGGAGATAGATCTTCTCTAAAGGGCACCACCAATCCGAACGGGTATGCCAACTGGGACATAGAC
ATAACCGGTTATGCGCAGATGCGCAGAAAAGTGAAGTATTCACCTATATGCGCTTTGACGCAGAGTTCACTT
TTGTGCGGTGCACACCTACCGGAGAGGTGCTTCCACAGCTGCTTCAATACATGTTTGTTCACCCGGGGCCCC
CAAACAGACTCCAGAGACTCTTTGGCTTGGCAAACGGCCACGAACCCCTCAGTTTTTGTCAAATTTATCCGAC
CCACCAGCACAAGTCTCAGTGCCATTTATGTACCTGCAAGCGCATACCAATGGTTTTATGACGGATACCCTA
CATTTGGAGAGCACAAGCAAGAGAAGGATCTCGAGTATGGGGCATGCCGAATAACATGATGGGCACATTCTC

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 7

AGTGCGGACTGTGGGATCGTCACAGTCAAAATATCCCTTAGTCATCAGAATATACATGAGAATGAAGCACGTC
 AGAGCGTGGATACCTCGGCCGATGCGCAATCAGAACTATTTGTTCAAATCCAACCCAACTATGCTGGTAATT
 CCATTAAACCAACTGGTACCAGCCGAACGGCAATCACTACGCTCGGGAAATTCGGTCAGCAGTCTGGGGCTAT
 TTATGTGGGCAACCTTAGGGTAGTAAACAGACACCTAGCCACCCATACTGACTGGGCCAACTTGGTGTGGGAA
 GACAGCTCTAGAGACCTCCTAGTTTTCTTCAACTACCGCTCAAGGGTGTGACACCATTGCTCGATGTAAGTACC
 AAACCGGAGTGTATTACTGTAACTCTCGCAGAAAACACTATCCAGTCAGTTTTTTCGAAACCTAGTTTTGGTGT
 TGTAGAAGCTAGTGAGTATTATCCAGCTAGATATCAGTCCCATCTTATGCTTGCTGAGGGCCATTGAGAACCT
 GGTGATTGTGGCGGTATTCTTAGATGCCAACACGGTGTGGTGGGAATTGTCTCCACTGGCGGAAGTGGCCTTG
 TGGGATTTGCTGACGTTAGAGATCTTCTGTGGCTAGATGAGGAAGCGATGGAGCAGGGGGTATCTGATTACAT
 CAAAGGTCTCGGTGATGCCTTCGGCACAGGTTTCACTGACGCAGTGTCTAGGGAAGTGAAGCGTTGAAGAAC
 CACTTAATCGGCTCCGAAGGGGTGTTGAGAAGATCTTGAAGAAGTGGTGAAGCTAATTTTCAGCCTTAGTTA
 TAGTCATCAGAAGTGATTATGATATGGTCACCTCACAGCCACACTAGCTCTGATCGGGTGCCACGGGAGTCC
 TTGGGCGTGGATCAAATCAAAGACAGCTTCCATACTGGGCATTCCCATGGCACAAAACAGAGTGCCTCATGG
 CTAAAGAAGTTCAATGACATGGCAAATGCTGCAAAAGGGCTTGAGTGGATTTCCAACAAGATCAGTAAGTTCA
 TTGACTGGCTTAAAGAGAAGATCATTCCAGCTGCCAAAGAGAAAGTTGAGTTTTTGAACAACCTAAAACAGCT
 CCCCTTGTGGAGAACCAGGTCTCCAATCTTGAACAGTCTGCTGCCTCACAAGAAGACTTAGAAGCTATGTTT
 GGTAATGTGTATATCTGGCTCACTTTTGCCGCAAATCCAACCACTCTACGCAACTGAGGCCAAGAGAGTCT
 ACGCTTTAGAGAAAAGGATGAATAACTACATGCAGTTCAAGAGCAAACACCGTATTGAACCTGTATGCTTGAT
 CATCAGAGGTTCCCCAGGAACGGGCAAATCGCTCGCCACAGGCATTATAGCTAGAGCCATTGCTGACAAGTAT
 CGCTCTAGTGTATACTCACTCCCCCAGACCCAGATCACTTTGATGGGTATAAGCAACAGGTGGTCACGGTCA
 TGGATGATCTCTGCCAGAACC CGGACGGAAAAGACATGTCCCTATTTTGTCAAATGGTTTCTACAGTAGATTT
 TATACCACCCATGGCATCACTAGAGGAGAAAGGAGTGTCTTCACTCTAAGTTTGTCAATTGCATCGACCAAT
 GCTAGTAACATCATAGTCCCCACAGTTTTCAGATTGAGATGCAATTCGCAGGCGATTCTATATGGACTGCGATA
 TAGAAGTGACAGATTCTTACAAGACAGACCTCGGTGCGCTGGACGCAGGTAGAGCTGCCAAGCTTTGTACAGA
 AAATAACACTGCTAATTTTCAAGAGATGCAGCCCACTGGTGTGTGGTAAGGCTATTTCAGCTGAGAGACAGGAAG
 TCCAAAGTGAGATATAGCGTCGACACCGTGGTATCGGAACTGATCAGAGAGTACAACAATAGATCTGCTATTG
 GGAATACTATAGAAGCACTCTTTCAAGGACCCCTAAATTCAGGCCTATAAGAATTAGTCTCGAAGAAAAGCC
 AGCCCCAGATGCCATTGGTGAATTTGCTCGCTAGTGTGATAGCGAGGAGGTCCGACAGTACTGCAGGGAACAA
 GGGTGGATAATCCCGGAAACACCAACTAATGTGGAACGTCACTCAATAGAGCAGTATTGGTAATGCAGTCCA
 TCGCCACTGTGGTTGCAGTTGTGTCTCTTGTGTTATGTCAATTTATAAGCTGTTTGCCGGGTTCCAGGGTGCTTA
 CTCTGGAGCGCCCAAGCAAATTTCTCAAGAAGCCCGTGTAAAGAACAGCCACGGTCCAAGGGCCAGCTTAGAC
 TTCGCTTGTCTCTTTTTGAGGCGCAACATTAGACAAGCGCAAACCTGACCAAGGACACTTACCATTGCTAGGAG
 TGCGAGATCGCCTAGCCATCCTGCCGCGCCACTCGCAACCAGGGAAGACCATCTGGGTAGAGCATAAATTAAT
 CAATGTACTAGATGCAGTTGAGTTGGTGGATGAGCAAGGTGTAAACTTGGAACCTCACACTGGTAACCTTTGGAC
 ACCAATGAAAAATTTAGGGATATCACCAGTTTATCCCAGAAAGTATCACCAGGGGCGAGTGACGCAACTCTAG
 TCATCAACACTGAGCACATGCCCTCAATGTTTGTGCCGGTGGGTGACGTTGTGCAGTACGGGTTTCTGAACCT
 TAGTGGTAAACCCACACACAGAACCATGATGTATAACTTCCCCACGAAGGCAGGACAGTGTGGGGGGGTGGTT
 ACCTCAGTTGGTAAGATCATTGGAATCCACATTGGCGGGAATGGACGCCAGGGCTTTTTCGCTGCGCTAAAGA
 GGAGTTATTTTTCGAGCGAGCAAGGAGAGATCCAGTGGATGAAGCCTAACAGAGAAACCGGGAGGTTGAATAT
 TAATGGTCCAACCCGAACTAAGCTGGAACCCAGTGTATTCCATGATGTGTTTCGAGGGCAACAAGGAACAGCG
 GTCCTGACTAGTAAGGACCCAGACTTGAGGTTGATTTTGTGCAAGCTTTGTTCTCAAGTATGTGGGTAACA
 CCCTGCATGAACCTGATGAGTACGTGACACAGGCTGCTCTCCACTACGCAATCAGCTGAAGCAACTGGACAT
 CAACACCAGCAAGATGAGCATGGAAGAAGCGTGCTATGGCACAGAATATTTAGAAGCTATAGACTTGCACACC
 AGTGCTGGATACCCCTTATAGTGCTTTGGGCATCAAGAAAAGAGACATCCTCGACCCAGTTACCAGAGACACCT
 CCAGGATGAAGTTATATATGATAAGTATGGGTTGGACTTGCCTTATTCCACTTATGTAAAGGATGAGCTTAG
 ATCTCTAGATAAGATCAGAAAAGGAAGTCTCGCCTGATTGAGGCTAGCAGCTTAAATGATTCTGTCTACCTT

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 7 (CONTINÚA)

AGAATGACTTTTGGACACCTTTATGAAGTGTTTCACGCCAACCCAGGGACTGTAACAGGATCTGCAGTTGGGT
 GCAACCTTGATGTATTTTGGAGCAAGTTACCAATTTTGTACCGGGTTCACTCTTTGCATTTGACTACTCAGG
 ATATGATGCAAGCCTTAGTCCTGTGTGGTTTCAGAGCTCTAGAGTTGGTTCTGAGAGAGATCGGTTACTCGGAG
 GAGGCTGTGTCACTCATAGAAGGGATCAATCACACCCACCACGTGTACCGAAACAAGACATATTGTGTACTTG
 GTGGAATGCCCTCAGGCTGCTCCGGTACTTCCATTTTCAATTCCATGATTAACAACATAATCATCAGAACCCT
 CCTGATTAAAAATTCAAAGGTATAGACTTAGATGAGCTGAAAATGGTAGCTTATGGAGATGACGTGTTGGCC
 AGCTACCCGTTTCTATTGATTGCTTGAATTGGCTAAAAACAGGCAAAGAATATGGGCTGACTATGACTCCTG
 CTGATAAATCACCTTGTTTCAATGAGGTTACCTGGGAGAATGCAACCTTCTTAAAAACGCGGTTTTCTACCGGA
 CCATCAGTTCCCTTTTCTGATCCATCCCACTATGCCCATGAGGGAAATCCATGAGTCCATCCGCTGGACCAAG
 GACGCGCGCAATACTCAAGATCATGTGCGCTCCCTTTGTCTCTGGCATGGCATAATGGAAGAGGAGTATG
 AGAAATTTGTGAGTACAATTAGATCAGTCCCCATTGGAAGGGCTTTAGCAATACCAAATTTTGAGAACTTGAG
 AAGAAATTGGCTCGAGTTATTTTAACTTACAGCTCAATGCTGAACCCACCAGAAATCTGGTCGTGTCAATG
 ACTGGTGGGGGTAAATTTGTTATAACCAGAAATAGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGGCCGG
 CATGGTCCAGCCTCCTCGCTGGCGCCGGCTGGGCAACATTCCGAGGGGACCGTCCCTCGGTAATGGCGAAT
 GGGACGAATTCTGAACAGTCTTAAACGAGTAAATAGGACCGGCAATTCTTCAAGCAATAAACAGGAATACC
 AATTATTAAAAAGATAACTTAGTCAGATCGTACAATAAAGCTTTGAAGAAAAATGCGCCTTATTCAATCTTTGC
 TATAAAAAATGGCCCCAAATCTCACATTGGAAGACATTTGATGACCTCATTTCTTTCAATGAAGGGCCTAACG
 GAGTTGACTAATGTTGTGGGAAATTGGAGCGATAAGCGTGCTTCTGCCGTGGCCAGGACAACGTATACTCATC
 AGATAACAGCAATACCTGATCACTACTTTCGCACTAGTTTCTCGGTACTATGCATATGATCCAATATCAAAGGA
 AATGATAGCATTGAAGGATGAGACTAATCCAATTGAGGAGTGGCAGCATATAGAACAGCTAAAGGGTAGTGCT
 GAAGGAAGCATACGATACCCCGCATGGAATGGGATAATATCACAGGAGGTACTAGACTACCTTTTCATCTACA
 TAAATAGACGCATATAAGTACGCATTTAAGCATAAACACGCACTATGCCGTTCTTCTCATGTATATATATATA
 CAGGCAACACGCAGATATAGGTGCGACGTGAACAGTGAGCTGTATGTGCGCAGCTCGCGTTGCATTTTCGGAA
 GCGCTCGTTTTCGGAAACGCTTTGAAGTTCCTATTCCGAAGTTCCTATTCTCTAGAAAGTATAGGAACCTCAG
 AGCGCTTTTGA AAAACCAAAGCGCTCTGAAGACGCACTTTCAAAAAACCAAACGCAACCGGACTGTAACGAG
 CTACTAAAAATATTGCGAATACCGCTTCCACAAACATTGCTCAAAAGTATCTCTTTGCTATATATCTCTGTGCT
 ATATCCCTATATAACCTACCCATCCACCTTTTCGCTCCTTGAACCTTGATCTAAACTCGACCTCTACATTTTTTT
 ATGTTTATCTCTAGTATTACTCTTTAGACAAAAAATTGTAGTAAGAACTATTCTAGAGTGAATCGAAACA
 ATACGAAATGTAAACATTTCTTATACGTAGTATATAGAGACAAAATAGAAGAAACCGTTTCAATTTTCTGA
 CCAATGAAGAAATCATCAACGCTATCACTTTCTGTTTCAAAAGTATGCGCAATCCACATCGGTATAGAATATAA
 TCGGGGATGCCTTTATCTTGAAAAAATGCACCCGAGCTTCGCTAGTAATCAGTAAACGCGGGAAGTGGAGTC
 AGGCTTTTTTTTATGGAAGAGAAAAATAGACACCAAAGTAGCCTTCTTCTAACCTTAACGGACCTACAGTGCAA
 AAGTTATCAAGAGACTGCATTATAGAGCGCACAAAGGAGAAAAAAGTAATCTAAGATGCTTTGTTAGAAAA
 TAGCGCTCTCGGGATGCATTTTTTGTAGAACAAAAAAGAAGTATAGATTCTTTGTTGGTAAATAGCGCTCTCG
 CGTTGCATTTCTGTTCTGTAAAAATGCAGCTCAGATTCTTTGTTTGA AAAATTAGCGCTCTCGCGTTGCATTT
 TTGTTTTACAAAAATGAAGCACAGATTCTTCGTTGGTAAAAATAGCGCTTTTCGCGTTGCATTTCTGTTCTGTAA
 AAATGCAGCTCAGATTCTTTGTTTGA AAAATTAGCGCTCTCGCGTTGCATTTTTTGTCTACAAAATGAAGCAC
 AGATGCTTCGTTAACAAAGATATGCTATTGAAGTGCAAGATGGAAACGCAGAAATGAACCGGGGATGCGACG
 TGCAAGATTACCTATGCAATAGATGCAATAGTTTCTCCAGGAACCGAAATACATACATTGTCTTCCGTAAAGC
 GCTAGACTATATATTATTATACAGGTTCAAATATACTATCTGTTTTCAGGGAAAACTCCAGGTTCCGATGTTT
 AAAATTCAATGATGGGTAACAAGTACGATCGTAAATCTGTAAAAACAGTTTGTGCGATATTAGGCTGTATCTCC
 TCAAAGCGTATTCGAATATCATTGAGAAGCTGCAGGCAAGTGCAACAACAATACTTAAATAAATACTACTCAG
 TAATAACCTATTTCTTAGCATTTTTTGACGAAATTTGCTATTTTGTAGAGTCTTTTACACCATTTGTCTCCAC
 ACCTCCGCTTACATCAACACCAATAACGCCATTTAATCTAAGCGCATCACCAACATTTTCTGGCGTCAGTCCA
 CCAGCTAACATAAAATGTAAGCTTTTCGGGGCTCTCTTGCTTCCAACCCAGTCAGAAATCGAGTTCCAATCCA
 AAAGTTCACCTGTCCACCTGCTTCTGAATCAACAAGGGAATAAACGAATGAGGTTTCTGTGAAGCTGCACT

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 7 (CONTINÚA)

GAGTAGTATGTTGCAGTCTTTTGGAAATACGAGTCTTTTAATAACTGGCAAACCGAGGAACCTTTGGTATTCT
 TGCCACGACTCATCTCCATGCAGTTGGACGATATCAATGCCGTAAATCATTGACCAGAGCCAAAACATCCTCCT
 TAGGTTGATTACGAAACACGCCAACCAAGTATTTTCGGAGTGCCTGAACTATTTTTATATGCTTTTACAAGACT
 TGAAATTTTCTTGCATAAACCGGGTCAATTGTTCTCTTTCTATTGGGCACACATATAATACCCAGCAAGTCA
 GCATCGGAATCTAGAGCACATTCTGCGGCCCTCTGTGCTCTGCAAGCCGCAAACCTTTACCAATGGACCAGAAC
 TACCTGTGAAATTAATAACAGACATACTCCAAGCTGCCCTTGTGTGCTTAATCACGTATACTCACGTGCTCAA
 TAGTCACCAATGCCCTCCTCTTGGCCCTCCTCCTTTTCTTTTTTCGACCGCTAGCGTCGACAGCGACACACT
 TGCATCGGATGCAGCCCGGTTAACGTGCCGGCACGGCCTGGGTAAACCAGGTATTTTTGTCCACATAACCGTGCG
 CAAAATGTTGTGGATAAGCAGGACACAGCAGCAATCCACAGCAGGCATACAACCGCACACCGAGGTACTCCG
 TTCTACAGGTTACGACGACATGTCAATACTTGCCCTTGACAGGCATTGATGGAATCGTAGTCTCACGTGATA
 GTCTGATCGACAATACAAGTGGGACCGTGGTCCCAGACCGATAATCAGACCGACAACACGAGTGGGATCGTGG
 TCCCAGACTAATAATCAGACCGACGATACGAGTGGGACCGTGGTCCCAGACTAATAATCAGACCGACGATACG
 AGTGGGACCGTGGTTCCAGACTAATAATCAGACCGACGATACGAGTGGGACCGTGGTCCCAGACTAATAATCA
 GACCGACGATACGAGTGGGACCATGGTCCCAGACTAATAATCAGACCGACGATACGAGTGGGACCGTGGTCCC
 AGTCTGATTATCAGACCGACGATACGAGTGGGACCGTGGTCCCAGACTAATAATCAGACCGACGATACGAGTG
 GGACCGTGGTCCCAGACTAATAATCAGACCGACGATACGAGTGGGACCGTGGTCCCAGTCTGATTATCAGACC
 GACGATACAAGTGGAAACAGTGGGCCCAGAGAGAAATATTCAGGCCAGTTATGCTTTCTGGCCTGTAACAAAGGA
 CATTAAAGTAAAGACAGATAAACGTAGACTAAAACGTGGTCCGATCAGGGTGTGGCTTTTCAAGTTCCTTAAG
 AATGGCCTCAATTTTCTCTATACACTCAGTTGGAACACGGGACCTGTCCAGGTTAAGCACCATTTTATCGCCC
 TTATACAATACTGTGCTCCAGGAGCAAACTGATGTCTGTGAGCTTAACTAGTTCTTGATGCAGATGACGTTT
 TAAGCACAGAAGTTAAAGAGTGATAACTTCTTCAGCTTCAAATATCACCCCAGCTTTTTTCTGCTCATGAAG
 GTTAGATGCCTGCTGCTTAAGTAATTCCTCTTTATCTGTAAAGGCTTTTTTGAAGTGCATCACCTGACCGGGCA
 GATAGTTTACCGGGGTGAGAAAAAAGAGCAACAACCTGATTTAGGCAATTTGGCGGTGTTGATACAGCGGGTAA
 TAATCTTACGTGAAATATTTTCCGCATCAGCCAGCGCAGAAATATTTCCAGCAAATTCATTCTGCAATCGGCT
 TGCATAACGCTGACCACGTTTATAAGCACTTGTGGGCGATAATCGTTACCCAATCTGGATAATGCAGCCATC
 TGCTCATCATCCAGCTCGCCAACCAGAACACGATAATCACTTTCCGTAAGTGCAGCAGCTTTACGACGGCGAC
 TCCCATCGGCAATTTCTATGACACCAGATACTCTTCGACCGAACGCCGGTGTCTGTTGACCAGTCAGTAGAAA
 AGAAGGGATGAGATCATCCAGTGCGTCTCAGTAAGCAGCTCCTGGTCACGTTTATTACCTGACCATACCCGA
 GAGGTCTTCTCAACACTATCACCCCGGAGCACTTCAAGAGTAACTTCACATCCCAGACACATACAGGCAAAG
 TAATGGCATTACCGCGAGCCATTACTCTACGCGCGCAATTAACGAATCCACCATCGGGGACGCTGGTGTGCA
 TAACGAAGTATCTTCAACCGGTTGAGTATTGAGCGTATGTTTTGGAATAACAGGCGCACGCTTCATTATCTAA
 TCTCCCAGCGTGGTTTTAATCAGACGATCGAAAAATTTCAATTGCAGACAGGTTCCCAAATAGAAAGAGCATTTCT
 CCAGGCACCAGTTGAAGAGCGTTGATCAATGGCCTGTTCAAAAAACAGTTCTCATCCGGATCTGACCTTTACCA
 ACTTCATCCGTTTACGTTACAAACATTTTTTTAGAACCATGCTTCCCCAGGCATCCCGAATTTGCTCCTCCATCC
 ACGGGGACTGAGAGCCATTACTATTGCTGTATTTGGTAAGCAAAATACGTACATCAGGCTCGAACCCTTTAAG
 ATCAACGTTCTTGAGCAGATCACGAAGCATATCGAAAACTGCAGTGCAGGAGGTGTAGTCAAACAACCTCAGCA
 GCGGTGGGAACAATCAGCACATCAGCAGCACATACGACATTAATCGTGCCGATACCCAGGTTAGGCGCGCTGT
 CAATAACTATGACATCATAGTCATGAGCAACAGTTTCAATGGCCAGTCGGAGCATCAGGTGTGGATCGGTGGG
 CAGTTTACCTTCATCAAATTTGCCCATTAACCTCAGTTTCAATACGGTGACAGGCCAGACAGGAAGGAATAATG
 TCAAGCCCCCGCCAGCAAGTGGGCTTTATTGCATAAGTGACATCGTCTTTTCCCCAAGATAGAAAGGCAGGA
 GAGTGTCTTCTGCATGAATATGAAGATCTGGTACCCATCCGTGATACATTGAGGCTGTTCCCTGGGGGTCTGTT
 ACCTTCCACGAGCAAAACACGTAGCCCCCTCAGAGCCAGATCCTGAGCAAGATGAACAGAACTGAGGTTTTG
 TAAACGCCACCTTTATGGGCAGCAACCCCGATCACCGGTGGAAATACGTCTTCAGCACGTCGCAATCGCGTAC
 CAAACACATCAGCATATGATTAATTTGTTCAATGTATAACCAACACGTTGCTCAACCCGTCCTCGAATTTTC
 CATATCCGGGTGCGGTAGTCGCCCTGCTTTCTCGGCATCTCTGATAGCCTGAGAAGAAACCCCAACTAAATCC
 GCTGCTTACCTATTCTCCAGCGCCGGGTATTTTCTCGCTTCCGGGCTGTATCATTAACCTGTGCAATGG

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 7 (CONTINÚA)

CGATAGCCTTCGTCATTTTCATGACCAGCGTTTATGCACTGGTTAAGTGTTTTCATGAGTTTCATTCTGAACAT
 CCTTTAATCATTTGCTTTGCGTTTTTTTTATTAAATCTTGCAATTTACTGCAAAGCAACAACAAAATCGCAAAGT
 CATCAAAAAACCGCAAAGTTGTTTAAAAATAAGAGCAACACTACAAAAGGAGATAAGAAGAGCACATACCTCAG
 TCACTTATTATCACTAGCGCTCGCCGCGAGCCGTGTAACCGAGCATAGCGAGCGAACTGGCGAGGAAGCAAAGA
 AGAACTGTTCTGTGATAGCTCTTACGCTCAGCGCAAGAAGAAATATCCACCGTGGGAAAAACTCCAGGTAG
 AGGTACACACGCGGATAGCCAATTCAGAGTAATAAACTGTGATAATCAACCCTCATCAATGATGACGAACATA
 CCCCCGATATCAGGTCACATGACGAAGGGAAAGAGAAGGAAATCAACTGTGACAACTGCCCTCAAATTTGGC
 TTCCTTAAAAATTACAGTTCAAAAAGTATGAGAAAATCCATGCAGGCTGAAGGAAACAGCAAACTGTGACAA
 ATTACCCTCAGTAGGTCAGAACAAATGTGACGAACCACCCTCAAATCTGTGACAGATAACCCTCAGACTATCC
 TGTCGTCATGGAAGTGATATCGCGGAAGGAAAATACGATATGAGTCGTCTGGCGGCCTTTCTTTTTCTCAATG
 TATGAGAGGCGCATTTGGAGTTCTGCTGTTGATCTCATTAACACAGACCTGCAGGAAGCGGCGGCGGAAGTCAG
 GCATACGCTGGTAACTTTGAGGCAGCTGGTAACGCTCTATGATCCAGTCGATTTTCAGAGAGACGATGCCTGA
 GCCATCCGGCTTACGATACTGACACAGGGATTTCGTATAAACGCATGGCATACGGATTGGTGATTTCTTTTGGT
 TCACTAAGCCGAACTGCGTAAACCGGTTCTGTAACCCGATAAAGAAGGGAATGAGATATGGGTTGATATGTA
 CACTGTAAAGCCCTCTGGATGGACTGTGCGCACGTTTGATAAACCAAGGAAAAGATTTCATAGCCTTTTTCATC
 GCCGGCATCCTCTTCAGGGCGATAAAAAACCCTTCTTCCCGCGAAACTCTTCAATGCCTGCCGTATATCC
 TTACTGGCTTCCGCAGAGGTCAATCCGAATATTTTCAGCATATTTAGCAACATGGATCTCGCAGATACCGTCAT
 GTTCTGTAGGGTGCCATCAGATTTTCTGATCTGGTCAACGAACAGATACAGCATACGTTTTTGTATCCCGGGA
 GAGACTATATGCCGCTCAGTGAGGTCGTTTGACTGGACGATTTCGCGGGCTATTTTTACGTTTCTTGTGATTG
 ATAACCGCTGTTTCCGCCATGACAGATCCATGTGAAGTGTGACAAGTTTTTAGATTGTACACTAAATAAAAA
 AGAGTCAATAAGCAGGGATAACTTTGTGAAAAAACAGCTTCTTCTGAGGGCAATTTGTACAGGGTTAAGGGC
 AATTTGTACAGACAGGACTGTCAATTTGAGGGTGATTTGTACACTGAAAGGGCAATTTGTACAAACACCTTC
 TCTAGAACCAGCATGGATAAAGGCCCTACAAGGCGCTCTAAAAAAGAAGATCTAAAAACTATAAAAAAATAAT
 TATAAAAAATATCCCCGTGGATAAGTGGATAACCCCAAGGGAAGTTTTTTTCAGGCATCGTGTGTAAGCAGAATA
 TATAAGTGCTGTTCCCTGGTGCTTCCCTCGCTCACTCGACCGGGAGGGTTTCGAGAAGGGGGGGCACCCCCCTTC
 GGCGTGCGGGTCACGCGCACAGGGCGCAGCCCTGGTTAAAAACAAGGTTTATAAATATTGGTTTAAAGCAG
 GTTAAAAAGACAGGTTAGCGGTGGCCGAAAAACGGGCGGAAACCCTTGCAAATGCTGGATTTTCTGCCTGTGGA
 CAGCCCCCTCAAATGTCAATAGGTGCGCCCCCTCATCTGTGAGCACTCTGCCCCCTCAAGTGTCAAGGATCGCGCC
 CCTCATCTGTGATAGTCGCGCCCCCTCAAGTGTCAATACCGCAGGGCACTTATCCCCAGGCTTGTCCACATCA
 TCTGTGGGAACTCGCGTAAAAATCAGGCGTTTTTCGCCGATTTGCGAGGCTGGCCAGCTCCACGTCGCCGGCCG
 AAATCGAGCTGCCCTCATCTGTCAACGCCGCGCCGGGTGAGTCGGCCCCCTCAAGTGTCAACGTCCGCCCT
 CATCTGTGAGTGAGGGCAAGTTTTCCGCGAGGTATCCACAACGCCGGCGGGCGGGCGGGTGTCTCGCACAC
 GGCTTCGACGGCGTTTCTGGCGCGTTTGCAGGGCCATAGACGGCCGCCAGCCAGCGGCGAGGGCAACCAGCC
 GAGGGCTTCGCCCTGTGCTCGACTGCGGCGAGCACTACTGGCTGTAAAAGGACAGACCACATCATGGTTCTG
 TGTTCAATTAGGTTGTTCTGTCCATTGCTGACATAATCCGCTCCACTTCAACGTAACACCGCACGAAGATTTCT
 ATTGTTCTGAAGGCATATTCAAATCGTTTTTCGTTACCGCTTGAGGCATCATGACAGAACTACTTCCCTAT
 AAACGCTACACAGGCTCCTGAGATTAATAATGCGGATCTCTACGATAATGGGAGATTTTCCCGACTGTTTCGT
 TCGCTTCTCAGTGGATAACAGCCAGCTTCTCTGTTTAAACAGACAAAAACAGCATATCCACTCAGTTCCACATT
 TCCATATAAAGGCCAAGGCATTTATTCTCAGGATAAATTGTTTCAGCATCGCAACCGCATCAGACTCCGGCATC
 GCAAACTGCACCCGGTGCCGGGCAGCCACATCCAGCGCAAAAACCTTCGTGTAGACTTCCGTTGAACTGATGG
 ACTTATGTCCCATCAGGCTTTGCAGAACTTTTCAGCGGTATACCGGCATACAGCATGTGCATCGCATAGGAATG
 GCGGAACGTATGTTGTGACCGGAACAGAGAACGTACACCGTCAGCAGCAGCGGCGGCAACCGCTCCCCA
 ATCCAGGTCCTGACCGTTCTGTCCGTCACTTCCCAGATCCGCGCTTTCTCTGTCTTCTGTGCGACGGTTAC
 GCCGCTCCATGAGCTTATCGCGAATAAATACCTGTGACGGAAGATCACTTCGCAGAATAAATAAATCCTGGTG
 TCCCTGTTGATACCGGAAGCCCTGGGCAACTTTTGGCGAAAATGAGACGTTGATCGGCACGTAAGAGGTTT
 CAACTTTCACCATAATGAAATAAGATCACTACCGGGCGTATTTTTTGTAGTTATCGAGATTTTCAGGAGCTAAG

FIGURA 13 (CONTINÚA) - SEQ ID NO 7 (CONTINÚA)

GAAGCTAAAATGGAGAAAAAATCACTGGATATACCACCGTTGATATATCCCAATGGCATCGTAAAGAACATT
 TTGAGGCATTTTCAGTCAGTTGCTCAATGTACCTATAACCAGACCGTTCAGCTGGATATTACGGCCTTTTAA
 GACCGTAAAGAAAAATAAGCACAAGTTTTATCCGGCCTTTATTACATTCTTGCCCGCCTGATGAATGCTCAT
 CCGGAATTTTCGTATGGCAATGAAAGACGGTGAGCTGGTGATATGGGATAGTGTTACCCCTTGTTACACCGTTT
 TCCATGAGCAAACCTGAAACGTTTTTCATCGCTCTGGAGTGAATACCACGACGATTTCCGGCAGTTTCTACACAT
 ATATTCGCAAGATGTGGCGTGTTACGGTGAAAACCTGGCCTATTTCCCTAAAGGGTTTATTGAGAATATGTTT
 TTCGTCTCAGCCAATCCCTGGGTGAGTTTCACCAGTTTGTGATTTAAACGTGGCCAATATGGACAACCTCTTCG
 CCCCCGTTTTTCACCATGGGCAAATATTATACGCAAGGCGACAAGGTGCTGATGCCGCTGGCGATTTCAGGTTCA
 TCATGCCGTTTGTGATGGCTTCCATGTCGGCAGAATGCTTAATGAATTACAACAGTACTGCGATGAGTGGCAG
 GCGGGGGCGTAATTTTTTTTAAGGCAGTTATTGGTGCCCTTAAACGCCTGGTTGCTACGCCTGAATAAGTGATA
 ATAAGCGGATGAATGGCAGAAATTCGATGATAAGCTGTCAAACATGAGAATTGGTCGACCCTGTGGAATGTGT
 GTCAGTTAGGGTGTGGAAAGTCCCCAGGCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAAGCATGCATCTCAATTAGTC
 AGCAACCAGGTGTGGAAAGTCCCCAGGCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAAGCATGCATCTCAATTAGTCA
 GCAACCATAGTCCCGCCCCCTAACTCCGCCCATCCCGCCCCCTAACTCCGCCCAGTTCCGCCCATTCTCCGCCCC
 ATGGCTGACTAATTTTTTTTTTATTTATGTCAGAGGCCGAGGCCGCCTC

SEQ ID NO 7 (CONTINÚA)

FIGURA 13 (CONTINÚA)