



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 206 551**

⑤① Int. Cl.7: **C12Q 1/68**

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑧⑥ Número de solicitud: **96420293 .1**

⑧⑥ Fecha de presentación: **17.09.1996**

⑧⑦ Número de presentación de la solicitud: **0763602**

⑧⑦ Fecha de publicación de la solicitud: **19.03.1997**

⑤④ Título: **Detección de enterobacterias.**

③⑩ Prioridad: **18.09.1995 FR 95 11125**

④⑤ Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.05.2004

④⑤ Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.05.2004

⑦③ Titular/es: **BIO MERIEUX**
chemin de l'Orme
69280 Marcy l'Etoile, FR
Université de la Méditerranée AIX-Marseille II

⑦② Inventor/es: **Mabilat, Claude y**
Raoult, Didier

⑦④ Agente: **Isern Jara, Jorge**

ES 2 206 551 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

Detección de enterobacterias.

5 La presente invención, se refiere al sector de las técnicas de detección y/o de amplificación, con la ayuda de sondas o de cebadores oligonucleótidos, y su aplicación a la investigación de la presencia o a la identificación de las bacterias del género *enterobacteriaceae*.

10 En el ámbito de ciertos tests de ensayos de diagnóstico, especialmente, en el momento de la investigación o búsqueda de infección septicémica, o en el sector alimentario, es a menudo necesario el obtener una respuesta rápida que concierna a la presencia de bacterias, de una forma particular, de bacterias gram negativas y, de una forma más precisa, de enterobacterias, en una muestra. De todos modos, las técnicas corrientemente desarrolladas (coloración de Gram, identificación bioquímica,...), necesitan una etapa previa de cultivo, a menudo, en condiciones muy específicas (hemocultivo, por ejemplo), debido a la débil proporción de partículas bacterianas presentes en la muestra de partida.

15 Una solución posible, reside en la utilización de técnicas relativas a los ácidos nucleicos y al material genético, con el fin de determinar si un gen, una parte de un gen, o una secuencia nucleótida, se encuentra presente en un organismo vivo, un extracto celular de este organismo o una muestra. Dado el hecho de que, todo gen o parte del gen se caracteriza por una secuencia específica de bases nucleótidas (nucleotídicas), es por lo tanto posible el buscar directamente la presencia de la totalidad o parte de la citada secuencia específica que contiene una mezcla de polinucleótidos.

20 En la bibliografía especializada, se describen diferentes métodos de detección de ácidos nucleicos. Estos procedimientos, se basan en las propiedades de apareamiento purina-pirimidina de las hebras complementarias de ácidos nucleicos en los dúplex ADN-ADN, ADN-ARN y ARN-ARN. Este proceso de apareamiento, se efectúa mediante el establecimiento de enlaces hidrógeno entre las bases adenina-timina (A-T), y guanina-citosina (G-C) del ADN de doble hebra; pueden también formarse pares de bases adenina-urecilo (A-U), mediante el enlace del hidrógeno en los dúplex ADN-ARN o ARN-ARN. El apareamiento de las hebras de ácido nucleico mediante la determinación de la presencia o de la ausencia de una molécula de ácido nucleico dada, se denomina comúnmente “hibridación de ácidos nucleicos” o, simplemente, “hibridación”.

30 En concordancia con la presente invención, se han identificado de nuevo, marcadores genéticos que permiten la detección específica de bacterias que pertenecen a la familia de los enterobactericidas, en toda muestra, no siendo necesaria ninguna etapa previa de cultivo bacteriano. La presente invención, se basa también en la utilización de secuencias nucleicas específicamente definidas en el género *rpoB*, que codifica para una de las sub-unidades de la ARN polimerasa bacteriana.

35 Según Lazcano y colegas, 1988, las ARN polimerasas, se dividen en dos grupos, según su origen, estando uno de ellos constituido por las ARN polimerasas víricas ARN- o ADN- dependientes, de origen eucariota, o procarioria (arqueobacterias o eubacterias). Las ARN-polimerasas ADN-dependientes eubacterianas, se caracterizan por una constitución multimérica simple y conservada, designada como “core enzyme” (enzima núcleo), simbolizada por $\alpha\beta\beta'$ u “holoenzima” (enzima completa), simbolizada por $\alpha\beta\beta'\alpha'$ [Burgess y colegas., J. Biochem. (1969) 244:6168-6176; Chamberlin, Ann. Rev. Biochem. (1974) 43:721-775; Yura and Ishihama, Ann. Rev. Genet. (1979) 13:59-97; Sentenac, CRC-Crit. Rev. Biochem. (1985) 18(1):31-90]. Numerosos trabajos que se han llevado a cabo, han evidenciado el rol interpretativo funcional, en el seno del complejo enzimático multimérico, de la sub-unidad β de la ARN polimerasa eubacteriana. Las ARN polimerasas arqueobacteriana y eucariota, presentan, por una parte, una estructura más completa que puede alcanzar una decena, o incluso un treintena de sub-unidades (Pühler y colegas.- Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1989) 86:4569-4573; Sentenac, CRC-Crit. Rev. Biochem. (1985) 18 (1):31-90].

50 Los genes que codifican para las diferentes sub-unidades de la ARN polimerasa ADN-dependiente en las eubacterias, respectivamente, *rpoA*, *rpoB*, *rpoC*, y *rpoD* para las $\alpha\beta\beta'\alpha'$, se reagrupan en diferentes segmentos que comprenden genes que codifican para las proteínas constitutivas de las sub-unidades ribosómicas o para enzimas implicadas en la replicación y la repartición del genoma (Yura e Yshihama, Ann. Rev. Genet. (1979) 13:59-97). Ciertos actores, han mostrado el hecho de que, las secuencias nucleicas de los genes *rpoB*, *rpoC*, pueden utilizarse con el fin de construir árboles filogenéticos [Lazcano y colegas, H. Mol. Evol. (1988) 27:365-376 ; Zilling y colegas., Can. J. Microbiol. (1989) 35:73-80; Rowland y colegas., Biochem. Soc. Trans. (1992) 21:40S], que permiten separar las diferentes ramificaciones y sub-ramificaciones, entres los reinos de los entes vivientes. Además, se ha podido demostrar, en las eubacterias, el hecho de que, la sub-unidad β constituye la molécula diana de las rifamicinas (de entre las cuales, la rifampicina), las estreptovaricinas y de la estreptolidigina [Kumar y Chatterji, Biochemistry (1990) 29:317-322; Kumar y colegas, Biochemistry (1992) 31:7519-7526] y que, el gen *rpoB*, constituye el soporte genético de la resistencia de los gérmenes a estos antibióticos [Ovchinnikov y colegas., Mol. Gen. Genet (1983) 190:344-348 ; Lisitsyn y colegas., Mol. Gen Genet. (1984) 196:173-174]. Se han descrito, de esta forma, numerosas mutaciones del gen *rpoB* que efectúan la función de la ARN polimerasa [Landick y colegas, Genes Dev. (1990) 4:1623-1636], de entre los cuales, ciertos de entre éstos se encuentran ligados a mutaciones que confieren el fenotipo resistente a la rifampicina (Jin and Gross, J. Biol. Chem. (1991) 266:14478-14485; Jin and Turnbogh, J. Mol. Biol. (1994) 236:72-80]. La determinación de la resistencia a la rifampicina de las cepas *Mycobacterium tuberculosis*, mediante la utilización del gen *rpoB*, ha sido el objeto de varios trabajos (Hunt y colegas., Diagn. Microbiol. Infect. Dis., 18, 219-227; Whelen y colegas, 1995, J. Cli. Microbiol. 33, 556-561; y la solicitud de patente internacional nº WO/9333454.

ES 2 206 551 T3

Se han descubierto ahora, sobre el ADN codificante para la sub-unidad β de la ARN polimerasa bacteriana, zonas variables según las familias bacterianas, pero las cuales, aparecen conservadas de entre la familia de las *Enterobacteriaceae*, lo cual permite el discriminar esta familia bacteriana de entre las otras familias bacterianas. Además de ello, existen, en las citadas zonas conservadas, variaciones menores de secuencia entre ciertas especies enterobacterianas. Estos resultados, han permitido el concebir sondas nucleicas específicas, bien ya sea de la familia enterobacteriana, o bien ya sea de ciertas especies particulares.

El arte anterior de esta técnica especializada, se encuentra constituido, además, por los siguientes documentos: documento de solicitud internacional de patente WO-A-94/24 565, documento de patente europea EP 0 473 268, y el trabajo de KANELLEPOULOS y colegas, *Journal of Experimental Medicine*, vol. 180, 1994, páginas 861-872. Tal y como se ha mencionado anteriormente, arriba, estos documentos, describen las secuencias nucleótidas que poseen un seguido de formaciones nucleótidas, idénticas a ciertas secuencias aportadas por la presente invención, pero las cuales, no revelan, ni tampoco sugieren, su utilización para detectar enterobacterias.

Así, de esta forma, el documento de solicitud de patente internacional WO-A-94/24 565, concierne a la detección de antígenos del VHC y descritos en la secuencia identificada en este documento por la SEQ ID NO 11, descrita en la página 71. Esta secuencia, se identifica en la presente descripción, por la SEQ ID NO 77.

El documento de patente europea EP-0 473 268, enseña una composición farmacéutica que comprende un principio activo polipéptido (polipeptídico), y que permite una liberación progresiva del polipéptido activo. Éste describe la secuencia identificada en ese documento, por SEQ ID NO 19, y en la presente descripción, por SEQ ID NO 78.

El artículo de KANELLOPOULOS y colegas, se refiere a un ratón transgénico, y describe, en la línea 17 de la página 866, la secuencia de que se ha identificado en la presente descripción por SEQ ID NO 79.

Antes de exponer más en detalle la invención, se procederá a definir diferentes términos utilizados en la descripción y las reivindicaciones, definiciones éstas que se facilitan a continuación:

- por "ácido nucleico extraído de bacterias", se entiende, bien ya sea el ácido nucleico total, bien ya sea el ADN genómico, bien ya sea los ARN mensajeros, o bien ya sea incluso el ADN obtenido a partir de la transcripción inversa de los ARN mensajeros;

- un "fragmento nucleotídico" o un "oligonucleótido", son dos términos sinónimos, que designan un encadenamiento de motivos nucleotídicos, caracterizado por la secuencia informativa de los ácidos nucleicos naturales (o eventualmente modificados) y susceptibles de hibridarse, como los ácidos nucleicos naturales, con un fragmento nucleotídico complementario, o sensiblemente complementario, en las condiciones predeterminadas. El encadenamiento, puede contener motivos nucleotídicos de estructura diferente de la de los ácidos nucleicos naturales. Un fragmento nucleotídico (o/y oligonucleotídico), puede contener, por ejemplo, hasta 100 formaciones nucleotídicas. Éste contiene, generalmente, por lo menos 10 y, de una forma particular, por lo menos 12 formaciones nucleotídicas, y puede obtenerse a partir de una molécula de ácido nucleico natural y/o por recombinación genética y/o por síntesis química,

- una formación nucleotídica, se deriva de un monómero que puede ser un nucleótido natural de ácido nucleico, cuyos elementos constitutivos son un azúcar, un grupo fosfato y una base nitrogenada; en el ADN, el azúcar, es la desoxi-2-ribose y en el ARN, el azúcar, es la ribosa; según si se trata de ADN o de ARN, la base nitrogenada, se elige de entre la adenina, la guanina, la uracilo, la citosina, la timina; o bien, el monómero, es un nucleótido modificado en uno, por lo menos, de los tres elementos constitutivos, a título de ejemplo, la modificación, puede intervenir, bien ya sea al nivel de las bases, con las bases modificadas, tales como la inosina, la metil-5-desoxicitidina, la desoxiuridina, la dimetilamino-5-desoxiuridina, la diamino-2,6-purina, la bromo-5-desoxiuridina, o bien al nivel de azúcar, por ejemplo, el reemplazo de por lo menos una desoxirribosa por una poliamida [P.E. Nielsen y colegas., *Science*, 254, 1497-1500 (1991)], o bien incluso al nivel del grupo fosfato, por ejemplo, su reemplazo por ésteres principalmente elegidos de entre los difosfatos, alquil- y aril-fosfatos y fosforotioatos,

- por "secuencia informativa", se entiende toda continuación ordenada de formaciones del tipo nucleotídico, cuya naturaleza química y el orden en un sentido de referencia, constituyen una información análoga a la que se ha dado mediante la secuencia de los ácidos nucleicos naturales,

- por "hibridación", se entiende el proceso, durante cuyo transcurso, en las condiciones apropiadas, dos fragmentos nucleotídicos que tienen secuencias suficientemente complementarias, son susceptibles de poderse asociar mediante enlaces hidrógeno, estables y específicos, para formar una doble hebra. Las condiciones de hibridación, de determinan mediante la "estringsencia", es decir, el rigor de las condiciones operativas. La hibridación, es tanto más específica, en dependencia de cuanto a más fuerte estringsencia ésta se efectúa. La estringsencia, es función, principalmente, de la composición en bases de un dúplex sonda/diana, así como por el grado de mal-apareamiento entre dos ácidos nucleicos. La estringsencia, puede igualmente ser función de los parámetros de la reacción de hibridación, tales como la concentración y el tipo de especies iónicas presentes en la solución de hibridación, la naturaleza y la concentración de agentes desnaturizantes y/o la temperatura de hibridación. La estringsencia de las condiciones en las cuales debe realizarse una reacción de hibridación, depende especialmente de las sondas utilizadas. Todos estos datos, son bien conocidos y, las condiciones apropiadas, pueden eventualmente determinarse, en cada caso, por las experiencias de

ES 2 206 551 T3

rutina. Así, de una forma general, según la longitud de las sondas utilizadas, la temperatura para la reacción de hibridación, se encuentra comprendida dentro de unos márgenes situados entre 20 y 65°C, de una forma particular, dentro de unos márgenes situados entre 35 y 65°C, en una solución salina, a una concentración de aproximadamente 0,8 a 1 M,

5 - una "sonda", es un fragmento nucleotídico, que comprende, por ejemplo, de 10 a 100 formaciones nucleotídicas, especialmente, de 12 a 35 formaciones nucleotídicas, que poseen una especificidad de hibridación en condiciones determinadas para formar un complejo de hibridación con un ácido nucleico diana que tiene, en el presente caso, una secuencia nucleotídica, comprendida bien ya sea en un ARN mensajero, o bien ya sea en un ADN obtenido por transcripción inversa del citado ARN mensajero, o bien ya sea incluso en un ADN, en donde, el citado ARN mensajero,
10 es el producto de transcripción; puede utilizarse una sonda, con fines de diagnóstico (especialmente, sondas de captura o de detección) con fines de terapia,

- una "sonda de captura", se inmoviliza, o es inmovilizable, sobre un soporte sólido, mediante todo medio apropiado, por ejemplo, por covalencia, por absorción, o por síntesis directa sobre un soporte sólido (véase especialmente el documento de solicitud de patente internacional WO 92 10 092),
15

- una "sonda de detección", puede ser marcada por mediación de un marcador elegido por mediación de los isótopos radioactivos, enzimas, de una forma particular, enzimas susceptibles de actuar sobre un substrato cromógeno, fluorígeno o luminiscente (principalmente una peroxidasa o una fosfatasa alcalina), compuestos químicos cromóforos, compuestos cromógenos, fluorígenos o luminiscentes, análogos de bases nucleotídicas, y ligantes tales como la biotina,
20

- un "cebador" es una sonda que comprende, por ejemplo, de 10 a 100 formaciones nucleotídicas y que poseen una especificidad de hibridación en las condiciones determinadas por la iniciación de una polimerización enzimática, por ejemplo, en una técnica de amplificación, tal como la PCR (reacción en cadena de la polimerasa), en un procedimiento de secuenciación, en un procedimiento de transcripción inversa, etc.
25

Un primer objeto de la presente invención, es un oligonucleótido monocatenario, elegido de entre los oligonucleótidos que tienen una secuencia de por lo menos 12 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluida en una de las secuencias SEQ ID NO 1 a SEQ ID NO 52, y entre los oligonucleótidos complementarios de estos oligonucleótidos, con las exclusiones de los oligonucleótidos que tienen una secuencia elegida de entre las secuencias siguientes: SEQ ID NO 28 SEQ ID NO 77, SEQ ID NO 78 y SEQ ID NO 79.
30

Los oligonucleótidos preferidos de la presente invención, son:

35 a) aquéllos que comprenden una secuencia nucleotídica de por lo menos 12 formaciones oligonucleotídicas consecutivas, incluida en una de las secuencias SEQ ID NO 1 a SEQ ID NO 4, y sus secuencias complementarias, y b), aquéllos que comprenden una secuencia oligonucleotídica de por lo menos 12 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluida en:

40 SEQ ID NO 5 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 53,

SEQ ID NO 6 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 54,
45

SEQ ID NO 8 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 56,

SEQ ID NO 8 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 57,
50

SEQ ID NO 9 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 58,

55 SEQ ID NO 10 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 59,

SEQ ID NO 12 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 61,
60

SEQ ID NO 13 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 62,

65 SEQ ID NO 14 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 63,

SEQ ID NO 16 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 65,

ES 2 206 551 T3

SEQ ID NO 17 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 64,

5 SEQ ID NO 18 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 66,

SEQ ID NO 19 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 67,

10 SEQ ID NO 20 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 68,

SEQ ID NO 21 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 69,

15 SEQ ID NO 22 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 70,

20 SEQ ID NO 23 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 71,

SEQ ID NO 24 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 72,

25 SEQ ID NO 25 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 73,

SEQ ID NO 26 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 74,

30 SEQ ID NO 27 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 75,

o que comprenden una secuencia complementaria.

35 Los oligonucleótidos b) preferidos, comprenden o consisten en una secuencia oligonucleótida elegida de entre las secuencias de identificación SEQ ID NO 29 a SEQ ID NO 52.

40 Un segundo objeto de la presente invención, es una sonda para la detección, en una muestra biológica, de bacterias que pertenecen a la familia de las enterobacterias, consistiendo, la citada sonda, en un oligonucleótido de la invención, según a). En la parte que sigue a continuación de la descripción, una sonda de tal tipo, de la invención, se denominará de sonda de género.

45 Un tercer objeto de la presente invención, es una sonda para la detección, en una muestra biológica, de por lo menos una especie de enterobacterias, consistiendo, la citada sonda, en un oligonucleótido en concordancia con la presente invención, según b). En la presente descripción, las sondas de tal tipo, de la invención, se denominarán de sondas de especie.

50 Las sondas en concordancia con la presente invención, pueden utilizarse con fines de diagnóstico, en la investigación o búsqueda de la presencia o la ausencia de un ácido nucleico diana, en una muestra, según todas las técnicas de hibridación conocidas y, especialmente, las técnicas de deposición puntual sobre filtro, denominadas "DOT-BOT" (MANIATIS y colegas, Molecular Cloning, Cold Spring Harbor, 1982), las técnicas de transferencia de ADN, denominadas "SOUTHERN BLOT" [SOUTHERN, E. M., J. Mol. Biol. 98, 503 (1975)], las técnicas de transferencia de ARN, denominadas "NORTHERN BLOT", o las técnicas denominadas de "sándwich" [DUNN A.R., HASSEL J.A., Cell, 12, 23 (1977)]; se utiliza, de una forma particular, la técnica sándwich, con una sonda de captura y/o una sonda de detección, siendo las citadas sondas capaces de hibridar con dos regiones diferentes del ácido nucleico diana, y una, por lo menos, de las citadas sondas (generalmente, la sonda de detección), siendo capaz de hibridar con una región de la diana, que es específica de la especie o del grupo de especies investigado o buscado, en el bien entendido que, la sonda de captura y la sonda de detección, deben tener secuencias nucleotídicas por lo menos parcialmente diferentes.

60 Para aplicar las técnicas de hibridación anteriormente citadas, arriba y, de una forma particular, las técnicas "sándwich" se procede a inmovilizar una sonda de la invención, sobre un soporte sólido, y ésta será la sonda de captura, y otra sonda de la invención, se marca con un agente trazador, y ésta será la sonda de detección.

65 La invención, se refiere, adicionalmente, a las utilizaciones de un oligonucleótido elegido de entre los oligonucleótidos que tienen una secuencia de por lo menos 12 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en una de las secuencias SEQ ID NO 1 a SEQ ID NO 52, y de entre los oligonucleótidos complementarios de estos oligonucleótidos, como sonda y como cebador.

ES 2 206 551 T3

Otro objeto de la presente invención, es un procedimiento de determinación de la presencia o de la ausencia de por lo menos una enterobacteria, en una muestra que contiene, o que es susceptible de poder contener ácidos nucleicos, de por lo menos una bacteria de este tipo, que comprende las etapas consistentes en poner en contacto la citada muestra con por lo menos un oligonucleótido de la invención, tal y como se utiliza como sonda de género o de especie y, a
5 continuación, en determinar, de forma continua, en sí misma, la formación o la ausencia de formación de un complejo de hibridación entre el citado oligonucleótido y el ácido nucleico de la muestra.

Según una forma de aplicación particular de este procedimiento para la determinación de la presencia o la ausencia de una especie o de un grupo de especies de enterobacteria, se utiliza, por una parte, un oligonucleótido tal y como
10 se utiliza como sonda de género según la invención y, por otra parte, un oligonucleótido, tal y como se utiliza como sonda de especie según la presente invención, en el bien entendido que, los citados oligonucleótidos, son capaces de hibridar con regiones no sobrepuestas de un ácido nucleico correspondiente al género rpoB de las enterobacterias.

De una forma ventajosa, la sonda de género, se inmoviliza sobre un soporte sólido y, la sonda de especie, se marca
15 con un agente trazador.

La presente invención, tiene también por objeto la aplicación del procedimiento en concordancia con la invención, para determinar la presencia de una especie de enterobacteria determinada.

20 Así, de esta forma, la invención, se refiere a:

- un procedimiento para la determinación de la presencia o de la ausencia de *Salmonella sofia*, según el cual, se utiliza una sonda elegida de entre aquéllas que comprenden una secuencia nucleotídica de por lo menos 12 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en una de las secuencias elegidas de entre:

25 SEQ ID NO 5 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 53,

30 SEQ ID NO 27 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 75, y

sus secuencias complementarias.

35 De una forma preferente, una sonda de la especie *Salmonella sofia*, tiene una secuencia nucleotídica que consiste en, o que comprende, una secuencia elegida de entre la SEQ ID NO 29, SEQ ID NO 51 y sus secuencias complementarias;

40 - un procedimiento para la determinación de la presencia o de la ausencia de *Salmonella tyhimurium*, según el cual, se utiliza una sonda elegida de entre aquéllas que comprenden una secuencia nucleotídica de por lo menos 12 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en una de las secuencias elegidas de entre:

54, SEQ ID NO 6 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO

45 60, SEQ ID NO 11 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO

72, SEQ ID NO 24 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO

50 73, y SEQ ID NO 25 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO

55 sus secuencias complementarias.

De una forma preferente, una sonda de la especie *Salmonella typhimurium*, tiene una secuencia nucleotídica que consiste en, o que comprende, una secuencia elegida de entre la SEQ ID NO 30, SEQ ID NO 35, SEQ ID NO 48, SEQ ID NO 49, SEQ ID NO 50, y sus secuencias complementarias;

60 - un procedimiento para la determinación de la presencia o de la ausencia de *Salmonella dysenteriae*, según el cual, se utiliza una sonda elegida de entre aquéllas que comprenden una secuencia nucleotídica de por lo menos 12 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 7 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 55, y su secuencia complementaria.

65 De una forma preferente, una sonda de la especie *Salmonella dysenteriae*, tiene una secuencia nucleotídica que consiste en, o que comprende, una secuencia elegida de entre la SEQ ID NO 31, y su secuencia complementaria;

- un procedimiento para la determinación de la presencia o de la ausencia de *Salmonella fergussoni*, según el

ES 2 206 551 T3

cual, se utiliza una sonda elegida de entre aquéllas que comprenden una secuencia nucleotídica de por lo menos 12 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en una de las secuencias elegidas de entre:

5 SEQ ID NO 8 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 56,

SEQ ID NO 8 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 57,

10 SEQ ID NO 19 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 67, y

sus secuencias complementarias.

15 De una forma preferente, una sonda de la especie *Salmonella fergussoni*, tiene una secuencia nucleotídica que consiste en, o que comprende, una secuencia elegida de entre la SEQ ID NO 32, SEQ ID NO 43, y sus secuencias complementarias;

20 - un procedimiento para la determinación de la presencia o de la ausencia de *Enterobacter cloacae*, según el cual, se utiliza una sonda elegida de entre aquéllas que comprenden una secuencia nucleotídica de por lo menos 12 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en una de las secuencias elegidas de entre:

25 SEQ ID NO 9 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 58,

SEQ ID NO 13 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 62,

30 SEQ ID NO 16 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 65,

SEQ ID NO 17 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 64,

35 SEQ ID NO 18 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 66,

40 SEQ ID NO 21 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 69,

SEQ ID NO 22 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 70, y

sus secuencias complementarias.

45 De una forma preferente, una sonda de la especie *Salmonella typhimurium*, tiene una secuencia nucleotídica que consiste en, o que comprende, una secuencia elegida de entre la SEQ ID NO 33, SEQ ID NO 37, SEQ ID NO 40, SEQ ID NO 41, SEQ ID NO 42, SEQ ID NO 45, SEQ ID NO 46, y sus secuencias complementarias;

50 - un procedimiento para la determinación de la presencia o de la ausencia de *Klebsiella pneumoniae*, según el cual, se utiliza una sonda elegida de entre aquéllas que comprenden una secuencia nucleotídica de por lo menos 12 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en una de las secuencias elegidas de entre:

55 SEQ ID NO 10 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 59,

SEQ ID NO 14 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 63,

60 SEQ ID NO 15 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 64,

SEQ ID NO 20 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 68,

65 SEQ ID NO 23 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 71, y

ES 2 206 551 T3

sus secuencias complementarias.

De una forma preferente, una sonda de la especie *Klebsiella pneumoniae*, tiene una secuencia nucleotídica que consiste en, o que comprende, una secuencia elegida de entre la SEQ ID NO 34, SEQ ID NO 38, SEQ ID NO 39, SEQ ID NO 44, SEQ ID NO 47, y sus secuencias complementarias;

- un procedimiento para la determinación de la presencia o de la ausencia de *Escherichia coli*, según el cual, se utiliza una sonda elegida de entre aquéllas que comprenden una secuencia nucleotídica de por lo menos 12 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en una de las secuencias elegidas de entre:

SEQ ID NO 12 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 61,

SEQ ID NO 26 y que contiene por lo menos 5 formaciones nucleotídicas consecutivas, incluidas en la SEQ ID NO 74, y

sus secuencias complementarias.

De una forma preferente, una sonda de la especie *Escherichia coli*, tiene una secuencia nucleotídica que consiste en, o que comprende, una secuencia elegida de entre la SEQ ID NO 36, SEQ ID NO 50, y sus secuencias complementarias;

Según una forma de aplicación particular de estos procedimientos, se utilizan sondas seleccionadas en combinación con una sonda de género de la invención.

Todavía un objeto de la invención, es un cebador nucleotídico utilizable para la síntesis de un ácido nucleico, en presencia de una polimerasa, de una forma en sí mismo conocida y, especialmente, en los procedimientos de amplificación, utilizando una síntesis de este tipo, en presencia de una polimerasa (PCR, RT-PCR, etc...), comprendiendo, el citado cebador, un oligonucleótido, tal como se define anteriormente, arriba. Principalmente, un cebador de la invención, puede utilizarse para la transcripción inversa específica de una secuencia de ARN mensajero, de por lo menos una especie o de por lo menos un grupo de especies de enterobacterias, para obtener una secuencia de ADN complementaria correspondiente. Una transcripción inversa de este tipo, puede constituir el primer estado de una RT-PCR, siendo el estado siguiente la amplificación por PCR del ADN complementario obtenido. Se pueden también utilizar los cebadores de la presente invención, para la amplificación específica por reacción de polimerización en cadena de la secuencia de ADN del género rpoB, de por lo menos una especie o de por lo menos un grupo de especies de enterobacteria.

Según un caso particular, el citado cebador que, comprende un oligonucleótido de la invención, comprende, además, la secuencia sentido o anti-sentido de un promotor reconocido por una ARN polimerasa (T7, T3, SP6 por ejemplo): tales tipos de cebadores, son utilizables en procedimientos de aplicación de ácido nucleico, que hacen intervenir una etapa de transcripción, tales como por ejemplo, las técnicas Nasba o 3SR.

Finalmente, un último objeto de la presente invención, es una sonda de terapia para tratar las infecciones provocadas por, por lo menos, una especie o un grupo de especies de enterobacteria, comprendiendo, la citada sonda, un oligonucleótido tal como se define precedentemente. Esta sonda de terapia, capaz de hibridarse sobre el ARN mensajero y/o sobre el ADN genómico de las citadas bacterias, puede bloquear los fenómenos de traducción y/o de transcripción y/o de replicación. El principio de los procedimientos de terapia genética, es conocido, y responde principalmente sobre la utilización de una sonda correspondiente a una hebra anti-sentido: la formación de un híbrido entre la sonda y la hebra sentido, es capaz de perturbar por lo menos una de las etapas del descifrado de la información genética. Las sondas de terapia, son por lo tanto susceptibles de poderse utilizar como medicamentos antibacterianos, que permiten luchar contra las infecciones causadas por enterobacterias.

En las condiciones que se precisan en el ejemplo 1 que se facilita posteriormente, a continuación, se ha determinado la secuencia del ADN correspondiente al género rpoB de dos especies de enterobacteria, así como una especie que pertenece a una familia de bacterias igualmente Gram negativas. Este estudio, se ha llevado a cabo sobre las especies *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* y *Pseudomonas putida*.

Se han investigado y buscado, regiones fuertemente conservadas por las únicas especies enterobacterianas, que permiten el distinguir otros géneros de bacterias. Se ha seleccionado, de este modo, haciendo referencia a la numeración de la secuencia nucleotídica del género rpoB de *Escherichia coli* ATCC 25290, una región interesante de 512 bases, es decir, posiciones 1498 a 2009 del género rpoB. Se han determinado las secuencias de estas mismas regiones, mediante otras especies de enterobacterias, así como para varias especies que no pertenecen a la familia de las enterobacterias.

Los resultados de estas diferentes secuencias, se resumen en las figuras 1 a 9 anexas, en las cuales, el signo *, representa un sitio vacante cuya representación es necesaria para el alineamiento de las secuencias, teniendo en cuenta ciertas especies que poseen, en este sitio, una formación nucleotídica suplementaria.

Los resultados de estas investigaciones, es decir, los alineamientos de secuencias que figuran en las figuras 1 a 9,

ES 2 206 551 T3

han permitido el concebir sondas en las regiones conservadas en todas las especies de enterobacterias, que permiten el detectar la presencia o la ausencia de por lo menos una bacteria cualquiera de la familia de las enterobacterias. Además, la utilización de sondas que contienen zonas mutadas por una especie particular (con relación al especie de referencia, aquí, *E. coli*), hace posible la detección directa de una especie de este tipo. En las técnicas de hibridación sándwich, utilizando sondas en combinación (sonda de captura y sonda de detección), se utilizará, por ejemplo, en combinación, una sonda específica de la familia de las enterobacterias y una sonda específica de las especie considerada. Se pueden también utilizar, en combinación, dos sondas específicas de la citada especie, cuando éstas existen, siendo estas dos sondas complementarias de regiones no sobrepuestas del género rpoB.

Tal y como se ha indicado anteriormente, arriba, las sondas nucleotídicas de la invención, pueden utilizarse en los procedimientos clásicos de hibridación. El ácido nucleico a detectar (diana), puede ser el ADN o el ARN (el uno o el otro, eventualmente obtenido después de amplificación). En el caso de una diana nucleica de doble hebra, conviene el proceder a su desnaturalización, antes de la puesta en ejecución del procedimiento de detección. El ácido nucleico di-
na, puede obtenerse mediante extracción según los procedimientos conocidos de los ácidos nucleicos de una muestra a examinar. La desnaturalización de un ácido nucleico de doble hebra, puede efectuarse mediante los procedimientos conocidos de desnaturalización química, física o enzimática y, de una forma particular, por calentamiento, a una temperatura apropiada, superior a 80°C.

En ciertos casos, la evidencia de la presencia de una especie de enterobacteria dada, necesita la utilización de sondas que permiten la detección de una mutación puntual. Para ello, es conveniente el operar con sondas de una longitud (número de formaciones nucleotídicas) predeterminados, en condiciones en sí mismas predeterminadas.

Se facilitan, posteriormente, a continuación, otras precisiones, que hacen referencia de una forma más particular, al procedimiento de hibridación sándwich, que constituye uno de los procedimientos de hibridación más prácticos en la actualidad. Este procedimiento, comprende la puesta en contacto de una primera sonda fijada sobre un soporte sólido, con una solución que contiene el ácido nucleico a analizar, y la puesta en contacto del citado soporte con la sonda de detección, la incubación de la mezcla obtenida, el lavado del soporte para eliminar los constituyentes no fijados sobre el soporte por hibridación específica, y la detección cuantitativa o cuantitativa, con la ayuda de una reacción de revelado del marcador fijado sobre el soporte, de la sonda de detección fijada. El revelado de la presencia del marcador, puede efectuarse, por ejemplo, por colorimetría, fluorescencia o luminiscencia.

La puesta en contacto de la sonda de captura con la muestra y con la sonda de detección, puede efectuarse de forma secuencial, eventualmente, con un lavado intermedio del soporte. Se puede igualmente operar mediante la puesta en contacto simultánea o casi simultánea de la sonda de captura fijada sobre el soporte, con una solución que contiene la muestra y la sonda de detección, que pueden añadirse en forma de mezcla o por separado.

Los estados de incubación y de lavado consecutivo, que constituyen las etapas clave del procedimiento de hibridación sándwich, se efectúan, cada uno de ellos, a una temperatura constante, que puede estar comprendida, por ejemplo, dentro de la gama mencionada anteriormente, más arriba (véanse las "Definiciones"). Se sabe que, los híbridos de ácidos nucleicos, tienen una temperatura de disociación que depende del número de bases hibridadas (aumentando la temperatura, con el tamaño del híbrido) y que depende igualmente de la naturaleza de las bases hibridadas y, para cada base hibridada, de la naturaleza de las bases contiguas. La disociación de los híbridos, se produce sobre un intervalo de temperatura comprendido dentro de unos márgenes de algunos grados, y puede determinarse fácilmente, por ejemplo, en espectroscopia U.V.. Es posible el determinar experimentalmente la temperatura de semi-disociación (disociación media) del híbrido formado por una sonda dada, con la diana de secuencia complementaria, mediante sencillas y simples experiencias de rutina. La temperatura de hibridación utilizada en la técnica de hibridación sándwich, debe evidentemente elegirse por debajo de la temperatura de semi-disociación. Más exactamente, se opera a una temperatura inferior a la temperatura de semi-disociación del híbrido menos estable, de entre los dos híbridos que forman la diana con, por una parte, la sonda de captura y, por otra parte, la sonda de detección, con el fin de que los híbridos sean estables a la temperatura a la cual se opera. Una mutación puntual, es decir, una mutación que conlleve un mal-apareamiento que se realice sobre un solo par de bases en el híbrido, conlleva una modificación, generalmente, un descenso, de la temperatura de disociación media. Utilizando sondas suficientemente cortas, un mal-apareamiento único de este tipo, puede conllevar un descenso relativamente importante de la temperatura de disociación media, del orden de algunos grados. Así, de esta forma, eligiendo, con la ayuda de experiencias de rutina previas, una sonda de longitud apropiada, operando en una solución tampón dada, es posible el determinar una temperatura, a la cual, será posible el no observar hibridación, más que en el caso en donde, la sonda, es estrictamente complementaria de la diana. Además, gracias a la elección de sondas cortas de longitud predeterminada, es posible el poner en práctica la técnica de hibridación sándwich, a una temperatura única predeterminada, por ejemplo, a una temperatura de 37°C. Para una discusión más detallada de la técnica de hibridación sándwich con la utilización de sondas cortas, se puede reportar, especialmente, a la patente francesa FR-2-663 040.

Los ejemplos que se facilitan a continuación, ilustran la invención.

ES 2 206 551 T3

Ejemplo 1

Se seleccionaron cebadores conservados, para amplificar la parte secuenciada:

5 CM7: 5' AACCAGTTCGCGTTGGCCTGG 1348-1405
CM31 5' CCTGAACAACACGCTCGGA 2473-2455

expresándose, las coordenadas, según la secuencia codificante del género *rpoB* de *E. coli* V00340 de Genbank.

10 El ADN diana, se extrae de cada bacteria, según la técnica siguiente. Se procede a centrifugar 1,5 ml de cultivo bacteriano y, la torta de residuo, se recoge, y se pone en 75 μ l de un tampón Tris (Tris 25 mM, EDTA 10 mM, sacarosa 50 mM pH 8) y 25 μ l de solución de lisozima (1 mg/ml de tampón Tris). Después de incubación durante un transcurso de tiempo de 30 minutos, a una temperatura de 37°C, se procede a añadir 50 μ l de fenol y, el tubo, se agita fuertemente, durante un transcurso de tiempo de 30 segundos. Se añaden 50 μ l de cloroformo y se agita de nuevo, durante un transcurso de tiempo de 2 segundos. Después de centrifugación, durante un transcurso de tiempo de 5 minutos, se recupera la fase acuosa.

20 El ADN, se amplifica según la técnica de PCR de Saiki y colegas (Saiki y colegas, 1988, Science 239, 487-494), con la ayuda de un aparato PCR 480 Perking-Elmer. El medio de reacción (100 μ l), está constituido por Tris.HCl, 10 mmol/l; MgCl₂ 1,5 mmol/l; KCl 50 mmol/l; gelatina 1 mg/ml; aATP, dACT, dGTP, dTTP 0,5 mmol/l cada uno; pH 8,3; oligonucleótido CM7, 25 pmol; oligonucleótido CM31, 25 pmol y 10 μ l de la preparación de ADN bacteriano. Después de desnaturalización de un transcurso de tiempo de 5 minutos, seguido de una centrifugación, se añade la enzima, a 1,5 U/reacción. La PCR, se efectúa sobre 30 ciclos con los parámetros 96°C/60°C/74°C, durante unos transcurros de tiempo de 1 minuto, 1 minuto, y 0,7 minutos, respectivamente.

El ADN amplificado, se analiza por electroforesis en gel de agarosa, 0,8% en tampón TBE (89 mM Tris base, 89 mM ácido bórico, 2 mM EDTA). Las bandas, se visualizan mediante el bromuro de etidio.

30 La secuencia de fragmentos de esta forma amplificados, se estableció según técnicas clásicas.

Ejemplo 2

Utilización de una sonda específica dirigida contra el gen rppB para la identificación de Escherichia coli

35 Dándose el caso de que, la sonda comienza en el nucleótido N°4 y finaliza con el nucleótido N°27, de la secuencia SEQ ID NO 12, a priori especificada para las cepas de *E. coli*, se han deducido, a partir de los alineamientos de las secuencias nucleotídicas, géneros *rpoB* de la figura 4. Se procedió a someter a test de ensayo, una colección de cepas bacterianas, mediante hibridación sobre el fragmento amplificado a partir de *rpoB*, y ello permitió el poder constatar, a posteriori, la especificidad de esta sonda.

40 Se procedió a realizar la hibridación del producto de PCR, de una bacteria-diana, según el procedimiento de detección no radioactiva y semiatomizada descrito en la patente francesa n° 90 07249. Se utilizan, para ello, una sonda de captura SEL, correspondiente a una sonda de especificidad eubacteriana (descrita en la solicitud de patente francesa FR-A-n° 93 02127), y un conjugado específico de detección oligonucleotídica (correspondiente a la sonda específica definida más arriba) - enzima. La manipulación, se llevó a cabo según el protocolo que se facilita a continuación.

45 Se procede a depositar, en una placa de microtitración, (Nunc 439454), una solución de oligonucleótido de captura, a 1 ng/ml, en PBS 3X (0,45 M NaCl 0,15 M fosfato de sodio pH 0,7) cuya extremidad 5', reaccionó con el reactivo Aminolink 2 (Applied Biosystems, Foster city, Californie). La placa, se incuba durante un transcurso de tiempo de 2 horas, a una temperatura de 37°C y, a continuación, se lava 3 veces con 300 μ l de PBST (PBS 1x, Tween 20: 0,5% (Merck 822184)). El reactivo Aminolink 2, permite el añadir, a la extremidad 5' de la sonda, un brazo que comporta un grupo 6-aminoaxilo. La sonda de esta forma acoplada a un ligando que posee un grupo polar (amina primaria), y que se fija de forma pasiva sobre el soporte, procura una señal mejorada; véase la solicitud de patente francesa FR-A-91 09057.

50 La diana, constituida por 4 μ l del producto amplificado, se mejora con 76 μ l de tampón PBS salmón (PBS3X + ADN de esperma de salmón 10 μ l/ml (Sigma D9156) y 10 μ l de sosa 2N. El conjunto, se neutraliza, 5 minutos después, mediante la adición de 10 μ l de ácido acético 2N. El conjunto, se añade en el pozo, además de 50 μ l de una solución del conjugado oligonucleótido-peroxidasa, a la concentración de 0,1 ng/l, en oligonucleótido, en un tampón PBS caballo (PBS3X + 10% de suero de caballo (BioMérieux 55842)). El conjugado oligonucleótido-peroxidasa, constituye la sonda de detección. La fase, se incuba durante un transcurso de tiempo de 1 hora, a una temperatura de 37°C, y se lava mediante 2 X 300 μ l de PBST. En cada pozo, se añaden 100 μ l de substrato OPB (orto-fenilendiamina Cambridge Medical Biotechnology ref/456), en un tampón adaptado (0,055 M ácido cítrico, 0,1 M Ma₂HPO₄, pH 4,93), a una concentración de 4 mg/ml, al cual se le añade, extemporáneamente, H₂O₂, a 30 volúmenes, al 1/1000. Después de un transcurso de tiempo de 20 minutos de reacción, la actividad enzimática, se bloquea mediante 100 μ l de H₂=₂ 1N y, la lectura, se efectúa sobre Axia Microreader (BioMérieux) a 492 nm.

ES 2 206 551 T3

Las bacterias - diana, eran principalmente las siguientes:

- 22 aislamientos o cepas *E. coli* (de entre las cuales, ATCC 25290, 25922, 27165, 10536);

5 - Otras *Escherichia* de diversos tipos (18 aislamientos); *E. fergusonii*, *E. hermannii*, *E. vulneris*;

- 8 *Shigella*; *S. Boydii*, *S. Dysenteriae* (de entre las cuales, la ATCC 29027), *S. Flexineri*, *S. Sonnei*;

10 - 5 *Salmonella*: *S. Arizonae* (ATCC 13314), *S. choleraesuis* (ATCC 13212), *S. Gallinarum*, *S. Typhimurium* (ATCC 14029), *S. spp* (ATCC 9712);

- 7 entorobacterias diversas: *Citrobacter amalonaticus* (ATCC 25405), *Enterobacter cloacae* (ATCC 13047), *Klebsiella oxytoca*, *K. pneumoniae*, *Kluivera ascorbata*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens* (ATCC 8195);

15 - *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 35422, *Pseudomonas putida*;

- *Enterococcus faecalis*.

20 Los resultados obtenidos, indican el hecho de que, la combinación de las sondas utilizadas es, *a posteriori*, específica de *E. coli*. Ésta no presenta reacciones cruzadas con el producto de PCR de otras especies bacterianas.

25 Se procedió a efectuar la adaptación de la combinación específica sobre el autómata VIDAS (marca registrada-comercializada por la sociedad bioMérieux-VITEK). La pared del pozo de microplaca, se reemplaza, en este caso, por el SPR (marca comercial) ("Solid Phase Receptacle"), el cual es un soporte cónico realizado a partir de un material vendido bajo la denominación K resina (copolímero de butadieno-estireno), y comercializado por la sociedad bioMérieux-VITEK (USA). Los diversos reactivos, se disponen en una barra de varias cubetas y, las diferentes etapas, se desarrollan en el SPR, el cual es capaz de aspirar y de expulsar reactivos y que hace por lo tanto una función de pipeta. La reacción de hibridación sándwich, descrita en el protocolo que se facilita abajo, a continuación, se produce sobre la pared interna del cono.

30 Sobre la superficie interna del SPR, se fija, de una forma pasiva, el oligonucleótido de captura, que comporta en su extremidad 5' el ligando Aminolik 2 (Applied Biosystems-refe. 400808) a una concentración de 1 ng/ μ l, en un volumen de 315 μ l de una solución de PBS 4x (fosfato de sodio 200 mM pH 7,0, NaCl 600 mM). Después de un transcurso de tiempo de una noche, a la temperatura ambiente, o de dos horas a una temperatura de 37°C, los conos, se lavan 2 veces, mediante una solución de PBS Tween y, a continuación, se secan bajo la acción de vacío. La barra, contiene, en las cubetas, los reactivos necesarios para la detección, es decir: 200 μ l de una solución a una concentración de 0,1 ng/ μ l del conjugado de detección oligonucleótido-fosfatasa alcalina, 2 veces 600 μ l de solución de lavado de PBS Tween, y una cubeta de sustrato.

40 En el primer pozo de la barra, se depositan 10 μ l de producto de PCR, en el mismo tampón que para el que se utiliza para el protocolo microplaca que se ha descrito anteriormente, más arriba.

45 Después de incubación durante un transcurso de tiempo de 30 minutos, del cono, mediante la mezcla diana de PCR más sonda de detección, el cono se lava 2 veces, mediante una solución de PBS Tween. Se aspiran, en el cono, 250 μ l de sustrato MUP (metil-4-umbelliferilfosfato) en solución en un tampón de dietanolamina y, a continuación, se liberan en el interior de una cubeta de lectura. El aparato, mide la señal fluorescente expresada en URF (unidades relativas de fluorescencia) de la cubeta.

50 Los resultados obtenidos con este sistema, son los mismos que los que se obtienen en microplaca.

55

60

65

ES 2 206 551 T3

REIVINDICACIONES

5 1. Oligonucleótido elegido de entre los oligonucleótidos que tienen una secuencia de por lo menos 12 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en una de las secuencias SEQ ID NO 1 a SEQ ID NO 52, y entre los oligonucleótidos complementarios de estos oligonucleótidos, con la exclusión de los oligonucleótidos que tienen una secuencia elegida de entre las secuencias siguientes: SEQ ID NO 28 SEQ ID NO 77, SEQ ID NO 78 y SEQ ID NO 79.

10 2. Oligonucleótido, según la reivindicación 1, **caracterizado** por el hecho de que, éste, comprende una secuencia nucleotídica de por lo menos 12 nucleótidos, naturales o modificados, consecutivos, incluida en una de las secuencias SEQ ID NO 1 a SEQ ID NO 4.

15 3. Oligonucleótido, según la reivindicación 1, **caracterizado** por el hecho de que, éste, comprende una secuencia nucleotídica de por lo menos 12 oligonucleótidos, , naturales o modificados, consecutivos, incluida en:

SEQ ID NO 5 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 53,

20 SEQ ID NO 6 y que contiene por lo menos nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 54,

SEQ ID NO 7 y que contiene por lo menos nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 55,

25 SEQ ID NO 8 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 56,

30 SEQ ID NO 8 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 57,

SEQ ID NO 9 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 58,

35 SEQ ID NO 10 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 59,

SEQ ID NO 11 y que contiene por lo menos nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 60,

40 SEQ ID NO 12 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 61,

45 SEQ ID NO 13 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 62,

SEQ ID NO 14 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 63,

50 SEQ ID NO 15 y que contiene por lo menos nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 64,

SEQ ID NO 16 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 65,

55 SEQ ID NO 17 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 64,

60 SEQ ID NO 18 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 66,

SEQ ID NO 19 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 67,

65 SEQ ID NO 20 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 68,

ES 2 206 551 T3

SEQ ID NO 21 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 69,

5 SEQ ID NO 22 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 70,

SEQ ID NO 23 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 71,

10 SEQ ID NO 24 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 72,

15 SEQ ID NO 25 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 73,

SEQ ID NO 26 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 74,

20 SEQ ID NO 27 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 75,

SEQ ID NO 28 y que contiene por lo menos nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 76.

25 4. Oligonucleótido, según la reivindicación 3, **caracterizado** por el hecho de que, éste, comprende o consiste en una secuencia nucleotídica elegida de entre las secuencias SEQ ID NO 29 a SEQ ID NO 52.

30 5. Sonda para la detección de una muestra biológica, de bacterias que pertenecen a un oligonucleótido según la reivindicación 2.

6. Sonda de detección, en una muestra biológica, de por lo menos una especie de enterobacterias, que consiste en un oligonucleótido según la reivindicación 3 ó 4.

35 7. Sonda, según la reivindicación 5 ó 6, **caracterizada** por el hecho de que, ésta, se inmoviliza sobre un soporte sólido.

8. Sonda, según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, **caracterizada** por el hecho de que, ésta, se marca con un agente trazador.

40 9. Utilización de un oligonucleótido elegido de entre los oligonucleótidos que tienen una secuencia de por lo menos 12 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluida en una de las secuencias SEQ ID NO 1 a SEQ ID NO 52, y de entre los oligonucleótidos complementarios de estos oligonucleótidos, como sonda para la detección, en una muestra biológica, de bacterias que pertenecen a la familia de las enterobacterias.

45 10. Utilización, según la reivindicación 9, **caracterizada** por el hecho de que, la sonda, comprende una secuencia nucleotídica de por lo menos 12 nucleótidos, naturales o modificados, consecutivos, incluida en una de las secuencias SEQ ID NO 1 a SEQ ID NO 4, y sus secuencias complementarias.

50 11. Utilización, según la reivindicación 9, para la detección, en una muestra biológica, de por lo menos una especie de enterobacterias.

12. Utilización, según la reivindicación 11, **caracterizada** por el hecho de que, la sonda, comprende una secuencia nucleotídica de por lo menos 12 oligonucleótidos, , naturales o modificados, consecutivos, incluida en:

55 SEQ ID NO 5 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 53,

60 SEQ ID NO 6 y que contiene por lo menos nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 54,

SEQ ID NO 8 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 56,

65 SEQ ID NO 8 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 57,

SEQ ID NO 9 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 58,

ES 2 206 551 T3

SEQ ID NO 10 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 59,

5 SEQ ID NO 12 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 61,

SEQ ID NO 13 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 62,

10 SEQ ID NO 14 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 63,

SEQ ID NO 16 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 65,

15 SEQ ID NO 17 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 64,

20 SEQ ID NO 18 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 66,

SEQ ID NO 19 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 67,

25 SEQ ID NO 20 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 68,

SEQ ID NO 21 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 69,

30 SEQ ID NO 22 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 70,

35 SEQ ID NO 23 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 71,

SEQ ID NO 24 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 72,

40 SEQ ID NO 25 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 73,

SEQ ID NO 26 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 74,

45 SEQ ID NO 27 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 75.

50 13. Utilización, según la reivindicación 12, **caracterizado** por el hecho de que, la sonda, comprende o consiste en una secuencia nucleotídica elegida de entre las secuencias SEQ ID NO 29 a SEQ ID NO 52.

14. Utilización, según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13, **caracterizado** por el hecho de que, la sonda, se inmoviliza sobre un soporte sólido.

55 15. Utilización, según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13, **caracterizado** por el hecho de que, la sonda, se marca con un agente trazador.

60 16. Procedimiento de determinación de la presencia o de la ausencia de por lo menos una enterobacteria, en una muestra que contiene, o que es susceptible de poder contener ácidos nucleicos, de por lo menos una bacteria de este tipo, **caracterizado** por el hecho de se procede a poner en contacto la citada muestra con por lo menos un oligonucleótido de la invención, tal y como se define en una de las reivindicaciones 9 a 13 y que, a continuación, se procede a determinar, de forma continua, en sí misma, la formación o la ausencia de formación de un complejo de hibridación entre el citado oligonucleótido y el ácido nucleico de la muestra.

65 17. Procedimiento, según la reivindicación 16, para la determinación de la presencia o la ausencia de una especie o de un grupo de especies de enterobacteria, **caracterizado** por el hecho de que se utiliza, por una parte, una primera sonda, tal y como se define en la reivindicación 10 y, por otra parte, una segunda sonda, tal y como se define en la

ES 2 206 551 T3

reivindicación 12 ó 13, en el bien entendido que, las citadas primera y segunda sonda, son capaces de hibridar con regiones no sobrepuestas de un ácido nucleico correspondiente al género rpoB de las enterobacterias.

18. Procedimiento, según la reivindicación 17, **caracterizado** por el hecho de que, la primera sonda, es tal y como se define en la reivindicación 14 y, la citada segunda sonda, es tal y como se define en la reivindicación 15.

19. Procedimiento, según una cualquiera de las reivindicaciones 16 a 18, para la determinación de la presencia o de la ausencia de *Salmonella sofia*, **caracterizado** por el hecho de que se utiliza una sonda elegida de entre aquéllas que comprenden una secuencia nucleotídica de por lo menos 12 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluida en una de las secuencias elegidas de entre:

SEQ ID NO 5 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 53,

15 SEQ ID NO 27 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 75, y

sus secuencias complementarias.

20. Procedimiento, según la reivindicación 19, **caracterizado** por el hecho de que, la sonda, tiene una secuencia nucleotídica que consiste o que comprende una secuencia elegida de entre las SEQ ID NO 29, SEQ ID NO 51, Y sus secuencias complementarias.

21. Procedimiento, según una cualquiera de las reivindicaciones 16 a 18, para la determinación de la presencia o de la ausencia de *Salmonella Typhimurium*, **caracterizado** por el hecho de que se utiliza una sonda elegida de entre aquéllas que comprenden una secuencia nucleotídica de por lo menos 12 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluida en una de las secuencias elegidas de entre:

30 SEQ ID NO 6 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 54,

SEQ ID NO 11 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 60,

35 SEQ ID NO 24 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 72,

40 SEQ ID NO 25 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 73, y

sus secuencias complementarias.

22. Procedimiento, según la reivindicación 21, **caracterizado** por el hecho de que, la sonda, tiene una secuencia nucleotídica que consiste o que comprende una secuencia elegida de entre las SEQ ID NO 30, SEQ ID NO 35, SEQ ID NO 48, SEQ ID NO 49, SEQ ID NO 52, y sus secuencias complementarias.

23. Procedimiento, según una cualquiera de las reivindicaciones 16 a 18, para la determinación de la presencia o de la ausencia de *Shigella dysenteriae*, **caracterizado** por el hecho de que se utiliza una sonda elegida de entre aquéllas que comprenden una secuencia nucleotídica de por lo menos 12 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluida en la SEQ ID NO 7 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 55, y su secuencia complementaria.

24. Procedimiento, según la reivindicación 23, **caracterizado** por el hecho de que, la sonda, tiene una secuencia nucleotídica que consiste o que comprende una secuencia elegida de entre la SEQ ID NO 31, y su secuencia complementaria.

25. Procedimiento, según una cualquiera de las reivindicaciones 16 a 18, para la determinación de la presencia o de la ausencia de *Escherichia fergussoni*, **caracterizado** por el hecho de que se utiliza una sonda elegida de entre aquéllas que comprenden una secuencia nucleotídica de por lo menos 12 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluida en una de las secuencias elegidas de entre:

SEQ ID NO 8 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 56,

65 SEQ ID NO 8 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 57,

ES 2 206 551 T3

SEQ ID NO 19 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 67, y

5 sus secuencias complementarias.

26. Procedimiento, según la reivindicación 25, **caracterizado** por el hecho de que, la sonda, tiene una secuencia nucleotídica que consiste o que comprende una secuencia elegida de entre las SEQ ID NO 32, SEQ ID NO 43, y sus secuencias complementarias.

10 27. Procedimiento, según una cualquiera de las reivindicaciones 16 a 18, para la determinación de la presencia o de la ausencia de *Enterobacter cloacae*, **caracterizado** por el hecho de que se utiliza una sonda elegida de entre aquéllas que comprenden una secuencia nucleotídica de por lo menos 12 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluida en una de las secuencias elegidas de entre:

15 SEQ ID NO 9 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 58,

20 SEQ ID NO 13 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 62,

SEQ ID NO 16 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 65,

25 SEQ ID NO 17 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 64,

SEQ ID NO 18 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 66,

30 SEQ ID NO 21 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 69,

35 SEQ ID NO 22 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 70, y

sus secuencias complementarias.

28. Procedimiento, según la reivindicación 27, **caracterizado** por el hecho de que, la sonda, tiene una secuencia nucleotídica que consiste en, o que comprende, una secuencia elegida de entre la SEQ ID NO 33, SEQ ID NO 37, SEQ ID NO 40, SEQ ID NO 41, SEQ ID NO 42, SEQ ID NO 45, SEQ ID NO 46, y sus secuencias complementarias.

29. Procedimiento, según una cualquiera de las reivindicaciones 16 a 18, para la determinación de la presencia o de la ausencia de *Klebsiella pneumoniae*, **caracterizado** por el hecho de que se utiliza una sonda elegida de entre aquéllas que comprenden una secuencia nucleotídica de por lo menos 12 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluida en una de las secuencias elegidas de entre:

50 SEQ ID NO 10 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 59,

SEQ ID NO 14 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 63,

55 SEQ ID NO 15 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 64,

SEQ ID NO 20 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 68,

60 SEQ ID NO 23 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 71, y

sus secuencias complementarias.

30. Procedimiento, según la reivindicación 29, **caracterizado** por el hecho de que, la sonda, tiene una secuencia nucleotídica que consiste en, o que comprende, una secuencia elegida de entre la SEQ ID NO 34, SEQ ID NO 38, SEQ ID NO 39, SEQ ID NO 44, SEQ ID NO 47, y sus secuencias complementarias.

ES 2 206 551 T3

31. Procedimiento, según una cualquiera de las reivindicaciones 16 a 18, para la determinación de la presencia o de la ausencia de *Escherichia coli*, **caracterizado** por el hecho de que se utiliza una sonda elegida de entre aquéllas que comprenden una secuencia nucleotídica de por lo menos 12 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluida en una de las secuencias elegidas de entre:

5

SEQ ID NO 12 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 61,

10 SEQ ID NO 26 y que contiene por lo menos 5 nucleótidos naturales o modificados, consecutivos, incluidos en la SEQ ID NO 74, y

sus secuencias complementarias.

15 32. Procedimiento, según la reivindicación 31, **caracterizado** por el hecho de que, la sonda, tiene una secuencia nucleotídica que consiste en, o que comprende, una secuencia nucleotídica que consiste en, o que comprende, una secuencia elegida de entre la SEQ ID NO 36, SEQ ID NO 50, y sus secuencias complementarias.

20 33. Procedimiento, según una cualquiera de las reivindicaciones 20 a 32, **caracterizado** por el hecho de que se utiliza la citada sonda en combinación con una sonda tal como definida en la reivindicación 10.

20

34. Cebador nucleotídico utilizable para la síntesis de un ácido nucleico, en presencia de una polimerasa, **caracterizado** por el hecho de que, éste, consiste en un oligonucleótido tal como definido en la reivindicación 1.

25 35. Sonda de terapia, **caracterizada** por el hecho de que, ésta, consiste en un oligonucleótido tal como definido en la reivindicación 1.

30

35

40

45

50

55

60

65

NOTA INFORMATIVA: Conforme a la reserva del art. 167.2 del Convenio de Patentes Europeas (CPE) y a la Disposición Transitoria del RD 2424/1986, de 10 de octubre, relativo a la aplicación del Convenio de Patente Europea, las patentes europeas que designen a España y solicitadas antes del 7-10-1992, no producirán ningún efecto en España en la medida en que confieran protección a productos químicos y farmacéuticos como tales.

Esta información no prejuzga que la patente esté o no incluida en la mencionada reserva.

FIG 1

1	11	21	31	41	51
Escherichia coli	***** GCAGCAGTGA	AAGAGTTCTT	CGGTTCCAGC	CAGCTGTCTC	AGTTTATGGA
Shigella dysenteriae	-----	-----	-----	-----	-----
Kluyvera ascorbata	-----	-----	T-----	-----	-----
Escherichia fergussoni	-----	-----	T-----	-----	-----
Enterobacter cloacae	-----	-----	-----	-----	-----C-----
Klebsiella pneumoniae ODC	-----	-----	T-----	-----	-----
Salmonella sofia	-G-----	-----	T-----	-----	-----
Salmonella typhimurium	-C-----	-----	T-----	-----	-----
Pseudomonas putida	-----G-----	-----	-----	-----C-----	-----
Mycobacterium tuberculosis	-C-GA-C-G-----	-----	--CA-----	-----AGC-	-A--C-----
Mycobacterium leprae	-C-TA-C-G-A-----	-----	--CA-----	-----G-----	-----
Bacillus subtilis	-GT-CA-T-----	-----	T--AAG-TCA	-----T-----	-A--C-----
Buchnera aphidicola	-T-TA-T-----	-----A--T--	T-----T--	-AT-A--G-	A-----
Thermotoga maritima	T-A-G--C-----	CC-----	-CGATG-A-	-----T-----	-----
Thermoplasma acidophilum	*****GC-----	-CTG-A-AGG	---CAGA-CG	GGCG-A--G-	---C-AC-----
Thermococcus celer	-GA-G-GTT	CGTG-CC-GG	T--CAGA-C-	GGTG--AGC-	---C-GC-----
Sulfolobus acidocaldarius	-----A--GA-	-CTG-G-TGG	---AGA-CT	GGAG-AAG--	-A--AC-A--

FIG 2

	61	71	81	91	101	111
<i>Escherichia coli</i>	CCAGAACAC	CCGCTGTCTG	AGATTACGCA	CAAAACGTCGT	ATCTCCGCAC	TCGGCCCCAGG
<i>Shigella dysenteriae</i>	-----C-	-----C-	-----C-	-----C-	-----C-	-----C-
<i>Kluyvera ascorbata</i>	-----	-----	-----	-----	-----	-----
<i>Escherichia fergussoni</i>	-----	-----	-A-	-G-	-----	-----G-
<i>Enterobacter cloacae</i>	-----	-----	-----	-----	-----T	-----
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ODC	-----	-----	-----	-----	-----	-----
<i>Salmonella sofia</i>	-----	-----	-----	-----	-----	-----
<i>Salmonella typhimurium</i>	-----	-----	-----	-----	-----	-----
<i>Pseudomonas putida</i>	-----	-T-C-G-	-----C-	-G-C-C-	TG-----	-----T-
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	-----	-----G-	G-T-G-C-	-G-C-A-	C-G-G-G-	-G-G-C-
<i>Mycobacterium leprae</i>	-----	-T-----G-	GCC-G-C-	-G-C-G-	C-G-G-G-	-G-----G-
<i>Bacillus subtilis</i>	-----CG-	-----TG-	-AT-A-	-----	C-G-A--T	-A-A-G-
<i>Buchnera aphidicola</i>	T-A-T-T	-AT-A-A-	-A-----A-	T--A-AA-A	-T-A--T	-G-A-TT-
<i>Thermotoga maritima</i>	-----GTG--T	-T-----G-	-AC-C-T-	-A-AA-G	G-T-T-TG	-----A-C-
<i>Thermoplasma acidophilum</i>	-AG-GTTTC-	AAC--CAGCA	C--C-GC-	TCTGA-GA-G	--AATTT-G-	CTCTTA--A-
<i>Thermococcus celer</i>	-AG-CG---	TACA-A--GA	C-C-CT-C-	-CTCA-G--C	G--A--T-G-	CGCT-AGCA-
<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	TAGA-CA--T	TG--A--CA	T-T-A-GT-	TCTTA-GA-A	G-AGTTT--T	CTTTAG-CA-

FIG 3

	121	131	141	151	161	171	
Escherichia coli	CGGTC	TGACC	CGTGAACGTG	CAGGCTTCGA	AGTTGAGAC	GTACACCCGA	CTCACTACGG
Shigella dysenteriae	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Kluyvera ascorbata	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Escherichia fergussoni	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Enterobacter cloacae	-----	-----C-	-----	-----	-----	-----	-----
Klebsiella pneumoniae ODC	-----	-----G-C-	-----	-----	-----	-----	C-----
Salmonella sofia	-----	-C-----C-	-----	-----	-----	-----	-G-----
Salmonella typhimurium	-----	-C---TG-	-----	-----	-----	-----	-G-----
Pseudomonas putida	-----	-----G--	C-----	-----C-T--	-----	-----	C-----T--
Mycobacterium tuberculosis	-----	T-A-----	-----G--	C--GC-G--	G--C-C--	-----	-G-----T
Mycobacterium leprae	T---T--T-G	-----G--	C--GC-A--	G--C-T--	-----	--G-----TT	-G-----
Bacillus subtilis	---AT---A	-----G---	C--AA-G--	-----G-T--	-----	--T---TACT	-C-----T--
Buchnera aphidicola	T---T-A--T	A-A--A-A-	-----A---	-----A---T	-----	-----T--A-	---T--T--
Thermotoga maritima	T--AT--GA	A-A--TCCA	A--T-----	-----CAA--A-	-----	--G--TACT	-----G---
Thermoplasma acidophilum	GACG-A-C--	-ACTTCGAG-	--A-GGA-CT	TCA--CGAC-	CAGTGGGA-	GGATA-G-CC	
Thermococcus celer	G-AA-A-C-G	-A-TTCGAG-	-CC-TGA-CT	TCACG--AC-	CACTGGGC-	GGATA-GTCC	
Sulfolobus acidocaldarius	G--A-A-C-T	AA-TTTCAG-	-GA-AGA-CT	TCA-G--ACT	CA-TGGGGA-	GAATG-G-CC	

FIG4

	181	191	201	211	221	231
Escherichia coli	TCGCGTATGT	CCAATCGAAA	CCCCTGAAGG	TCCGAACATC	GCTCTGATCA	ACTCTCTGTC
Shigella dysenteriae	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Kluyvera ascorbata	-----	-----	-G-----	-A-----	-----	-----
Escherichia fergussoni	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Enterobacter cloacae	-----	-----	-G-----	-A-----	-----	-----
Klebsiella pneumoniae ODC	-----	--G-----	-G-----	-----	-----	-----
Salmonella sofia	-----	-----	-G-G-----	-----	-----	-----
Salmonella typhimurium	-----	-T-----	-G-G-----	-----	-----	-----
Pseudomonas putida	C--T--G--C	-G-----G-	-----	-----	-----	-----
Mycobacterium tuberculosis	C--GA-G--C	-G-----G-	-----G-	G-C-----	-----	G--G--G--
Mycobacterium leprae	C--GA-G--C	-G-----G-	-T--G--G-	C-----A	-----	GT--AT--
Bacillus subtilis	C--TA-G--	-G--T--	-G-----G-	C-----	-----	-----
Buchnera aphidicola	A--T--C--	-T--A--	-A--A--	G--A--T--	--AT--	-T--T--A--
Thermotoga maritima	AA-GC-G--	--C--T--	-A--C--	CG-----	--AT--C--A-	CA-----G-
Thermoplasma acidophilum	CAA--A-AC-	--GAG-G-C	AGAACTGC--	--T-GT--AG	AACGCCGC-C	T-CTCA-AAA
Thermococcus celer	GAC--AGACC	--CGAG-GTC	-GAACTGC--	--TCGT--AG	AAC--CGC-C	T-ATGTCCCA
Sulfolobus acidocaldarius	GTTT-A-ACA	--TGAA-GTC	-TAACAGT--	A-TTGTG-AA	AA---AGC-T	TG-TAGCACA

FIG5

	241	251	261	271	281	291
Escherichia coli	CGTGTACGCA	CAGACTAACG	AATACGGCTT	CCTTGAGACT	CCGTATCGTA	AAGTGACCGA
Shigella dysenteriae	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Kluyvera ascorbata	-----	-----	-----	-----	-----C	-----
Escherichia fergusonii	-----	-----T	-----	-----G	-----C	-----TT
Enterobacter cloacae	-----A	-----T	-----	-----C	-----C	-----T
Klebsiella pneumoniae ODC	-----G	-----C	-----T	-----G	-----C	-----A
Salmonella sofia	-----	-----	-----T	-----G	-----C	GT--GTT--
Salmonella typhimurium	-----	-----	-----T	-----G	-----C	GT--GTT--
Pseudomonas putida	G-CC--T--C	-GC--C--C	-G-----	-G--A-GC	-----C--CG	TG-----AG--
Mycobacterium tuberculosis	G-----G	-G-GTC--C	CG-T--G--	-A-C--A--G	-----C--C-	-G--GT--
Mycobacterium leprae	G-----G	-G-GTC--C	CC-T--G--	-A-C--A--A	-----C--C-	-----GTT--
Bacillus subtilis	ATCT--T--	A-AGTA--C	GT-TT--	TA--A--G	-A-----CC	GC--TGA--CC
Buchnera aphidicola	A-----T--T	-GA-----TT	C--T--A--	TT-A--A--A	--T-----A-	-G--ACATA-
Thermotoga maritima	TA-A-----T	A-A-TCG-T-	-----A--	T--CAT-----	--T--A--A-	-G--AGT-A-
Thermoplasma acidophilum	---ACGCAG	GGC-TCG-TC	CTG--A--G-	-A-G---TA	-T-A-GG-G-	TG-ACGT-CG
Thermococcus celer	GA-AAC-A-C	GG-GT-CCA-	-GG-G-AGG-	-AGG--ATAC	-T-G-GA-AC	TC-GAGT--T
Sulfolobus acidocaldarius	G--T-CT-TT	GGT-T-----	-G-CA-TAG-	-GAGAG-GTA	G-T---GAAT	T--GAGT--T

FIG 6

	301	311	321	331	341	351
Escherichia coli	CGGTGTTGTA	ACTGACGAAA	TTCACTACCT	GTCTGCTATC	GAAGAAGGCA	ACTACGTTAT
Shigella dysenteriae	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Kluyvera ascorbata	-----	-C-----	-----	-----	-----	-----
Escherichia fergussoni	-----	-C-----	-----	-----	-----	-----
Enterobacter cloacae	-----	-C-----	-----	-----	-----	-----
Klebsiella pneumoniae ODC	-----	-G-T-----	-----	-----	-----	-----
Salmonella sofia	T-C-G-C	-----	-----	-----	-----	-----
Salmonella typhimurium	T-C-G-T	-----	-----	-----	-----	-----
Pseudomonas putida	A-C-----	-GC-----	-CGTG-T---	-----	-----	-----
Mycobacterium tuberculosis	-----	-GC-----	-CGTG-----	-A-C-CGA-	-G-G-A-C	GA-CACG-CA
Mycobacterium leprae	-----	-G-C-----	-CG-A---T-	-A-C---GA-	-G---A-C	G-C---GG-
Bacillus subtilis	T-AAACA-GG	-AG-TAACGG	GCAGAAT-GA	T-ACTTA-CT	-CT--T-AAG	-GG-TAACTA
Buchnera aphidicola	-C--T-A---	-----	-A-----	TT- A-----	-----	-----
Thermotoga maritima	T-AAAA---	-G-T---G	-GGT---T--	-AGG--C-A-	-----	-----
Thermoplasma acidophilum	--AG--CC-G	GAG--GAGCC	CGA-GA-AGG	-CG--T-TAT	CTGA-T--AG	-T-T-A-AGG
Thermococcus celer	TCCGA-A-AG	GAGAGGAG-C	CAA--CC-GA	CCTCTGGCG-	CTCT-CCTT-	--GG---C-
Sulfolobus acidocaldarius	GA---A-A-	GA--TAAT--	GGAGAAT-AG	TGAGCAA-A-	-----	-AA-ATA---

FIG 7

	361	371	381	391	401	411
Escherichia coli	CGCCCAGGCG	AACTCCAACT	TGGATGAAGA	AGGCCACTTC	GTAGAAGACC	TGGTAACTTG
Shigella dysenteriae	-----C	-----C	-----C	-----T	-----T	-----C--
Kluyvera ascorbata	-----C	-----C	-----C	-----T	-----T	-----T--
Escherichia fergusonii	-----C	-----C	-----C	-----T	-----T	-----T--
Enterobacter cloacae	-----C	-----C	-----C	-----T	-----T	-----T--
Klebsiella pneumoniae ODC	-----C	-----C	-----C	-----T	-----T	-----T--
Salmonella sofia	-----C	-----C	-----C	-----T	-----T	-----T--
Salmonella typhimurium	-----C	-----C	-----C	-----T	-----T	-----T--
Pseudomonas putida	TTGGCGG	ATACG	-----C	-----T	-----T	-----G--C--
Mycobacterium tuberculosis	TTGGCGG	ATACG	-----C	-----T	-----T	-----G--C--
Mycobacterium leprae	-----C	-----C	-----C	-----T	-----T	-----T--
Bacillus subtilis	-----C	-----C	-----C	-----T	-----T	-----T--
Buchnera aphidicola	-----C	-----C	-----C	-----T	-----T	-----T--
Thermotoga maritima	-----C	-----C	-----C	-----T	-----T	-----T--
Thermoplasma acidophilum	-----C	-----C	-----C	-----T	-----T	-----T--
Thermococcus celer	-----C	-----C	-----C	-----T	-----T	-----T--
Sulfolobus acidocaldarius	-----C	-----C	-----C	-----T	-----T	-----T--

FIG 8

	421	431	441	451	461	471
Escherichia coli	CCGTAGCAA	GGGGAATCCA	GCTTGTTTCAG	CCGGACCAG	GTTGACTACA	TGGACGTATC
Shigella dysenteriae	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Kluyvera ascorbata	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Escherichia fergussoni	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Enterobacter cloacae	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Klebsiella pneumoniae ODC	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Salmonella sofia	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Salmonella typhimurium	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Pseudomonas putida	TTCGTCACCT	-AACG-ATTC	A-CGTCAAG-	-GC-GAAGA	CG-C-CCTG	AT-GACGT-T
Mycobacterium tuberculosis	--CC----	-CG-GCGAGG	TGGA-A-GT	G-C-TCGTCT	-AG-TGG--T	ACATG-ACGT
Mycobacterium leprae	G--CC----	-CG-GCGAGG	TGGA-A-GT	GGC-TCGTCC	-AG-TGG-IT	ACATG-ATGT
Bacillus subtilis	-GTAGCTCGT	TT-CGCGGGG	AGAACAC-GT	TGTTTC-AGA	AA-CGTGTAG	ACT--A-GGA
Buchnera aphidicola	TA-GCA----	--A-----T-	-T--A--T-A	-T-TA-T--A	--C--T--	-----T--
Thermotoga maritima	T--A-TGGGT	-AA--TAT--	-GC-TG-TCC	-AAA-AG-A	--A--T-T--	-----
Thermoplasma acidophilum	-ATGTCGG-T	-AG-T-AA-G	T-AG--ATGA	TGA-A--AC-	AAC--GGTT	-----
Thermococcus celer	-G-G-AG-T-	A-----CAT--	TAAACG-TGC	--T-T-----	-A-	-----
Sulfolobus acidocaldarius	GTTAGCT--G	AAGATT				

FIG 9

	481	491	501	511	521	531
Escherichia coli	CACCCAGCAG	GTGGTATCCG	TCGGTGCGTC	CCTGATCCCG	TT	
Shigella dysenteriae	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Kluyvera ascorbata	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Escherichia fergussoni	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Enterobacter cloacae	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Klebsiella pneumoniae ODC	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Salmonella sofia	-----	-----C	-----	-----	-----	-----
Salmonella typhimurium	-----	-----C	-----	-----	-----	-----
Pseudomonas putida	-G-G-AGCA	-GTTGT-T-C	GTT-CAGCGT	-GCTGATT-C	G-T	
Mycobacterium tuberculosis	-T-G-CC-GC	CA-A-GGTGT	CG-TG-CA-	-GC--GATT	CCCTT	
Mycobacterium leprae	-T-G-CA-GC	CA-A-GGTGT	CG-TG-CA-	AGC--GATT	CCGTT	
Bacillus subtilis	TGTATC--CT	AA-CAGGTT-	-ATC--TG-	GACAGCATGT	A-CCCGTT	
Buchnera aphidicola	T--T--A--A	A-T-----T-	-A--A--T--	TT-A--T--A	--	
Thermotoga maritima	G--GA--A	CCCT-CAGT-	--TCG--T--	A--C--T--	--	
Thermoplasma acidophilum						
Thermococcus celer						
Sulfolobus acidocaldarius						

ES 2 206 551 T3

LISTA DE SECUENCIAS

1. INFORMACIONES GENERALES

- 5 (i) SOLICITANTE:
- (A) NOMBRE: BIO MERIEUX
 - (B) CALLE: Chemin de l'Orme
 - (C) CIUDAD: MARCY L'ETOILE
 - 10 (D) ESTADO O PROVINCIA:
 - (E) PAÍS: FRANCIA
 - (F) CÓDIGO POSTAL: 69280
- 15 (ii) TÍTULO DE LA INVENCIÓN: Detección de Enterobacterias
- (iii) NÚMERO DE SECUENCIAS 79
- (iv) DIRECCIÓN DE CORRESPONDENCIA:
- 20 (A) NOMBRE: Cabinet GERMAN & MAUREAU
 - (B) CALLE: 20 Bd Eugène Deruelle
 - (C) CIUDAD: LYON
 - (D) PAÍS: FRANCIA
 - 25 (E) CÓDIGO POSTAL: 69003
 - (F) TELÉFONO: 72 60 28 90
 - (G) TELEFAX: 78 60 92 85
- (v) FORMA DESCRIFRABLE POR ORDENADOR:
- 30 (A) TIPO DE SOPORTE: disquete de 3,5 pulgadas DS, HD
 - (B) ORDENADOR: EPSON (compatible IBM)
 - (C) SISTEMA OPERATIVO: DOS
 - (D) LOGICIEL: MICROSOFT WORD PARA WINDOWS
- 35 (vi) SOLICITUD ACTUAL:
- (A) FECHA DE LA DEMANDA
 - (B) NÚMERO DE LA DEMANDA
- 40 (vii) FECHA DE LA SOLICITUD ANTERIOR: 18.09.1995
- (A) NÚMERO DE LA SOLICITUD: 95 11125
 - (B) CLASIFICACIÓN
- 45 (viii) MANDATARIO
- (A) NOMBRE: CABINET GERMAIN & MAUREAU, Dominique GUERRE
 - (B) REFERENCIA DOSSIER: MD/B 05 B 2333

NÚMERO DE SECUENCIAS: 79

50

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 1

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- 55 (A) LONGITUD: 17 pares de bases
 - (B) TIPO: ácido nucleico
 - (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
 - (D) CONFIGURACIÓN: lineal
- 60 (ii) TIPO DE MOLÉCULA:
- (iii) HIPOTÉTICA: no
- (iv) ANTI-SENTIDO:
- 65 (v) TIPO DE FRAGMENTO:
- (vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

ES 2 206 551 T3

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 1

GCAGTGAAAG AGTTCTT

17

5 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 2

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 31 pares de bases

10 (B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

15 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

20 (v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 2

25 SEQ IND NO: 2

GAGGCTTCGA AGTTCGAGAA CGTACACCCG A

31

30 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 3

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 38 pares de bases

35 (B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

40 (iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

45 (vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 3

SEQ IND NO: 3

50 TACCTGTCTG CTATYGAAGA AGGCAACTAC GTTATCGC

38

55 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 4

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 102 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

60 (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

65 (iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

ES 2 206 551 T3

- (vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 4

5 SEQ IND NO: 4

TGCCGTAGCA AAGGCGAATC CAGCTTGTTT AGCCGYGACC AGGTTGACTA
CATGGACGTW TCCACCCAGC AGGTGGTMTT CGTCGGTGCG TCCCTGATCC CG

102

10 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 5

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 20 pares de bases

15 (B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

20 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADNc

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

25 (v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 5

30 SEQ IND NO: 5

GCGGCAGTGA AAGAGTTCTT

20

35 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 6

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 20 pares de bases

40 (B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

45 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

50 (v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 6

GCCGCAGTGA AAGAGTTCTT

20

55 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 7

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 34 pares de bases

60 (B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

65 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

ES 2 206 551 T3

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 7

5

GAACAACCCG CTGTCCGAGA TTACGCACAA ACGT

34

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 8

10

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 33 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

15

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

20

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

25

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 8

TCTGAGATAA CACACAAGCG TCGTATCTCC GCA

33

30

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 9

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 30 pares de bases

35

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

40

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

45

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 9

CAAACGTCGT ATCTCTGCAC TCGGCCAGG

50

30

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 10

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 32 pares de bases

55

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

60

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

65

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

ES 2 206 551 T3

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 10

TCTGACCCGT GAGCGCGCAG GCTTCGAAGT TC

32

5 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 11

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 27 pares de bases

10 (B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

15 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

20 (v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 11

25 TCTGACCCGC GAACTGGCAG GCTTCGA

27

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 12

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

30 (A) LONGITUD: 30 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

35 (D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

40 (v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 12

45 GGTCTGATCA ACTCTCTGTC CGTGTACGCA

30

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 13

50 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 29 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

55 (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

65 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 13

ES 2 206 551 T3

GTGTACGCAC AGACAAACGA ATACGCCTT

29

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 14

- 5 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
(A) LONGITUD: 27 pares de bases
(B) TIPO: ácido nucleico
(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
10 (D) CONFIGURACIÓN: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
(iii) HIPOTÉTICA: no
15 (iv) ANTI-SENTIDO:
(v) TIPO DE FRAGMENTO:
(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
20 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 14

GTCCGTGTAC GCGCAGACCA ACGAATA

27

25 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 15

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
(A) LONGITUD: 18 pares de bases
(B) TIPO: ácido nucleico
30 (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
(D) CONFIGURACIÓN: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
35 (iii) HIPOTÉTICA: no
(iv) ANTI-SENTIDO:
(v) TIPO DE FRAGMENTO:
40 (vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 15

45 CGCGCAGACC AACGAATA

18

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 16

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
(A) LONGITUD: 25 pares de bases
(B) TIPO: ácido nucleico
50 (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
(D) CONFIGURACIÓN: lineal
- 55 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
(iii) HIPOTÉTICA: no
(iv) ANTI-SENTIDO:
60 (v) TIPO DE FRAGMENTO:
(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 16

65 CAAACGAATA CGGTTTCCTT GAGAC

25

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 17

ES 2 206 551 T3

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
(A) LONGITUD: 15 pares de bases
(B) TIPO: ácido nucleico
5 (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
(D) CONFIGURACIÓN: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
- 10 (iii) HIPOTÉTICA: no
- (iv) ANTI-SENTIDO:
- (v) TIPO DE FRAGMENTO:
- 15 (vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 17

CCTTGAGACC CCGTA

15

20 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 18

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
(A) LONGITUD: 23 pares de bases
25 (B) TIPO: ácido nucleico
(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
(D) CONFIGURACIÓN: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
- 30 (iii) HIPOTÉTICA: no
- (iv) ANTI-SENTIDO:
- 35 (v) TIPO DE FRAGMENTO:
- (vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 18

40 CGTAAAGTGA CTGACGGTGT TGT

23

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 19

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
(A) LONGITUD: 23 pares de bases
45 (B) TIPO: ácido nucleico
(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
50 (D) CONFIGURACIÓN: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
- (iii) HIPOTÉTICA: no
- 55 (iv) ANTI-SENTIDO:
- (v) TIPO DE FRAGMENTO:
- (vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
- 60 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 19

CGTAAAGTGA TTGACGGTGT TGT

23

65 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 20

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
(A) LONGITUD: 20 pares de bases

ES 2 206 551 T3

- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
- (D) CONFIGURACIÓN: lineal

5 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

10 (v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 20

15 CGTAAAGTGA CCAACGGTGT

20

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 21

20 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 22 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

25 (D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

30 (iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

35 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 21

CGGTGTTGTT ACCGACGAAA TT

22

40 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 22

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 30 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

45 (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

50 (iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

55 (vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 22

60 TACCTGTCTG CTATTGAAGA AGGCAACTAC

30

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 23

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 19 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

65 (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

ES 2 206 551 T3

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 23

TGGATGAAAA CGGCCACTT

19

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 24

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 14 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 24

GTAGAAGATT TGGT

14

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 25

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 22 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 25

TGGTGACCTG CCGTAGCAAA GG

22

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 26

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 23 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

ES 2 206 551 T3

- (iii) HIPOTÉTICA: no
(iv) ANTI-SENTIDO:
(v) TIPO DE FRAGMENTO:
5 (vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 26
10 CAGGCGAACT CCAACTTGGA TGA 23
- 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 27
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
15 (A) LONGITUD: 30 pares de bases
(B) TIPO: ácido nucleico
(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
20 (D) CONFIGURACIÓN: lineal
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
(iii) HIPOTÉTICA: no
(iv) ANTI-SENTIDO:
25 (v) TIPO DE FRAGMENTO:
(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 27
30 CAGCTTGTTT AGCCGTGACC AGGTTGACTA 30
- 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 28
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
35 (A) LONGITUD: 27 pares de bases
(B) TIPO: ácido nucleico
40 (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
(D) CONFIGURACIÓN: lineal
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
(iii) HIPOTÉTICA: no
45 (iv) ANTI-SENTIDO:
(v) TIPO DE FRAGMENTO:
(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
50 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 28
ACATGGACGT TTCCACCCAG CAGGTGG 27
- 55 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 29
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
(A) LONGITUD: 15 pares de bases
60 (B) TIPO: ácido nucleico
(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
(D) CONFIGURACIÓN: lineal
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
65 (iii) HIPOTÉTICA: no
(iv) ANTI-SENTIDO:

ES 2 206 551 T3

- (v) TIPO DE FRAGMENTO:
- (vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 29

5

GCGGCAGTGA AAGAG

15

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 30

10

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 15 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
- (D) CONFIGURACIÓN: lineal

15

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

20

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

25

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 30

GCCGCAGTGA AAGAG

15

30 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 31

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 23 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
- (D) CONFIGURACIÓN: lineal

35

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

40

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

45

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 31

50

AACCCGCTGT CCGAGATTAC

23

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 32

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 16 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
- (D) CONFIGURACIÓN: lineal

55

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

60

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

65

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

ES 2 206 551 T3

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 32

TACACACAAG CGTCGT

16

5 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 33

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 17 pares de bases

10 (B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

15 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

20 (v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 33

25 CGTATCTCTG CACTCGG

17

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 34

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

30 (A) LONGITUD: 18 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

35 (D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

40 (v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 34

45 CGTGAGCGCG CAGGCTTC

18

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 35

50 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 19 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

55 (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

60 (v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

65 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 35

ES 2 206 551 T3

CCGCGAACTG GCAGGCTTC

19

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 36

- 5 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
(A) LONGITUD: 19 pares de bases
(B) TIPO: ácido nucleico
(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
10 (D) CONFIGURACIÓN: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
(iii) HIPOTÉTICA: no
15 (iv) ANTI-SENTIDO:
(v) TIPO DE FRAGMENTO:
(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
20 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 36

GATCAACTCT CTGTCCGTG

19

25 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 37

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
(A) LONGITUD: 18 pares de bases
30 (B) TIPO: ácido nucleico
(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
(D) CONFIGURACIÓN: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
35 (iii) HIPOTÉTICA: no
(iv) ANTI-SENTIDO:
(v) TIPO DE FRAGMENTO:
40 (vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 37

GCACAGACAA ACGAATAC

18

45 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 38

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
50 (A) LONGITUD: 19 pares de bases
(B) TIPO: ácido nucleico
(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
(D) CONFIGURACIÓN: lineal
- 55 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
(iii) HIPOTÉTICA: no
(iv) ANTI-SENTIDO:
60 (v) TIPO DE FRAGMENTO:
(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
2xi DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 38

65 GTGTACGCGC AACTCAAC

19

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 39

ES 2 206 551 T3

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
(A) LONGITUD: 14 pares de bases
(B) TIPO: ácido nucleico
5 (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
(D) CONFIGURACIÓN: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
- 10 (iii) HIPOTÉTICA: no
- (iv) ANTI-SENTIDO:
- (v) TIPO DE FRAGMENTO:
- 15 (vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 39

CGCGCAGACC AACG

14

20 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 40

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
(A) LONGITUD: 17 pares de bases
25 (B) TIPO: ácido nucleico
(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
(D) CONFIGURACIÓN: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
- 30 (iii) HIPOTÉTICA: no
- (iv) ANTI-SENTIDO:
- 35 (v) TIPO DE FRAGMENTO:
- (vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 40

40 GGAATACGGT TTCCTTG

17

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 41

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
(A) LONGITUD: 15 pares de bases
45 (B) TIPO: ácido nucleico
(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
(D) CONFIGURACIÓN: lineal
- 50 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
- (iii) HIPOTÉTICA: no
- 55 (iv) ANTI-SENTIDO:
- (v) TIPO DE FRAGMENTO:
- (vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
- 60 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 41

CCTTGAGACC CCGTA

15

65 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 42

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
(A) LONGITUD: 17 pares de bases

ES 2 206 551 T3

- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
- (D) CONFIGURACIÓN: lineal

- 5 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
- (iii) HIPOTÉTICA: no
- (iv) ANTI-SENTIDO:
- 10 (v) TIPO DE FRAGMENTO:
- (vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 42

15 CGTAAAGTGA CTGACGG

17

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 43

- 20 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 17 pares de bases
 - (B) TIPO: ácido nucleico
 - (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
 - 25 (D) CONFIGURACIÓN: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
- (iii) HIPOTÉTICA: no
- 30 (iv) ANTI-SENTIDO:
- (v) TIPO DE FRAGMENTO:
- (vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
- 35 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 43

CGTAAAGTGA TTGACGG

17

40 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 44

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 18 pares de bases
 - 45 (B) TIPO: ácido nucleico
 - (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
 - (D) CONFIGURACIÓN: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
- 50 (iii) HIPOTÉTICA: no
- (iv) ANTI-SENTIDO:
- (v) TIPO DE FRAGMENTO:
- 55 (vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 44

60 CTAAAGTGAC CAACGGTG

18

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 45

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- 65 (A) LONGITUD: 18 pares de bases
 - (B) TIPO: ácido nucleico
 - (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

ES 2 206 551 T3

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 45

GTGTTGTTAC CGACGAAA

18

15 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 46

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 19 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 46

GTCTGCTATT GAAGAAGGC

19

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 47

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 19 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 47

TGGATGAAAA CGGCCACTT

19

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 48

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 14 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

ES 2 206 551 T3

- (iii) HIPOTÉTICA: no
- (iv) ANTI-SENTIDO:
- (v) TIPO DE FRAGMENTO:
- (vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
- (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 48

10 GTAGAAGATT TGGT

14

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 49

15 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 15 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
- (D) CONFIGURACIÓN: lineal

20 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

25 (iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

30 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 49

TGGTGACCTG CCGTA

15

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 50

35 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 19 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
- (D) CONFIGURACIÓN: lineal

40 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

45 (iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

50 (vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 50

CGAACTCCAA CTTGGATGA

19

55 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 51

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 20 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
- (D) CONFIGURACIÓN: lineal

60 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

65 (iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

ES 2 206 551 T3

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 51

GTTCAGCCGT GACCAGGTTG

20

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 52

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 17 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 52

GGACGTTTCC ACCCAGC

17

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 53

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 5 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 53

GGCAG

5

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 54

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 5 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

ES 2 206 551 T3

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO : 54

CGCAG

5

5 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 55

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 9 pares de bases

10 (B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

15 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

20 (v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 55

25 TGTCCGAGA

9

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 56

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

30 (A) LONGITUD: 5 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

35 (D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

40 (v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 56

45

ACACA

5

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 57

50 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 5 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

55 (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

60

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

65

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 57

ES 2 206 551 T3

GCGTC

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 58

- 5 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
 (A) LONGITUD: 9 pares de bases
 (B) TIPO: ácido nucleico
 (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
10 (D) CONFIGURACIÓN: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
(iii) HIPOTÉTICA: no
15 (iv) ANTI-SENTIDO:
 (v) TIPO DE FRAGMENTO:
(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
20 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 58

TCTCTGCAC

9

25 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 59

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
 (A) LONGITUD: 9 pares de bases
 (B) TIPO: ácido nucleico
30 (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
 (D) CONFIGURACIÓN: lineal
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
35 (iii) HIPOTÉTICA: no
(iv) ANTI-SENTIDO:
 (v) TIPO DE FRAGMENTO:
40 (vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 59

45 AGCGCGCAG

9

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 60

- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
 (A) LONGITUD: 10 pares de bases
50 (B) TIPO: ácido nucleico
 (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
 (D) CONFIGURACIÓN: lineal
- 55 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
(iii) HIPOTÉTICA: no
(iv) ANTI-SENTIDO:
60 (v) TIPO DE FRAGMENTO:
(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 60

65 GAACTGGCAG

10

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 61

ES 2 206 551 T3

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 9 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
- (D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 61

ACTCTCTGT

9

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 62

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 9 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
- (D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 62

AGACAAACG

9

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 63

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 5 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
- (D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 63

GCAGA

5

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 64

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 5 pares de bases

ES 2 206 551 T3

- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
- (D) CONFIGURACIÓN: lineal

5 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

10 (v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 64

15 AGACC

5

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 65

20 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 9 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

25 (D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

30 (iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

35 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 65

ACGGTTTCC

9

40 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 66

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 5 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

45 (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

50 (iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

55 (vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 66

60 TGACT

5

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 67

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 5 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

65 (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

ES 2 206 551 T3

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 67

TGATT

5

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 68

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 5 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 68

GACCA

5

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 69

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 5 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 69

TTACC

5

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 70

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 9 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

ES 2 206 551 T3

- (iii) HIPOTÉTICA: no
(iv) ANTI-SENTIDO:
(v) TIPO DE FRAGMENTO:
5 (vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 70
10 CTATTGAAG 9
- 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 71
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
15 (A) LONGITUD: 5 pares de bases
(B) TIPO: ácido nucleico
(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
20 (D) CONFIGURACIÓN: lineal
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
(iii) HIPOTÉTICA: no
(iv) ANTI-SENTIDO:
25 (v) TIPO DE FRAGMENTO:
(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 71
30 AAACG 5
- 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 72
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
35 (A) LONGITUD: 8 pares de bases
(B) TIPO: ácido nucleico
40 (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
(D) CONFIGURACIÓN: lineal
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
(iii) HIPOTÉTICA: no
45 (iv) ANTI-SENTIDO:
(v) TIPO DE FRAGMENTO:
(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis
50 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 72
AGATTTGG 8
- 55 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 73
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
(A) LONGITUD: 5 pares de bases
60 (B) TIPO: ácido nucleico
(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple
(D) CONFIGURACIÓN: lineal
(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN
65 (iii) HIPOTÉTICA: no
(iv) ANTI-SENTIDO:

ES 2 206 551 T3

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 73

5

TGACC

5

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 74

10

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 9 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

15

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

20

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

25

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 74

CAACTTGGA

9

30 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 75

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 9 pares de bases

35

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

40

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

45

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 75

GCCGTGACC

9

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 76

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

55

(A) LONGITUD: 5 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

60

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

65

(v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

ES 2 206 551 T3

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 76

TTCCA

5

5 2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 77

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 30 pares de bases

10 (B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

15 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

20 (v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 77

25 CTAGGATCCT TAGAATTCAA CCCGCTGTCC

30

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO: 78

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

30 (A) LONGITUD: 21 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

35 (D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

40 (v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 78

45 TACAAGTGGC AGGCTGCTTG A

21

2 INFORMACIONES PARA LA SEQ ID NO : 79

50 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 36 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

55 (C) NÚMERO DE HEBRAS: simple

(D) CONFIGURACIÓN: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN

(iii) HIPOTÉTICA: no

(iv) ANTI-SENTIDO:

60 (v) TIPO DE FRAGMENTO:

(vi) ORIGEN: oligonucleótido de síntesis

65

ES 2 206 551 T3

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 79

TGTGCCAGCG GTACTGGACA GACCAACGAA AGATTA

36

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65