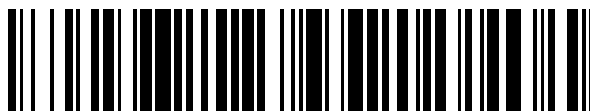


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 375 952**

51 Int. Cl.:
C12N 15/00 (2006.01)
C12P 21/06 (2006.01)
C12N 15/09 (2006.01)
C12N 15/63 (2006.01)
C12N 15/70 (2006.01)
C12N 15/74 (2006.01)
C12P 21/04 (2006.01)
C12Q 3/00 (2006.01)
C12Q 1/70 (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02762148 .1**
96 Fecha de presentación: **17.04.2002**
97 Número de publicación de la solicitud: **1578903**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **28.09.2005**

54 Título: **NUEVOS MÉTODOS PARA CONSTRUIR BIBLIOTECAS QUE COMPRENDEN MIEMBROS PRESENTADOS Y/O EXPRESADOS EN UNA FAMILIA DIVERSA DE PÉPTIDOS, POLIPÉPTIDOS O PROTEÍNAS Y LAS NUEVAS BIBLIOTECAS.**

30 Prioridad:
17.04.2001 US 837306
24.10.2001 US 516
25.10.2001 US 45674

45 Fecha de publicación de la mención BOP I:
07.03.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
07.03.2012

73 Titular/es:
Dyax Corp.
300 Technology Square 8th Floor
Cambridge, MA 02139, US

72 Inventor/es:
LADNER, Robert C.;
COHEN, Edward H.;
NASTRI, Horacio G.;
ROOKEY, Kristin L.;
HOET, René y
HOOGENBOOM, Hendricus R.J.M.

74 Agente: **de Elzaburu Márquez, Alberto**

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).

ES 2 375 952 T3

DESCRIPCIÓN

Nuevos métodos para construir bibliotecas que comprenden miembros presentados y/o expresados de una familia diversa de péptidos, polipéptidos o proteínas y las nuevas bibliotecas

5 Esta solicitud es una continuación en parte de la solicitud provisional de los Estados Unidos 60/198,069, presentada el 17 de abril, 2000, una continuación en parte de la solicitud de patente de los Estados Unidos 09/837,306, presentada el 17 de abril, 2001, una continuación en parte de la solicitud PCT PCT/US01/12454, presentada el 17 de abril, 2001, una continuación en parte de la solicitud de los Estados Unidos 10/000,516, presentada el 24 de octubre, 2001 y una continuación en parte de la solicitud de los Estados Unidos 10/045,674, presentada el 25 de octubre, 2001.

La presente invención se refiere a las realizaciones caracterizadas en las reivindicaciones.

10 Así, se refiere a un método para producir una población o biblioteca de genes de inmunoglobulina que comprende las etapas de:

(i) introducir diversidad sintética en al menos uno de VH CDR1 o VH CDR2 de estos genes; y

(ii) combinar la diversidad de la etapa (i) con diversidad en VH CDR3 capturada de células B.

15 La presente invención también se refiere a una biblioteca que comprende una colección de paquetes genéticos que presentan un miembro de una familia diversa de péptidos, polipéptidos o proteínas y que presentan colectivamente al menos una parte de la familia, estando codificados los péptidos, polipéptidos o proteínas presentados por secuencias de ADN que comprenden secuencias que codifican

20 (a) una VH CDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos según la fórmula -X1-Y-X2-M-X3-, en la que X1, X2, y X3 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en A, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W, e Y;

(b) una VH CDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos según la fórmula X4-I-X5-X6-S-G-G-X7-T-X8-Y-A-D-S-V-K-G-, en la que X4 y X5 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en Y, R, W, V, G, y S, X6 se selecciona del grupo que consiste en P y S, y X7 y X8 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en A, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W, e Y; y

25 (c) una secuencia que codifica una VH CDR3, en la que dicha VH CDR3 es una VH CDR3 capturada de la región VH CDR3 de un gen de inmunoglobulina de una célula B.

En una realización preferida, los paquetes genéticos son fagos filamentosos o fagémidos.

La presente descripción se refiere a demás a vectores para presentar y/o expresar una familia diversa de péptidos, polipéptidos o proteínas.

30 La presente descripción se refiere a demás a métodos de cribado de las bibliotecas de la invención y a los péptidos, polipéptidos y proteínas identificados por dicho cribado.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

35 Actualmente es una práctica común en la técnica preparar bibliotecas de paquetes genéticos que presentan, expresan o comprenden un miembro de una familia diversa de péptidos, polipéptidos o proteínas y que presentan, expresan o comprenden colectivamente al menos una parte de la diversidad de la familia. En muchas bibliotecas comunes, los péptidos, polipéptidos o proteínas están relacionados con anticuerpos. Frecuentemente, son Fab o anticuerpos de cadena única.

40 En general, los ADN que codifican los miembros de las familias que se van a presentar y/o expresar deben amplificarse antes de que sean clonados y usados para presentar y/o expresar el miembro deseado. Dicha amplificación es típicamente cebadores directos e inversos.

45 Dichos cebadores pueden ser complementarios a secuencias nativas del ADN que se va a amplificar o complementarios a oligonucleótidos unidos a los extremos 5' ó 3' de ese ADN. Los cebadores que son complementarios a secuencias nativas del ADN que se va a amplificar presentan desventajas porque sesgan los miembros de las familias que se van a presentar. Sólo se amplificarán aquellos miembros que contienen una secuencia en el ADN nativo que es sustancialmente complementaria al cebador. Aquellos que no la tengan estarán ausentes de la familia. Para aquellos miembros que se amplifican, se suprimirá cualquier diversidad en la región del cebador.

50 Por ejemplo, en la patente Europea 368,684 B1, el cebador que se usa está en el extremo 5' de la región V_H de un gen de anticuerpo. Hibrida con una región de secuencia en el ADN nativo que se dice que está "suficientemente bien conservada" en una única especie. Dicho cebador sesgará los miembros amplificados favoreciendo a aquellos que tienen esta región "conservada". Se suprime cualquier diversidad en esta región.

Se admite generalmente que los genes de los anticuerpos humanos surgen mediante un proceso que implica una selección combinatoria de V y J o V, D, y J seguido de mutaciones somáticas. Aunque la mayor parte de la diversidad se produce en las Regiones Determinantes de la Complementariedad (CDR), la diversidad también se produce en las regiones más conservadas, Regiones Marco (FR) y al menos parte de esta diversidad confiere o incrementa la unión específica a antígenos (Ag). Consecuentemente, las bibliotecas deberían contener tanta diversidad en CDR y FR como fuera posible.

Para clonar los ADN amplificados de los péptidos, polipéptidos o proteínas que codifican para presentación en un paquete genético y/o para expresión, los ADN deben escindirse para producir extremos apropiados para ligación en un vector. Dicha escisión se efectúa generalmente usando sitios de reconocimiento de endonucleasas de restricción portados por los cebadores. Cuando los cebadores están en el extremo 5' del ADN producido por transcripción inversa de ARN, dicha restricción deja regiones no traducidas 5' perjudiciales en el ADN amplificado. Estas regiones interfieren con la expresión de los genes clonados y así la presentación de los péptidos, polipéptidos y proteínas codificados por éstos.

RESUMEN DE LA INVENCION

Es un objeto de esta invención proporcionar un método para producir una población o biblioteca de genes de inmunoglobulina que comprende las etapas de:

- (i) introducir diversidad sintética en al menos uno de VH CDR1 o VH CDR2 de estos genes; y
- (ii) combinar la diversidad de la etapa (i) con diversidad en VH CDR3 capturada de células B.

Estos métodos no están sesgados a favor de los ADN que contienen secuencias nativas que son complementarias a los cebadores usados para la amplificación. También permiten eliminar cualquier secuencia del ADN amplificado que puede ser perjudicial para la expresión antes de la clonación y presentación y/o expresión.

Los objetos adicionales de la invención están reflejados en las reivindicaciones 3 a 14. Cada una de estas reivindicaciones está incorporada específicamente por referencia en esta especificación.

DESCRIPCIÓN BREVE DE LOS DIBUJOS

La FIG. 1 es un esquema de los diferentes métodos que pueden emplearse para amplificar genes VH sin el uso de cebadores específicos para secuencias VH.

La FIG. 2 es un esquema de los diferentes métodos que pueden emplearse para amplificar genes VL sin el uso de cebadores específicos para secuencias VL.

La FIG. 3 es un esquema de amplificación RACE de las cadenas pesadas y ligeras de anticuerpo.

La FIG. 4 muestra el análisis por gel de los productos de amplificación obtenidos después de la reacción de PCR primaria de 4 muestras de pacientes diferentes.

La FIG. 5 muestra el análisis por gel del ADN kappa escindido del Ejemplo 2.

La FIG. 6 muestra el análisis por gel del extensor-ADN kappa escindido del Ejemplo 2.

La FIG. 7 muestra el análisis por gel del producto de PCR de la amplificación extensor-kappa del Ejemplo 2.

La FIG. 8 muestra el análisis por gel del producto de PCR purificado de la amplificación extensor-kappa del Ejemplo 2.

La FIG. 9 muestra el análisis por gel de las cadenas ligeras kappa escindidas y ligadas del Ejemplo 2.

La FIG. 10 es un esquema del diseño para la diversidad sintética de CDR1 y CDR2.

La FIG. 11 es un esquema del programa de clonación para la construcción del repertorio de cadena pesada.

La FIG. 12 es un esquema de la escisión y ligación de la cadena ligera de anticuerpo.

La FIG. 13 muestra el análisis por gel de las cadenas ligeras lambda escindidas y ligadas del Ejemplo 4.

La FIG. 14 es un esquema de la escisión y ligación de la cadena pesada de anticuerpo.

La FIG. 15 muestra el análisis por gel de las cadenas ligeras lambda escindidas y ligadas del Ejemplo 5.

La FIG. 16 es un esquema de un vector de presentación en fago.

La FIG. 17 es un esquema de un casete Fab.

La FIG. 18 es un esquema de un proceso para incorporar residuos FR1 fijos en una secuencia lambda de anticuerpo.

La FIG. 19 es un esquema de un proceso para incorporar residuos FR1 fijos en una secuencia kappa de anticuerpo.

La FIG. 20 es un esquema de un proceso para incorporar residuos FR1 fijos en una secuencia de cadena pesada de anticuerpo.

TÉRMINOS

5	En esta solicitud, se usan los términos y abreviaturas siguientes:		
	Cadena con sentido	La cadena superior de los ADN ds como se escribe habitualmente. En la cadena con sentido, 5'-ATG-3' codifica Met.	
	Cadena antisentido	La cadena inferior de los ADN ds como se escribe habitualmente. En la cadena antisentido, 3'-TAC-5' correspondería a un codón Met en la cadena con sentido.	
10	Cebador directo	Un cebador "directo" es complementario a una parte de la cadena con sentido y ceba la síntesis de una nueva molécula de cadena antisentido. "Cebador directo" y "cebador de la cadena inferior" son equivalentes.	
	Cebador inverso	Un cebador "inverso" es complementario a una parte de la cadena antisentido y ceba la síntesis de una nueva molécula de cadena con sentido. "Cebador inverso" y "cebador de la cadena superior" son equivalentes.	
15	Bases	Las bases se especifican bien por su posición en un vector o gen como su posición en un gen por codón y base. Por ejemplo, "89.1" es la primera base del codón 89, 89.2 es la segunda base del codón 89.	
	Sv	Estreptavidina	
20	Ap	Ampicilina	
	<i>ap^R</i>	Un gen que confiere resistencia a ampicilina.	
	RERS	Sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción	
	RE	Endo	nucleasa de restricción - escinde preferentemente en RERS
	URE	Endo	nucleasa de restricción universal
25	Funcionalmente complementario	Dos secuencias son suficientemente complementarias como para hibridar bajo las condiciones elegidas.	
	AA	Aminoácido	
	PCR	Reacción de polimerización en cadena	
	GLG	Genes de la línea germinal	
30	Ab	Anticuerpo: una inmunoglobulina. El término también engloba cualquier proteína que tiene un dominio de unión que es homólogo a un dominio de unión de una inmunoglobulina. Algunos ejemplos de anticuerpos incluidos en esta definición son, entre otros, isotipos de inmunoglobulina y los fragmentos Fab, F(ab ¹) ₂ , scfv, Fv, dAb y Fd.	
35	Fab	Molécula de dos cadenas que comprende una cadena ligera de Ab y parte de una cadena pesada.	
	ScFv	Un Ab de una única cadena bien VH::conector::VL o VL::conector::VH	
	w.t.	T	ipo salvaje
	HC	Cad	ena pesada
40	LC	Cad	ena ligera
	VK	Un dominio variable de una cadena ligera Kappa.	
	VH	Un dominio variable de una cadena pesada.	
	VL	Un dominio variable de una cadena ligera lambda.	

En esta solicitud cuando se dice que los ácidos nucleicos se escinden solamente en el sitio de escisión de una endonucleasa de restricción, debe entenderse que puede ocurrir una escisión menor en sitios aleatorios, por ejemplo, no específicos distintos del sitio de escisión específico que es característico de la endonucleasa de restricción. El experto en la técnica reconocerá que dicha escisión no específica, aleatoria es algo que ocurre de forma habitual. De acuerdo con esto, "solamente en el sitio de escisión" de una endonucleasa de restricción significa que la escisión ocurre preferentemente en el sitio característico de esa endonucleasa.

Tal y como se usa en esta solicitud y reivindicaciones, el término "sitio de escisión formado por la complementación del ácido nucleico y la región monocatenaria del oligonucleótido" incluye los sitios de escisión formados por la parte monocatenaria del oligonucleótido parcialmente bicatenario que forma un dúplex con el ADN monocatenario, sitios de escisión en la parte bicatenaria del oligonucleótido parcialmente bicatenario, y sitios de escisión introducidos por el cebador de amplificación usado para amplificar la combinación de ADN monocatenario-oligonucleótido parcialmente bicatenario.

En los dos métodos de esta invención para preparar secuencias de ácido nucleico monocatenarias, se prefiere el primero de estos sitios de escisión. En los métodos de esta invención para capturar diversidad y clonar una familia de diversas secuencias de ácido nucleico, se prefieren los últimos dos sitios de escisión.

En esta solicitud, todas las referencias a las que se hace referencia se incorporan específicamente por referencia.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES PREFERIDAS

Las secuencias de ácido nucleico que son útiles en los métodos de esta invención, es decir, aquellas que codifican al menos en parte los péptidos, polipéptidos y proteínas individuales presentados, o expresados en o que comprenden las bibliotecas de esta invención, pueden ser nativas, sintéticas o una combinación de éstas. Pueden ser ARNm, ADN o ADNc. En la realización preferida, los ácidos nucleicos codifican anticuerpos. Lo más preferiblemente, codifican Fabs.

Los ácidos nucleicos útiles en esta invención pueden ser naturalmente diversos, la diversidad sintética puede introducirse en aquellos miembros naturalmente diversos o la diversidad puede ser completamente sintética. Por ejemplo, la diversidad sintética puede introducirse en una o más CDR de los genes de anticuerpo. Preferiblemente, se introduce en CDR1 y CDR2 de inmunoglobulinas. Preferiblemente, la diversidad natural se captura en las regiones CDR3 de los genes de inmunoglobulina de esta invención a partir de células B. Lo más preferiblemente, los ácidos nucleicos de esta invención comprenden una población de genes de inmunoglobulina que comprenden diversidad sintética en al menos una, y más preferiblemente las dos de CDR1 y CDR2 y diversidad en CDR3 capturada de células B.

La diversidad sintética puede crearse, por ejemplo, mediante el uso de tecnología TRIM (U.S. 5.869.644). La tecnología TRIM permite el control sobre exactamente qué tipos de aminoácidos se permiten en posiciones variegadas y en qué proporciones. En la tecnología TRIM, los codones que se van a diversificar se sintetizan usando mezclas de trinucleótidos. Esto permite incluir cualquier conjunto de tipos de aminoácidos en cualquier proporción.

Otra alternativa que puede usarse para generar ADN diversificado es síntesis de mezclas de oligonucleótidos. Con la tecnología TRIM, se podría permitir Ala y Trp. Con la síntesis de mezclas de oligonucleótidos, una mezcla que incluyera Ala y Trp también incluiría necesariamente Ser y Gly. Los tipos de aminoácidos permitidos en las posiciones variegadas se eligen con referencia a la estructura de los anticuerpos, u otros péptidos, polipéptidos o proteínas de la familia, la diversidad observada en los genes de la línea germinal, las mutaciones somáticas observadas, o observadas frecuentemente y las áreas y tipos deseados de variegación.

En una realización preferida de esta invención, las secuencias de ácido nucleico para al menos una CDR u otra región de los péptidos, polipéptidos o proteínas de la familia son ADNc producidos por transcripción inversa a partir de ARNm. Más preferiblemente, los ARNm se obtienen a partir de células de sangre periférica, células de la médula ósea, células del bazo o células de los ganglios linfáticos (tales como linfocitos B o células plasmáticas) que expresan miembros de conjuntos naturalmente diversos de genes relacionados. Más preferiblemente, los ARNm codifican una familia diversa de anticuerpos. Lo más preferiblemente, los ARNm se obtienen de pacientes que padecen al menos un trastorno autoinmune o cáncer. Preferiblemente, se usan los ARNm que con tienen una alta diversidad de enfermedades autoinmunes, tales como lupus eritematoso sistémico, esclerosis sistémica, artritis reumatoide, síndrome de antifosfolípido y vasculitis.

En una realización preferida de esta invención, los ADNc se producen a partir de ARNm usando transcripción inversa. En esta realización preferida, los ARNm se separan de la célula y se degradan usando métodos estándar, de manera que sólo permanezcan los ARNm de longitud completa (es decir, con caperuza). La caperuza se elimina y se usa la transcripción inversa para producir los ADNc.

La transcripción inversa de la primera (antisentido) cadena puede hacerse de cualquier manera con un cebador adecuado. Véase, por ejemplo, HJ de Haard et al., Journal of Biological Chemistry, 279(26):18218-30 (1999). En la realización preferida de esta invención en la que los ARNm codifican anticuerpos, pueden usarse los cebadores que son complementarios a las regiones constantes de los genes de anticuerpo. Estos cebadores son útiles porque no generan sesgo hacia subclases de anticuerpos. En otra realización, pueden usarse cebadores poli-dT (y pueden preferirse para

los genes de cadena pesada). Alternativamente, las secuencias complementarias al cebador pueden unirse al extremo de la cadena antisentido.

En una realización preferida de esta invención, el cebador de la transcriptasa inversa puede estar biotinilado, permitiendo así que el producto ADNc pueda inmovilizarse en lechos de estreptavidina (Sv). La inmovilización también puede efectuarse usando un cebador marcado en el extremo 5' con uno de a) grupo amino libre, b) tiol, c) ácido carboxílico, o d) otro grupo no encontrado en el ADN que puede reaccionar para formar un enlace fuerte con una pareja conocida en un medio insoluble. Si, por ejemplo, se proporciona un amino libre (preferiblemente amino primario) en el extremo 5' de un cebador de ADN, este amino puede reaccionar con grupos ácido carboxílico en un lecho de polímero usando química estándar de formación de amida. Si dicha inmovilización preferida se usa durante la transcripción inversa, el ARN de la cadena superior se degrada usando enzimas muy conocidas, tales como una combinación de ARNasaH y ARNasaA, bien antes o después de la inmovilización.

Las secuencias de ácido nucleico útiles en los métodos de esta invención se amplifican generalmente antes de ser usadas para presentar y/o expresar los péptidos, polipéptidos o proteínas que codifican. Antes de la amplificación, los ADN monocatenarios pueden escindirse usando cualquiera de los métodos descritos anteriormente. Alternativamente, los ADN monocatenarios pueden amplificarse y escindirse usando uno de estos métodos.

Cualquiera de los métodos muy conocidos para amplificar secuencias de ácido nucleico puede usarse para dicha amplificación. Se prefieren los métodos que maximizan, y no sesgan, la diversidad. En una realización preferida de esta invención en la que las secuencias de ácido nucleico se obtienen de genes de anticuerpo, la presente invención utiliza preferiblemente cebadores en las regiones constantes de los genes de la cadena pesada y ligera y cebadores para una secuencia sintética que están unidos al extremo 5' de la cadena con sentido. El cebado en dichas secuencias sintéticas evita el uso de secuencias en las regiones variables de los genes de anticuerpo. Aquellos sitios de cebado de la región variable generan sesgo frente a los genes V que son bien de subclases raras o que han sido mutados en los sitios de cebado. Este sesgo se debe parcialmente a la supresión de la diversidad en la región del cebador y se debe también parcialmente a la ausencia de cebado cuando están presentes muchas mutaciones en la región complementaria al cebador. Los métodos descritos en esta invención tienen la ventaja de no sesgar la población de genes de anticuerpo amplificada para tipos de genes V particulares.

Las secuencias sintéticas pueden unirse al extremo 5' de la cadena de ADN por varios métodos muy conocidos para ligar secuencias de ADN entre sí. La RT CapExtension es un método preferido.

En RT CapExtension (obtenido de Smart PCR^(TM)), una superposición corta (5'-...GGG-3' en el cebador de la cadena superior (USP-GGG) se complementa con 3'-CCC...5' en la cadena inferior) y las transcriptasas inversas se usan de manera que el complemento inverso del cebador de la cadena superior se une a la cadena inferior.

Las FIGs. 1 y 2 muestran esquemas para amplificar los genes VH y VL usando RT CapExtension. La FIG. 1 muestra un esquema de la amplificación de genes VH. La FIG. 1, Panel A muestra un cebador específico de la región poli-dT de la síntesis cebada de 3' UTR de la primera cadena (inferior). Los cebadores que se unen en la región constante también son adecuados. El Panel B muestra la cadena inferior extendida en su extremo 3' por tres Cs que no son complementarias al ARNm. El Panel C muestra el resultado de la hibridación de un cebador de la cadena superior sintético que termina en tres GGG que hibridan con las CCC del extremo 3' y extendiendo la transcripción inversa extendiendo la cadena inferior por el complemento inverso de la secuencia de cebador sintético. El Panel D muestra el resultado de la amplificación por PCR usando un cebador de cadena superior sintético biotinilado en 5' que replica el extremo 5' del cebador sintético del panel C y un cebador de cadena inferior complementario a parte del dominio constante. El Panel E muestra ADNc (ds) bicatenario inmovilizado obtenido usando un cebador de cadena superior biotinilado en 5'.

La FIG. 2 muestra un esquema similar para la amplificación de genes VL. La FIG. 2, Panel A muestra un cebador específico de la región constante en o cerca del extremo 3' de la síntesis cebada de la primera cadena (inferior). Los cebadores que se unen en la región poli-dT también son adecuados. El Panel B muestra la cadena inferior extendida en su extremo 3' por tres Cs que no son complementarias al ARNm. El Panel C muestra el resultado de la hibridación de un cebador de la cadena superior sintético que termina en tres GGG que hibridan con las CCC del extremo 3' y extendiendo la transcripción inversa extendiendo la cadena inferior por el complemento inverso de la secuencia de cebador sintético. El Panel D muestra el resultado de la amplificación por PCR usando un cebador de cadena superior sintético biotinilado en 5' que replica el extremo 5' del cebador sintético del panel C y un cebador de cadena inferior complementario a parte del dominio constante. El cebador de la cadena inferior también contiene un sitio de endonucleasa de restricción útil, tal como Ascl. El Panel E muestra ADNc inmovilizado obtenido usando un cebador de cadena superior biotinilado en 5'.

En las FIGs. 1 y 2, cada gen V consiste en una región no traducida 5' (UTR) y una señal de secreción, seguido de la región variable, seguida de una región constante, seguida de una región no traducida 3' (que termina típicamente en poli-A). Un cebador inicial para transcripción inversa puede ser complementario a la región constante o al segmento poli A de 3'-UTR. Para los genes de cadena pesada humanos, se prefiere un cebador de 15 T. Las transcriptasas inversas unen varios residuos C al extremo 3' del ADN recién sintetizado. La RT CapExtension aprovecha esta característica. La reacción de transcripción inversa se corre en primer lugar sólo con un cebador de cadena inferior. Después de

aproximadamente 1 hora, se añade un cebador que termina en GGG (USP-GGG) y más RT asá. Esto causa que el ADNc de cadena inferior se extienda por el complemento inverso de USP-GGG hasta el GGG final. Usando un cebador idéntico a parte de la secuencia sintética unida y un segundo cebador complementario a una región de secuencia conocida en el extremo 3' de la cadena con sentido, todos los genes V se amplifican independientemente de su subclase de gen V.

En otra realización preferida, las secuencias sintéticas pueden añadirse por la Amplificación Rápida de extremos de ADNc (RACE) (véase Frohman, M.A., Dush, M.K., & Martin, G.R. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA (85): 8998-9002).

La FIG. 1 muestra un esquema de amplificación RACE de las cadenas pesadas y ligeras de anticuerpo. En primer lugar, se selecciona el ARNm tratando ARN total o poli(A+) con fosfatasa intestinal de ternera (CIP) para eliminar el 5'-fosfato de todas las moléculas que los tienen tales como ARN ribosomal, ARNm fragmentado, ARNt y ADN genómico. El ARNm de longitud completa (que contiene una estructura de caperuza protectora 7-metilo) no resulta afectado. El ARN se trata con pirofosfatasa ácida de ta baco (TAP) para eliminar la estructura de caperuza de los ARNm de longitud completa dejando un grupo 5'-monofosfato. A continuación, se liga un adaptador de ARN sintético a la población de ARN, sólo las moléculas que tienen un 5-fosfato (ARNm sin caperuza, de longitud completa) aceptarán el adaptador. Se usan reacciones de transcriptasa inversa que usan un cebador oligodT y PCR anidada (que usa un cebador adaptador (localizado en el adaptador sintético 5') y un cebador para el gen) para amplificar el transcrito deseado.

En una realización preferida de esta invención, el cebador de cadena superior o de cadena inferior también puede biotinilarse o marcarse en el extremo 5' con uno de a) grupo amino libre, b) tiol, c) ácido carboxílico y d) otro grupo no encontrado en el ADN que puede reaccionar para formar un enlace fuerte con una pareja conocida como un medio insoluble. Éstos pueden usarse para inmovilizar la cadena marcada después de la amplificación. El ADN inmovilizado puede ser mono o bicatenario.

Después de la amplificación (usando, por ejemplo, RT CapExtension o RACE), los ADN de esta invención se vuelven monocatenarios. Por ejemplo, las cadenas pueden separarse usando un cebador biotinilado, capturando el producto biotinilado en lechos de estreptavidina, desnaturizando el ADN y eliminando por lavado la cadena complementaria. Dependiendo de qué extremo se quiera del ADN capturado, se elegirá inmovilizar bien la cadena superior (con sentido) o la cadena inferior (antisentido).

Para preparar los ADN monocatenarios amplificados para clonación en paquetes genéticos con el fin de conseguir la presentación de, o la expresión de, los péptidos, polipéptidos o proteínas codificados, al menos en parte, por estos ADN, deben manipularse para proporcionar extremos adecuados para clonación y presentación y/o expresión. En particular, cualesquiera regiones no traducidas 5' y secuencias señal de mamíferos deben eliminarse y reemplazarse, en marco, por una secuencia señal que funcione en el huésped de presentación o expresión. Además, las partes de los dominios variables (en genes de anticuerpo) pueden eliminarse y reemplazarse por segmentos sintéticos que contienen diversidad sintética. La diversidad en otras familias de genes puede expandirse asimismo con diversidad sintética.

Según los métodos de esta invención, existen dos maneras de manipular los ADN monocatenarios para presentación y/o expresión. El primer método comprende las etapas de:

(i) poner en contacto el ácido nucleico con un oligonucleótido monocatenario, siendo el oligonucleótido funcionalmente complementario al ácido nucleico en la región en la que se desea la escisión e incluyendo una secuencia que con su complemento en el ácido nucleico forma un sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción que después de la restricción resulta en la escisión del ácido nucleico en la localización deseada; y

(ii) escindir el ácido nucleico solamente en el sitio de reconocimiento formado por la complementación del ácido nucleico y el oligonucleótido;

realizándose las etapas de poner en contacto y escisión a una temperatura suficiente para mantener el ácido nucleico en una forma sustancialmente monocatenaria, siendo el oligonucleótido funcionalmente complementario al ácido nucleico sobre una región lo suficientemente larga para permitir que las dos cadenas se asocien de manera que la escisión pueda ocurrir a la temperatura elegida y en la localización de seada y realizándose la escisión usando una endonucleasa de restricción que es activa a la temperatura elegida.

En este primer método, se hibridan oligonucleótidos cortos con el ADN monocatenario de manera que los sitios de reconocimiento de la endonucleasa de restricción formados en las regiones del ADN a hora bicatenarias pueden escindirse. En particular, un sitio de reconocimiento que ocurre en la misma posición en una fracción sustancial de los ADN monocatenarios es idéntico.

Para los genes de anticuerpo, esto puede hacerse usando un catálogo de secuencias de línea germinal. Véase, por ejemplo, "http://www.mrc-cpe.cam.ac.uk/imt-doc/restricted/ok.htm 1." Las actualizaciones pueden obtenerse a partir de este sitio bajo el encabezamiento "Amino acid and nucleotide sequence alignments." Para otras familias, existen comparaciones similares y pueden usarse para seleccionar las regiones apropiadas para escisión y para mantener la diversidad.

Por ejemplo, la Tabla 1 muestra las secuencias de ADN de las regiones FR3 de los 51 genes conocidos de la línea germinal humana. En esta región, los genes contienen sitios de reconocimiento de endonucleasa de restricción mostrados en la Tabla 2. Se prefieren las endonucleasas de restricción que escinden una amplia fracción de genes de la línea germinal en el mismo sitio sobre las endonucleasas que cortan en una variedad de sitios. Además, se prefiere que sólo haya un sitio para las endonucleasas de restricción en la región al que se une el oligonucleótido corto en el ADN monocatenario, por ejemplo, aproximadamente 10 bases a cada lado del sitio de reconocimiento de la endonucleasa de restricción.

También es más preferible una enzima que escinde en 3' respecto de FR3 porque captura menos mutaciones en el marco. Esto puede ser ventajoso en algunos casos. Sin embargo, es muy conocido que las mutaciones marco existen y confieren e incrementan unión de anticuerpo. La presente invención, mediante la elección del sitio de restricción apropiado, permite capturar toda o parte de la diversidad en FR3. Por lo tanto, el método también permite capturar una diversidad extensa.

Finalmente, en los métodos de esta invención, se usan endonucleasas de restricción que son activas entre aproximadamente 37°C y aproximadamente 75°C. Preferiblemente, pueden usarse las endonucleasas de restricción que son activas entre aproximadamente 45°C y aproximadamente 75°C. Más preferiblemente, se usan las enzimas que son activas por encima de 50°C y lo más preferiblemente activas a aproximadamente 55°C. Dichas temperaturas mantienen la secuencia de ácido nucleico que se va a escindir sustancialmente en forma monocatenaria.

Las enzimas mostradas en la Tabla 2 que cortan muchos de los genes de la línea germinal de cadena pesada FR3 en una única posición incluyen: *MaeIII*(24@4), *Tsp45I*(21@4), *HphI*(44@5), *BsaJI*(23@65), *AluI*(23@47), *BlpI*(21@48), *DdeI*(29@58), *BglII*(10@61), *MslI*(44@72), *BsiEI*(23@74), *EaeI*(23@74), *EagI*(23@74), *HaeIII*(25@75), *Bst4CI*(51@86), *HpyCH4III*(51@86), *HinfI*(38@2), *MlyI*(18@2), *PleI*(18@2), *MnlI*(31@67), *HpyCH4V*(21@44), *BsmAI*(16@11), *BpmI*(19@12), *XmnI*(12@30), y *SacI*(11@51). (La notación usada significa, por ejemplo, que *BsmAI* corta 16 de los genes de la línea germinal FR3 con un sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción que empieza en la base 11 de FR3.)

Para la escisión de las cadenas pesadas humanas en FR3, las endonucleasas de restricción preferidas son: *Bst4CI* (o *Taal* o *HpyCH4III*), *BlpI*, *HpyCH4V*, y *MslI*. Como ACNGT (el sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción para *Bst4CI*, *Taal*, y *HpyCH4III*) se encuentra en un sitio consistente en todos los genes de la línea germinal humana FR3, una de estas enzimas es la más preferida para capturar la diversidad en CDR3 de cadena pesada. *BlpI* y *HpyCH4V* son complementarios. *BlpI* corta a la mayor parte de los miembros de las familias VH1 y VH4 mientras que *HpyCH4V* corta a la mayor parte de los miembros de las familias VH3, VH5, VH6 y VH7. Ninguna enzima corta VH2s, pero ésta es una familia muy pequeña, que contiene sólo tres miembros. Así, estas enzimas también pueden usarse en realizaciones preferidas de los métodos de esta invención.

Las endonucleasas de restricción *HpyCH4III*, *Bst4CI*, y *Taal* reconocen todas 5'-ACnGT-3' y cortan el ADN de cadena superior después de n y el ADN de cadena inferior antes de la base complementaria n. Éste es el sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción más preferido para este método en cadenas pesadas humanas porque se encuentra en todos los genes de la línea germinal. Además, la región de reconocimiento de la endonucleasa de restricción (ACnGT) coincide con la segunda y tercera base de un codón de tirosina (tay) y el codón siguiente de cisteína (tgy) como se muestra en la Tabla 3. Estos codones están altamente conservados, especialmente la cisteína en los genes de anticuerpo maduros.

La Tabla 4 E muestra los diferentes oligonucleótidos con una longitud de 22 (excepto el último que tiene una longitud de 20) bases. La Tabla 5 C muestra el análisis de 1.617 genes precisos de cadena pesada de anticuerpo. De éstos, 1.511 tienen el sitio y se emparejan con uno de los oligonucleótidos candidatos con un error de 4 emparejamientos erróneos. Ocho oligonucleótidos son los responsables de la mayor parte de los emparejamientos y se proporcionan en la Tabla 4 F.1. Los 8 oligonucleótidos son muy similares de manera que es probable que se consiga una escisión satisfactoria sólo con un oligonucleótido (tal como H43.77.97.1-02#1) ajustando la temperatura, pH, salinidad y semejantes. Uno o dos oligonucleótidos pueden ser asimismo suficientes siempre que las secuencias de los genes de la línea germinal se diferencien muy poco y especialmente si se diferencian muy poco cerca de la región de reconocimiento de la endonucleasa de restricción que se va a escindir. La Tabla 5 D muestra un análisis de repetición de 1.617 genes de cadena pesada de anticuerpo precisos usando sólo los 8 oligonucleótidos elegidos. Esto muestra que 1.463 de las secuencias se emparejan al menos con uno de los oligonucleótidos con un error de 4 emparejamientos erróneos y tienen el sitio como se esperaba. Sólo 7 secuencias tienen una segunda región de reconocimiento de endonucleasa de restricción *HpyCH4III* en esta región.

Otra ilustración de elección de un sitio de reconocimiento de endonucleasas de restricción apropiado implica la escisión en FR1 de las cadenas pesadas humanas. La escisión en FR1 permite la captura de la diversidad completa de CDR de la cadena pesada.

Los genes de la línea germinal para FR1 de la cadena pesada humana se muestran en la Tabla 6. La Tabla 7 muestra los sitios de reconocimiento de endonucleasa de restricción encontrados en los genes de línea germinal humana FR1. Los sitios preferidos son *BsgI*(GTGCAG;39@4), *BsoFI*(GCngc;43@6,11@9,2@3,1@12), *TseI*(Gcwg;43@6,11@9,2@3,1@12), *MspA1*(CMGckg;46@7,2@1), *PvuII*(CAGctg;46@7,2@1), *AluI*(AGct;48@82@2),

Ddel(Ctnag;22@52,9@48), *HphI*(tcacc;22@80), *BssKI*(Nccngg;35@39,2@40), *BsaJI*(Ccnngg;32@90,2@41), *BstNI*(CCwgg;33@40), *ScrFI*(CCngg;35@40,2@41), *EcoO109I*(RGgnccy;22@46, 11@43), *Sau96I*(Ggncc;23@47,11@44), *Avall*(Ggwc;23@47,4@44), *PpuMI*(RGgwc;22@96,9@43), *BsmFI*(gtccc;20@48), *HinfI*(Gantc;34@16,21@56,21@77), *TfiI*(21@77), *MlyI*(GAGTC;34@16), *MlyI*(gactc;21@56), y *AlwNI*(CAGnnctg;22@68).

5 Los sitios más preferidos son *MspAI* y *PvuII*. *MspAI* y *PvuII* tienen 46 sitios en 7-12 y 2 en 1-6. Para evitar la escisión en ambos sitios, se usan oligonucleótidos que no abarcan totalmente el sitio en 1-6. Así, el ADN no se escindiría en ese sitio. Hemos mostrado que el ADN que se extiende 3, 4, ó 5 bases más allá de un sitio *PvuII* puede escindirse eficazmente.

10 Otra ilustración de elección de un sitio de reconocimiento de endonucleasas de restricción apropiado implica la escisión en FR1 de las cadenas ligeras kappa humanas. La Tabla 8 muestra los genes de la línea germinal de FR1 de kappa humana y la Tabla 9 muestra los sitios de reconocimiento de endonucleasa de restricción que se encuentran en un número sustancial de genes de la línea germinal de FR1 de kappa humana en localizaciones consistentes. De los sitios de reconocimiento de endonucleasa de restricción listados, *BsmAI* y *PfiI* son las enzimas más preferidas. Los sitios *BsmAI* se encuentran en la base 18 en 35 de 40 genes de la línea germinal. Los sitios *PfiI* se encuentran en 35 de 40 genes de la línea germinal en la base 12.

15 Otro ejemplo de elección de un sitio de reconocimiento de endonucleasas de restricción apropiado implica la escisión en FR1 de la cadena ligera lambda humana. La Tabla 10 muestra las 31 secuencias de genes de la línea germinal FR1 de lambda humana conocidas. La Tabla 11 muestra sitios de reconocimiento de endonucleasa de restricción encontrados en los genes de la línea germinal FR1 de lambda humana. *HinfI* y *Ddel* son las endonucleasas de restricción más preferidas para cortar cadenas lambda humanas en FR1.

20 Después de haber elegido el sitio o sitios de escisión apropiados, se preparan uno o más oligonucleótidos cortos de manera que complementen funcionalmente, sólo o en combinación, el sitio de reconocimiento elegido. Los oligonucleótidos también incluyen secuencias que flanquean el sitio de reconocimiento en la mayor parte de los genes amplificados. Esta región flanqueante permite que la secuencia hibride con el ADN monocatenario lo suficiente como para permitir la escisión por la endonucleasa de restricción específica para el sitio elegido.

La longitud y la secuencia precisas del oligonucleótido dependen del sitio de reconocimiento y de las condiciones que se vayan a usar para poner en contacto y escindir. La longitud debe ser suficiente de manera que el oligonucleótido sea funcionalmente complementario al ADN monocatenario sobre una región lo suficientemente larga para permitir que las dos cadenas se asocien de manera que la escisión pueda ocurrir a la temperatura elegida y en la localización deseada.

30 Típicamente, los oligonucleótidos de este método preferido de la invención tienen una longitud de aproximadamente 17 a aproximadamente 30 nucleótidos. Por debajo de aproximadamente 17 bases, la hibridación es demasiado débil y por encima de 30 bases puede haber una pérdida de especificidad. Una longitud preferida es 18 a 24 bases.

35 Los oligonucleótidos de esta longitud no necesitan ser complementos idénticos de los genes de la línea germinal. En lugar de esto, pueden tolerarse unos pocos emparejamientos erróneos. Preferiblemente, sin embargo, no se permiten más de 1-3 emparejamientos erróneos. Dichos emparejamientos erróneos no afectan adversamente la hibridación del oligonucleótido al ADN monocatenario. Por lo tanto, se dice que los dos ADN son funcionalmente complementarios.

El segundo método para manipular los ADN monocatenarios de esta invención para prescripción y/o expresión comprende las etapas de:

40 (i) poner en contacto el ácido nucleico con un oligonucleótido parcialmente bicatenario, siendo la región monocatenaria del oligonucleótido funcionalmente complementaria al ácido nucleico en la región en la que se desea la escisión, y teniendo la región bicatenaria del oligonucleótido un sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción; y

(ii) escindir el ácido nucleico solamente en el sitio de escisión formado por la complementación del ácido nucleico y la región monocatenaria del oligonucleótido;

45 realizándose las etapas de poner en contacto y escisión a una temperatura suficiente para mantener el ácido nucleico en una forma sustancialmente monocatenaria, siendo el oligonucleótido funcionalmente complementario al ácido nucleico sobre una región lo suficientemente larga para permitir que las dos cadenas se asocien de manera que la escisión pueda ocurrir a la temperatura elegida y en la localización deseada y realizándose la escisión usando una endonucleasa de restricción que es activa a la temperatura elegida.

50 Como se ha explicado anteriormente, el sitio de escisión puede formarse por la parte monocatenaria del oligonucleótido parcialmente bicatenario que forma un dúplex el ADN monocatenario, el sitio de escisión puede estar presente en la parte bicatenaria del oligonucleótido parcialmente bicatenario o el sitio de escisión puede introducirse por el cebador de amplificación usado para amplificar la combinación ADN monocatenario-oligonucleótido parcialmente bicatenario. En esta realización, se prefiere el primero. Y, el sitio de reconocimiento de la endonucleasa de restricción puede estar localizado bien en la parte bicatenaria del oligonucleótido o puede introducirse por el cebador de amplificación, que es complementario a esta región bicatenaria, como se usa para amplificar la combinación.

Preferiblemente, el sitio de la endonucleasa de restricción es el de una endonucleasa de restricción de Tipo II-S, cuyo sitio de escisión está localizado a una distancia conocida de su sitio de reconocimiento.

Este segundo método, preferiblemente, emplea Endonucleasas de Restricción Universales ("URE"). Las URE son oligonucleótidos parcialmente bicatenarios. La parte monocatenaria o superposición de la consiste en un adaptador de ADN que es funcionalmente complementario a la secuencia que se va a escindir en el ADN monocatenario. La parte bicatenaria consiste en un sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción, preferiblemente de tipo II-S.

El método de URE de esta invención es específico y preciso y puede tolerar algunos (por ejemplo, 1-3) emparejamientos erróneos en las regiones complementarias, es decir, es funcionalmente complementario a esa región. Además, las condiciones bajo las que se usa la URE pueden ajustarse de manera que la mayor parte de los genes que se amplifican puedan cortarse, reduciendo el sesgo en la biblioteca producida a partir de esos genes.

La secuencia del adaptador de ADN monocatenario o parte de superposición de la URE consiste típicamente en aproximadamente 14-22 bases. Sin embargo, pueden usarse adaptadores más largos o más cortos. El tamaño depende de la capacidad del adaptador para asociarse con su complemento funcional en el ADN monocatenario y de la temperatura usada para poner en contacto la URE y el ADN monocatenario a la temperatura usada para escindir el ADN con la enzima de restricción. El adaptador debe ser funcionalmente complementario al ADN monocatenario sobre una región lo suficientemente larga para permitir que las dos cadenas se asocien de manera que la escisión pueda ocurrir a la temperatura elegida y en la localización deseada. Preferimos partes monocatenarias o de superposición con una longitud de 14-17 bases y más preferiblemente con una longitud de 18-20 bases.

El sitio elegido para la escisión usando la URE es preferiblemente uno que está sustancialmente conservado en la familia de los ADN amplificados. Comparado con el primer método de escisión de esta invención, estos sitios no necesitan ser sitios de reconocimiento de endonucleasa. Sin embargo, como el primer método, los sitios elegidos pueden ser sintéticos en lugar de existir en el ADN nativo. Dichos sitios pueden elegirse por referencias a las secuencias de anticuerpos conocidos u otras familias de genes. Por ejemplo, las secuencias de muchos genes de la línea germinal se indican en <http://www.mrc-cpe.cam.ac.uk/mt-doc/restricted/ok.html>. Por ejemplo, un sitio preferido se encuentra cerca del extremo de FR3 -- codón 89 hasta la segunda base del codón 93. CDR3 empieza en el codón 95.

Las secuencias de 79 genes de cadenas pesadas humanas también están disponibles en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entre2/nucleotide.html>. Este sitio puede usarse para identificar las secuencias apropiadas para la escisión con URE según los métodos de esta invención. Véase, por ejemplo, la Tabla 12B.

Lo más preferiblemente, se identifican una o más secuencias usando estos sitios u otra información de secuencia disponible. Estas secuencias conjuntamente están presentes en una fracción sustancial de los ADN amplificados. Por ejemplo, podrían usarse múltiples secuencias para permitir la diversidad conocida de genes de la línea germinal o mutaciones somáticas frecuentes. También podrían usarse secuencias de generadas sintéticas. Preferiblemente, se elige una o unas secuencias que aparezcan en al menos el 65% de los genes examinados con no más de 2-3 emparejamientos erróneos.

Los adaptadores o superposiciones URE monocatenarias se preparan para ser complementarias a las regiones elegidas. Las condiciones para usar las URE se determinan empíricamente. Estas condiciones deberían permitir la escisión del ADN que contiene las secuencias funcionalmente complementarias con no más de 2 ó 3 emparejamientos erróneos pero sin permitir la escisión del ADN que carezca de dichas secuencias.

Como se ha descrito anteriormente, la parte bicatenaria de la URE incluye un sitio de reconocimiento de endonucleasa, preferiblemente un sitio de reconocimiento de Tipo II-S. Puede usarse cualquier enzima que sea activa a una temperatura necesaria para mantener el ADN monocatenario sustancialmente en esa forma y para permitir que la parte de adaptador de ADN monocatenaria de la URE hibride en la longitud suficiente del ADN monocatenario para permitir la escisión en el sitio deseado.

Las enzimas de Tipo II-S preferidas para usarse en los métodos con URE de esta invención proporcionan una escisión asimétrica del ADN monocatenario. Entre éstas están las enzimas listadas en la Tabla 13. La enzima de Tipo II-S más preferida es *FokI*.

Cuando se usa la URE preferida que contiene *FokI*, se usan preferiblemente varias condiciones para efectuar la escisión:

1) Debería estar presente un exceso de la URE sobre el ADN diana para activar la enzima. La URE presente sólo en cantidades equimolares respecto al ADN diana reduciría un menor escisión del ADN porque la cantidad de enzima activa disponible sería limitante.

2) Puede usarse un activador para activar parte de la enzima *FokI* para dimerizar sin causar escisión. Los ejemplos de activadores apropiados se muestran en la Tabla 14.

3) La reacción de escisión se realiza a una temperatura entre 45°-75°C, preferiblemente por encima de 50°C y lo más preferiblemente por encima de 55°C.

Las URE usadas en la técnica anterior contenían un segmento monocatenario de 14 bases, un tallo de 10 bases (que contiene un sitio *FokI*), seguido del palíndromo del tallo de 10 bases. Aunque dichas URE pueden usarse en los métodos de esta invención, las URE preferidas de esta invención también incluyen un segmento de tres a ocho bases (un bucle) entre los segmentos que contienen el sitio de reconocimiento de la endonucleasa de restricción *FokI*. En la realización preferida, el tallo (que contiene el sitio *FokI*) y su palíndromo también son máximos de 10 bases. Preferiblemente, tienen una longitud de 10-14 bases. Los ejemplos de estos adaptadores URE "lollipop" se muestran en la Tabla 15.

Un ejemplo de uso de una URE para escindir un ADN monocatenario implica la región FR3 de la cadena pesada humana. La Tabla 16 muestra un análisis de 840 cadenas pesadas humanas maduras de longitud completa mostrando las secuencias de reconocimiento URE. La gran mayoría (718/840=0,85) serán reconocidas con 2 o menos emparejamientos erróneos usando cinco URE (VHS881-1.1, VHS881-1.2, VHS881-2.1, VHS881-4.1, y VHS881-9.1). Cada una tiene una secuencia de adaptador de 20 bases para complementar el gen de la línea germinal, un segmento tallo de diez bases que contiene un sitio *FokI*, un bucle de cinco bases y el complemento inverso del primer segmento tallo. La hibridación de estos adaptadores, solos o en combinación, con ADN de cadena pesada antisentido monocatenario y el tratamiento con *FokI* en presencia, por ejemplo, del activador FOKIact, dará lugar a la escisión de la cadena antisentido en la posición indicada.

Otro ejemplo del uso de una o unas URE para escindir un ADN monocatenario implica la región FR1 de las cadenas ligeras Kappa humanas. La Tabla 17 muestra un análisis de 182 cadenas kappa humanas de longitud completa para el emparejamiento con las cuatro secuencias sonda de 19 bases mostradas. El noventa y seis por ciento de las secuencias se emparejan con una de las sondas con 2 o menos emparejamientos erróneos. Los adaptadores URE mostrados en la Tabla 17 son para la escisión de la cadena con sentido de las cadenas kappa. Así, las secuencias adaptadoras son el complemento inverso de las secuencias de genes de la línea germinal. La URE consiste en un tallo de diez bases, un bucle de cinco bases, el complemento inverso del tallo y la secuencia de complementación. El bucle mostrado aquí es TTGTT, pero podrían usarse otras secuencias. Su función es interrumpir el palíndromo de los tallos de manera que se favorece la formación de un monómero lollipop sobre la dimerización. La Tabla 17 también muestra dónde se escinde la cadena con sentido.

Otro ejemplo de uso de una URE para escindir un ADN monocatenario implica la cadena ligera lambda humana. La Tabla 18 muestra el análisis de 128 cadenas ligeras lambda humanas para emparejamiento con las cuatro sondas de 19 bases mostradas. Con tres o menos emparejamientos erróneos, 88 de 128 (69%) de las cadenas se emparejan con una de las sondas. La Tabla 18 también muestra adaptadores URE correspondientes a estas sondas. La hibridación de estos adaptadores con el ADN de cadena superior de las cadenas lambda y el tratamiento con *FokI* en presencia de FOKIact a una temperatura a o por encima de 45°C dará lugar a la escisión específica y precisa de las cadenas.

Las condiciones bajo las cuales las secuencias de oligonucleótido cortas del primer método y las URE del segundo método se ponen en contacto con los ADN monocatenarios pueden determinarse empíricamente. Las condiciones deben ser tales que el ADN monocatenario permanezca en forma sustancialmente monocatenaria. Más particularmente, las condiciones deben ser tales que el ADN monocatenario no forme bucles que puedan interferir con su asociación con la secuencia de oligonucleótido o la URE o que puedan proporcionar en sí mismos sitios para la escisión por la endonucleasa de restricción elegida.

La eficacia y especificidad de los oligonucleótidos cortos (primer método) y URE (segundo método) pueden ajustarse controlando las concentraciones de los adaptadores URE/oligonucleótidos y el ADN sustrato, la temperatura, el pH, la concentración de iones metálicos, la fuerza iónica, la concentración de caótopos (tales como urea y formamida), la concentración de la endonucleasa de restricción (por ejemplo, *FokI*), y el tiempo de la digestión. Estas condiciones pueden optimizarse con oligonucleótidos sintéticos que tengan: 1) secuencias de genes de la línea germinal diana, 2) secuencia de genes diana mutados, o 3) secuencias no diana relacionadas de alguna manera. El objetivo es escindir la mayor parte de las secuencias diana y cantidades mínimas de no dianas.

Según esta invención, el ADN monocatenario se mantiene sustancialmente en esa forma usando una temperatura entre aproximadamente 37°C y aproximadamente 75°C. Preferiblemente, se usa una temperatura entre aproximadamente 45°C y aproximadamente 75°C. Más preferiblemente, se usa una temperatura entre 50°C y 60°C, lo más preferiblemente entre 55°C y 60°C. Estas temperaturas se emplean tanto cuando se pone en contacto el ADN con el oligonucleótido o URE y cuando se escinde el ADN usando los métodos de esta invención.

Los dos métodos de escisión de esta invención tienen varias ventajas. El primer método permite a los miembros individuales de la familia de ADN monocatenarios ser escindidos preferentemente en un sitio de reconocimiento de endonucleasa sustancialmente conservado. El método también requiere construir un sitio de reconocimiento de endonucleasa en los cebadores de transcripción inversa o amplificación. Puede usarse cualquier sitio nativo o sintético en la familia.

El segundo método tiene estas dos ventajas. Además, el método con URE preferido permite escindir los ADN monocatenarios en posiciones en las que no se encuentra ningún sitio nativo de reconocimiento de endonucleasa o que se ha construido sintéticamente.

Lo más importante, los dos métodos de escisión permiten el uso de cebadores 5' y 3' con el fin de maximizar la diversidad y la escisión para eliminar secuencias no deseadas o perjudiciales antes de la clonación, presentación y/o expresión.

Después de la escisión de los ADN amplificados usando uno de los métodos de esta invención, el ADN se prepara para clonación, presentación y/o expresión. Esto se hace usando un adaptador de ADN sintético parcialmente en dúplex, cuya secuencia terminal se basa en el sitio de escisión específico en el que se ha escindido el ADN amplificado.

El ADN sintético se diseña de manera que cuando se liga al ADN monocatenario escindido en el marco de lectura apropiado el péptido, polipéptido o proteína deseado pueda presentarse en la superficie del paquete genético y/o expresarse. Preferiblemente, la parte bicatenaria del adaptador comprende la secuencia de varios codones que codifican la secuencia de aminoácidos característica de la familia de péptidos, polipéptidos o proteínas hasta el sitio de escisión. Para las cadenas pesadas humanas, se usan preferiblemente los aminoácidos del marco 3-23 para proporcionar las secuencias requeridas para la expresión del ADN escindido.

Preferiblemente, la parte bicatenaria del adaptador tiene una longitud de aproximadamente 12 a 100 bases. Más preferiblemente, se usan aproximadamente 20 a 100 bases. La región bicatenaria del adaptador también contiene preferiblemente al menos un sitio de reconocimiento de endonucleasa útil para clonar el ADN en un vector de presentación y/o expresión adecuado (o un vector receptor usado para archivar la diversidad). Este sitio de endonucleasa de restricción puede ser nativo respecto a las secuencias de genes de la línea germinal usadas para extender la secuencia de ADN. También puede construirse usando secuencias degeneradas respecto a las secuencias de genes de la línea germinal. O, puede ser completamente sintético.

La parte monocatenaria del adaptador es complementaria a la región de la escisión en el ADN monocatenario. La superposición puede ser de aproximadamente 2 bases hasta aproximadamente 15 bases. Cuando más larga sea la superposición, más probabilidad hay de que la ligación sea más eficaz. Una longitud preferida de superposición es 7 a 10. Esto permite algunos emparejamientos erróneos en la región de manera que puede capturarse la diversidad en esta región.

La región monocatenaria o de superposición del adaptador parcialmente en dúplex es ventajosa porque permite capturar el ADN escindido en el sitio elegido pero no otros fragmentos. Dichos fragmentos contaminarían la biblioteca con genes que codifican secuencias que no se plegarían en los anticuerpos correctos y que probablemente se unirían de forma no específica.

Una ilustración del uso de un adaptador parcialmente en dúplex en los métodos de esta invención implica la ligación de dicho adaptador a una región FR3 humana que se ha escindido, como se ha descrito anteriormente, en 5'-ACnGT-3' usando HpyCH4III, Bst4CI o Taal.

La Tabla 4 F.2 muestra la cadena inferior de la parte bicatenaria del adaptador para la ligación al ADN de la cadena inferior escindido. Como el sitio HpyCH4III está muy a la derecha (como se muestra en la Tabla 3), puede añadirse una secuencia que incluye el sitio *Afl*II así como el sitio *Xba*I. Esta parte de la cadena inferior del adaptador parcialmente en dúplex, H43.XAExt, incorpora tanto sitios *Xba*I como *Afl*II. La cadena superior de la parte bicatenaria del adaptador no tienen ningún sitio (debido a los emparejamientos erróneos planeados en los segmentos opuestos a los sitios *Xba*I y *Afl*II de H43.XAExt), pero hibridará muy fuertemente con H43.XAExt. H43AExt contiene sólo el sitio *Afl*II y puede usarse con las cadenas superiores H43.ABr1 y H43.ABr2 (que tienen alteraciones intencionadas para destruir el sitio *Afl*II).

Después de la ligación, el ADN deseado, capturado, puede amplificarse de nuevo por PCR, si se desea, usando en la realización preferida un cebador en 3' respecto a la región constante del gen del anticuerpo y un cebador para parte de la región bicatenaria del adaptador. Los cebadores también pueden contener sitios de endonucleasa de restricción para usarse en la clonación del ADN amplificado.

Después de la ligación, y quizá de la amplificación, del adaptador parcialmente bicatenario con el ADN monocatenario amplificado, el ADN compuesto se escinde en los sitios de reconocimiento de endonucleasa 5' y 3' elegidos.

Los sitios de escisión útiles para la clonación dependen del fago o fagémido u otros vectores en los que se insertará el casete y de los sitios disponibles en los genes de anticuerpo. La Tabla 19 proporciona datos de endonucleasas de restricción para 75 cadenas ligeras humanas. La Tabla 20 muestra los datos correspondientes para 79 cadenas pesadas humanas. En cada Tabla, las endonucleasas están ordenadas por frecuencia creciente de corte. En estas Tablas, Nch es el número de cadenas cortado por la enzima y Ns es el número de sitios (algunas cadenas tienen más de un sitio).

De este análisis, *Sfi*I, *Not*I, *Afl*II, *Apa*LI, y *Asc*I son muy adecuados. *Sfi*I y *Not*I se usan preferiblemente en pCES1 para insertar el segmento de presentación de cadena pesada. *Apa*LI y *Asc*I se usan preferiblemente en pCES1 para insertar el segmento de presentación de cadena ligera.

Los sitios *Bst*EII aparecen en el 97% de los genes JH de la línea germinal. En los genes V reorganizados, sólo 54/79 (68%) de los genes de cadena pesada contiene un sitio *Bst*EII y 7/61 de éstos contienen dos sitios. Así, 47/79 (59%)

contiene un único sitio *BstEII*. Una alternativa al uso de *BstEII* es escindir mediante URE en el extremo de JH y ligar a un oligonucleótido sintético que codifica parte de CH1.

Un ejemplo de preparación de una familia de secuencias de ADN usando los métodos de esta invención implica capturar diversidad en CDR3 humana. Como se ha descrito anteriormente, los ARNm de varios pacientes autoinmunes se transcriben de manera inversa en ADNc de cadena inferior. Después de degradar el ARN de cadena superior, la cadena inferior se inmoviliza y se usa un oligonucleótido corto para escindir el ADNc en 5' respecto a CDR3. Un adaptador de ADN sintético parcialmente en dúplex se hibrida con el ADN y el ADN se amplifica usando un cebador para el adaptador y un cebador para la región constante (después de FR4). El ADN se escinde usando *BstEII* (en FR4) y una endonucleasa de restricción apropiada para el adaptador parcialmente bicatenario (por ejemplo, *XbaI* y *AflIII* (en FR3)). El ADN se liga en un esqueleto sintético VH tal como 3-23.

Un ejemplo de preparación de un ADN monocatenario que se escindió usando el método con URE implica la cadena Kappa humana. El sitio de escisión en la cadena con sentido de esta cadena se muestra en la Tabla 17. El oligonucleótido kapeXtURE se hibrida con los oligonucleótidos (kaBR01UR, kaBR02UR, kaBR03UR, y kaBR04UR) para formar un ADN parcialmente en dúplex. Este ADN se liga con las cadenas kappa solubles escindidas. El producto de la ligación se amplifica usando los cebadores kapeXtUREPCR y CKForeAsc (que inserta un sitio *AscI* después del extremo de C kappa). Este producto se escinde con *ApaI* y *AscI* y se liga a un vector receptor cortado de manera similar.

Otro ejemplo implica la escisión de las cadenas ligeras lambda, ilustrado en la Tabla 18. Después de la escisión, se hibrida un extensor (on_LamEx133) y cuatro oligonucleótidos puente (ON_LamB1-133, ON_LamB2-133, ON_LamB3-133, y ON_LamB4-133) para formar un ADN parcialmente en dúplex. Este ADN se liga con las cadenas con sentido cadena lambda escindidas. Después de la ligación, el ADN se amplifica con ON_Lam133PCR y un cebador directo específico para el dominio constante lambda, tal como CL2ForeAsc o CL7ForeAsc (Tabla 130).

En las cadenas pesadas humanas, pueden escindirse casi todos los genes en FR4 (en 3', es decir, hacia el extremo 3' de la cadena con sentido, de CDR3) en un sitio *BstEII* que está en una posición constante en una fracción muy grande de los genes de cadena pesada V humanos. Se necesita un sitio en FR3, si sólo quiere capturarse la diversidad en CDR3, en FR2, si se quiere la diversidad en CDR2 y CDR3, o en FR1, si se quiere toda la diversidad en CDR. Estos sitios se insertan preferiblemente como parte del adaptador parcialmente bicatenario.

La presente descripción también se refiere a vectores receptores (por ejemplo, para presentación y/o expresión) que tienen sitios que permiten la clonación de las cadenas ligeras o pesadas. Dichos vectores son muy conocidos y se usan ampliamente en la técnica. Un vector fago de presentación preferido según esta invención es el fago MALIA3. Éste presenta en gen III. La secuencia del fago MALIA3 se muestra en la Tabla 21A (anotado) y en la Tabla 21B (condensado).

El ADN que codifica las regiones leccionadas de las cadenas ligeras o pesadas puede transferirse a los vectores usando endonucleasas que sólo cortan bien las cadenas ligeras o pesadas muy raramente. Por ejemplo, las cadenas ligeras pueden capturarse con *ApaI* y *AscI*. Los genes de cadena pesada se clonan preferiblemente en un vector receptor que tiene los sitios *SfiI*, *NcoI*, *XbaI*, *AflIII*, *BstEII*, *ApaI*, y *NotI*. Las cadenas ligeras se mueven preferiblemente en la biblioteca como fragmentos *ApaI*-*AscI*. Las cadenas pesadas se mueven preferiblemente en la biblioteca como fragmentos *SfiI*-*NotI*.

Lo más preferiblemente, la presentación se produce en la superficie de un derivado del fago M13. Los vectores más preferidos contienen todos los genes de M13, un gen de resistencia antibiótico y el casete de presentación. El vector preferido se proporciona con sitios de restricción que permiten la introducción y escisión de los miembros de la familia diversa de genes, como casetes. El vector preferido es estable frente a la reorganización bajo las condiciones de crecimiento usadas para amplificar el fago.

En otra realización de esta invención, la diversidad capturada por los métodos de la presente invención pueden presentarse y/o expresarse en un vector fagémido (por ejemplo, pCES1) que presenta y/o expresa el péptido, polipéptido o proteína. Dichos vectores también pueden usarse para almacenar la diversidad para presentación y/o expresión posterior usando otros vectores o fago.

En otra realización de esta invención, la diversidad capturada por los métodos de la presente invención puede presentarse y/o expresarse en un vector de levadura.

En otra realización, el modo de presentación puede ser a través de un conector corto de dominios de anclaje -- comprendiendo un posible anclaje la parte final de M13 III ("soportell") y siendo un posible segundo anclaje la proteína madura de longitud completa III.

El fragmento de suportell contiene lo suficiente de M13 III para ensamblaje en el fago pero no los dominios implicados en mediar la infectividad. Como las proteínas III w.t. están presentes, no es probable que el fago delecione los genes de anticuerpo y el fago que delecione estos segmentos recibe sólo una ventaja muy pequeña de crecimiento. Para cada uno de los dominios de anclaje, el ADN codifica la secuencia de AA w.t., pero se diferencia de la secuencia de ADN w.t. en un grado muy alto. Esto reducirá de manera importante el potencial de recombinación homóloga entre el gen de anclaje y el w.t. que también está presente (véase el Ejemplo 6).

Lo más preferiblemente, la presente invención usa un fago completo que contiene un gen de resistencia a antibiótico (tal como un gen de resistencia a ampicilina) y el casete de presentación. Como los genes *iii* w.t. y posiblemente los genes *viii* están presentes, las proteínas w.t. también están presentes. El casete de presentación se transcribe desde un promotor regulable (por ejemplo, P_{LacZ}). El uso de un promotor regulable permite el control de la proporción del gen de presentación de fusión respecto a la proteína de recubrimiento w.t. correspondiente. Esta proporción determina el número medio de copias de la fusión de presentación por partícula fago (o fagémido).

En otra realización de los métodos de esta invención, el fago o fagémido puede presentar y/o expresar proteínas distintas de Fab, reemplazando las partes de Fab indicadas anteriormente, con genes de otras proteínas.

Pueden usarse varios huéspedes en el aspecto de presentación y/o expresión de esta invención. Dichos huéspedes son muy conocidos en la técnica. En la realización preferida, cuando se presentan y/o expresan Fab, el huésped preferido debe crecer a 30°C y ser RecA- (para reducir la recombinación genética no deseada) y EndA- (para facilitar la recuperación de RF ADN). También se prefiere que la cepa huésped se transforme fácilmente por electroporación.

XL1-Blue MRF' satisface la mayor parte de estas preferencias, pero no crece bien a 30°C. XL1-Blue MRF' crece lentamente a 38°C y es así un huésped aceptable. TG-1 también es un huésped aceptable aunque es RecA* y EndA*. XL1-Blue MRF' es más preferido para el huésped intermedio usado para acumular la diversidad antes de la construcción final de la biblioteca.

Después de la presentación y/o expresión, las bibliotecas de esta invención pueden cribarse usando técnicas muy conocidas y usadas convencionalmente. Los péptidos, polipéptidos o proteínas seleccionados pueden usarse para tratar enfermedades. Generalmente, los péptidos, polipéptidos o proteínas para usarse en terapia o en composiciones farmacéuticas se producen aislando el ADN que codifica el péptido, polipéptido o proteína deseado del miembro de la biblioteca seleccionado. Este ADN se usa en métodos convencionales para producir el péptido, polipéptido o proteína que codifica en células huésped apropiadas, preferiblemente células huésped de mamíferos, por ejemplo, células CHO. Después del aislamiento, el péptido, polipéptido o proteína se usa solo o con composiciones farmacéuticamente aceptables en terapia para tratar enfermedades.

25 EJEMPLOS

Ejemplo 1: Amplificación RACE de repertorios de cadena pesada y ligera de anticuerpo a partir de pacientes autoinmunes.

Se aisló ARN total de muestras de sangre individuales (5.0 ml) de 11 pacientes usando un kit RNazo ITM (CINNA/Biotecx), como describe el fabricante. Los pacientes se diagnosticaron como sigue:

- 30 1. SLE y síndrome de fosfolípidos
2. esclerosis sistémica limitada
3. SLE y síndrome de Sjogren
4. Esclerosis Sistémica Limitada
5. Artritis Reumatoide con vasculitis activa
- 35 6. Esclerosis sistémica limitada y Síndrome de Sjogren
7. Artritis Reumatoide y vasculitis (no activa)
8. SLE y Síndrome de Sjogren
9. SLE
10. SLE y glomerulonefritis (activa)
- 40 11. Poliartritis/ Fenómeno de Raynauds

De estas 11 muestras de ARN total, se aisló ARN Poli-A+ usando el kit de aislamiento de ARNm PolyATtract® de promega (Promega).

250 ng de cada muestra de ARN poli-A+ se usaron para amplificar cadenas pesadas y ligeras de anticuerpo con el kit GeneRAacer™ (Invitrogen no. de cat L1500-01). Una visión global esquemática del procedimiento RACE se muestra en la FIG. 3.

Usando el protocolo general del kit GeneRAacer™, se ligó un adaptador de ARN al extremo 5' de todos los ARNm. A continuación, se realizó una reacción de transcriptasa inversa en presencia de cebador específico oligo(dT15) bajo las condiciones descritas por el fabricante en el kit GeneRAacer™.

Se usó 1/5 del ADNc de la reacción de transcriptasa inversa en una reacción de PCR de 20 µl. Para la amplificación del repertorio de cadena pesada de IgM, se usaron un cebador directo basado en la cadena CH1 de IgM [HuCmFOR] y un cebador inverso basado en la secuencia del adaptador sintético ligado [5'A]. (Véase la Tabla 22)

Para la amplificación de las cadenas ligeras kappa y lambda, se usó un cebador directo que contiene el extremo 3' codificador del ADNc [HuCk For y HuCLFor2+HuCLfor7] y un cebador inverso basado en la secuencia del adaptador sintético ligado [5'A] (Véase la Tabla 22). Se obtuvieron productos de la amplificación específicos después de 30 ciclos de PCR primaria.

La FIG. 4 muestra los productos de amplificación obtenidos después de la reacción de PCR primaria de 4 muestras de pacientes diferentes. Se analizaron 8 µl del producto de PCR primaria de 4 pacientes diferentes en un gel de agarosa [marcados como 1, 2, 3 y 4]. Para la cadena pesada, se obtiene un producto de aproximadamente 950 nt mientras que para las cadenas ligeras kappa y lambda el producto es aproximadamente 850 nt. M1-2 son marcadores de peso molecular.

Los productos de PCR también se analizaron por secuenciación de ADN [10 clones de los repertorios de las cadenas lambda, kappa o pesada]. Todos los genes de anticuerpo secuenciados recuperados contenían la secuencia codificadora completa así como la secuencia líder en 5' y la diversidad en el gen V fue la diversidad esperada (comparada con los datos en la bibliografía).

50 ng de todas las muestras de todas las 11 muestras individuales amplificadas se mezclaron para las cadenas pesada, ligera lambda o ligera kappa y se usaron en reacciones de PCR secundarias.

En todas las PCR secundarias aproximadamente 1 ng de ADN molde de la mezcla de PCR primaria se usó en reacciones múltiples de PCR de 50 µl [25 ciclos].

Para la cadena pesada, se usó un cebador directo biotinilado anidado [HuCm-Anidado] y un cebador inverso en el extremo 5' anidado localizado en la secuencia del adaptador sintético [5'NA]. La cadena inferior de la cadena pesada estaba biotinilada en el extremo 5'.

Para las cadenas ligeras, se usó un cebador anidado biotinilado en el extremo 5' en el adaptador sintético [5'NA] en combinación con un cebador en el extremo 3' en la región constante de Ckappa y Clambda, extendido con una secuencia que codifica el sitio de restricción AscI [kappa: HuCkForAscI, Lambda: HuCL2-FOR-ASC + HuCL7-FOR-ASC]. [El extremo 5' del ADN de la Cadena Superior estaba biotinilado]. Después del análisis en gel, los productos de la PCR secundaria se juntaron y se purificaron con Promega Wizard PCR cleanup. Se aislaron aproximadamente 25 µg de ADN biotinilado de la cadena pesada, cadena ligera lambda y kappa de los 11 pacientes.

Ejemplo 2: Captura de las cadenas kappa con BsmAI.

Se preparó un repertorio de ARNm de cadena kappa humana usando el método RACE del Ejemplo 1 a partir de una colección de pacientes con varias enfermedades autoinmunes.

Este Ejemplo siguió el protocolo del Ejemplo 1. Aproximadamente 2 microgramos (µg) de material RACE del gen de la cadena kappa humana (Igkappa) con biotina unida al extremo 5' de la cadena superior se inmovilizaron como en el Ejemplo 1 en 200 microlitros (µL) de lechos magnéticos de Seradyn. La cadena inferior se eliminó lavando el ADN con 2 alícuotas de 200 µL de 0,1 M NaOH (pH 13) durante 3 minutos para la primera alícuota seguido de 30 segundos para la segunda alícuota. Los lechos se neutralizaron con 200 µL de 10 mM Tris (pH 7,5) 100 mM NaCl. Los oligonucleótidos cortos mostrados en la Tabla 23 se añadieron en un exceso molar de 40 veces en 100 µL de tampón NEB 2 (50 mM NaCl, 10 mM Tris-HCl, 10 mM MgCl₂, 1 mM ditiotritol pH 7,9) a los lechos secos. La mezcla se incubó a 95°C durante 5 minutos y se enfrió hasta 55°C durante 30 minutos. El oligonucleótido en exceso se eliminó por lavado con 2 lavados de tampón NEB 3 (100 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, 10 mM MgCl₂, 1 mM ditiotritol pH 7,9). Se añadieron diez unidades de BsmAI (NEB) en tampón NEB 3 y se incubó durante 1 h a 55°C. El ADN escindido en 3' se recogió y se purificó en una columna de purificación Qiagen PCR (FIGs. 5 y 6).

La FIG. 5 muestra un análisis de ADN monocatenario digerido kappa. Aproximadamente 151,5 pmoles de adaptador se hibridaron con 3,79 pmoles de ADN monocatenario inmovilizado kappa seguido de digestión con 15 U de BsmAI. El sobrenadante que contiene el ADN deseado se recogió y se analizó por gel de poliacrilamida al 5% junto con los lechos restantes que contenían el ADN kappa de longitud completa no escindido. Se purificaron 18,9 pmoles de ADN monocatenario escindido para análisis adicional. El cinco por ciento del ADNss de longitud completa original permaneció en los lechos.

La FIG. 6 muestra un análisis de la ligación extensor - kappa escindido. Se ligaron 180 pmoles de puente/extensor pre-hibridado con 1,8 pmoles de ADN monocatenario digerido con BsmAI. El ADN ligado se purificó por columna de purificación Qiagen PCR y se analizó en un gel de poliacrilamida al 5%. Los resultados indicaron que la ligación del extensor al ADN monocatenario tuvo una eficacia del 95%.

Se preparó un adaptador parcialmente bicatenario usando el oligonucleótido mostrado en la Tabla 23. El adaptador se añadió al ADN monocatenario en un exceso molar de 100 veces junto con 1.000 unidades de ADN ligasa T4 y se incubó

toda la noche a 16°C. El oligonucleótido en exceso se eliminó con una columna de purificación Qiagen PCR. El material ligado se amplificó por PCR usando los cebadores kapPCRt1 y kapfor mostrados en la Tabla 23 durante 10 ciclos con el programa mostrado en la Tabla 24.

5 El producto de PCR soluble se corrió en un gel y mostró una banda de aproximadamente 700 n, como se esperaba (FIGs. 7 y 8). El ADN se escindió con las enzimas *Apa*I y *Asc*I, se purificó por gel y se ligó al vector escindido de manera similar pCES1.

10 La FIG. 7 muestra un análisis del producto de PCR de la amplificación extensor-kappa. El extensor-ADN monocatenario kappa ligado se amplificó con cebadores específicos para el extensor y para la región constante de la cadena ligera. Se usaron dos concentraciones diferentes de molde, 10 ng frente a 50 ng, como molde y se usaron 13 ciclos para generar aproximadamente 1,5 ug de ADNds como se muestra por análisis en gel de agarosa al 0,8%.

La FIG. 8 muestra un análisis del producto de PCR purificado de la amplificación extensor-kappa. Aproximadamente 5 ug del ADN bicatenario del extensor-kappa amplificado por PCR se corrieron en un gel de agarosa al 0,8%, se cortaron y se extrajeron con una columna de purificación en gel GF X. Por análisis en gel, se prepararon 3,5 ug de ADN bicatenario.

15 El ensayo para capturar las cadenas kappa con BsmA 1 se repitió y se produjeron resultados similares. La FIG 9A muestra el ADN después de ser escindido y recogido y purificado en una columna de purificación Qiagen PCR. La FIG. 9B muestra el adaptador parcialmente bicatenario ligado al ADN monocatenario. Este material ligado se amplificó (FIG. 9C). El gel mostró una banda de aproximadamente 700 n.

20 La Tabla 25 muestra la secuencia de ADN de una cadena ligera kappa capturada por este procedimiento. La Tabla 26 muestra una segunda secuencia capturada por este procedimiento. La secuencia puede más cercana era complementaria a la secuencia 5'-agccacc-3', pero la secuencia capturada lee 5'-Tgccacc-3', lo que muestra que se tolera algún emparejamiento erróneo en la región superpuesta.

Ejemplo 3: Construcción de Diversidad Sintética en CDR1 y CDR2 en Marco V-3-23 VH.

25 La diversidad sintética en la Región Determinante de la Complementariedad (CDR) 1 y 2 se creó en el marco 3-23 VH en un proceso de dos etapas: en primer lugar se construyó un vector que contiene el marco 3-23 VH; y después, se ensamblaron CDR 1 y 2 sintéticas y se clonaron en este vector.

30 Para la construcción del marco 3-23 VH, 8 oligonucleótidos y dos cebadores de PCR (oligonucleótidos largos - TOPFR1A, BOTFR1B, BOTFR2, BOTFR3, F06, BOTFR4, ON-vgCl, y ON-vgC2 y cebadores - SFPRMET y BOTPCRPRIM, mostrados en la Tabla 27) que se superponen se diseñaron tomando como base la secuencia de Genebank de la región marco 3-23 VH. El diseño incorporó al menos un sitio de restricción útil en cada región marco, como se muestra en la Tabla 27. En la Tabla 27, los segmentos que se sintetizaron se muestran en negrita, las regiones de superposición están subrayadas y las regiones cebadoras de PCR en cada extremo están subrayadas.

35 Una mezcla de estos 8 oligos se combinó a una concentración final de 2,5uM en una reacción de PCR de 20 ul. La mezcla de PCR contenía 200uM dNTPs, 2,5mM MgCl₂, 0,02U ADN Polimerasa *Pfu Turbo*[™], 1U ADN Polimerasa Taq HotStart Qiagen y 1X tampón de PCR Qiagen. El programa de PCR consistió en 10 ciclos de 94°C durante 30s, 55°C durante 30s y 72°C durante 30s.

40 La secuencia de ADN de 3-23 VH ensamblada se amplificó, usando 2,5ul de una dilución de 10 veces de la PCR inicial en 100ul de reacción de PCR. La reacción de PCR contenía 200uM dNTPs, 2,5mM MgCl₂, 0,02U ADN Polimerasa *Pfu Turbo*[™], 1U ADN Polimerasa Taq HotStart Qiagen, 1X Tampón de PCR Qiagen y 2 cebadores externos (SFPRMET y BOTPCRPRIM) a una concentración de 1uM. El programa de PCR consistió en 23 ciclos a 94°C durante 30s, 55°C durante 30s y 72°C durante 60s. La secuencia de ADN 3-23 VH se digirió y se clonó en pCES1 (vector fagémico) usando los sitios de endonucleasas de restricción *Sfi*I y *Bst*EII. Todas las enzimas de restricción mencionadas en la presente memoria se obtuvieron de New England Biolabs, Beverly, MA y se usaron según las instrucciones del fabricante.

45 Se introdujeron secuencias de relleno (mostradas en la Tabla 28 y Tabla 29) en pCES1 para reemplazar las secuencias CDR1/CDR2 (900 bases entre los sitios *RE Bsp*El y *Xba*I) y las secuencias CDR3 (358 bases entre *Afl*II y *Bst*EII) antes de clonar la diversidad CDR1/CDR2. Este nuevo vector se denominó pCES5 y su secuencia se proporciona en la Tabla 29.

50 El tener rellenos en lugar de las CDR evita el riesgo de que una secuencia parental esté sobrerrepresentada en la biblioteca. Las secuencias de relleno son fragmentos del gen de la penicilasa de *E. coli*. El relleno CDR1-2 contiene los sitios de restricción para *Bgl*II, *Bsu*36I, *Bcl*I, *Xcm*I, *Mlu*I, *Pvu*II, *Hpa*I, y *Hinc*II, siendo los sitios subrayados únicos en el vector pCES5. El relleno que reemplaza CDR3 contiene el sitio de endonucleasa de restricción único *Rsr*II.

55 Una representación esquemática del diseño para la diversidad sintética de CDR1 y CDR2 se muestra en la FIG. 10. El diseño se basó en la presencia de mutaciones en DP4 7/3-23 y en genes de la línea germinal relacionados. La diversidad se diseñó para ser introducida en las posiciones en CDR1 y CDR2 indicadas por los números en la FIG. 10.

La diversidad en cada posición se eligió para ser uno de los tres esquemas siguientes: 1 = ADEFGHIKLMNPQRSTVWY; 2 = YRW VGS; 3 = PS, en los que las letras codifican mezclas de aminoácidos indicados.

Para la construcción de la diversidad en CDR1 y CDR2, se diseñaron 4 oligonucleótidos de su perposición (ON-vgC1, ON_Br12, ON_CD2Xba, y ON-vgC2, mostrados en la Tabla 27 y Tabla 30) que codifican CDR1/2, más regiones flanqueantes. Una mezcla de estos 4 oligos se combinó a una concentración final de 2,5 μM en una reacción de PCR de 40 μl. Dos de los 4 oligos contenían secuencias variegadas posicionadas en la CDR1 y la CDR2. La mezcla de PCR contenía 200 μM dNTPs, 2,5 U ADN Polimerasa Pwo (Roche), y 1X tampón de PCR Pwo con 2 mM MgSO₄. El programa de PCR consistió en 10 ciclos a 94°C durante 30s, 60°C durante 30s y 72°C durante 60s. Esta secuencia de ADN ensamblada CDR1/2 se amplificó usando 2,5 μl de la mezcla en 100 μl de reacción de PCR. La reacción de PCR contenía 200 μM dNTPs, 2,5 U ADN Polimerasa Pwo, 1X Tampón de PCR Pwo con 2 mM MgSO₄ y 2 cebadores externos a una concentración de 1 μM. El programa de PCR consistió en 10 ciclos a 94°C durante 30s, 60°C durante 30s y 72°C durante 60s. Estas secuencias variegadas se digirieron y se clonaron en el marco 3-23 VH en lugar del relleno CDR1/2.

Obtuvimos aproximadamente 7×10^7 transformantes independientes. La diversidad en CDR3 bién de poblaciones donantes o de ADN sintético puede clonarse en el vector que contiene diversidad sintética en CDR1 y CDR2.

Una representación esquemática de este procedimiento se muestra en la FIG. 11. Una secuencia que codifica las regiones FR del segmento génico humano V3-23 y regiones CDR con diversidad sintética se preparó por ensamblaje de oligonucleótidos y clonación mediante los sitios *BspE1* y *Xba1* en un vector que complementa las regiones FR1 y FR3. En esta biblioteca de segmentos sintéticos VH, se clonó la secuencia complementaria VH-CDR3 (superior derecha) mediante los sitios *Xba1* y *BstEII*. Los genes CH clonados resultantes contienen una combinación de diversidad sintética diseñada y diversidad natural (véase la FIG. 11).

Ejemplo 4: Escisión y ligación de las cadenas ligeras lambda con *HinfI*.

Un esquema de la escisión y ligación de las cadenas ligeras de anticuerpo se muestra en las FIGS. 12A y 12B. Aproximadamente 2 μg de ADN Lambda humano biotinilado preparado como se ha descrito en el Ejemplo 1 se inmovilizaron en 200 μl de lechos magnéticos Seradyn. La cadena inferior se eliminó por incubación del ADN con 200 μl de 0,1 M NaOH (pH=13) durante 3 minutos, el sobrenadante se eliminó y se realizó un lavado adicional de 30 segundos con 200 μl de 0,1 M NaOH. El sobrenadante se quitó y los lechos se neutralizaron con 200 μl de 10 mM Tris (pH=7,5), 100 mM NaCl. Se realizaron 2 lavados adicionales con 200 μl tampón NEB2, que contiene 10 mM Tris (pH=7,9), 50 mM NaCl, 10 mM MgCl₂ y 1 mM ditiotretol. Después de la inmovilización, la cantidad de ADNss se estimó en un gel 5% PAGE-UREA.

Aproximadamente 0,8 μg de ADNss se recuperaron y se incubaron en 100 μl de tampón NEB2,2 que contiene un exceso molar de 80 veces de una mezcla equimolar de ON_Lam1aB7, ON_Lam2aB7, ON_Lam31B7 y ON_Lam3rB7 [cada oligo en un exceso molar de 20 veces] (véase la Tabla 31).

La mezcla se incubó a 95°C durante 5 minutos y se enfrió lentamente hasta 50°C durante un periodo de 30 minutos. El exceso de oligonucleótido se eliminó por lavado con 2 lavados de 200 μl de tampón NEB2. Se añadieron 4 U/μg de *HinfI* y se incubó durante 1 hora a 50°C. Los lechos se mezclaron cada 10 minutos.

Después de incubar la muestra se purificó en una columna de purificación Qiagen PCR y se analizó posteriormente en un gel 5% PAGE-urea (véase la FIG. 13A, la eficacia de la escisión fue más del 70%).

Un esquema de la ligación de las cadenas ligeras escindidas se muestra en la FIG. 12B. Se preparó una mezcla de pares puente/extensor de los oligos Brg/Ext listados en la Tabla 31 (exceso molar total de 100 veces) en 1.000 U de ADN ligasa T4 (NEB) y se incubó toda la noche a 16°C. Después de ligar el ADN, el oligonucleótido en exceso se eliminó con una columna de purificación Qiagen PCR y la ligación se comprobó en un gel Urea-PAGE (véase la FIG. 13B; la eficacia de la ligación fue mayor del 95%).

Se realizaron múltiples PCR que contienen 10 ng del material ligado en una reacción de PCR de 50 μl usando 2,5 pMoles ON la mPlePCR y 2,5 pmoles de una mezcla equimolar de cebador Hu-CL2Ascl/HuCL7Ascl (véase el Ejemplo 1).

Se realizó PCR a 60°C durante 15 ciclos usando polimerasa Pfu. Aproximadamente 1 μg de ADNds se recuperó por PCR (véase la FIG. 13C) y se escindió con *Apa1* y *Ascl* para clonación de las cadenas ligeras lambda en pCES2.

Ejemplo 5: Captura de la población de CD3 de la cadena pesada humana.

Un esquema de la escisión y ligación de las cadenas ligeras de anticuerpo se muestra en las FIGS. 14A y 14B.

Aproximadamente 3 μg de material RACE del gen de la cadena pesada humana (IgM) con biotina unida en el extremo 5' de la cadena inferior se inmovilizaron en 300 μL de lechos magnéticos Seradyn. La cadena superior se eliminó lavando el ADN con 2 alícuotas de 300 μL de 0,1 M NaOH (pH 13) durante 3 minutos para la primera alícuota seguido de 30 segundos para la segunda alícuota. Los lechos se neutralizaron con 300 μL de 10 mM Tris (pH 7,5) 100 mM NaCl. Los

REadaptors (oligonucleótidos usados para hacer un ADN monocatenario localmente bicatenario) mostrados en la Tabla 32 se añadieron en un exceso molar de 30 veces en 200 uL de tampón NEB 4 (50 mM Acetato de Potasio, 20 mM Tris-Acetato, 10 mM Acetato de Magnesio, 1 mM ditiotreititol pH 7,9) a los lechos secos. Los REadaptors se incubaron con el ADN monocatenario a 80°C durante 5 minutos y se enfriaron hasta 55°C durante 30 minutos. Los REadaptors en exceso se eliminaron por lavado con 2 lavados de tampón NEB 4. Se añadieron quince unidades de Hpy CH4III (NEB) en tampón NEB 4 y se incubó durante 1 hora a 55 °C. El ADN escindido en 3' que permanece en los lechos se eliminó de los lechos usando una columna de eliminación Qiagen Nucleotide (véase la FIG. 15).

Los pares Puente/Extensor mostrados en la Tabla 33 se añadieron en un exceso molar de 25 veces junto con 1.200 unidades de ADN ligasa T4 y se incubó toda la noche a 16°C. El Puente/Extensor en exceso se eliminó con una columna de purificación Qiagen PCR. El material ligado se amplificó por PCR usando los cebadores H43.XAExtPCR2 y Hucumnest mostrados en la Tabla 34 durante 10 ciclos con el programa mostrado en la Tabla 35.

El producto de PCR soluble se corrió en un gel y mostró una banda de aproximadamente 500 n, como se esperaba (véase la FIG.15B). El ADN se escindió con las enzimas *SfiI* y *NotI*, se purificó por gel y se ligó al vector escindido de manera similar pCES1.

15 **Ejemplo 6: Descripción del Vector de Presentación en Fago CJRA05, un miembro de la biblioteca construida en el vector DY3F7.**

La Tabla 36 contiene una secuencia de ADN anotada de un miembro de la biblioteca, CJRA05, véase la FIG. 16. La Tabla 36 debe leerse como sigue: en cada línea todo lo que sigue a un signo de exclamación "!" es un comentario. Todas las apariciones de A, C, G, y T antes de "!" son la secuencia de ADN. Las mayúsculas se usan sólo para mostrar que determinadas bases constituyen características especiales, tales como sitios de restricción, sitios de unión a ribosoma, y semejantes, que están marcadas por debajo del ADN. CJRA05 es un derivado del fago DY3F7, obtenido por clonación de un fragmento *ApaI* a *NotI* en estos sitios en DY3F31. DY3F31 es como DY3F7 excepto en que los genes de la cadena ligera y la cadena pesada se han reemplazado por ADN "de relleno" que no codifica ningún anticuerpo. DY3F7 contiene un anticuerpo que une estreptavidina, pero no proviene de la presente biblioteca.

Los genes de fago empiezan con el gen i i y continúan con los genes x, v, vii, ix, v iii, iii, vi, i, y iv. El gen ii se ha modificado ligeramente ya que se han insertado ocho codones entre la secuencia señal y la proteína madura y los aminoácidos finales de la secuencia señal se han alterado. Esto permite que estén presentes sitios de reconocimiento de las enzimas de restricción *EagI* y *XbaI*. Después del gen iv está el origen de replicación (ori) del fago. Después de ori está bla que confiere resistencia a ampicilina (ApR). Los genes de fago y bla se transcriben en el mismo sentido.

Después de bla, está el casete Fab (ilustrado en la FIG. 17) que comprende:

- a) Promotor PlacZ,
- b) Un primer Sitio de Unión a Ribosoma (RBS1),
- c) La secuencia señal de M13 iii,
- d) un RERS *ApaI*,
- e) Una cadena ligera (una kappa L20::JK1 acortada por un codón en el límite V-J en este caso),
- f) Un RERS *Ascl*,
- g) Un segundo Sitio de Unión a Ribosoma (RBS2),
- h) Una secuencia señal, preferiblemente PelB, que contiene,
- i) Un RERS *SfiI*,
- j) Una región sintética 3-23 V con diversidad en CDR1 y CDR2,
- k) Una CDR3 capturada,
- l) Una región parcialmente sintética J (FR4 después de *BstEII*),
- m) CH1,
- n) Un RERS *NotI*,
- o) Una etiqueta His6,
- p) Una etiqueta cMyc,
- q) Un codón ámbar,

r) Un ADN de anclaje que codifica la misma secuencia de aminoácidos que los codones 273 a 424 de M13 iii (como se muestra en la Tabla 37).

s) Dos codones de parada,

t) Un RERS *AvrII*, y

5 u) Un terminador *trp*.

El anclaje (elemento r) codifica la misma secuencia de aminoácidos que los codones 273 a 424 de M13 iii pero el ADN es aproximadamente tan diferente como es posible de la secuencia de ADN de tipo salvaje. En la Tabla 36, el eje III' va desde la base 8997 a la base 9455. Por debajo del ADN, como comentarios, están las diferencias con iii de tipo salvaje para los codones comparables con "IW.T" en los extremos de estas líneas. Obsérvese que Met y Trp sólo tienen un único codón y deben dejarse como tal. Estos tipos de AA son raros. Los codones Ser pueden cambiarse en las tres bases, mientras que los codones Leu y Arg pueden cambiarse en dos.

En la mayor parte de los casos, puede introducirse un cambio de base por codón. Esto tiene tres ventajas: 1) la recombinación con el gen de tipo salvaje producida en otra parte en el fago es menos probable, 2) pueden introducirse nuevos sitios de restricción, lo que facilita la construcción; y 3) pueden diseñarse cebadores de secuenciación que se unen sólo a una de las dos regiones.

El fragmento de M13 III mostrado en CJRA05 tiene la longitud preferida para el segmento de anclaje. También pueden utilizarse segmentos de anclaje alternativos más largos o más cortos definidos por referencia a la proteína III madura completa.

La secuencia de M13 III consiste en los elementos siguientes: Secuencia Señal::Dominio 1 (D1)::Conector 1 (L1)::Dominio 2 (D2)::Conector 2 (L2)::Dominio 3 (D3)::Segmento Transmembrana (TM)::Anclaje Intracelular (IC) (véase la Tabla 38).

El anclaje pIII (también conocido como trpIII) consiste preferiblemente en D2::L2::D3::TM::IC. Otra realización para el anclaje pIII consiste en D2'::L2::D3::TM::IC (en el que D2' comprende los últimos 21 residuos de D2 con los primeros 109 residuos delecionados). Una realización adicional del anclaje pIII consiste en D2'(C>S)::L2::D3::TM::IC (en el que D2'(C>S) es D2' con el único C convertido en S), y d) D3::TM::IC.

La Tabla 38 muestra un fragmento de gen que comprende el sitio *NotI*, etiqueta His6, etiqueta cMyc, un codón ámbar, un sitio de escisión de enteroquinasa recombinante, y la proteína M13 III total madura. El ADN usado para codificar esta secuencia es intencionadamente muy diferente del ADN del gen iii de tipo salvaje como se muestra por las líneas indicadas como "W.T." que contienen las bases w.t. en las que éstas se diferencian de este gen. III está dividido en dominios indicados como "dominio 1", "conector 1", "dominio 2", "conector 2", "dominio 3", "segmento transmembrana", y "anclaje intracelular".

Los segmentos de anclaje alternativos preferidos (definidos por referencia a la secuencia de la Tabla 38) incluyen:

codones 1-29 unidos a los codones 104-435, delecionando el dominio 1 y reteniendo el conector 1 en el extremo;

codones 1-38 unidos a los codones 104-435, delecionando el dominio I and y reteniendo el sitio de escisión rEK más el conector 1 en el extremo de III;

codones 1-29 unidos a los codones 236-435, delecionando el dominio 1, conector 1, y la mayor parte del dominio 2 y reteniendo el conector 2 en el extremo;

codones 1-38 unidos a los codones 236-435, delecionando el dominio 1, conector 1, y la mayor parte del dominio 2 y reteniendo el conector 2 en el extremo y el sitio de escisión rEK;

codones 1-29 unidos a los codones 236-435 y cambiando el codón 240 a Ser (por ejemplo, a gc), delecionando el dominio 1, conector 1, y la mayor parte del dominio 2 y reteniendo el conector 2 en el extremo; y

codones 1-38 unidos a los codones 236-435 y cambiando el codón 240 a Ser (por ejemplo, a gc), delecionando el dominio 1, conector 1, y la mayor parte del dominio 2 y reteniendo el conector 2 en el extremo y el sitio de escisión rEK.

Las construcciones se deberán hacer fácilmente por métodos similares a los de Wang y Wilkinson (Biotechniques 2001: 31(4)722-724) en los que se usa PCR para copiar el vector excepto la parte que se va a delecionar y se introducen sitios de restricción correspondientes o se retienen en cualquiera de los extremos de la parte que se va a conservar. La Tabla 39 muestra los oligonucleótidos que se deben usar en la deleción de las partes del segmento de anclaje III. El ADN mostrado en la Tabla 38 tiene un sitio *NheI* antes del sitio de escisión de la enteroquinasa recombinante (rEKCS) DINDRRMA. Si se usa *NheI* en el proceso de deleción con este ADN, el sitio rEKCS se perdería. Este sitio podría ser muy útil en la escisión de F ab del fago y podría facilitar la captura de anticuerpos de muy alta afinidad. Se podría mutagenizar esta secuencia de manera que el sitio *NheI* estaría después del sitio rEKCS, una secuencia de aminoácido

Ala Ser está ya presente. Alternativamente, se podría usar *SphI* para las delecciones. Esto implicaría un cambio ligero en la secuencia de aminoácidos pero no tendría ninguna consecuencia.

Ejemplo 7 : Selección de ligantes de anticuerpo de una biblioteca enriquecida de anticuerpos humanos usando el vector fago DY3F31.

5 En este ejemplo, la biblioteca de anticuerpo humano usada se describe en de Haard et al., (Journal of Biological Chemistry, 274 (26): 18 218-30 (1999). Esta biblioteca, que consiste en una biblioteca de fagémido grande Fab no inmune humano, se enriqueció en primer lugar en antígeno, bien en estreptavidina o en fenil-oxazolona (pHox). Los métodos para esto son muy conocidos en la técnica. Dos bibliotecas Fab preseleccionadas, la primera seleccionada una vez en pHox-BSA (R1-ox) inmovilizado y la segunda seleccionada dos veces en estreptavidina (R2-strep), se eligieron para la reclonación.

Estos repertorios enriquecidos de anticuerpos de fago, en los que sólo un porcentaje muy bajo tenía actividad de unión al antígeno usado en la selección, se confirmaron por cribado de los clones en un ELISA para unión de antígeno. Los genes Fab seleccionados se transfirieron del vector fagémido de esta biblioteca al vector DY3F31 mediante sitios de restricción *ApaI*-*NotI*.

15 El ADN del vector fago DY3F31 se pretrató con ADNasa dependiente de ATP para eliminar el ADN cromosómico y se digirió con *ApaI* y *NotI*. Se realizó una digestión extra con *AscI* entre medias para evitar la autoligación del vector. El fragmento *ApaI*/*NotI* Fab de las bibliotecas preseleccionadas se ligó posteriormente al ADN del vector y se transformó en células XL1-blue MRF competentes.

20 Las bibliotecas se hicieron usando unas proporciones vector:inserto de 1:2 para la biblioteca pHox y 1:3 para la biblioteca ST REP y usando 100 ng de ADN ligado por 50 µl de células competentes para la electroporación (condiciones de la electroporación: un choque de 1.700 V, 1 hora de recuperación de las células en medio SOC rico, siembra en placas de agar que contienen ampicilina).

25 Esta transformación resultó en una biblioteca con un tamaño de $1,6 \times 10^6$ para R1-ox en DY3F31 y $2,1 \times 10^6$ para R2-strep en DY3F31. Dieciséis colonias de cada biblioteca se cribaron para el inserto y todas mostraron el inserto con el tamaño correcto (± 1.400 pb) (para las dos bibliotecas).

30 El fago se preparó a partir de estas bibliotecas Fab como sigue. Una muestra representativa de la biblioteca se inoculó en medio con ampicilina y glucosa, y a DO 0,5, el medio se cambió por ampicilina y 1 mM IPTG. Después de un crecimiento toda la noche a 37 °C, el fago se recogió del sobrenadante por precipitación con PEG-NaCl. El fago se usó para selección en el antígeno. R1-ox se seleccionó en pHox-recubierto con BSA por adsorción pasiva en inmuntubos y R2-strep en lechos paramagnéticos recubiertos con estreptavidina (Dynal, Noruega), en procedimientos descritos en de Haard et al. y Marks et al., Journal of Molecular Biology, 222(3): 581-97 (1991). Las titulaciones de fagos proporcionan en la Tabla 40.

35 Los clones de estas bibliotecas seleccionadas, denominados R2-ox y R3-strep respectivamente, se cribaron para unión a sus antígenos en ELISA. 44 clones de cada selección se tomaron aleatoriamente y se cribaron como Fab de fago o soluble para unión en ELISA. Para las bibliotecas en DY3F31, los clones se crecieron en primer lugar en 2TY-2% glucosa-50 µg/ml AMP hasta una DO600 de aproximadamente 0,5 y se crecieron toda la noche en 2TY-50 µg/ml AMP +/- 1mM IPTG. La inducción con IPTG puede resultar en la producción tanto de Fab de fago como de Fab soluble. Por lo tanto, los (mismos) clones también se crecieron sin IPTG. La Tabla 41 muestra los resultados de un cribado con ELISA del sobrenadante resultante, bien para la detección de partículas de fago con unión a antígeno (Anti-M13 HRP = anticuerpo anti-fago), o para la detección de Fab humanos, en el fago o como fragmentos solubles, bien usando el anticuerpo anti-myc 9E10 que detecta la etiqueta myc que porta cada Fab en el extremo C-terminal de la cadena pesada seguido de un suero de conejo anti-Ratón marcado con HRP (columna 9E10/RAM-HRP), o con reactivo anticadena ligera seguido de un antisuero de cabra anti-conejo marcado con HRP (anti-CK/CL Gar-HRP).

45 Los resultados muestran que en ambos casos, se identifican ligantes de antígeno en la biblioteca, con como Fab en fago o con los reactivos anti-Fab (Tabla 41). La inducción con IPTG rinde un incremento en el número de positivos. También puede verse que para los clones pHox, el ELISA de fago rinde más positivos que el ELISA de Fab soluble, debido muy probablemente a la unión ávida del fago. Veinticuatro de los clones positivos en ELISA se cribaron usando PCR del inserto Fab del vector, seguido de digestión con *BstNI*. Esto rindió 17 patrones diferentes para los Fab de unión pHox en 23 muestras que se analizaron correctamente y 6 de 24 para los clones de unión de estreptavidina. Así, los datos de la selección y cribado de esta biblioteca de Fab no inmune pre-enriquecida muestran que el vector DY3F31 es adecuado para la presentación y selección de fragmentos Fab y proporciona tanto Fab soluble como Fab en fago para los experimentos de cribado después de la selección.

Ejemplo 8: Selección de bibliotecas Fago-anticuerpo en lechos magnéticos de estreptavidina.

55 El ejemplo siguiente describe una selección en la que primero se depleciona una muestra de la biblioteca de ligantes de estreptavidina y opcionalmente de ligantes de una no diana (es decir, una molécula distinta de la diana a la que no se quiere que se una el Fab seleccionado). Se hipotetiza que se tiene una molécula, denominada un "ligando competitivo", que se une a la diana y que un anticuerpo que se une en el mismo sitio sería especialmente útil.

Para este procedimiento se bloquearon Lechos Magnéticos de Estreptavidina (Dyna) una vez con disolución de bloqueo (2% Leche Marvel, PBS (pH 7,4), 0,01% Tween-20 ("2%MPBST")) durante 60 minutos a temperatura ambiente y se lavaron cinco veces con 2%MPBST. 450 µL de lechos se bloquearon para cada depleción y conjunto posterior de selección.

- 5 Para cada selección, se añadieron 6,25 µL de diana de depleción biotinilada (1 mg/mL disolución madre en PBST) a 0,250 mL de lechos lavados, bloqueados (de la etapa 1). Se dejó que la diana se uniera toda la noche, con mezclado por rotación, a 4°C. Al día siguiente, los lechos se lavan 5 veces con PBST.

- 10 Para cada selección, se añadieron 0,010 mL de antígeno diana biotinilado (1 mg/mL disolución madre en PBST) a 0,100 mL de lechos bloqueados y lavados (de la etapa 1). Se dejó que el antígeno se uniera toda la noche, con mezclado por rotación, a 4°C. Al día siguiente, los lechos se lavaron 5 veces con PBST.

En el ciclo 1, 2×10^{12} hasta 10^{13} unidades formadoras de placas (pfu) por selección se bloquearon frente a unión no específica añadiendo a 0,500 mL de 2%MPBS (=2%MPBST sin Tween) durante 1 hr a RT (con mezclado por rotación). En ciclos posteriores, 1.011 pfu por selección se bloquearon como se ha hecho en el ciclo 1.

- 15 Cada conjunto de fagos se incubó con 50 µL de lechos diana de depleción (el sobrenadante del lavado final se eliminó justo antes del uso) en un mezclador por rotación Labquake durante 10 min a temperatura ambiente. Después de la incubación, el sobrenadante de los fagos se retiró y se incubó con otros 50 µL de lechos diana de depleción. Esto se repitió 3 veces más usando lechos diana de depleción y dos veces usando lechos de estreptavidina bloqueados durante un total de 7 ciclos de depleción, de manera que cada conjunto de fagos requirió 350 µL de lechos de depleción.

- 20 Una pequeña muestra de cada conjunto de biblioteca deplecionada se tomó para titulación. Cada conjunto de biblioteca se añadió a 0,100 mL de lechos diana (el sobrenadante del lavado final se retiró justo antes del uso) y se dejó incubarse durante 2 horas a temperatura ambiente (con mezclado por rotación).

- 25 Los lechos se lavaron tan rápidamente como fue posible (por ejemplo, 3 minutos en total) con 5 X 0,500 mL PBST y 2X con PBS. Los fagos todavía unidos a los lechos después del lavado se eluyeron una vez con 0,250 mL de ligando competitivo (~1 µM) en PBST durante 1 hora a temperatura ambiente en un mezclador por rotación Labquake. El eluato se retiró, se mezcló con 0,500 mL disolución de sales Mínima A y se guardó. Para una segunda selección, se usaron 0,500 mL 100 mM TEA para la elución durante 10 min a RT, se neutralizó en una mezcla de 0,250 mL de 1 M Tris, pH 7,4 + 0,500 mL sales Min A.

- 30 Después de la primera elución de selección, los lechos pueden eluirse de nuevo con 0,300 mL de diana no biotinilada (1 mg/mL) durante 1 hr a RT en un mezclador por rotación Labquake. Los fagos eluidos se añaden a 0,450 mL de sales Mínima A.

Tres eluatos (competidor de la 1a selección, diana de la 1a selección y elución con TEA neutralizada de la 2a selección) se guardaron separados y se tomó una pequeña alícuota de cada uno para titulación. Se añadieron 0,500 mL de sales Mínima A a las alícuotas de lechos restantes después de la elución del competidor y la diana y después de la elución con TEA. La toma de una pequeña alícuota de cada uno se tomó para titulación.

- 35 Cada elución y cada conjunto de lechos eluidos se mezcló con 2X YT y una alícuota (por ejemplo, 1 mL con 1. E 10/mL) de células XL1-Blue MRF' de E. coli (u otra línea celular F') que se había enfriado en hielo después de haberse crecido hasta la fase semi-logarítmica, se privaron y se concentró (véase el procedimiento más adelante - "Prep semi-Log de células XL-1 blue MRF' para infección").

- 40 Después de aproximadamente 30 minutos a temperatura ambiente, las mezclas fago/célula se extendieron en placas Bio-Assay (243 X 243 X 18 mm, Nalge Nunc) que contienen agar 2XYT, 1mM IPTG. Las placas se incubaron toda la noche a 30°C. Al día siguiente, cada cultivo de fago amplificado se recogió de su placa respectiva. La placa se inundó con 35 mL TBS o LB y las células se rasparon de la placa. Las células resuspendidas se transfirieron a una botella de centrifuga. Se usaron 20 mL adicionales de TBS o LB para eliminar todas las células de la placa y se juntaron con las células en la botella de centrifuga. Las células se retiraron por centrifugación y el fago en el sobrenadante se recuperó por precipitación con PEG. Durante el día siguiente, las preps de fago amplificadas se titularon.

En el primer ciclo, dos selecciones rindieron cinco eluatos amplificados. Estos eluatos amplificados se recuperaron durante 2-3 ciclos adicionales de selección usando ~1. E 12 entrada de fago/ciclo. Para cada ciclo adicional, los lechos de depleción y diana se prepararon la noche anterior al inicio del ciclo.

- 50 Para las etapas de elución en ciclos posteriores, se hicieron todas las eluciones hasta la etapa de elución de la que procede la elución amplificada y las eluciones previas se trataron como lavados. Para los fagos amplificados de los lechos de infección, por ejemplo, se hicieron las eluciones del ligando competitivo y la diana y se mezclaron como lavados (véase más adelante). Los lechos se usaron para infectar a E. coli. Dos conjuntos, por lo tanto, rindieron un total de 5 eluciones finales al final de la selección.

1^{er} conjunto de selección

A. Elución amplificada de ligando: eluir con ligando durante 1 hr, guardar como elución

B. Elución amplificada de di ana: el uir co n liga ndo dur ante 1 hr, mezcl ar como el uato de l avado c on di ana durante 1 hr, guardar como elución

C. Elución am plificada de infección de lechos: eluir c on ligando durante 1 hr, mezclar como elu ato de lavado con diana durante 1 hr, mezclar como eluato de lavado con infección celular, guardar como elución

2^o conjunto de selección

A. Elución amplificada de TEA: eluir con TEA 10min, guardar como elución

B. Elución amplificada de infección de lechos: eluir con TEA 10min, mezclar como elute de lavado con infección celular, guardar como elución

10 Prep semi-log de células XL1 blue MRF' para infección (basada en Barbas et al. Phage Display manual procedure)

Cultivar XL1 blue MRF' en NZCYM (12,5 mg/mL tet) a 37°C y 250 rpm toda la noche. Se empezó un cultivo de 500 mL en matraz de 2 litros diluyendo las células 1/50 en NZCYM/tet (10 mL añadidos de cultivo de toda la noche) y se incubó a 37°C a 250 rpm hasta que se alcanzó una DO600 de 0,45 (1,5-2 hrs). La agitación se redujo hasta 100 rpm d urante 10 min. C uando la DO6 00 fue entre 0,5 5-0,65, las cé lulas se transfirieron a 2 bot ellas de centrifuga de 250 mL, se centrifugó a 600 g d urante 15 min a 4°C. El sobre nadante se retiró por vertido. El líquido residual se retiró co n una pipeta.

Los sedimentos se resuspendieron suavemente (sin pipetear arriba y abajo) en el volumen original de 1 X sales Mínima A a temperatura ambiente. Las células resuspendidas se transfirieron de nuevo al matraz de 2 litros, se agitar on a 100 rpm dura nte 45 min a 37° C. Este proceso se realiz ó con el fin de pr ivar las cé lulas y restaurar pili. Las cé lulas se transfirieron a 2 botellas de centrifuga de 250 mL y se centrifugaron como anteriormente.

Las células se resuspendieron suavemente en sales Mímina A enfriadas en hielo (5 mL por 500 mL de cultivo original). Las células se pusieron en hielo para uso en infecciones tan pronto como fue posible.

Los eluatos de fago se llevaron hasta 7,5 mL con medio 2XYT y se añadieron 2,5 mL de células. Los lechos se llevaron hasta 3 mL con 2XYT y se añadió 1 mL de células. Se incubó a 37oC durante 30 min. Las células se sembraron en placas NUNC grandes con agar 2XYT, 1 mM IPTG y se incubaron durante 18 hr a 30°C.

Ejemplo 9: Incorporación de región sintética en la región FR1/3.

Más adelante se describen ejemplos para incorporar residuos fijos en secuencias de anticuerpo para los genes de la cadena lig era kappa y lambda, y para las cadenas pesadas. Las condiciones experimentales y los oligonucleótidos usados para los ejemplos siguientes se han descrito en ejemplos previos (por ejemplo los Ejemplos 3 y 4).

El proceso para incorporar residuos FR1 fijos en una secuencia lambda de anticuerpo consiste en 3 etapas (véase la FIG. 18): (1) hibridar el material de ADN monocatenario que codifica los genes VL con una mezcla de oligonucleótidos parcialmente complementarios (indicado con Ext y Puente), para hibridar en este ejemplo con la región que codifica los residuos 5-7 de FR1 de los genes lambda (indicado con X..X; en los genes lambda la s uperposición puede no ser perfecta algunas veces); (2) ligaci ón de este complejo; (3) PCR del mate rial ligado con el cebador indicado ('PCRpr') y por ejemplo un cebador basado en el gen VL. En este proceso los primeros pocos residuos de todos los genes lambda estarán codificados por las secuencias presentes en los oligonucleótidos (Ext., Puente o PCRpr). Después de la PCR, los genes lambda pueden clonarse usando el sitio de restricción indicado para ApaLI.

El proceso para incorporar residuos FR1 fijos en una secuencia kappa de anticuerpo (FIG. 19) consiste en 3 etapas: (1) hibridar el material de ADN monocatenario que codifica los genes VK con una mezcla de oligonucleótidos parcialmente complementarios (indicado con Ext y Bri), para hibridar en este ejemplo con la región que codifica los residuos 8-10 de FR1 de los genes kappa (indicado con X..X; en los genes kappa la superposición puede no ser perfecta algunas veces); (2) ligación de este complejo; (3) PCR del material ligado con el cebador indicado ('PCRpr') y por ejemplo un cebador basado en el gen VK. E n este proceso los primeros pocos (8) r esiduos de todos los genes kappa estarán codificados por las s ecuencias presentes en los oligonucleótidos (Ext., Puente o PCRpr). Después de la PCR, los genes kappa pueden clonarse usando el sitio de restricción indicado para ApaLI.

El proceso para incorporar residuos FR3 fijos en una secuencia de cadena pesada de anticuerpo (FIG. 20) consiste en 3 etapas: (1) hibridar el material de ADN monocatenario que codifica parte de los genes VH (por ejemplo, que codifica las regiones FR3, CDR3 y FR4) con una mezcla de oligonucleótidos parcialmente complementarios (indicado con Ext y Puente), para hibridar en este ejemplo con la región que codifica los residuos 92-94 (en la región FR3) de los genes VH (indicado con X..X; e n los g enes VH l a super posición p uede no ser p erfecta alg unas veces); (2) ligaci ón d e este complejo; (3) PCR del material ligado con el cebador indicado ('PCRpr') y por ejemplo un cebador basado en el gen VH

(tal como en la región FR4). En este proceso determinados residuos de todos los genes VH estarán codificados por las secuencias presentes en los oligonucleótidos usados aquí, en particular de PCRpr (para los residuos 70-73), o de los oligonucleótidos Ext/Puente (residuos 74-91). Después de la PCR, los genes VH parciales pueden clonarse usando el sitio de restricción indicado para *XbaI*.

- 5 Deberá entenderse que lo anterior es sólo ilustrativo de los principios de esta invención y que los expertos en la técnica pueden hacer varias modificaciones sin apartarse del alcance de y el espíritu de la invención.

Tabla 1: Secuencias GLG FR3 Humanas

! VH1

```

! 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80
    agg gtc acc atg acc agg gac acg tcc atc agc aca gcc tac atg
! 81 82 82a 82b 82c 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92
    gag ctg agc agg ctg aga tct gac gac acg gcc gtg tat tac tgt
! 93 94 95
    gcg aga ga ! 1-02# 1
    aga gtc acc att acc agg gac aca tcc gcg agc aca gcc tac atg
    gag ctg agc agc ctg aga tct gaa gac acg gct gtg tat tac tgt
    gcg aga ga ! 1-03# 2
    aga gtc acc atg acc agg aac acc tcc ata agc aca gcc tac atg
    gag ctg agc agc ctg aga tct gag gac acg gcc gtg tat tac tgt
    gcg aga gg ! 1-08# 3
    aga gtc acc atg acc aca gac aca tcc acg agc aca gcc tac atg
    gag ctg agg agc ctg aga tct gac gac acg gcc gtg tat tac tgt
    gcg aga ga ! 1-18# 4
    aga gtc acc atg acc gag gac aca tct aca gac aca gcc tac atg
    gag ctg agc agc ctg aga tct gag gac acg gcc gtg tat tac tgt
    gca aca ga ! 1-24# 5
    aga gtc acc att acc agg gac agg tct atg agc aca gcc tac atg
    gag ctg agc agc ctg aga tct gag gac aca gcc atg tat tac tgt
    gca aga ta ! 1-45# 6
    aga gtc acc atg acc agg gac acg tcc acg agc aca gtc tac atg
    gag ctg agc agc ctg aga tct gag gac acg gcc gtg tat tac tgt
    gcg aga ga ! 1-46# 7
    aga gtc acc att acc agg gac atg tcc aca agc aca gcc tac atg
    gag ctg agc agc ctg aga tcc gag gac acg gcc gtg tat tac tgt
    gcg gca ga ! 1-58# 8
    aga gtc acg att acc gcg gac gaa tcc acg agc aca gcc tac atg
    gag ctg agc agc ctg aga tct gag gac acg gcc gtg tat tac tgt
    gcg aga ga ! 1-69# 9
    aga gtc acg att acc gcg gac aaa tcc acg agc aca gcc tac atg
    gag ctg agc agc ctg aga tct gag gac acg gcc gtg tat tac tgt
    gcg aga ga ! 1-e# 10
    aga gtc acc ata acc gcg gac acg tct aca gac aca gcc tac atg
    gag ctg agc agc ctg aga tct gag gac acg gcc gtg tat tac tgt
    gca aca ga ! 1-f# 11

```


! VH2

agg ctc acc atc acc aag gac acc tcc aaa aac cag gtg gtc ctt
aca atg acc aac atg gac cct gtg gac aca gcc aca tat tac tgt
gca cac aga c! 2-05# 12
agg ctc acc atc tcc aag gac acc tcc aaa agc cag gtg gtc ctt
acc atg acc aac atg gac cct gtg gac aca gcc aca tat tac tgt
gca cgg ata c! 2-26# 13
agg ctc acc atc tcc aag gac acc tcc aaa aac cag gtg gtc ctt
aca atg acc aac atg gac cct gtg gac aca gcc acg tat tac tgt
gca cgg ata c! 2-70# 14

! VH3

cga ttc acc atc tcc aga gac aac gcc aag aac tca ctg tat ctg
caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt
gcg aga ga ! 3-07# 15
cga ttc acc atc tcc aga gac aac gcc aag aac tcc ctg tat ctg
caa atg aac agt ctg aga gct gag gac acg gcc ttg tat tac tgt
gca aaa gat a! 3-09#16
cga ttc acc atc tcc agg gac aac gcc aag aac tca ctg tat ctg
caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gcc gtg tat tac tgt
gcg aga ga ! 3-11# 17
cga ttc acc atc tcc aga gaa aat gcc aag aac tcc ttg tat ctt
caa atg aac agc ctg aga gcc ggg gac acg gct gtg tat tac tgt
gca aga ga ! 3-13# 18
aga ttc acc atc tca aga gat gat tca aaa aac acg ctg tat ctg
caa atg aac agc ctg aaa acc gag gac aca gcc gtg tat tac tgt
acc aca ga ! 3-15# 19
cga ttc acc atc tcc aga gac aac gcc aag aac tcc ctg tat ctg
caa atg aac agt ctg aga gcc gag gac acg gcc ttg tat cac tgt
gcg aga ga ! 3-20# 20
cga ttc acc atc tcc aga gac aac gcc aag aac tca ctg tat ctg
caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt
gcg aga ga ! 3-21# 21
cgg ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat ctg
caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gcc gta tat tac tgt
gcg aaa ga ! 3-23# 22
cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat ctg
caa atg aac agc ctg aga gct gag gac acg gct gtg tat tac tgt
gcg aaa ga ! 3-30# 23
cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat ctg
caa atg aac agc ctg aga gct gag gac acg gct gtg tat tac tgt
gcg aga ga ! 3303# 24

cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat ctg
 caa atg aac agc ctg aga gct gag gac acg gct gtg tat tac tgt
 gcg aaa ga ! 3305# 25
 cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat ctg
 caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt
 gcg aga ga ! 3-33# 26
 cga ttc acc atc tcc aga gac aac agc aaa aac tcc ctg tat ctg
 caa atg aac agt ctg aga act gag gac acc gcc ttg tat tac tgt
 gca aaa gat a! 3-43#27
 cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tca ctg tat ctg
 caa atg aac agc ctg aga gac gag gac acg gct gtg tat tac tgt
 gcg aga ga ! 3-48# 28
 aga ttc acc atc tca aga gat ggt tcc aaa agc atc gcc tat ctg
 caa atg aac agc ctg aaa acc gag gac aca gcc gtg tat tac tgt
 act aga ga ! 3-49# 29
 cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat ctt
 caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gcc gtg tat tac tgt
 gcg aga ga ! 3-53# 30
 aga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat ctt
 caa atg ggc agc ctg aga gct gag gac atg gct gtg tat tac tgt
 gcg aga ga ! 3-64# 31
 aga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat ctt
 caa atg aac agc ctg aga gct gag gac acg gct gtg tat tac tgt
 gcg aga ga ! 3-66# 32
 aga ttc acc atc tca aga gat gat tca aag aac tca ctg tat ctg
 caa atg aac agc ctg aaa acc gag gac acg gcc gtg tat tac tgt
 gct aga ga ! 3-72# 33
 agg ttc acc atc tcc aga gat gat tca aag aac acg gcg tat ctg
 caa atg aac agc ctg aaa acc gag gac acg gcc gtg tat tac tgt
 act aga ca ! 3-73# 34
 cga ttc acc atc tcc aga gac aac gcc aag aac acg ctg tat ctg
 caa atg aac agt ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt
 gca aga ga ! 3-74# 35
 aga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg cat ctt
 caa atg aac agc ctg aga gct gag gac acg gct gtg tat tac tgt
 aag aaa ga ! 3-d# 36

! VH4

cga gtc acc ata tca gta gac aag tcc aag aac cag ttc tcc ctg
 aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt
 gcg aga ga ! 4-04# 37
 cga gtc acc atg tca gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc ctg

aag ctg agc tct gtg acc gcc gtg gac acg gcc gtg tat tac tgt
gcg aga aa ! 4-28# 38
cga gtt acc ata tca gta gac acg tct aag aac cag ttc tcc ctg
aag ctg agc tct gtg act gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt
gcg aga ga ! 4301# 39
cga gtc acc ata tca gta gac agg tcc aag aac cag ttc tcc ctg
aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt
gcc aga ga ! 4302# 40
cga gtt acc ata tca gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc ctg
aag ctg agc tct gtg act gcc gca gac acg gcc gtg tat tac tgt
gcc aga ga ! 4304# 41
cga gtt acc ata tca gta gac acg tct aag aac cag ttc tcc ctg
aag ctg agc tct gtg act gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt
gcg aga ga ! 4-31# 42
cga gtc acc ata tca gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc ctg
aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gct gtg tat tac tgt
gcg aga ga ! 4-34# 43
cga gtc acc ata tcc gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc ctg
aag ctg agc tct gtg acc gcc gca gac acg gct gtg tat tac tgt
gcg aga ca ! 4-39# 44
cga gtc acc ata tca gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc ctg
aag ctg agc tct gtg acc gct gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt
gcg aga ga ! 4-59# 45
cga gtc acc ata tca gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc ctg
aag ctg agc tct gtg acc gct gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt
gcg aga ga ! 4-61# 46
cga gtc acc ata tca gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc ctg
aag ctg agc tct gtg acc gcc gca gac acg gcc gtg tat tac tgt
gcg aga ga ! 4-b# 47

! VH5

cag gtc acc atc tca gcc gac aag tcc atc agc acc gcc tac ctg
cag tgg agc agc ctg aag gcc tcg gac acc gcc atg tat tac tgt
gcg aga ca ! 5-51# 48
cac gtc acc atc tca gct gac aag tcc atc agc act gcc tac ctg
cag tgg agc agc ctg aag gcc tcg gac acc gcc atg tat tac tgt
gcg aga ! 5-a# 49

! VH6

cga ata acc atc aac cca gac aca tcc aag aac cag ttc tcc ctg
cag ctg aac tct gtg act ccc gag gac acg gct gtg tat tac tgt
gca aga ga ! 6-1# 50 .

! VH7

cgg ttt gtc ttc tcc ttg gac acc tct gtc agc acg gca tat ctg
cag atc tgc agc cta aag gct gag gac act gcc gtg tat tac tgt
gcg aga ga ! 74.1# 51

ES 2 375 952 T3

Tabla 2: Enzimas que cortan bien 15 o más GLG humanos o tienen 5+-base de reconocimiento en la entrada Típica de FR3:

Reconocimiento RName			#sitios		
GLGid#:base# GLGid#:bas		e# GLGid#:base#.			
BstEII Ggtnacc			2		
1: 3	48: 3				
Hay 2 aciertos en la base#			3		
MaeIII gtnac			36		
1: 4	2: 4	3: 4	4: 4	5: 4	6: 4
7: 4	8: 4	9: 4	10: 4	11: 4	37: 4
37: 58	38: 4	38: 58	39: 4	39: 58	40: 4
40: 58	91: 4	91: 58	42: 4	42: 58	93: 4
43: 58	44: 4	44: 58	45: 4	45: 58	46: 4
46: 58	47: 4	47: 58	48: 4	49: 4	50: 58
Hay 24 aciertos en la base#			4		
Tsp45I gtsac			33		
1: 4	2: 4	3: 4	4: 4	5: 4	6: 4
7: 4	8: 4	9: 4	10: 4	11: 4	37: 4
37: 58	38: 4	38: 58	39: 58	40: 4	40: 58
41: 58	42: 58	43: 4	43: 58	44: 4	44: 58
45: 4	45: 58	46: 4	46: 58	47: 4	97: 58
48: 4	49: 4	50: 58			
Hay 21 aciertos en la base#			4		
HphI tcacc			45		
1: 5	2: 5	3: 5	4: 5	5: 5	6: 5

ES 2 375 952 T3

Reconocimiento REname			#sitios		
GLGid#:base# GLGid#:bas	e# GLGid#:base#.				
7: 5	8: 5	11: 5	12: 5	12: 11	13: 5
14: 5	15: 5	16: 5	17: 5	18: 5	19: 5
20: 5	21: 5	22: 5	23: 5	24: 5	25: 5
26: 5	27: 5	28: 5	29: 5	30: 5	31: 5
32: 5	33: 5	34: 5	35: 5	36: 5	37: 5
38: 5	40: 5	43: 5	44: 5	45: 5	46: 5
47: 5	48: 5	49: 5			
Hay 44 aciertos en la base#			5		
NlaIII CATG			26		
1: 9	1: 42	2: 42	3: 9	3: 42	4: 9
4: 42	5: 9	5: 42	6: 42	6: 78	7: 9
7: 42	8: 21	8: 42	9: 42	10: 42	11: 42
12: 57	13: 48	13: 57	14: 57	31: 72	38: 9
48: 78	49: 78				
Hay 11 aciertos en la base# 42					
Hay 1 acierto en la base# 48 Podría causar desigualdades.					
BsaJI Ccnngg			37		
1: 14	2: 14	5: 14	6: 14	7: 14	8: 14
8: 65	9: 14	10: 14	11: 14	12: 14	13: 14
14: 14	15: 65	17: 14	17: 65	18: 65	19: 65
20: 65	21: 65	22: 65	26: 65	29: 65	30: 65
33: 65	34: 65	35: 65	37: 65	38: 65	39: 65
40: 65	42: 65	43: 65	48: 65	49: 65	50: 65
51: 14					

ES 2 375 952 T3

Reconocimiento RName			#sitios		
GLGid#:base# GLGid#:bas	e# GLGid#:base#.				
Hay 23 aciertos en la base# 65					
Hay 14 aciertos en la base# 14					
Alul AGct			42		
1: 47	2: 47	3: 47	4: 47	5: 47	6: 47
7: 47	8: 47	9: 47	10: 47	11: 47	16: 63
23: 63	24: 63	25: 63	31: 63	32: 63	36: 63
37: 47	37: 52	38: 47	38: 52	39: 47	39: 52
40: 47	40: 52	41: 47	41: 52	42: 47	42: 52
43: 47	43: 52	44: 47	44: 52	45: 47	45: 52
46: 47	46: 52	47: 47	47: 52	49: 15	50: 47
Hay 23 aciertos en la base# 47					
Hay 11 aciertos en la base# 52 Sólo 5 bases de 47					
Blpl GCtnagc			21		
1: 48	2: 48	3: 48	5: 48	6: 48	7: 48
8: 48	9: 48	10: 48	11: 48	37: 48	38: 48
39: 48	40: 48	41: 48	42: 48	43: 48	44: 48
45: 48	46: 48	47: 48			
Hay 21 aciertos en la base# 48					
Mwol GCNNNNNngc			19		
1: 48	2: 28	19: 36	22: 36	23: 36	24: 36
25: 36	26: 36	35: 36	37: 67	39: 67	40: 67
41: 67	42: 67	43: 67	44: 67	45: 67	46: 67
47: 67					

ES 2 375 952 T3

Reconocimiento RName			#sitios		
GLGid#:base# GLGid#:bas	e# GLGid#:base#.				
Hay 10 aciertos en la base# 67					
Hay 7 aciertos en la base# 36					
Ddel Ctnag			71		
1: 49	1: 58	2: 49	2: 58	3: 49	3: 58
3: 65	4: 49	4: 58	5: 49	5: 58	5: 65
6: 49	6: 58	6: 65	7: 49	7: 58	7: 65
8: 49	8: 58	9: 49	9: 58	9: 65	10: 49
10: 58	10: 65	11: 49	11: 58	11: 65	15: 58
16: 58	16: 65	17: 58	18: 58	20: 58	21: 58
22: 58	23: 58	23: 65	24: 58	24: 65	25: 58
25: 65	26: 58	27: 58	27: 65	28: 58	30: 58
31: 58	31: 65	32: 58	32: 65	35: 58	36: 58
36: 65	37: 49	38: 49	39: 26	39: 49	40: 49
41: 49	42: 26	42: 49	43: 49	44: 49	45: 49
46: 49	47: 49	48: 12	49 12	51: 65	
Hay 29 aciertos en la base# 58					
Hay 22 aciertos en la base# 49 Sólo nueve bases de 58					
Hay 16 aciertos en la base# 65 Sólo siete bases de 58					
BgIII Agatct			11		
1: 61	2: 61	3: 61	4: 61	5: 61	6: 61
7: 61	9: 61	10: 61	11: 61	51: 47	
Hay 10 aciertos en la base# 61					

ES 2 375 952 T3

Reconocimiento RName			#sitios		
GLGid#:base# GLGid#:bas	e# GLGid#:base#.				
BstYI Rgacy			12		
1: 61	2: 61	3: 61	4: 61	5: 61	6: 61
7: 61	8: 61	9: 61	10: 61	11: 61	51: 47
Hay 11 aciertos en la base# 61					
Hpy188I TCNga			17		
1: 64	2: 64	3: 64	9: 64	5: 64	6: 64
7: 64	8: 64	9: 64	10: 64	11: 64	16: 57
20: 57	27: 57	35: 57	48: 67	49: 67	
Hay 11 aciertos en la base# 64					
Hay 4 aciertos en la base# 57					
Hay 2 aciertos en la base# 67 Podría ser desigual.					
MslI CAYNNnnRTG			44		
1: 72	2: 72	3: 72	4: 72	5: 72	6: 72
7: 72	8: 72	9: 72	10: 72	11: 72	15: 72
17: 72	18: 72	19: 72	21: 72	23: 72	24: 72
25: 72	26: 72	28: 72	29: 72	30: 72	31: 72
32: 72	33: 72	34: 72	35: 72	36: 72	37: 72
38: 72	39: 72	40: 72	41: 72	42: 72	43: 72
44: 72	45: 72	46: 72	47: 72	48: 72	49: 72
50: 72	51: 72				
Hay 44 aciertos en la base# 72					
BsiEI CGRYcg			23		
1: 74	3: 74	4: 74	5: 74	7: 74	8: 74

ES 2 375 952 T3

Reconocimiento RENAME			#sitios		
GLGid#:base# GLGid#:bas	e# GLGid#:base#.				
9: 74	10: 74	11: 74	17: 74	22: 74	30: 74
33: 74	34: 74	37: 74	38: 74	39: 74	40: 74
41: 74	42: 74	45: 74	46: 74	47: 74	
Hay 23 aciertos en la base# 74					
Eael Yggccr			23		
1: 74	3: 74	4: 74	5: 74	7: 74	8: 74
9: 74	10: 74	11: 74	17: 74	22: 74	30: 74
33: 74	34: 74	37: 74	38: 74	39: 74	40: 74
41: 74	42: 74	45: 74	46: 74	47: 74	
Hay 23 aciertos en la base# 74					
Eagl Cggccg			23		
1: 74	3: 74	4: 74	5: 74	7: 74	8: 74
9: 74	10: 74	11: 74	17: 74	22: 74	30: 74
33: 74	34: 74	37: 74	38: 74	39: 74	40: 74
41: 74	42: 74	45: 74	46: 74	47: 74	
Hay 23 aciertos en la base# 74					
HaeIII GGcc			27		
1: 75	3: 75	4: 75	5: 75	7: 75	8: 75
9: 75	10: 75	11: 75	16: 75	17: 75	20: 75
22: 75	30: 75	33: 75	34: 75	37: 75	38: 75
39: 75	40: 75	41: 75	42: 75	45: 75	46: 75
47: 75	48: 63	49: 63			
Hay 25 aciertos en la base# 75					

ES 2 375 952 T3

Reconocimiento RName			#sitios		
GLGid#:base# GLGid#:bas	e# GLGid#:base#.				
Bst4CI ACNgt 65°C		63 Sitios Hay un tercer isoesquizómero			
1: 86	2: 86	3: 86	4: 86	5: 86	6: 86
7: 34	7: 86	8: 86	9: 86	10: 86	11: 86
12: 86	13: 86	14: 86	15: 36	15: 86	16: 53
16: 86	17: 36	17: 86	18: 86	19: 86	20: 53
20: 86	21: 36	21: 86	22: 0	22: 86	23: 86
24: 86	25: 86	26: 86	27: 53	27: 86	28: 36
28: 86	29: 86	30: 86	31: 86	32: 86	33: 36
33: 86	34: 86	35: 53	35: 86	36: 86	37: 86
38: 86	39: 86	40: 86	41: 86	42: 86	43: 86
44: 86	45: 86	46: 86	47: 86	48: 86	49: 86
50: 86	51: 0	51: 86			
Hay 51 aciertos en la base# 86 Todos los demás sitios están muy lejos					
HpyCH4III ACNgt			63		
1: 86	2: 86	3: 86	4: 86	5: 86	6: 86
7: 34	7: 86	8: 86	9: 86	10: 86	11: 86
12: 86	13: 86	14: 86	15: 36	15: 86	16: 53
16: 86	17: 36	17: 86	18: 86	19: 86	20: 53
20: 86	21: 36	21: 86	22: 0	22: 86	23: 86
24: 86	25: 86	26: 86	27: 53	27: 86	28: 36
28: 86	29: 86	30: 86	31: 86	32: 86	33: 36
33: 86	34: 86	35: 53	35: 86	36: 86	37: 86
38: 86	39: 86	40: 86	41: 86	42: 86	43: 86

ES 2 375 952 T3

Reconocimiento RName			#sitios		
GLGid#:base# GLGid#:bas	e# GLGid#:base#.				
44: 86	45: 86	46: 86	47: 86	48: 86	49: 86
50: 86	51: 0	51: 86			
Hay 51 aciertos en la base# 86					
Hinfl Gantc			43		
2: 2	3: 2	4: 2	5: 2	6: 2	7: 2
8: 2	9: 2	9: 22	10: 2	11: 2	15: 2
16: 2	17: 2	18: 2	19: 2	19: 22	20: 2
21: 2	23: 2	24: 2	25: 2	26: 2	27: 2
28: 2	29: 2	30: 2	31: 2	32: 2	33: 2
33: 22	34: 22	35: 2	36: 2	37: 2	38: 2
40: 2	43: 2	44: 2	45: 2	46: 2	47: 2
50: 60					
Hay 38 aciertos en la base# 2					
Mlyl GAGTCNNNNNn			18		
2: 2	3: 2	4: 2	5: 2	6: 2	7: 2
8: 2	9: 2	10: 2	11: 2	37: 2	38: 2
40: 2	43: 2	44: 2	45: 2	46: 2	47: 2
Hay 18 aciertos en la base# 2					
Plel gagtc			18		
2: 2	3: 2	4: 2	5: 2	6: 2	7: 2
8: 2	9: 2	10: 2	11: 2	37: 2	38: 2
40: 2	43: 2	44: 2	45: 2	46: 2	47: 2
Hay 18 aciertos en la base# 2					

ES 2 375 952 T3

Reconocimiento RName			#sitios		
GLGid#:base# GLGid#:bas	e# GLGid#:base#.				
Acil Ccgc			24		
2: 26	9: 14	10: 14	11: 14	27: 74	37: 62
37: 65	38: 62	39: 65	40: 62	40: 65	41: 65
42: 65	43: 62	43: 65	44: 62	44: 65	45: 62
46: 62	47: 62	47: 65	48: 35	48: 74	49: 74
Hay 8 aciertos en la base# 62					
Hay 8 aciertos en la base# 65					
Hay 3 aciertos en la base# 14					
Hay 3 aciertos en la base# 74					
Hay 1 acierto en la base# 26					
Hay 1 acierto en la base# 35					
-"- Gcgg			11		
8: 91	9: 16	10: 16	11: 16	37: 67	39: 67
40: 67	42: 67	43: 67	45: 67	46: 67	
Hay 7 aciertos en la base# 67					
Hay 3 aciertos en la base# 16					
Hay 1 acierto en la base# 91					
BsiHKAI GWGCWc			20		
2: 30	4: 30	6: 30	7: 30	9: 30	10: 30
12: 89	13: 89	14: 89	37: 51	38: 51	39: 51
40: 51	41: 51	42: 51	43: 51	44: 51	45: 51
46: 51	47: 51				
Hay 11 aciertos en la base# 51					

ES 2 375 952 T3

Reconocimiento RName			#sitios		
GLGid#:base# GLGid#:bas	e# GLGid#:base#.				
Bsp1286I GDGCHc			20		
2: 30	4: 30	6: 30	7: 30	9: 30	10: 30
12: 89	13: 89	14: 89	37: 51	38: 51	39: 51
40: 51	41: 51	42: 51	43: 51	44: 51	45: 51
46: 51	47: 51				
Hay 11 aciertos en la base# 51					
HgiAI GWGCWc			20		
2: 30	4: 30	6: 30	7: 30	9: 30	10: 30
12: 89	13: 89	14: 89	37: 51	38: 51	39: 51
40: 51	41: 51	42: 51	43: 51	44: 51	45: 51
46: 51	47: 51				
Hay 11 aciertos en la base# 51					
BsoFI GCngc			26		
2: 53	3: 53	5: 53	6: 53	7: 53	8: 53
8: 91	9: 53	10: 53	11: 53	31: 53	36: 36
37: 64	39: 64	40: 64	41: 64	42: 64	43: 64
44: 64	45: 64	46: 64	47: 64	48: 53	49: 53
50: 45	51: 53				
Hay 13 aciertos en la base# 53					
Hay 10 aciertos en la base# 64					
Tsel Gcwgc			17		
2: 53	3: 53	5: 53	6: 53	7: 53	8: 53

ES 2 375 952 T3

Reconocimiento REname			#sitios		
GLGid#:base# GLGid#:bas	e# GLGid#:base#.				
9: 53	10: 53	11: 53	31: 53	36: 36	45: 64
46: 64	48: 53	49: 53	50: 45	51: 53	
Hay 13 aciertos en la base# 53					
Mnll gagg			34		
3: 67	3: 95	4: 51	5: 16	5: 67	6: 67
7: 67	8: 67	9: 67	10: 67	11: 67	15: 67
16: 67	17: 67	19: 67	20: 67	21: 67	22: 67
23: 67	24: 67	25: 67	26: 67	27: 67	28: 67
29: 67	30: 67	31: 67	32: 67	33: 67	34: 67
35: 67	36: 67	50: 67	51: 67		
Hay 31 aciertos en la base# 67					
HpyCH4V TGca			34		
5: 90	6: 90	11: 90	12: 90	13: 90	14: 90
15: 44	16: 44	16: 90	17: 44	18: 90	19: 44
20: 44	21: 44	22: 44	23: 44	24: 44	25: 44
26: 44	27: 44	27: 90	28: 44	29: 44	33: 44
34: 44	35: 44	35: 90	36: 38	48: 44	49: 44
50: 44	50: 90	51: 44	51: 52		
Hay 21 aciertos en la base# 44					
Hay 1 acierto en la base# 52					
Accl GTmkac			13	5-base recognition	
7: 37	11: 24	37: 16	38: 16	39: 16	40: 16
41: 16	42: 16	43: 16	44: 16	45: 16	46: 16

ES 2 375 952 T3

Reconocimiento REname			#sitios		
GLGid#:base# GLGid#:bas	e# GLGid#:base#.				
47: 16					
Hay 11 aciertos en la base# 16					
SacII CCGCgg			8	6-base recognition	
9: 14	10: 14	11: 14	37: 65	39: 65	40: 65
42: 65	43: 65				
Hay 5 aciertos en la base# 65					
Hay 3 aciertos en la base# 14					
Tfil Gawtc			24		
9: 22	15: 2	16: 2	17: 2	18: 2	19: 2
19: 22	20: 2	21: 2	23: 2	24: 2	25: 2
26: 2	27: 2	28: 2	29: 2	30: 2	31: 2
32: 2	33: 2	33: 22	34: 22	35: 2	36: 2
Hay 20 aciertos en la base# 2					
BsmAI Nnnnnngagac			19		
15: 11	16: 11	20: 11	21: 11	22: 11	23: 11
24: 11	25: 11	26: 11	27: 11	28: 11	28: 56
30: 11	31: 11	32: 11	35: 11	36: 11	44: 87
48: 87					
Hay 16 aciertos en la base# 11					
Bpml ctccag			19		
15: 12	16: 12	17: 12	18: 12	20: 12	21: 12
22: 12	23: 12	24: 12	25: 12	26: 12	27: 12

ES 2 375 952 T3

Reconocimiento RName			#sitios		
GLGid#:base# GLGid#:bas	e# GLGid#:base#.				
28: 12	30: 12	31: 12	32: 12	34: 12	35: 12
36: 12					
Hay 19 aciertos en la base# 12					
Xmnl GAANNnnttc			12		
37: 30	38: 30	39: 30	40: 30	41: 30	42: 30
43: 30	44: 30	45: 30	46: 30	47: 30	50: 30
Hay 12 aciertos en la base# 30					
Bsrl NCcagt			12		
37: 32	38: 32	39: 32	40: 32	41: 32	42: 32
43: 32	44: 32	45: 32	46: 32	47: 32	50: 32
Hay 12 aciertos en la base# 32					
Banll GRGCYc			11		
37: 51	38: 51	39: 51	40: 51	41: 51	42: 51
43: 51	44: 51	45: 51	46: 51	47: 51	
Hay 11 aciertos en la base# 51					
Ecl136l GAGctc			11		
37: 51	38: 51	39: 51	40: 51	41: 51	42: 51
43: 51	44: 51	45: 51	46: 51	47: 51	
Hay 11 aciertos en la base# 51					
Sacl GAGCTc			11		

ES 2 375 952 T3

Reconocimiento RName			#sitios		
GLGid#:base# GLGid#:bas	e# GLGid#:base#.				
37: 51	38: 51	39: 51	40: 51	41: 51	42: 51
43: 51	44: 51	45: 51	46: 51	47: 51	
Hay 11 aciertos en la base# 51					

Tabla 3: 3-23 FR3 sintético de cadenas pesadas humanas que muestra las posiciones de sitios posibles de escisión

! Los sitios obtenidos por ingeniería en el gen sintético se muestran en ADN en mayúsculas

! con el nombre RE entre barras verticales (como en | XbaI |) .

! Los RERS encontrados frecuentemente en GLG se muestran debajo de la secuencia sintética

! con el nombre a la derecha (como en gtn ac=Maelll(24), indicando que

! 24 de los 51 GLG contienen el sitio).

!

!

!

en

!

3-23 sintético)

! ADN permitido

!

!

HinfI (38)

!

PleI (18)

!

TfiI (20)

!

MaeIII (24)

!

Tsp45I (21)

!

HphI (44)

!

!

!

!

!

!

!

!

AluI (23)

!

BlpI (21)

|---FR3---

89 90 (codón #

R F

|cgc|ttc| 6

|cgn|tty|

|agr|

ga ntc =

ga gtc =

ga wtc =

gtn ac =

gts ac =

tc acc =

-----FR3-----

91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105

T I S R D N S K N T L Y L Q M

|act|atc|TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg| 51

! permitido |acn|ath|tcn|cgn|gay|aay|tcn|aar|aay|acn|ttr|tay|ttr|car|atg|

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

```

!           |           |           g aan nnn ttc = XmnI(12)
!           | XbaI  |           tg ca = HpyCH4V(21)
!
!  ---FR3----->|
!    106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120
!      N   S   L   R   A   E   D   T   A   V   Y   Y   C   A   K
!      |aac|agC|TTA|AGg|gct|gag|gac|aCT|GCA|Gtc|tac|tat|tgc|gct|aaa|  96
! permitido |aay|tcn|ttr|cgn|gcn|gar|gay|acn|gcn|gtn|tay|tay|tgy|gcn|aar|
!           |agy|ctn|agr|           |           |
!           |           |   cc nng g = BsaJI(23)           ac ngt = Bst4CI(51)
!           |           |   aga tct = BglII(10)           |           ac ngt = HpyCH4III(51)
!           |           |   Rga tcY = BstYI(11)           |           ac ngt = TaaI(51)
!           |           |           c ayn nnn rtc = MslI(44)
!           |           |           cg ryc g = BsiEI(23)
!           |           |           yg gcc r = EaeI(23)
!           |           |           cg gcc g = EagI(23)
!           |           |           |g gcc = HaeIII(25)
!           |           |           gag g = MnlI(31)|
!           |AflII |           | PstI |

```

Tabla 4: REadaptadores, Extensores y Puentes usados para la Escisión y Captura de Cadenas Pesadas Humanas en FR3.

A: Sondas HpyCH4V de genes HC humanos precisos

! HpyCH4V en FR3 de HC humano, bases 35-56; sólo aquellos con sitio TGca

TGca; 10,

se espera reconocimiento RE: tgca

con una longitud de 4 en

10

1		6-1	agttctccctgcagctgaactc
2	3-11, 3-07, 3-21, 3-72, 3-48		cactgtatctgcaaatgaacag
3	3-09, 3-43, 3-20		ccctgtatctgcaaatgaacag
4		5-51	ccgcctacctgcagtgagcag
5	3-15, 3-30, 3-30.5, 3-30.3, 3-74, 3-23, 3-33		cgctgtatctgcaaatgaacag
6		7-4.1	cggcatatctgcagatctgcag
7		3-73	cggcgtatctgcaaatgaacag
8		5-a	ctgcctacctgcagtgagcag
9		3-49	tcgcctatctgcaaatgaacag

B: REDaptadores, Extensores y Puentes HpyCH4V

B.1 REDaptadores

! Que cortan la cadena inferior de HC:

! TrnKeller para 100 mM NaCl, cero formamida

! Edaptadores para escisión

		T_m^W	T_m^K
(ON_HCFR36-1)	5'-agttctcccTGCAgctgaactc-3'	68.0	64.5
(ON_HCFR36-1A)	5'-ttctcccTGCAgctgaactc-3'	62.0	62.5
(ON_HCFR36-1B)	5'-ttctcccTGCAgctgaac-3'	56.0	59.9
(ON_HCFR33-15)	5'-cgctgtatcTGCAaatgaacag-3'	64.0	60.8
(ON_HCFR33-15A)	5'-ctgtatcTGCAaatgaacag-3'	56.0	56.3
(ON_HCFR33-15B)	5'-ctgtatcTGCAaatgaac-3'	50.0	53.1
(ON_HCFR33-11)	5'-cactgtatcTGCAaatgaacag-3'	62.0	58.9
(ON_HCFR35-51)	5'-ccgcctaccTGCAgtggagcag-3'	74.0	70.1

!

B.2 Segmento del gen 3-23 sintético en el que se va a clonar CDR3 capturada

! XbaI...

! D323* cgCttcacTaag tcT_aqa gac aaC tcT aag aaT acT ctC taC

! scab..... gen diseñado gen 3-23

!

```

!   HpyCH4V
!   .. ..           AflIII...
!   Ttg caG atg aac agc TtA agG . . .
!   .....
!
!   B.3 Extensor y Puentes
!   Extensor (cadena inferior):
!
!   (ON_HCHpyEx01) 5'-cAAGTAgAgAgTATTcTTAgAgTTgTcTcTAgAcTTAgTgAAgcg-3'
!   ! ON_HCHpyEx01 es el complemento inverso de
!   ! 5'-cgCttcacTaag tct aqa gac aaC tcT aag aaT acT ctC taC Ttg -3'
!
!   ! Puentes (cadena superior, superposición de 9 bases):
!
!   (ON_HCHpyBr016-1) 5'-cgCttcacTaag tct aqa gac aaC tcT aag-
!                       aaT acT ctC taC Ttg CAgctgaac-3' {3'-term C está
!   bloqueado)
!
!   ! 3-15 et al. + 3-11
!   (ON_HCHpyBr023-15) 5'-cgCttcacTaag tct aqa gac aaC tcT aag-
!                       aaT acT ctC taC Ttg CAaatgaac-3' {3'-term C está
!   bloqueado)
!
!   ! 5-51
!   (ON_HCHpyBr045-51) 5'-cgCttcacTaag tct aqa gac aaC tcT aag-
!                       aaT acT ctC taC Ttg CAgtgagac-3' {3'-term C está
!   bloqueado)
!
!   ! Cebador de PCR (cadena superior)
!
!   (ON_HCHpyPCR)      5'-cgCttcacTaag tct aqa gac-3'
!


---


C: Sondas Bipl para HC GLG humanos
1           1-58,1-03,1-08,1-69,1-24,1-45,1-46,1-f,1-e
acatggaGCTGAGCagcctgag
2           1-02
acatggaGCTGAGCaggctgag

```

3 1-18
 acatggagctgaggagcctgag
 4 5-51, 5-a
 acctgcagtggagcagcctgaa
 5 3-15, 3-73, 3-49, 3-72
 atctgcaaatgaacagcctgaa
 6 3303, 3-33, 3-07, 3-11, 3-30, 3-21, 3-23, 3305, 3-48
 atctgcaaatgaacagcctgag
 7 3-20, 3-74, 3-09, 3-43
 atctgcaaatgaacagtctgag
 8 74.1
 atctgcagatctgcagcctaaa
 9 3-66, 3-13, 3-53, 3-d
 atcttcaaatgaacagcctgag
 10 3-64
 atcttcaaatgggcagcctgag
 11 4301, 4-28, 4302, 4-04, 4304, 4-31, 4-34, 4-39, 4-59, 4-61, 4-b
 ccctgaaGCTGAGCtctgtgac
 12 6-1
 ccctgcagctgaactctgtgac
 13 2-70, 2-05
 tccttacaatgaccaacatgga
 14 2-26
 tccttaccatgaccaacatgga

D: REadaptadores, Extensores y Puentes BlpI

D.1 REadaptadores

		T_m^w	T_m^K
(BlpF3HC1-58)	5'-ac atg gaG CTG AGC agc ctg ag-3'	70	66.
			4
(BlpF3HC6-1)	5'-cc ctg aag ctg agc tct gtg ac-3'	70	66.
			4

! BlpF3HC6-1 matches 4-30.1, not 6-1.

D.2 Segmento del gen 3-23 sintético en el que se va a clonar CD3 capturada

!

BlpI

!

XbaI...

... ..

!D323* cgCttcacTaag TCT AGA gac aaC tct aag aaT acT ctC taC Ttg
caG atg aac

!

!

AflIII...

!

agC TTA AGG

D.3 Extensor y Puentes

! Puentes

(BlpF3Br1) 5'-cgCttcacTcag tct aga gaT aaC AGT aaA aaT acT TtG-
taC Ttg caG Ctg a|GC agc ctg-3'

(BlpF3Br2) 5'-cgCttcacTcag tct aga gaT aaC AGT aaA aaT acT TtG-
taC Ttg caG Ctg a|gc tct gtg-3'

!

| la cadena inferior se corta aquí

! Extensor

(BlpF3Ext) 5' -TcAgcTgcAAgTAcAAAgTATTTTAcTgTTATcTcTAGA_cTgAgTgAAgcg-
3'

! BlpF3Ext es el complemento inverso de:

! 5'-cgCttcacTcag tct aga gaT aaC AGT aaA aaT acT TtG taC Ttg caG
Ctg a-3'

!

(BlpF3PCR) 5'-cgCttcacTcag tct aga gaT aaC-3'

E: *HpyCH4III* Distintas secuencias GLG alrededor del sitio, bases 77-98

1	102#1, 118#4, 146#7, 169#9, 1e#10, 311#17, 353#30, 404#37, 4301
ccgtgtattactgtgagagaga	
2	103#2, 307#15, 321#21, 3303#24, 333#26, 348#28, 364#31, 366#32
ctgtgtattactgtgagagaga	
3	108#3
ccgtgtattactgtgagagagg	
4	124#5, 1f#11
ccgtgtattactgtgcaacaga	
5	145#6
ccatgtattactgtgcaagata	
6	158#8
ccgtgtattactgtgcggcaga	
7	205#12
ccacatattactgtgcacacag	
8	226#13
ccacatattactgtgcacggat	

9	270#14
ccacgtattactgtgcacggat	
10	309#16,343#27
ccttggtattactgtgcaaaaga	
11	313#18,374#35,61#50
ctgtgtattactgtgcaagaga	
12	315#19
ccgtgtattactgtaccacaga	
13	320#20
ccttggtatcactgtgcgagaga	
14	323#22
ccgtatattactgtgcgaaaga	
15	330#23,3305#25
ctgtgtattactgtgcgaaaga	
16	349#29
ccgtgtattactgtactagaga	
17	372#33
ccgtgtattactgtgctagaga	
18	373#34
ccgtgtattactgtactagaca	
19	3d#36
ctgtgtattactgtgaaaga	
20	428#38
ccgtgtattactgtgcgagaaa	
21	4302#40,4304#41
ccgtgtattactgtgccagaga	
22	439#44
ctgtgtattactgtgcgagaca	
23	551#48
ccatgtattactgtgcgagaca	
24	5a#49
ccatgtattactgtgcgaga	

F: HpyCH4III REaptadores, Extensores y Puentes

F.1 REaptadores

! ON para escisión de HC (inferior) en FR3 (bases 77-97)

! Para escisión con HpyCH4III, Bst4CI, o TaaI

! la escisión es en la cadena inferior antes de la base 88.

!	77 788 888 888 889 999 999 9	
!	78 901 234 567 890 123 456 7	T _m ^u
T _m ^K		
(H43.77.97.1-02#1)	5'-cc gtg tat tAC TGT gcg aga g-3'	6462.6
(H43.77.97.1-03#2)	5'-c _{cc} gtg tat tAC TGT gcg aga g-3'	6260.6
(H43.77.97.108#3)	5'-cc gtg tat tAC TGT gcg aga g-3'	6462.6
(H43.77.97.323#22)	5'-cc g _{cc} tat tac tgt gcg a _{cc} a g-3'	6058.7
(H43.77.97.330#23)	5'-c _{cc} gtg tat tac tgt gcg a _{cc} a g-3'	6058.7

(H43.77.97.439#44) 5'-cgtg tat tac tgt gcg aga -3' 6260.6
 (H43.77.97.551#48) 5'-ccatg tat tac tgt gcg aga -3' 6260.6
 (H43.77.97.5a#49) 5'-ccatg tat tAC TGT gcg aga -3' 5858.3

F.2 Extensor y Puentes

! Los sitios XbaI y AflII en los puentes están bloqueados

(H43.XABr1) 5'-gggtgtagtga-
 |TCT|AGT|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|-
|aac|agC|TTt|AGg|qct|qag|qac|aCT|GCA|Gtc|tac|tat tgt gcg aga-3'
 (H43.XABr2) 5'-gggtgtagtga-
 |TCT|AGT|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|-
|aac|agC|TTt|AGg|qct|qag|qac|aCT|GCA|Gtc|tac|tat tgt gcg aaa-3'
 (H43.XAExt) 5'-ATAgTAgAcT gcAgTgTccT cAgcccTTAA gCTgTTcATc
 TgcAAGTAga-

gAgTATTcTT AgAgTTgTcT cTAgATcAct AcAcc-3'

! H43.XAExt es el complemento inverso de:

! 5'-gggtgtagtga-
 ! |TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|-
 ! |aac|agC|TTA|AGg|qct|qag|qac|aCT|GCA|Gtc|tac|tat -3'

(H43.XAPCR) 5'-gggtgtagtga |TCT|AGA|gac|aac-3'

! Los sitios XbaI y AflII en los puentes están bloqueados

(H43.ABr1) 5'-gggtgtagtga-
|aac|agC|TTt|AGg|qct|qag|qac|aCT|GCA|Gtc|tac|tat tgt gcg aga-3'
 (H43.ABr2) 5'-gggtgtagtga-
|aac|agC|TTt|AGg|qct|qag|qac|aCT|GCA|Gtc|tac|tat tgt gcg aaa-3'
 (H43.AExt) 5'-ATAgTAgAcTgcAgTgTccTcAgcccTTAAgcTgTTTcActAcAcc-3'
 ! (H43.AExt) es el complemento inverso de: 5'-gggtgtagtga-
 ! |aac|agC|TTA|AGg|qct|qag|qac|aCT|GCA|Gtc|tac|tat -3'
 (H43.APCR) 5'-gggtgtagtga |aac|agC|TTA|AGg|qct|q-3'

Tabla 5: Análisis de frecuencia de emparejamiento de REdaptors en genes V precisos

A: HpyCH4V en HC en las bases 35-56																					
		Número de emparejamientos erróneos..... Número																			
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10							Cut	Id	Sonda
1	510	5	11	274	92	61	25	22	11	1	3	5	443	6-1	agttctcccTGCAGctgaactc						
2	192	54	42	32	24	15	2	3	10	3	1	6	167	3-11	cactgtatcTGCAaatgaacag						
3	58	19	7	17	6	5	1	0	2	0			54	3-09	ccctgtatcTGCAaatgaacag						
4	267	42	33	9	8	8	82	43	22	8	11	1	100	5-51	ccgcctaccTGCAgtggagcag						
5	250	111	59	41	24	7	5	1	0	0	2	0	242	3-15	cgctgtatcTGCAaatgaacag						
6	7	0	2	0	1	0	0	0	4	0	3	7-		4.1	cggcatatcT	GCAGatctgcag					
7	7	0	2	2	0	0	2	1	0	0	0	4	3-	73	cgggtatcT	GCAaatgaacag					
8	26	10	4	1	3	1	2	1	3	1	0	0	19	5-a	ctgcctaccTGCAgtggagcag						
9	21	8	2	3	1	6	1	0	0	0	0	20		3-49	tgcctatcT	GCAaatgaacag					
	1338	249	162	379	149	103	120	71	47	13	23	12	105	2							
		249	411	790	939		1162		1280		1316										
						1042		1233			1293		1338								
Id		Sonda												sonda punteada							

Id	Sonda	sonda punteada							
6-1	agtttcccTGCAGctgaactc	agtttcccTGCAGctgaactc							
3-11	cactgtatcTGC Aaatgaacag	cac.g.at.....aa.....ag							
3-09	cccigtatcTGC Aaatgaacag	ccc.g.at.....aa.....ag							
5-51 cgcctaccT	GCAgtggagcag	cgcg..a.....tg..g.ag							
3-15 cgctgtatcT	GCAaatgaacag	c..c.g.at.....aa.....ag							
7-4.1	cggcatatcTGCAGatctgcag	c.gca.at.....a.ctg.ag							
3-73 cggcgtatcT	GCAaatgaacag	c.gcg.at.....aa.....ag							
5-a ctgcctaccT	GCAgtggagcag	ctgc..a.....tg..g.ag							
3-49	tcgcctatcTGC Aaatgaacag	tgcg..at.....aa.....ag							
Seqs sólo con el sitio RE esperado..... 1004									
(Cuenta sólo los casos con 4 o menos emparejamientos erróneos)									
Seqs sólo con un sitio no esperado..... 0									
Seqs tanto con esperado como no esperado.... 48									
(Cuenta sólo los casos con 4 o menos emparejamientos erróneos)									
Seqs sin sitios..... 0									

Id		Sonda		sonda punteada																			
B: Bipl en HC																							
Id	Ntot	0	1	2	3	4	5	6															
1	133	73	16	11	13	6	9	1	4	0	119	Name											
2	14	11	10	0	0	1			0	1	12	1-02					acatggagctgagcaggctgag						
3	34	17	8	2	6	1	0	0	0	0	0	1-18					acatggagctgaggagcctgag						
4	120	50	32	16	10	9	1	1	1	0	2	5-51					acctgcagtgagcagcctgaa						
5	55	13	11	10	17	3	1	0	0	0	0	3-15					atctgcaaatgaacagcctgaa						
6	340	186	88	41	15	6	3	0	1	0	0	3303					atctgcaaatgaacagcctgag						
7	82	25	16	25	12	1	3	0	0	0	0	3-20					atctgcaaatgaacagctctgag						
8	3	0	2	0	1	0	0		0	0	0	74.1 atctgcagatctgc	agcctaaa										
9	23	18	2	2	1	0	0		0	0	0	3-66					atcttcaaatgaacagcctgag						
10	2	1	0	1	0	0	0		0	0	0	3-64					atcttcaaatgggcagcctgag						
11	486	249	78	81	38	21	10	4	4	1	467	4301					ccctgaagcctgagcctctgtgac						
12	16	6	3	1	0	1	1	3	1	0	1	6-1					ccctgcagctgaactctgtgac						
13	28	15	8	2	2	1	0	0	0	0	0	2-70 tcttacaatgacc	aacatgga										

B: Bipl en HC																										
Id	Ntot	0	1 2 3 4 5 6						7	8	Ncut	Name	tccttacatgaccaacatgga													
			14	2	0	2	0	0						0	0	0	0	0	2-26							
Nombre		Secuencia completa										Modo de puntos														
1-58 acatgg			aGCTGAGCagcctgag acatgg											aGCTGAGCagcctgag												
1-02			acatggagctgagcaggctgag											g....												
1-18 acatggagctgaggacctgag														g.....												
5-51 accctgcagtgagcagcctgaa														..c.c..tg.....a												
3-15 atctgcaaat			gaacagcctgaa .tc..c											.aa..a.....a												
3-30.3 atctgcaaat			gaacagcctgag .tc..c											.aa..a.....												
3-20 atctgcaaat			gaacagctctgag .tc..c										.aa..a..t....													
7-4.1 atctgcagatctgc			agcctaaa .tc..c										..a.ct.....a.a													
3-66 atcttcaaatgaac			agcctgag .tc.tc										.aa..a.....													
3-64 atcttcaaatgggc			agcctgag .tc.tc										.aa..g.....													
4-30.1 cccctgaagctg			agctctgtgac										c.c..a.....tctg...c													
6-1 cccctgcagctgaactctgtgac													c.c..c.....a.tctg...c													

Nombre	Secuencia completa	Modo de puntos											
2-70	tccttacaatgaccaacalggga	t.c.tacaa...c..a.a..ga											
2-26	tccttaccatgaccaac	atgga t.c.tacca ...c..a.a..ga											
Seqs sólo con el sitio RE esperado..... 597 (contando las secuencias con 4 o menos emparejamientos erróneos)													
Seqs sólo con un sitio no esperado..... 2													
Seqs tanto con esperado como no esperado.... 2													
Seqs sin sitios..... 686													
C: HpyCH4III, Bst4CI, o Taal en HC													
En la puntuación de si el sitio RE de interés está presente, sólo se cuentan ON que tienen 4 o menos emparejamientos erróneos.													
Número de secuencias..... 1.617													
Id	Ntot	0	1	2	3	4	5	6	7	8	Ncut	acngt	acngt
1	244	78	92	43	18	10	1	2	0	0	241	102#1,1	ccgtgtattACTGTgcgagaga ccgtgtattactgtgcgagaga
2	457	69	150	115	66	34	11	8	3	1	434	103#2,3	ctgtgtattactgtgcgagaga t.....
3	173	52	45	36	22	14	3	0	0	1	169	108#3	ccgtgtattactgtgcgagaggg
4	16	0	3	2	2	1	6	0	1	1	8	124#5,1	ccgtgtattactgtgcaacagaa.c...
5	4	0	0	1	0	1	1	0	1	0	2	145#6	ccatgtattactgtgcaagata ..a...a..t.

Id	Ntot	0	1	2	3	4	5	6	7	8	Ncut		acngt	acngt
6	15	1	0	1	0	6	4	1	1	1	8	158#8	ccgtgtattactgtcggcaga	gc...
7	23	4	8	5	2	2	1	1	0	0	21	205#12	ccacatatattactgtcacacag	..aca.....acacag
8	9	1	1	1	0	3	2	1	0	0	6	226#13	ccacatatattactgtcacggat	..aca.....ac.gat
9	7	1	3	1	1	0	0	1	0	0	6	270#14	ccacgtattactgtcacggat	..ac.....ac.gat
10	23	7	3	5	5	2	1	0	0	0	22 309#16,	cctgtattactgtgcaaaaga .t.	a.a...	
11	35	5	10	7	6	3	3	0	1	0	31	313#18,	ctgtgtattactgtgaagaga .t..	a.....
12	18	2	3	2	2	6	1	0	2	0	15	315#19	ccgtgtattactgtaccacaga	a.C.C...
13	3	1	2	0	0	0	0	0	0	0	3	320#20	cctgtatcacgtgcgagaga	..t....C.....
14	117	29	23	28	22	8	4	2	1	0	110	323#22	ccgtatatattactgtcgaaaga	a.....a...
15	75	21	25	13	9	1	4	2	0	0	69	330#23,	ctgtgtattactgtgcgaaaga	..t.....a...
16	14	2	2	2	3	0	3	1	1	0	9	349#29	ccgtgtattactgtactagaga	a.t....
17	2	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	372#33	ccgtgtattactgtgctagaga	t....
18	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	373#34	ccgtgtattactgtactagaca	a.t...C.
19	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0 3d#36	ctgtgtattactgtlaagaaaga .t..	aa.a...	
20	34	4	9	9	4	5	3	0	0	0	31	428#38	ccgtgtattactgtgcgagaaa	a.
21	17	5	4	2	2	3	1	0	0	0	16 4302#40	ccgtgtattactgtgccagaga	C.....	

Id	Ntot	0	1	2	3	4	5	6	7	8	Ncut	acngt	acngt
22	75	15	17	24	7	10	1	1	0	0	73	439#44	ctgtgtattactgtgcgagaca
23	40	14	15	4	5	1	0	1	0	0	39	551#48	ccatgtattactgtgcgagaca
24	213	26	56	60	42	20	7	2	0	0	204	5a#49	ccatgtattactgtgcgagaaAA
Grupo	337	471	363	218	130	58	23	11				6	
Acumulativo 337		808	1171	1389	1519	1577	1600	1611				1617	
Seqs sólo con el sitio RE esperado.....													
Seqs sólo con un sitio no esperado.....													
Seqs tanto con esperado como no esperado....													
Seqs sin sitios.....													

Tabla 5D:

Análisis repetido usando sólo 8 REdaptors mejores													
Id	Ntot	0	1	2	3	4	5	6	7	8+			
1	301	78	101	54	32	16	9	10	1	0	281	102#1	
ccgtgtattactgtgcgagaga													
2	493	69	155	125	73	37	14	11	3	6	459	103#2	
ctgtgtattactgtgcgagaga													

Análisis repetido usando sólo 8 REdaptors mejores													
Id	Ntot	0	1	2	3	4	5	6	7	8+			
3	189	52	45	38	23	18	5	4	1	3 176	108	#3	
ccgtgtattactgtgcgagagg													
4	127	29	23	28	24	10	6	5	2	0 114	323	#22	
ccgtatattactgtgcgaaaga													
5	78	21	25	14	11	14		20		0	72	330#23	
ctgtgtattactgtgcgaaaga 6													
7	43	14	15	5	5 3		0 1		0	0	42	551#48	
ccatgtattactgtgcgagaca													
8	307	26	63	72	51 38		24 14		13	6	250	5a#49	
ccatgtattactgtgcgaga													
1 102	#1	ccgtgtattactgtgcgagaga										ccgtgtattactgtgcgagaga	
2 103#2		ctgtgtattactgtgcgagaga										.t.....	
3 108#3		ccgtgtattactgtgcgagagg										g	
4 323#22		ccgtatattactgtgcgaaagaa.										a...	

Análisis repetido usando sólo 8 REdaptors mejores												
Id	Ntot	0	1	2	3	4	5	6	7	8+		
5 330#23			ctgtgtattactgtgcgaaga t.....a...									
6 439#44			ctgtgtattactgtgcgagaca t.....C.									
7 551#48			ccatgtattactgtgcgagaca ..a...C.									
8 5a#49			ccatgtattactgtgcgagaa ..a.....AA									
Seqs sólo con el sitio RE esperado1.463/1.617												
Seqs sólo con un sitio no esperado..... 0												
Seqs tanto con esperado como no esperado.... 7												
Seqs sin sitios..... 0												

Tabla 6: Secuencias HC GLG FR1 Humanas

VH Exón - Alineamiento de secuencias de nucleótidos	
VH1	
1-02	CAG GTG CAG CTG GTG CAG TCT GGG GCT GAG GTG AAG AAG CCT GGG GCC TCA GTG AAG GTC TCC TGC AAG GCT TCT GGA TAC ACC TTC ACC
1-03	cag gtC cag ctT gtg cag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg gcc tca gtg aag gtT tcc tgc aag gct tct gga tac acc ttc act

VH Exón - Alineamiento de secuencias de nucleótidos	
VH1	
1-08	cag gtg cag ctg gtg cag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg gcc tca gtg aag gtc tcc tgc aag gct tct gga tac acc ttc acc
1-18	cag gTt cag ctg gtg cag tct gga gct gag gtg aag aag cct ggg gcc tca gtg aag gtc tcc tgc aag gct tct ggt tac acc ttt acc
1-24	cag gtC cag ctg gtA cag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg gcc tca gtg aag gtc tcc tgc aag gTt tcc gga tac acc Ctc act
1-45	cag Atg cag ctg gtg cag tct ggg gct gag gtg aag aag Act ggg Tcc tca gtg aag gTt tcc tgc aag gct tcc gga tac acc ttc acc
1-46	cag gtg cag ctg gtg cag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg gcc tca gtg aag gTt tcc tgc aag gcA tct gga tac acc ttc acc
1-58	caA Atg cag ctg gtg cag tct ggg Cct gag gtg aag aag cct ggg Acc tca gtg aag gtc tcc tgc aag gct tct gga tTc acc ttt act
1-69	cag gtg cag ctg gtg cag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg Tcc tcc gtg aag gtc tcc tgc aag gct tct gga GGc acc ttc aGc
1-e	cag gtg cag ctg gtg cag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg Tcc tcc gtg aag gtc tcc tgc aag gct tct gga GGc acc ttc aGc
1-f	Gag gtC cag ctg gtA cag tct ggg gct gag gtg aag aag cct ggg gCT Aca gtg aaA Atc tcc tgc aag gTt tct gga tac acc ttc acc

VH2	
2-05	CAG ATC ACC TTG AAG GAG TCT GGT CCT ACG CTG GTG AAA CCC ACA CAG ACC CTC ACG CTG ACC TGC ACC TTC TCT TCT GGG TTC TCA CTC AGC
2-26	cag Gtc acc ttg aag gag tct ggt cct GTg ctg gtg aaa ccc aca Gag acc ctc acg ctg acc tgc acc Gtc tct tct ggg ttc tca ctc agc
2-70	cag Gtc acc ttg aag gag tct ggt cct Gcg ctg gtg aaa ccc aca cag acc ctc acA ctg acc tgc acc ttc tct tct ggg ttc tca ctc agc
VH3	
3-07	GAG GTG CAG CTG GTG GAG TCT GGG GGA GGC TTG GTC CAG CCT GGG GGG TCC CTG AGA CTC TCC TGT GCA GCC TCT GGA TTC ACC TTT AGT
3-09	gaA gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gtA cag cct ggC Agg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttt GAt
3-11	Cag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gtc Aag cct ggA ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt
3-13	gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gtA cag cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt
3-15	gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gtA Aag cct ggg ggg tcc ctt aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc act ttc agt

VH3	
3-20	gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggt Gtg gtA cGg cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttt GAt
3-21	gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc Ctg gtc Aag cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt
3-23	gag gtg cag ctg Ttg gag tct ggg gga ggc ttg gtA cag cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttt agC
3-30	Cag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc Gtg gtc cag cct ggg Agg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt
3-30.3	Cag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc Gtg gtc cag cct ggg Agg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt
3-30.5	Cag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc Gtg gtc cag cct ggg Agg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt
3-33	Cag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc Gtg gtc cag cct ggg Agg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt
3-43	gaA gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga gtc Gtg gtA cag cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttt GAt
3-48	gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gtA cag cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt
3-49	gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gtA cag cCA ggg Cgg tcc ctg aga ctc tcc tgt Aca gcT tct gga ttc acc ttt Ggt

VH3	
3-53	gag gtg cag ctg gtg gag Act gga ggc ttg Atc cag cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct ggG ttc acc GtC agt
3-64	gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gtc cag cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt
3-66	gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gtc cag cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc GtC agt
3-72	gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gtc cag cct gga ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt
3-73	gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gtc cag cct ggg ggg tcc ctg aAa ctc tcc tgt gca gcc tct ggG ttc acc ttc agt
3-74	gag gtg cag ctg gtg gag tcc ggg gga ggc tTA gtT cag cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt
3-d	gag gtg cag ctg gtg gag tct Cgg gga gTc ttg gTA cag cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc GtC agt
VH4	
4-04	CAG GTG CAG CTG CAG GAG TCG GGC CCA GGA CTG GTG AAG CCT TCG GGG ACC CTG TCC CTC ACC TGC GCT GTC TCT GGT GGC TCC ATC AGC
4-28	cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg gAC acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt TAc tcc atc agc

VH4	
4-30.1	cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tca CAG acc ctg tcc etc acc tgc Act gtc tct ggt ggc tcc atc agc
4-30.2	cag Ctg cag ctg cag gag tcC ggc Tca gga ctg gtg aag cct tca CAG acc ctg tcc etc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc
4-30.4	cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tca CAG acc ctg tcc etc acc tgc Act gtc tct ggt ggc tcc atc agc
4-31	cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tca CAG acc ctg tcc etc acc tgc Act gtc tct ggt ggc tcc atc agc
4-34	cag gtg cag ctA cag Cag tGg ggc Gca gga ctg Ttg aag cct tcg gAg acc ctg tcc etc acc tgc gct gtc tAt ggt gGg tcc Ttc agT
4-39	cag Ctg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg gAg acc ctg tcc etc acc tgc Act gtc tct ggt ggc tcc atc agc
4-59	cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg gAg acc ctg tcc etc acc tgc Act gtc tct ggt ggc tcc atc agT
4-61	cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg gAg acc ctg tcc etc acc tgc Act gtc tct ggt ggc tcc Gtc agc
4-b	cag gtg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtg aag cct tcg gAg acc ctg tcc etc acc tgc gct gtc tct ggt TAc tcc atc agc

VH5	
5-51	GAG GTG CAG CTG GTG CAG TCT GGA GCA GAG GTG AAA AAG CCC GGG GAG TCT CTG AAG ATC TCC TGT AAG GGT TCT GGA TAC AGC TTT ACC
5-a	gaA gtg cag ctg gtg cag tct gga gca gag gtg aaa aag ccc ggg gag tct ctg agg atc tcc tgt aag ggt tct gga tac agc ttt acc
VH6	
6-1	CAG GTA CAG CTG CAG CAG TCA GGT CCA GGA CTG GTG AAG CCC TCG CAG ACC CTC TCA CTC ACC TGT GCC ATC TCC GGG GAC AGT GTC TCT
VH7	
7-4.1	CAG GTG CAG CTG GTG CAA TCT GGG TCT GAG TTG AAG AAG CCT GGG GCC TCA GTG AAG GTT TCC TGC AAG GCT TCT GGA TAC ACC TTC ACT

ES 2 375 952 T3

Tabla 7: Sitios RERS en HC GLG FR1 Humanas en las que hay al menos 20 GLG cortados

Bsgl GTGCAG			71 (corta 16/14 bases a la derecha)				
1: 4	1: 13	2: 13	3: 4	3: 13	4: 13		
6: 13	7: 4	7: 13	8: 13	9: 4	9: 13		
10: 4	10: 13	15: 4	15: 65	16: 4	16: 65		
17: 4	17: 65	18: 4	18: 65	19: 4	19: 65		
20: 4	20: 65	21: 4	21: 65	22: 4	22: 65		
23: 4	23: 65	24: 4	24: 65	25: 4	25: 65		
26: 4	26: 65	27: 4	27: 65	28: 4	28: 65		
29: 4	30: 4	30: 65	31: 4	31: 65	32: 4		
32: 65	33: 4	33: 65	34: 4	39: 65	35: 4		
35: 65	36: 4	36: 65	37: 4	38: 4	39: 4		
41: 4	42: 4	43: 4	45: 4	46: 4	47: 4		
48: 4	48: 13	49: 4	49: 13	51: 4			
Hay 39 aciertos en la base# 4							
Hay 21 aciertos en la base# 65							
- " ctgcac			9				
12: 63	13: 63	14: 63	39: 63	41: 63	42: 63		
44: 63	45: 63	46: 63					
Bbvl GCAGC			65				
1: 6	3: 6	6: 6	7: 6	8: 6	9: 6		
10: 6	15: 6	15: 67	16: 6	16: 67	17: 6		
17: 67	18: 6	18: 67	19: 6	19: 67	20: 6		
20: 67	21: 6	21: 67	22: 6	22: 67	23: 6		
23: 67	24: 6	24: 67	25: 6	25: 67	26: 6		
26: 67	27: 6	27: 67	28: 6	28: 67	29: 6		

ES 2 375 952 T3

Bsgl GTGCAG			71 (corta 16/14 bases a la derecha)				
30: 6	30: 67	31: 6	31: 67	32: 6	32: 67		
33: 6	33: 67	39: 6	39: 67	35: 6	35: 67		
36: 6	36: 67	37: 6	38: 6	39: 6	40: 6		
41: 6	42: 6	93: 6	44: 6	45: 6	46: 6		
47: 6	98: 6	99: 6	50: 12	51: 6			
Hay 43 aciertos en la base# 6 Los sitios en negrita sitios muy cercanos listados más adelante							
Hay 21 aciertos en la base# 67							
-"- gctgc			13				
37: 9	38: 9	39: 9	40: 3	40: 9	41: 9		
42: 9	44: 3	44: 9	45: 9	46: 9	47: 9		
50: 9							
Hay 11 aciertos en la base# 9							
BsoFI GCnge			78				
1: 6	3: 6	6: 6	7: 6	8: 6	9: 6		
10: 6	15: 6	15: 67	16: 6	16: 67	17: 6		
17: 67	18: 6	18: 67	19: 6	19: 67	20: 6		
20: 67	21: 6	21: 67	22: 6	22: 67	23: 6		
23: 67	24: 6	24: 67	25: 6	25: 67	26: 6		
26: 67	27: 6	27: 67	28: 6	28: 67	29: 6		
30: 6	30: 67	31: 6	31: 67	32: 6	32: 67		
33: 6	33: 67	34: 6	39: 67	35: 6	35: 67		
36: 6	36: 67	37: 6	37: 9	38: 6	38: 9		
39: 6	39: 9	40: 3	40: 6	40: 9	41: 6		
41: 9	42: 6	42: 9	43: 6	44: 3	44: 6		
44: 9	45: 6	45: 9	46: 6	46: 9	47: 6		

ES 2 375 952 T3

Bsgl GTGCAG			71 (corta 16/14 bases a la derecha)				
47: 9	48: 6	49: 6	50: 9	50: 12	51: 6		
Hay 43 aciertos en la base# 6 Frecuentemente aparecen juntos.							
Hay 11 aciertos en la base# 9							
Hay 2 aciertos en la base# 3							
Hay 21 aciertos en la base# 67							
Tsel Gcwgc			78				
1: 6	3: 6	6: 6	7: 6	8: 6	9: 6		
10: 6	15: 6	15: 67	16: 6	16: 67	17: 6		
17: 67	18: 6	18: 67	19: 6	19: 67	20: 6		
20: 67	21: 6	21: 67	22: 6	22: 67	23: 6		
23: 67	24: 6	24: 67	25: 6	25: 67	26: 6		
26: 67	27: 6	27: 67	28: 6	28: 67	29: 6		
30: 6	30: 67	31: 6	31: 67	32: 6	32: 67		
33: 6	33: 67	34: 6	34: 67	35: 6	35: 67		
36: 6	36: 67	37: 6	37: 9	38: 6	38: 9		
39: 6	39: 9	40: 3	40: 6	40: 9	41: 6		
41: 9	42: 6	42: 9	43: 6	44: 3	44: 6		
44: 9	45: 6	45: 9	46: 6	46: 9	47: 6		
47: 9	48: 6	49: 6	50: 9	50: 12	51: 6		
Hay 43 aciertos en la base# 6 Frecuentemente juntos.							
Hay 11 aciertos en la base# 9							
Hay 2 aciertos en la base# 3							
Hay 1 acierto en la base# 12							
Hay 21 aciertos en la base# 67							

ES 2 375 952 T3

Bsgl GTGCAG			71 (corta 16/14 bases a la derecha)				
MspAll CMGckg			48				
1: 7	3: 7	4: 7	5: 7	6: 7	7: 7		
8: 7	9: 7	10: 7	11: 7	15: 7	16: 7		
17: 7	18: 7	19: 7	20: 7	21: 7	22: 7		
23: 7	29: 7	25: 7	26: 7	27: 7	28: 7		
29: 7	30: 7	31: 7	32: 7	33: 7	34: 7		
35: 7	36: 7	37: 7	38: 7	39: 7	40: 1		
40: 7	41: 7	42: 7	44: 1	44: 7	45: 7		
46: 7	47: 7	48: 7	49: 7	50: 7	51: 7		
Hay 46 aciertos en la base# 7							
Pvull CAGctg			48				
1: 7	3: 7	4: 7	5: 7	6: 7	7: 7		
8: 7	9: 7	10: 7	11: 7	15: 7	16: 7		
17: 7	18: 7	19: 7	20: 7	21: 7	22: 7		
23 : 7	24: 7	25 : 7	26: 7	27: 7	28: 7		
29: 7	30: 7	31: 7	32: 7	33: 7	34: 7		
35: 7	36: 7	37: 7	38: 7	39: 7	40: 1		
40: 7	41: 7	42: 7	44: 1	44: 7	45: 7		
46: 7	47: 7	48: 7	49: 7	50: 7	51: 7		
Hay 46 aciertos en la base# 7							
Hay 2 aciertos en la base# 1							
Alul AGct			54				
1: 8	2: 8	3: 8	4: 8	4: 24	5: 8		
6: 8	7: 8	8: 8	9: 8	10: 8	11: 8		

ES 2 375 952 T3

Bsgl GTGCAG			71 (corta 16/14 bases a la derecha)				
15: 8	16: 8	17: 8	18: 8	19: 8	20: 8		
21: 8	22: 8	23: 8	24: 8	25: 8	26: 8		
27: 8	28: 8	29: 8	29: 69	30: 8	31: 8		
32: 8	33: 8	34: 8	35: 8	36: 8	37: 8		
38: 8	39: 8	40: 2	40: 8	41: 8	42: 8		
43: 8	44: 2	44: 8	45: 8	46: 8	47: 8		
48: 8	48: 82	49: 8	49: 82	50: 8	51: 8		
Hay 48 aciertos en la base# 8							
Hay 2 aciertos en la base# 2							
Ddel Ctnag			48				
1: 26	1: 48	2: 26	2: 48	3: 26	3: 48		
4: 26	4: 48	5: 26	5: 48	6: 26	6: 48		
7: 26	7: 48	8: 26	8: 48	9: 26	10: 26		
11: 26	12: 85	13: 85	14: 85	15: 52	16: 52		
17: 52	18: 52	19: 52	20: 52	21: 52	22: 52		
23: 52	24: 52	25: 52	26: 52	27: 52	28: 52		
29: 52	30: 52	31: 52	32: 52	33: 52	35: 30		
35: 52	36: 52	40: 24	49: 52	51: 26	51: 48		
Hay 22 aciertos en la base# 52 52 y 48 nunca juntos.							
Hay 9 aciertos en la base# 48							
Hay 12 aciertos en la base# 26 26 y 24 nunca juntos.							
Hphl tcacc			42				
1: 86	3: 86	6: 86	7: 86	8: 80	11: 86		
12: 5	13: 5	14: 5	15: 80	16: 80	17: 80		

ES 2 375 952 T3

BsgI GTGCAG			71 (corta 16/14 bases a la derecha)				
18: 80	20: 80	21: 80	22: 80	23: 80	24: 80		
25: 80	26: 80	27: 80	28: 80	29: 80	30: 80		
31: 80	32: 80	33: 80	34: 80	35: 80	36: 80		
37: 59	38: 59	39: 59	40: 59	41: 59	42: 59		
43: 59	44: 59	45: 59	46: 59	47: 59	50: 59		
Hay 22 aciertos en la base# 80 80 y 86 nunca juntos							
Hay 5 aciertos en la base# 86							
Hay 12 aciertos en la base# 59							
BssKI Nccngg			50				
1: 39	2: 39	3: 39	4: 39	5: 39	7: 39		
8: 39	9: 39	10: 39	11: 39	15: 39	16: 39		
17: 39	18: 39	19: 39	20: 39	21: 29	21: 39		
22: 39	23: 39	24: 39	25: 39	26: 39	27: 39		
28: 39	29: 39	30: 39	31: 39	32: 39	33: 39		
34: 39	35: 19	35: 39	36: 39	37: 24	38: 24		
39: 24	41: 24	42: 24	44: 24	45: 24	46: 24		
47: 24	48: 39	48: 40	49: 39	49: 40	50: 24		
50: 73	51: 39						
Hay 35 aciertos en la base# 39 39 y 40 juntos dos veces.							
Hay 2 aciertos en la base# 40							
BsaJI Ccnngg			47				
1: 40	2: 40	3: 40	4: 40	5: 40	7: 40		
8: 40	9: 40	9: 47	10: 40	10: 47	11: 40		
15: 40	18: 40	19: 40	20: 40	21: 40	22: 40		

ES 2 375 952 T3

BsgI GTGCAG			71 (corta 16/14 bases a la derecha)				
23: 40	24: 40	25: 40	26: 40	27: 40	28: 40		
29: 40	30: 40	31: 40	32: 40	34: 40	35: 20		
35: 40	36: 40	37: 24	38: 24	39: 24	41: 24		
42: 24	44: 24	45: 24	46: 24	47: 24	48: 40		
48: 41	49: 40	49: 41	50: 74	51: 40			
Hay 32 aciertos en la base# 40 40 y 41 juntos dos veces							
Hay 2 aciertos en la base# 41							
Hay 9 aciertos en la base# 24							
Hay 2 aciertos en la base# 47							
BstNI CCwgg			44				
PspGI ccwgg							
ScrFI(SM.HpaII) CCwgg							
1: 40	2: 40	3: 40	4: 40	5: 40	7: 40		
8: 40	9: 40	10: 40	11: 40	15: 40	16: 40		
17: 40	18: 40	19: 40	20: 40	21: 30	21: 40		
22: 40	23: 40	24: 40	25: 40	26: 40	27: 40		
28: 40	29: 40	30: 40	31: 40	32: 40	33: 40		
34: 40	35: 40	36: 40	37: 25	38: 25	39: 25		
41: 25	42: 25	44: 25	45: 25	46: 25	47: 25		
50: 25	51: 40						
Hay 33 aciertos en la base# 40							
ScrFI CCngg			50				
1: 40	2: 40	3: 40	4: 40	5: 40	7: 40		
8: 40	9: 40	10: 40	11: 40	15: 40	16: 40		

ES 2 375 952 T3

Bsgl GTGCAG			71 (corta 16/14 bases a la derecha)				
17: 40	18: 40	19: 40	20: 40	21: 30	21: 40		
22: 40	23: 40	24: 40	25: 40	26: 40	27: 40		
28: 40	29: 40	30: 40	31: 40	32: 40	33: 40		
34: 40	35: 20	35: 40	36: 40	37: 25	38: 25		
39: 25	41: 25	42: 25	44: 25	45: 25	46: 25		
47: 25	48: 40	48: 41	49: 40	49: 41	50: 25		
50: 74	51: 40						
Hay 35 aciertos en la base# 40							
Hay 2 aciertos en la base# 41							
EcoO109l RGgnccy			34				
1: 43	2: 43	3: 43	4: 43	5: 43	6: 43		
7: 43	8: 43	9: 43	10: 43	15: 46	16: 46		
17: 46	18: 46	19: 46	20: 46	21: 46	22: 46		
23: 46	24: 46	25: 46	26: 46	27: 46	28: 46		
30: 46	31: 46	32: 46	33: 46	34: 46	35: 46		
36: 46	37: 46	43: 79	51: 43				
Hay 22 aciertos en la base# 46 y 43 nunca juntos							
Hay 11 aciertos en la base# 43							
N1aIV GGNncc			71				
1: 43	2: 43	3: 43	4: 43	5: 43	6: 43		
7: 43	8: 43	9: 43	9: 79	10: 43	10: 79		
15: 46	15: 47	16: 47	17: 46	17: 47	18: 46		
18: 47	19: 46	19: 47	20: 46	20: 47	21: 46		
21: 47	22: 46	22: 47	23: 47	24: 47	25: 47		
26: 47	27: 46	27: 47	28: 46	28: 47	29: 47		

ES 2 375 952 T3

Bsgl GTGCAG			71 (corta 16/14 bases a la derecha)				
30: 46	30: 47	31: 46	31: 47	32: 46	32: 47		
33: 46	33: 47	34: 46	34: 47	35: 46	35: 47		
36: 46	36: 47	37: 21	37: 46	37: 47	37: 79		
38: 21	39: 21	39: 79	40: 79	41: 21	41: 79		
42: 21	42: 79	43: 79	44: 21	44: 79	45: 21		
45: 79	46: 21	46: 79	47: 21	51: 43			
Hay 23 aciertos en la base# 47 46 y 47 frecuentemente juntos							
Hay 17 aciertos en la base# 46 Hay 11 aciertos en la base# 43							
Sau96l Ggncc			70				
1: 44	2: 3	2: 44	3: 44	4: 44	5: 3	5: 44	6: 44
7: 44	8: 22	8: 44	9: 44	10: 44	11: 3	12: 22	13: 22
14: 22	15: 33	15: 47	16: 47	17: 47	18: 47	19: 47	20: 47
21: 47	22: 47	23: 33	23: 47	24: 33	24: 47	25: 33	25: 47
26: 33	26: 47	27: 47	28: 47	29: 47	30: 47	31: 33	31: 47
32: 33	32: 47	33: 33	33: 47	34: 33	34: 47	35: 47	36: 47
37: 21	37: 22	37: 47	38: 21	38: 22	39: 21	39: 22	41: 21
41: 22	42: 21	42: 22	43: 80	44: 21	44: 22	45: 21	45: 22
46: 21	46: 22	47: 21	47: 22	50: 22	51: 44		
Hay 23 aciertos en la base# 47 Éstos no ocurren juntos.							
Hay 11 aciertos en la base# 44							
Hay 14 aciertos en la base# 22 Éstos aparecen juntos.							
Hay 9 aciertos en la base# 21							
BsmAl GTCTCNnnnn			22				
1: 58	3: 58	4: 58	5: 58	8: 58	9: 58		
10: 58	13: 70	36: 18	37: 70	38: 70	39: 70		

ES 2 375 952 T3

Bsgl GTGCAG			71 (corta 16/14 bases a la derecha)				
40: 70	41: 70	42: 70	44: 70	45: 70	46: 70		
47: 70	48: 48	49: 48	50: 85				
Hay 11 aciertos en la base# 70							
-"- Nnnnnngagac			27				
13: 40	15: 48	16: 48	17: 48	18: 48	20: 48		
21: 48	22: 48	23: 48	24: 48	25: 48	26: 48		
27: 48	28: 48	29: 48	30: 10	30: 48	31: 48		
32: 48	33: 48	35: 48	36: 48	43: 40	44: 40		
45: 40	46: 40	47: 40					
Hay 20 aciertos en la base# 48							
Avall Ggwcc			44				
Sau96I(\$M.HaeIII) Ggwcc			44				
2: 3	5: 3	6: 44	8: 44	9: 44	10: 44		
11: 3	12: 22	13: 22	14: 22	15: 33	15: 47		
16: 47	17: 47	18: 47	19: 47	20: 47	21: 47		
22: 47	23: 33	23: 47	24: 33	24: 47	25: 33		
25: 47	26: 33	26: 47	27: 47	28: 47	29: 47		
30: 47	31: 33	31: 47	32: 33	32: 47	33: 33		
33: 47	34: 33	34: 47	35: 47	36: 47	37: 47		
43: 80	50: 22						
Hay 23 aciertos en la base# 47 44 y 47 nunca juntos							
Hay 4 aciertos en la base# 44							
PpuMI RGgwccy			27				

ES 2 375 952 T3

Bsgl GTGCAG			71 (corta 16/14 bases a la derecha)				
6: 43	8: 43	9: 43	10: 43	15: 46	16: 46		
17: 46	18: 46	19: 46	20: 46	21: 46	22: 46		
23: 46	24: 46	25: 46	26: 46	27: 46	28: 46		
30: 46	31: 46	32: 46	33: 46	34: 46	35: 46		
36: 46	37: 46	43: 79					
Hay 22 aciertos en la base# 46 43 y 46 nunca aparecen juntos.							
Hay 4 aciertos en la base# 43							
BsmFI GGGAC			3				
8: 43	37: 46	50: 77					
-"- gtccc			33				
15: 48	16: 48	17: 48	1: 0	1: 0	20: 48		
21: 48	22: 48	23: 48	24: 48	25: 48	26: 48		
27: 48	28: 48	29: 48	30: 48	31: 48	32: 48		
33: 48	34: 48	35: 48	36: 48	37: 54	38: 54		
39: 54	40: 54	41: 54	42: 54	43: 54	44: 54		
45: 54	46: 54	47: 54					
Hay 20 aciertos en la base# 48							
Hay 11 aciertos en la base# 54							
Hinfl Gantc			80				
8: 77	12: 16	13: 16	14: 16	15: 16	15: 56		
15: 77	16: 16	16: 56	16: 77	17: 16	17: 56		
17: 77	18: 16	18: 56	18: 77	19: 16	19: 56		
19: 77	20: 16	20: 56	20: 77	21: 16	21: 56		
21: 77	22: 16	22: 56	22: 77	23: 16	23: 56		

ES 2 375 952 T3

Bsgl GTGCAG			71 (corta 16/14 bases a la derecha)				
23: 77	24: 16	24: 56	24: 77	25: 16	25: 56		
25: 77	26: 16	26: 56	26: 77	27: 16	27: 26		
27: 56	27: 77	28: 16	28: 56	28: 77	29: 16		
29: 56	29: 77	30: 56	31: 16	31: 56	31: 77		
32: 16	32: 56	32: 77	33: 16	33: 56	33: 77		
34: 16	35: 16	35: 56	35: 77	36: 16	36: 26		
36: 56	36: 77	37: 16	38: 16	39: 16	40: 16		
41: 16	42: 16	44: 16	45: 16	46: 16	47: 16		
48: 46	49: 46						
Hay 34 aciertos en la base# 16							
Tfil Gawtc			21				
8: 77	15: 77	16: 77	17: 77	18: 77	19: 77		
20: 77	21: 77	22: 77	23: 77	24: 77	25: 77		
26: 77	27: 77	28: 77	29: 77	31: 77	32: 77		
33: 77	35: 77	36: 77					
Hay 21 aciertos en la base# 77							
Mlyl GAGTC			38				
12: 16	13: 16	14: 16	15: 16	16: 16	17: 16		
18: 16	19: 16	20: 16	21: 16	22: 16	23: 16		
24: 16	25: 16	26: 16	27: 16	27: 26	28: 16		
29: 16	31: 16	32: 16	33: 16	34: 16	35: 16		
36: 16	36: 26	37: 16	38: 16	39: 16	40: 16		
41: 16	42: 16	44: 16	45: 16	46: 16	47: 16		
48: 46	49: 46						

ES 2 375 952 T3

Bsgl GTGCAG		71 (corta 16/14 bases a la derecha)					
Hay 34 aciertos en la base# 16							
-". GACTC			21				
15: 56	16: 56	17: 56	18: 56	19: 56	20: 56		
21: 56	22: 56	23: 56	24: 56	25: 56	26: 56		
27: 56	28: 56	29: 56	30: 56	31: 56	32: 56		
33: 56	35: 56	36: 56					
Hay 21 aciertos en la base# 56							
Plel gagtc			38				
12: 16	13: 16	14: 16	15: 16	16: 16	17: 16		
18: 16	19: 16	20: 16	21: 16	22: 16	23: 16		
24: 16	25: 16	26: 16	27: 16	27: 26	28: 16		
29: 16	31: 16	32: 16	33: 16	34: 16	35: 16		
36: 16	36: 26	37: 16	38: 16	39: 16	40: 16		
41: 16	42: 16	44: 16	45: 16	46: 16	47: 16		
48: 46	49: 46						
Hay 34 aciertos en la base# 16							
-". gactc			21				
15: 56	16: 56	17: 56	18: 56	19: 56	20: 56		
21: 56	22: 56	23: 56	24: 56	25: 56	26: 56		
27: 56	28: 56	29: 56	30: 56	31: 56	32: 56		
33: 56	35: 56	36: 56					
Hay 21 aciertos en la base# 56							
AlwNI CAGNNNctg			26				
15: 68	16: 68	17: 68	18: 68	19: 68	20: 68		

ES 2 375 952 T3

Bsgl GTGCAG			71 (corta 16/14 bases a la derecha)				
21: 68	22: 68	23: 68	24: 68	25: 68	26: 68		
27: 68	28: 68	29: 68	30: 68	31: 68	32: 68		
33: 68	34: 68	35: 68	36: 68	39: 46	40: 46		
41: 46	42: 46						
Hay 22 aciertos en la base 68							

Tabla 8: Kappa FR1 GLG

!	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
	GAC	ATC	CAG	ATG	ACC	CAG	TCT	CCA	TCC	TCC	CTG	TCT	
!	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23		
	GCA	TCT	GTA	GGA	GAC	AGA	GTC	ACC	ATC	ACT	TGC	!	O12
	GAC	ATC	CAG	ATG	ACC	CAG	TCT	CCA	TCC	TCC	CTG	TCT	
	GCA	TCT	GTA	GGA	GAC	AGA	GTC	ACC	ATC	ACT	TGC	!	O2
	GAC	ATC	CAG	ATG	ACC	CAG	TCT	CCA	TCC	TCC	CTG	TCT	
	GCA	TCT	GTA	GGA	GAC	AGA	GTC	ACC	ATC	ACT	TGC	!	O18
	GAC	ATC	CAG	ATG	ACC	CAG	TCT	CCA	TCC	TCC	CTG	TCT	
	GCA	TCT	GTA	GGA	GAC	AGA	GTC	ACC	ATC	ACT	TGC	!	O8
	GAC	ATC	CAG	ATG	ACC	CAG	TCT	CCA	TCC	TCC	CTG	TCT	
	GCA	TCT	GTA	GGA	GAC	AGA	GTC	ACC	ATC	ACT	TGC	!	A20
	GAC	ATC	CAG	ATG	ACC	CAG	TCT	CCA	TCC	TCC	CTG	TCT	
	GCA	TCT	GTA	GGA	GAC	AGA	GTC	ACC	ATC	ACT	TGC	!	A30
	AAC	ATC	CAG	ATG	ACC	CAG	TCT	CCA	TCT	GCC	ATG	TCT	
	GCA	TCT	GTA	GGA	GAC	AGA	GTC	ACC	ATC	ACT	TGT	!	L14
	GAC	ATC	CAG	ATG	ACC	CAG	TCT	CCA	TCC	TCA	CTG	TCT	
	GCA	TCT	GTA	GGA	GAC	AGA	GTC	ACC	ATC	ACT	TGT	!	L1
	GAC	ATC	CAG	ATG	ACC	CAG	TCT	CCA	TCC	TCA	CTG	TCT	
	GCA	TCT	GTA	GGA	GAC	AGA	GTC	ACC	ATC	ACT	TGT	!	L15
	GCC	ATC	CAG	TTG	ACC	CAG	TCT	CCA	TCC	TCC	CTG	TCT	
	GCA	TCT	GTA	GGA	GAC	AGA	GTC	ACC	ATC	ACT	TGC	!	L4
	GCC	ATC	CAG	TTG	ACC	CAG	TCT	CCA	TCC	TCC	CTG	TCT	
	GCA	TCT	GTA	GGA	GAC	AGA	GTC	ACC	ATC	ACT	TGC	!	L18
	GAC	ATC	CAG	ATG	ACC	CAG	TCT	CCA	TCT	TCC	GTG	TCT	
	GCA	TCT	GTA	GGA	GAC	AGA	GTC	ACC	ATC	ACT	TGT	!	L5
	GAC	ATC	CAG	ATG	ACC	CAG	TCT	CCA	TCT	TCT	GTG	TCT	
	GCA	TCT	GTA	GGA	GAC	AGA	GTC	ACC	ATC	ACT	TGT	!	L19
	GAC	ATC	CAG	TTG	ACC	CAG	TCT	CCA	TCC	TTC	CTG	TCT	
	GCA	TCT	GTA	GGA	GAC	AGA	GTC	ACC	ATC	ACT	TGC	!	L8
	GCC	ATC	CGG	ATG	ACC	CAG	TCT	CCA	TTC	TCC	CTG	TCT	
	GCA	TCT	GTA	GGA	GAC	AGA	GTC	ACC	ATC	ACT	TGC	!	L23
	GCC	ATC	CGG	ATG	ACC	CAG	TCT	CCA	TCC	TCA	TTC	TCT	
	GCA	TCT	ACA	GGA	GAC	AGA	GTC	ACC	ATC	ACT	TGT	!	L9

ES 2 375 952 T3

GTC ATC TGG ATG ACC CAG TCT CCA TCC TTA CTC TCT	
GCA TCT ACA GGA GAC AGA GTC ACC ATC AGT TGT !	L24
GCC ATC CAG ATG ACC CAG TCT CCA TCC TCC CTG TCT	
GCA TCT GTA GGA GAC AGA GTC ACC ATC ACT TGC !	L11
GAC ATC CAG ATG ACC CAG TCT CCT TCC ACC CTG TCT	
GCA TCT GTA GGA GAC AGA GTC ACC ATC ACT TGC !	L12
GAT ATT GTG ATG ACC CAG ACT CCA CTC TCC CTG CCC	
GTC ACC CCT GGA GAG CCG GCC TCC ATC TCC TGC !	O11
GAT ATT GTG ATG ACC CAG ACT CCA CTC TCC CTG CCC	
GTC ACC CCT GGA GAG CCG GCC TCC ATC TCC TGC !	O1
GAT GTT GTG ATG ACT CAG TCT CCA CTC TCC CTG CCC	
GTC ACC CTT GGA CAG CCG GCC TCC ATC TCC TGC !	A17
GAT GTT GTG ATG ACT CAG TCT CCA CTC TCC CTG CCC	
GTC ACC CTT GGA CAG CCG GCC TCC ATC TCC TGC !	A1
GAT ATT GTG ATG ACC CAG ACT CCA CTC TCT CTG TCC	
GTC ACC CCT GGA CAG CCG GCC TCC ATC TCC TGC !	A18
GAT ATT GTG ATG ACC CAG ACT CCA CTC TCT CTG TCC	
GTC ACC CCT GGA CAG CCG GCC TCC ATC TCC TGC !	A2
GAT ATT GTG ATG ACT CAG TCT CCA CTC TCC CTG CCC	
GTC ACC CCT GGA GAG CCG GCC TCC ATC TCC TGC !	A19
GAT ATT GTG ATG ACT CAG TCT CCA CTC TCC CTG CCC	
GTC ACC CCT GGA GAG CCG GCC TCC ATC TCC TGC !	A3
GAT ATT GTG ATG ACC CAG ACT CCA CTC TCC TCA CCT	
GTC ACC CTT GGA CAG CCG GCC TCC ATC TCC TGC !	A23
GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT	
TTG TCT CCA GGG GAA AGA GCC ACC CTC TCC TGC !	A27
GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GCC ACC CTG TCT	
TTG TCT CCA GGG GAA AGA GCC ACC CTC TCC TGC !	A11
GAA ATA GTG ATG ACG CAG TCT CCA GCC ACC CTG TCT	
GTG TCT CCA GGG GAA AGA GCC ACC CTC TCC TGC !	L2
GAA ATA GTG ATG ACG CAG TCT CCA GCC ACC CTG TCT	
GTG TCT CCA GGG GAA AGA GCC ACC CTC TCC TGC !	L16
GAA ATT GTG TTG ACA CAG TCT CCA GCC ACC CTG TCT	
TTG TCT CCA GGG GAA AGA GCC ACC CTC TCC TGC !	L6
GAA ATT GTG TTG ACA CAG TCT CCA GCC ACC CTG TCT	

ES 2 375 952

TTG TCT CCA GGG GAA AGA GCC ACC CTC TCC TGC !	L20
GAA ATT GTA ATG ACA CAG TCT CCA GCC ACC CTG TCT	
TTG TCT CCA GGG GAA AGA GCC ACC CTC TCC TGC !	L25
GAC ATC GTG ATG ACC CAG TCT CCA GAC TCC CTG GCT	
GTG TCT CTG GGC GAG AGG GCC ACC ATC AAC TGC !	B3
GAA ACG ACA CTC ACG CAG TCT CCA GCA TTC ATG TCA	
GCG ACT CCA GGA GAC AAA GTC AAC ATC TCC TGC !	B2
GAA ATT GTG CTG ACT CAG TCT CCA GAC TTT CAG TCT	
GTG ACT CCA AAG GAG AAA GTC ACC ATC ACC TGC !	A26
GAA ATT GTG CTG ACT CAG TCT CCA GAC TTT CAG TCT	
GTG ACT CCA AAG GAG AAA GTC ACC ATC ACC TGC !	A10
GAT GTT GTG ATG ACA CAG TCT CCA GCT TTC CTC TCT	
GTG ACT CCA GGG GAG AAA GTC ACC ATC ACC TGC !	A14

Tabla 9 Sitios RERS encontrados en FR1 GLG Kappa Humana

	MslI	FokI --> <-- -->	PfI BsrI		BsmAI	MnII	HpyCH 4V
VKI							
O12 1-69	3	23 3	49 1 2	15	47 1 8	26	36
O2 101.169	103	123 1 03	149 112	115	147 118	126	136
O18 201-269	203	223 2 03	249 212	215	247 218	226	236
O8 301-369	303	323 3 03	349 312	315	347 318	326	336
A20 401-469	403	423 4 03	449 412	415	447 418	426	436
A30 501-569	503	523 5 03	549 512	515	547 518	526	536
L14 601-669	603 603	649	612	615 647	618	-	636
L1 701-769	703	723 7 03	749 712	715	747 718	726	736
L15 801-869	803	823 8 03	849 812	815	847 818	826	836
L4 901-969	-	923 9 03	949 912	915 9 06	947 918	926	936
L18 1001-1069	-	1003	1049 1 01	1015 1 006	1047 1 018	1026	1036
L5 1101-1169	1103 -		1149 1112	1115 114	7 1118	-	1136
L19 1201-1269	1203 120	3 124	9 1212	1215 124	7 1218	-	1236
L8 1301-1369	-	1323 1 303	1349 1 312	1315 1 306	1347 1 318	-	1336

	MslI	FokI --> <--- -->	PfI/Fl BsrI		BsmAI	MnlI	HpyCH 4V
VKI							
L23 1401-1469	1403	1403 1408	1449 1412	1415	1447 1418	-	1436
L9 1501-1569	1503	1523 1508 1503	1549 1512	1515	1547 1518	1526	1536
L24 1601-1669	1603	1623 1 608	1649 1 612	1615	1647 1 618	-	1636
L11 1701-1769	1703	1723 1 703	1749 1 712	1715	1747 1 718	1726	1736
L12 1801-1869	1803 180	3 184	9 1812	1815 184	7 1818	-	1836
VKII							
O11 1901-1969	----- 1956						-
O1 2001-2069	----					2056	-
A17 2101-2169	-- 211		2	- 211	8	2156	-
A1 2201-2269	-- 221		2	- 221	8	2256	-
A18 2301-2369	----- 235					6	-
A2 2401-2469	----- 2456						-
A19 2501-2569	-- 251		2	- 251	8	2556	-
A3 2601-2669	-- 261		2	- 261	8	2656	-
A23 2701-2769	----- 275					6 2729	-

[illegible]

[illegible]

	SfaNI	Sfcl	Hinfl	MlyI --> --> <--	Maelll mismos sitios	Tsp45I	HphI xx38 xx56 xx62	HpaII Mspl xx06 xx52
L24 1601-1669	1637 164	1 165	3	1653	1655		1656	
L11 1701-1769	1737 174	1 175	3	1753	1755		1756	
L12 1801-1869	1837 184	1 185	3	1853	1855		1856	
VKII								
O11 1901-1969	-- 191		8	1918	1937		1938	1952
O1 2001-2069	-- 201		8	2018	2037		2038	2052
A17 2101-2169	-- 211		2	2112	2137		2138	2152
A1 2201-2269	-- 221		2	2212	2237		2238	2252
A18 2301-2369	-- 231		8	2318	2337		2338	2352
A2 2401-2469	-- 241		8	2418	2437		2438	2452
A19 2501-2569	-- 251		2	2512	2537		2538	2552
A3 2601-2669	-- 261		2	2612	2637		2638	2652
A23 2701-2769	-- 271		8	2718	2737		2738* 2731*	-
VKIII								
A27 2801-2869	-	-	-	-				-
A11 2901-2969	-	-	-	-				-

[illegible]

ES 2 375 952 T3

	BsaJI xx43	xx29	xx42	BssKI (NstNI) xx30 xx43	Bpml xx20 xx41 xx44 --> --> <--	BsrFI Cac8 NgoMIV	I Nae	I HaeIII T	sp509I	
VKI										
O2 101-169	- - -					-		-	-	
O18 201-269	- - -					-		-	-	
O8 301-369	- - -					-		-	-	
A20 401-469	- - -					-		-	-	
A30 501-569	- - -					-		-	-	
L14 601-669	- - -					-		-	-	
L1 701-769	- - -					-		-	-	
L15 801-869	- - -					-		-	-	
L4 901-969	- - -					-		-	-	
L18 1001-1069	- - -					-		-	-	
L5 1101-1169	- - -					-		-	-	
L19 1201-1269	- - -					-		-	-	
L8 1301-1369	- - -					-		-	-	
L23 1401-1469	- - -					-		-	-	
L9 1501-1569	- - -					-		-	-	

	BsaJI xx43	xx29	xx42	BssKI (NstNI) xx30 xx43	xx 22	Bpml xx20 xx41 xx44 --> --> <--	BsrFI Cac8 NgoMIV	I Nae	I HaeIII T	sp509I	
VKI											
L24 1601-1669	- - -						-		-	-	
L11 1701-1769	- - -						-		-	-	
L12 1801-1869	- - -						-		-	-	
VKII											
O11 1901-1969	1942 1			943		1944 1	951		1954	-	
O1 2001-2069	2042 204			3		2044 205	1		2054	-	
A17 2101-2169	2142			-		-	2151		2154	-	
A1 2201-2269	2242			-		-	2251		2254	-	
A18 2301-2369	2342			2343		-	2351		2354	-	
A2 2401-2469	2442			2443		-	2451		2454	-	
A19 2501-2569	2542 254			3		2544 255	1		2554	-	
A3 2601-2669	2642 264			3		2644 265	1		2654	-	
A23 2701-2769	2742			-		-	2751		2754	-	
VKIII											
A27 2801-2869	2843			2843 2 822		2841 2 820	-		-	2803	

VKIII										
A11 2901-2969	2943 294	3 294	1 2920	-	-				2903	
L2 3001-3069	3043 304	3 304	1	-	-				-	
L16 3101-3169	3143 314	3 314	1 3120	-	-				-	
L6 3201-3269	3243 324	3 324	1 3220	-	-				3203	
L20 3301-3369	3343 334	3 334	1 3320	-	-				3303	
L25 3401-3469	3443 344	3 344	1 3420	-	-				3403	
VKIV										
B3 3501-3569	3529	3530	3520	-	3554					
VKV										
B2 3601-3669		3643	3641 3620	-	-					
VKVI										
A26 3701-3769		-	3720	-	-				3703	
A10 3801-3869		-	3820	-	-				3803	
A14 3901-3969	3943 394	3 394	1 3920	-	-				-	

Tabla 10 Secuencias GLG de FR1 Lambda

!VL1	
	CAG TCT GTG CTG ACT CAG CCA CCC TCG GTG TCT GAA GCC CCC AGG CAG AGG GTC ACC ATC TCC TGT ! 1a
	cag tct gtg ctg acG cag ccG ccc tcA gtg tct gGG gcc ccA Ggg cag agg gtc acc atc tcc tgC ! 1e
	cag tct gtg ctg act cag cca ccc tcA gCg tct gGG Acc ccc Ggg cag agg gtc acc atc tcT tgt ! 1c
	cag tct gtg ctg act cag cca ccc tcA gCg tct gGG Acc ccc Ggg cag agg gtc acc atc tcT tgt ! 1g
	cag tct gtg Ttg acG cag ccG ccc tcA gtg tct gCG gcc ccA GgA cag aAg gtc acc atc tcc tgC ! 1b
!VL2	CAG TCT GCC CTG ACT CAG CCT CCC TCC GCG TCC GGG TCT CCT GGA CAG TCA GTC ACC ATC TCC TGC ! 2c
	cag tct gcc ctg act cag cct cGc tcA gTg tcc ggg tct cct gga cag tca gtc acc atc tcc tgc! 2e
	cag tct gcc ctg act cag cct Gcc tcc gTg tcT ggg tct cct gga cag tcG Atc acc atc tcc tgc ! 2a2
	cag tct gcc ctg act cag cct ccc tcc gTg tcc ggg tct cct gga cag tca gtc acc atc tcc tgc ! 2d
	cag tct gcc ctg act cag cct Gcc tcc gTg tcT ggg tct cct gga cag tcG Atc acc atc tcc tgc ! 2b2
!VL3	TCC TAT GAG CTG ACT CAG CCA CCC TCA GTG TCC GTG TCC CCA GGA CAG ACA GCC AGC ATC ACC TGC! 3r
	tcc tat gag ctg act cag cca cTc tca gtg tcA gtg Gcc cTG gga cag acG gcc agG atT acc tgT ! 3j
	tcc tat gag ctg acA cag cca ccc tcG gtg tcA gtg tcc cca gga caA acG gcc agG atc acc tgc! 3p
	tcc tat gag ctg acA cag cca ccc tcG gtg tcA gtg tcc cTa gga cag aTG gcc agG atc acc tgc ! 3a

	tCt tCt gag ctg act cag GAC cCt GcT gtg tCt gtg Gcc TTG gga cag aca gTc agG atc acA tgc ! 3l
	tcc tat gTg ctg act cag cca ccc tca gtg tCt gtg Gcc cca gga Aag acG gcc agG atT acc tGT ! 3h
	tcc tat gag ctg acA cag cTa ccc tCg gtg tCt gtg tcc cca gga cag aca gcc agG atc acc tgc ! 3e
	tcc tat gag ctg aTG cag cca ccc tCg gtg tCt gtg tcc cca gga cag acG gcc agG atc acc tgc ! 3m
	tcc tat gag ctg acA cag cca Tcc tca gtg tCt gtg tCt ccG gga cag aca gcc agG atc acc tgc ! V2-19
VL4	CTG CCT GTG CTG ACT CAG CCC CCG TCT GCA TCT GCC TTG CTG GGA GCC TCG ATC AAG CTC ACC TGC ! 4c
	cAg cCt gtg ctg act caA TcA TcC tCt gCt tCt gCt tCC ctg gga Tcc tCg Gtc aag ctc acc tgc ! 4a
	cAg cTt gtg ctg act caA TcG ccC tCt gCt tCt gcc tCC ctg gga gcc tCg Gtc aag ctc acc tgc ! 4b
!VL5	CAG CCT GTG CTG ACT CAG CCA CCT TCC TCC TCC GCA TCT CCT GGA GAA TCC GCC AGA CTC ACC TGC ! 5e
	cag Gct gtg ctg act cag ccG Gct tcc CTc tCt gca tCt cCt gga gCa tCt gcc agT ctc acc tgc ! 5c
	cag cCt gtg ctg act cag cca Tct tcc CAT tCt gca tCt Tct gga gCa tCt gTc aga ctc acc tgc ! 5b
!VL6	AAT TTT ATG CTG ACT CAG CCC CAC TCT GTG TCG GAG TCT CCG GGG AAG ACG GTA ACC ATC TCC TGC ! 6a
!VL7	CAG ACT GTG GTG ACT CAG GAG CCC TCA CTG ACT GTG TCC CCA GGA GGG ACA GTC ACT CTC ACC TGT ! 7a
	cag Gct gtg gtg act cag gag ccc tca ctg act gtg tcc cca gga ggg aca gtc act ctc acc tgt ! 7b
!VL8	CAG ACT GTG GTG ACC CAG GAG CCA TCG TTC TCA GTG TCC CCT GGA GGG ACA GTC ACA CTC ACT TGT ! 8a

ES 2 375 952 T3

! VL9	CAG CCT GTG CTG ACT CAG CCA CCT TCT GCA TCA GCC TCC CTG GGA GCC TCG GTC ACA CTC ACC TGC ! 9a
! VL10	CAG GCA GGG CTG ACT CAG CCA CCC TCG GTG TCC AAG GGC TTG AGA CAG ACC GCC ACA CTC ACC TGC ! 10a

Tabla 11 RERS encontrados en GLG de FR1 lambda humana

! Hay 31 GLG lambda					
Mlyl NnnnnnGACTC			25		
1: 6	3: 6	4: 6	6: 6	7: 6	8: 6
9: 6	10: 6	11: 6	12: 6	15: 6	16: 6
20: 6	21: 6	22: 6	23: 6	23: 50	24: 6
25: 6	25: 50	26: 6	27: 6	28: 6	30: 6
31: 6					
Hay 23 aciertos en la base# 6					
-"- GAGTCNNNNNn			1		
26: 34					
Mwol GCNNNNNnngc			20		
1: 9	2: 9	3: 9	4: 9	11: 9	11: 56
12: 9	13: 9	14: 9	16: 9	17: 9	18: 9
19: 9	20: 9	23: 9	24: 9	25: 9	26: 9
30: 9	31: 9				
Hay 19 aciertos en la base# 9					
Hinfl Gantc			27		
1: 12	3: 12	4: 12	6: 12	7: 12	8: 12
9: 12	10: 12	11: 12	12: 12	15: 12	16: 12
20: 12	21: 12	22: 12	23: 12	23: 46	23: 56
24: 12	25: 12	25: 56	26: 12	26: 34	27: 12

ES 2 375 952 T3

28: 12	30: 12	31: 12			
Hay 23 aciertos en la base# 12					
Plel gactc			25		
1: 12	3: 12	4: 12	6: 12	7: 12	8: 12
9: 12	10: 12	11: 12	12: 12	15: 12	16: 12
20: 12	21: 12	22: 12	23: 12	23: 56	24: 12
25: 12	25: 56	26: 12	27: 12	28: 12	30: 12
31: 12					
Hay 23 aciertos en la base# 12					
-"- gagtc			1		
26: 34					
Ddel Ctnag			32		
1: 14	2: 24	3: 14	3: 24	4: 14	4: 24
5: 24	6: 14	7: 14	7: 24	8: 14	9: 14
10: 14	11: 14	11: 24	12: 14	12: 24	15: 5
15: 14	16: 14	16: 24	19: 24	20: 14	23: 14
24: 14	25: 14	26: 14	27: 14	28: 14	29: 30
30: 14	31: 14				
Hay 21 aciertos en la base# 14					
BsaJI Ccnngg			38		
1: 23	1: 40	2: 39	2: 40	3: 39	3: 40
4: 39	9: 40	5: 39	11: 39	12: 38	12: 39
13: 23	13: 39	14: 23	14: 39	15: 38	16: 39
17: 23	17: 39	18: 23	18: 39	21: 38	21: 39
21: 47	22: 38	22: 39	22: 47	26: 40	27: 39

ES 2 375 952 T3

28: 39	29: 14	29: 39	30: 38	30: 39	30: 47
31: 23	31: 32				
Hay 17 aciertos en la base# 39					
Hay 5 aciertos en la base# 38					
Hay 5 aciertos en la base# 40 Hace la escisión desigual.					
Mn1l cctc			35		
1: 23	2: 23	3: 23	4: 23	5: 23	6: 19
6: 23	7: 19	8: 23	9: 19	9: 23	10: 23
11: 23	13: 23	14: 23	16: 23	17: 23	18: 23
19: 23	20: 47	21: 23	21: 29	21: 47	22: 23
22: 29	22: 35	22: 47	23: 26	23: 29	24: 27
27: 23	28: 23	30: 35	30: 47	31: 23	
Hay 21 aciertos en la base# 23					
Hay 3 aciertos en la base# 19					
Hay 3 aciertos en la base# 29					
Hay 1 acierto en la base# 26					
Hay 1 acierto en la base# 27 Éste podría hacer la escisión desigual.					
-"- gagg			7		
1: 48	2: 48	3: 48	4: 48	27: 44	28: 44
29: 44					
BssKI Nccngg			39		
1: 40	2: 39	3: 39	3: 40	4: 39	9: 40
5: 39	6: 31	6: 39	7: 31	7: 39	8: 39
9: 31	9: 39	10: 39	11: 39	12: 38	12: 52
13: 39	13: 52	14: 52	16: 39	16: 52	17: 39
17: 52	18: 39	18: 52	19: 39	19: 52	21: 38

ES 2 375 952 T3

22: 38	23: 39	24: 39	26: 39	27: 39	28: 39
29: 14	29: 39	30: 38			
Hay 21 aciertos en la base# 39					
Hay 4 aciertos en la base# 38					
Hay 3 aciertos en la base# 31					
Hay 3 aciertos en la base# 40 Desigual					
BstNI CCwgg			30		
1: 41	2: 40	5: 40	6: 40	7: 40	8: 40
9: 40	10: 40	11: 40	12: 39	12: 53	13: 40
13: 53	14: 53	16: 40	16: 53	17: 40	17: 53
18: 40	18: 53	19: 53	21: 39	22: 39	23: 40
24: 40	27: 40	28: 40	29: 15	29: 40	30: 39
Hay 17 aciertos en la base# 40					
Hay 7 aciertos en la base# 53					
Hay 4 aciertos en la base# 39					
Hay 1 acierto en la base# 41 Desigual					
PspGI ccwgg			30		
1: 41	2: 40	5: 40	6: 40	7: 40	8: 40
9: 40	10: 40	11: 40	12: 39	12: 53	13: 40
13: 53	14: 53	16: 40	16: 53	17: 40	17: 53
18: 40	18: 53	19: 53	21: 39	22: 39	23: 40
24: 40	27: 40	28: 40	29: 15	29: 40	30: 39
Hay 17 aciertos en la base# 40					
Hay 7 aciertos en la base# 53					
Hay 4 aciertos en la base# 39					

Hay 1 acierto en la base# 41					
ScrFI CCngg			39		
1: 41	2: 40	3: 40	3: 41	4: 40	4: 41
5: 40	6: 32	6: 40	7: 32	7: 40	8: 40
9: 32	9: 40	10: 40	11: 40	12: 39	12: 53
13: 40	13: 53	14: 53	16: 40	16: 53	17: 40
17: 53	18: 40	18: 53	19: 40	19: 53	21: 39
22: 39	23: 40	29: 40	26: 40	27: 40	28: 40
29: 15	29: 40	30: 39			
Hay 21 aciertos en la base# 40					
Hay 4 aciertos en la base# 39					
Hay 3 aciertos en la base# 41					
MaeIII gtnac			16		
1: 52	2: 52	3: 52	4: 52	5: 52	6: 52
7: 52	9: 52	26: 52	27: 10	27: 52	28: 10
28: 52	29: 10	29: 52	30: 52		
Hay 13 aciertos en la base# 52					
Tsp45I gtsac			15		
1: 52	2: 52	3: 52	4: 52	5: 52	6: 52
7: 52	9: 52	27: 10	27: 52	28: 10	28: 52
29: 10	29: 52	30: 52			
Hay 12 aciertos en la base# 52					
HphI tcacc			26		

ES 2 375 952 T3

1: 53	2: 53	3: 53	4: 53	5: 53	6: 53
7: 53	8: 53	9: 53	10: 53	11: 59	13: 59
14: 59	17: 59	18: 59	19: 59	20: 59	21: 59
22: 59	23: 59	24: 59	25: 59	27: 59	28: 59
30: 59	31: 59				
Hay 16 aciertos en la base# 59					
Hay 10 aciertos en la base# 53					
BspMI ACCTGCNNNNn			14		
11: 61	13: 61	14: 61	17: 61	18: 61	19: 61
20: 61	21: 61	22: 61	23: 61	24: 61	25: 61
30: 61	31: 61				
Hay 14 aciertos en la base# 61 Va en CDR1					

Tabla 12: Emparejamientos con adaptadores URE FR3 en 79 HC humanos.

A. Lista de genes de cadena pesada muestreados				
AF008566 AF	103367	HSA235674	HSU94417	S83240
AF035043 AF1033	68	HSA235673	HSU94418	SABVH369
AF103026 AF	103369	HSA240559	HSU96389	SADEIGVH
af103033 AF	103370	HSCB201	HSU96391	SAH2IGVH
AF103061 af103371		HSIGGVHC	HSU96392	SDA3IGVH
Af103072 AF	103372	HSU44791	HSU96395	SIGVHTTD
af103078 AF	158381	HSU44793	HSZ93849	SUK4IGVH
AF103099 E052	13	HSU82771	HSZ93850	
AF103102 E058	86	HSU82949	HSZ93851	
AF103103 E058	87	HSU82950	HSZ93853	
AF103174 HSA23	5661	HSU82952	HSZ93855	
AF103186 HSA23	5664	HSU82961	HSZ93857	

A. Lista de genes de cadena pesada muestreados				
af103187 HSA23	5660	HSU86522	HSZ93860	
AF103195 HSA23	5659	HSU86523	HSZ93863	
af103277 H	SA235678	HSU92452	MCOMFRAA	
af103286 H	SA235677	HSU94412	MCOMFRVA	
AF103309 HSA23	5676	HSU94415	582745	
af103343 HSA23	5675	HSU94416	S82764	

Tabla 12B. Ensayo de todas los diferentes GLG de las bases 89.1 a 93.2 del dominio variable pesado

Id	Nb	0 1 2			3 4			SEQ ID NO:
1	38	15 11	10		0	2	Seq1 gtgtattactgtgc	25
2	19	7 6 4			2 0	Seq2	gtAtattactgtgc	26
3	1	0 0 1			0 0	Seq3	gtgtattactgtAA	27
4	7	1 5 1			0 0	Seq4	gtgtattactgtAc	28
5	0	0 0 0			0 0	Seq5	Ttgtattactgtgc	29
6	0	0 0 0			0 0	Seq6	TtgtatCactgtgc	30
7	3	1 0 1			1 0	Seq7	ACAAtattactgtgc	31
8	2	0 2 0			0 0	Seq8	ACgtattactgtgc	32
9	9	2 2 4			1 0	Seq9	ATqtattactgtqc	33
Grupo		26	26	21	4	2		
Acumulativo		26 52	73		77 79			

5 Tabla 12C Seqs de reconocimiento de URE más importantes en FR3 pesado

1 V-	Szy 1	GTGtattactgtgc	(ON_SHC103)	(SEQ ID NO:25)
2	VHSzy2	GTAAtattactgtgc	(ON_SHC323)	(SEQ ID NO:26)
3 V-	Szy 4	GTGtattactgtac	(ON_SHC349)	(SEQ ID NO:28)
4 V-	Sz y9	ATGtattactgtgc	(ON_SHC5a)	(SEQ ID NO:33)

Tabla 12D, ensayo de 79 genes HC V humanos con cuatro sondas

Número de secuencias										79
Número de bases										29143
Número de emparejamientos erróneos										
Id	Mejor	0	1	2	3		4	5		
1	39	15	11	10	1	2	0		Seq1 gtgtattactgtgc	(SEQ ID NO:25)
2	22	7	6	5	3	0	1		Seq2 gtAtattactgtgc	(SEQ ID NO:26)
3	7	1	5	1	0	0	0		Seq4 gtgtattactgtAc	(SEQ ID NO:28)
4	11	2	4	4	1	0	0		Seq9 ATgtattactgtgc	(SEQ ID NO:33)
Grupo	25	26	20	5	2					
Acumulativo	25	51	71	76	78					
Una secuencia tiene cinco emparejamientos erróneos con las secuencias 2, 4, y 9; se puntúa como el mejor para 2. Id es el número del adaptador. Mejor es el número de secuencia para la que el adaptador identificado fue el mejor disponible. El resto de la tabla muestra cómo de bien las secuencias se emparejan con los adaptadores. Por ejemplo, hay 10 secuencias que se emparejan con VHSzy1(Id=1 con 2 emparejamientos erróneos y son peores para todos los demás adaptadores. En esta muestra, el 90% vienen en 2 bases de uno de los cuatro adaptadores.										

Tabla 13

La lista siguiente de enzimas se tomó de http://rebase.neb.com/cgi-bin/asymmlist .			
He eliminado las enzimas que a) cortan en el sitio de reconocimiento, b) cortan en ambos lados del sitio de reconocimiento, o c) tienen menos de 2 bases entre el sitio de reconocimiento y el de corte más cercano.			
REBASE Enzimas 04/13/2001			
Enzimas de restricción de Tipo II con secuencias de reconocimiento asimétricas:			
Enzimas	Secuencia de Reconocimiento	Isoesquizómeros	Proveedores
AarI CACCT	GCNNNN^NNNN_	-	y
AceIII CAGCT	CNNNNNNN^NNNN_	-	-
Bbr7I GAAGACNNN	NNNN^NNNN_	-	-
BbvI GCAGCNNNN	NNNN^NNNN_		y
BbvII	GAAGACNN^NNNN_		
Bce83I CTTGAGNNNNNNN	NNNNNNN_NN^_	-	-
BceAI ACGGCNNNN	NNNNNNNN^NN_	-	y
Bcefl ACGGCNNNN	NNNNNNNN^N_	-	-
BciVI GT	ATCCNNNNN_N^	Bful	y
BfiI ACT	GGGNNNN_N^	Bmrl	y
BinI	GGATCNNNN^N_		
BscAI GCAT	CNNNN^NN_	-	-
BseRI GAGCAGNNNNNNN	N_NN^	-	y
BsmFI GGGACNNNNNNNNNN^	NNNN_ BspLU11III		y
BspMI ACCT	GCNNNN^NNNN_	Acc36I	y
Ecil GGCGGANNNNNNN	NN_NN^	-	y
Eco57I CT	GAAGNNNNNNNNNNNNNNN_NN^	BspKT5I	y
FauI CCCGCN	NNN^NN_	BstFZ438I	y
FokI GGAT	GNNNNNNNNN^NNNN_	BstPZ418I	y
GsuI NN	^ CTGGAGNNNNNNNNNNNNNNN_NN^	-	y
HgaI GACGCNNNN	N^NNNNN_	-	y

ES 2 375 952 T3

Enzimas	Secuencia de Reconocimiento	Isoesquizómeros	Proveedores
HphI GGT	GANNNNNNN N^	AsuHPI	y
MboII GAAG	ANNNN NNN_N^	-	y
MlyI GAGT	CNNNNN^	Schl	y
MmeI T	CCRACNNNNNNNNNNNNNNNNNN_NN^	-	-
MnII CCT	CNNNNN_N^	-	y
PleI GAGT	CNNNN^N_	PpsI	y
RleAI CCCACA	NNNNNNNNN_NNN^	-	-
SfaNI GCAT	CNNNNN^NNNN_	BspST5I	y
SspD5I GGT	GANNNNNNNN^	-	-
Sth132I CCCGNN	NN^NNNN_	-	-
StsI GGAT	GNNNNNNNNNN^NNNN_	-	-
TaqII GACCG	ANNNN NNNNN_NN^, CACCCANNNNNNNNN_NN^		-
TthIII CAARCAN	NNNNNNNN_NN^	-	-
UbaPI CGAACG		-	-

La notación es ^ significa corta la cadena superior y _ significa corta la cadena inferior. Si la cadena superior e inferior se cortan en el mismo sitio, sólo aparece ^.

Tabla 14

(FOKlact)	5'-cAcATccgTg TTgTT cAcggATgTg-3' a revoir para los ADN emies
(VHEx881)	5'-AATAGTAGAc TgcAgTgTcc TcAgcccTTA AgcTgTTcAT cTgcAAgTAGAgAgTATTcT TAGAgTTgTc TcTAGAcTTA gTgAAgcg-3'
! obsérvese que	VHEx881 es el complemento inverso del ON siguiente
!	[RC] 5'-cgCttcacTaag-
! Scab.....	.
!	3-23 sintético como en la Tabla 206
!	TCT AGA gac aac tct aag aat act ctc tac ttg cag atg Xbal...
!	aac agC TTA AGg gct gag gac aCT GCA Gtc tac tat t-3' Af1II...
(VHBA881) 5'	-cgCttcacTaag TCT AGA gac aac tct aag aat act ctc tac ttg cag atg aac agC TTA AGg gct gag gac aCT GCA Gtc tac tat tgt gcg ag-3'
(VHBB881) 5'	-cgCttcacTaag TCT AGA gac aac tct aag aat act ctc tac ttg cag atg aac agC TTA AGg gct gag gac aCT GCA Gtc tac tat tgt Acg ag-3'
(VH881PCR) 5'	-cgCttcacTaag TCT AGA gac aac-3'

Tabla 15: Uso de *FokI* como "Enzima de Restricción Universal"

<i>FokI</i> - para ADNds, I representa sitios de secisión
sitios de escisión 5'-cacGGATGtg--nnnnnnn nnnnnnn-3'(SEQ ID NO:15)
3'-gtgCCTACac--nnnnnnnnnnnn nnn-5' (SEQ ID NO:16) RECONO cimiento de <i>FokI</i>
Caso I
5'-...gtg tatt-actgtgc..Sustrato....-3' (SEQ ID NO:17)
3'-cac-ataa tgacacg- gtGTAGGcac\ 5'- caCATCCgtg/ (SEQ ID NO:18)
Caso II
5'-...gtgtatt agac-tgc..Sustrato....-3' (SEQ ID NO:19)
/gtgCCTACac cacataa-tctg acg-5' \cacGGATGtg-3' (SEQ ID NO:20)
Caso III (Caso I girado 180 grados)
/gtgCCTACac-5' \cacGGATGtg- gtgtctt acag-tcc-3' Adaptador (SEQ ID NO:21)
3'-...cacagaa-tgtc agg..sustrato....-5' (SEQ ID NO:22)
Caso IV (Caso II girado 180 grados)
3'- gtGTAGGcac\ (SEQ ID NO:23) caCATCCgtg/ 5'-gag tctc-actgagc
Sustrato 3'-...ctc-agag tgactcg....-5' (SEQ ID NO:24)
Adaptadores <i>FokI</i> mejorados
<i>FokI</i> - para ADNds, I representa sitios de secisión
Caso I
Tallo 11, bucle 5, tallo 11, reconocimiento 17

5'-...catgtg tatt-actgtgc.. Sustrato-3' 3'-gtacac-<u>ataa</u> tgacacg┐ gtGTAGGcacG T 5'- caCATCCgtgc C └TT┘
Caso II
Tallo 10, bucle 5, tallo 10, reconocimiento 18
5'-...gtgtatt agac-tgctgcc.. Sustrato-3' rT┐ ┌c<u>acataa</u>-tctg acgacgg-5' T gtgCCTACac C cacGGATGtg-3' lTT┘
Caso III (Caso I girado 180 grados)
Tallo 11, bucle 5, tallo 11, reconocimiento 20
r T┐ T TgtgCCTACac-5' G AcacGGATG┐ lTT┘ <u>gtgtctt</u> acag-tccattctg-3' Adaptador 3'-...cacagaa-tgtc aggtaagac.. sustrato-5'
Caso IV (Caso II girado 180 grados)
Tallo 11, bucle 4, tallo 11, reconocimiento 17
rT┐ 3'- gtGTAGGcac T ┌caCATCCgtgg T lT┘ 5'-atcgag <u>tctc-actgagc</u> Sustrato 3'-...tagctc-agag tgactcg...-5'
BseRI
sitios de escisión 5'-cacGAGGAGnnnnnnnnnnn nnnnn-3' 3'-gtg<u>ctcctc</u>nnnnnnnnnn nnnnnn-5' RECONO cimiento de BseRI
Tallo 11, bucle 5, tallo 11, reconocimiento 19
3'-.....gaacat cg-ttaagccagta.....5' rT-T┐ ctgtga-gc aatcgggtcat-3' C GCTGAGGAGTC-┐ T cgactcctcag-5' Un adaptador para BseRI para escindir el sustrato anterior. lT┘

Tabla 16 Cadenas pesadas humanas bases 88.1 a 94.2

Número de secuencias		Número de emparejamientos erróneos										Sonda		Forma punteada	
..... 840												Secuencia	Nombre	VHS	Forma punteada
Id	Ntot	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9				
1	364	152	97	76	26	7	4	2	0	0	0	gctgtgtattactgtgcgag	VHS881-1.1	gctgtgtattactgtgcgag	gctgtgtattactgtgcgag
2	265	150	60	33	13	5	4	0	0	0	0	gccgtgtattactgtgcgag	VHS881-1.2	gccgtgtattactgtgcgag	..c.....
3	96	14	34	16	10	5	7	9	1	1	1	gccgtgtattactgtgcgag	VHS881-2.1	gccgtgtattactgtgcgag	..c..a.....
4	20	0	3	4	9	2	2	0	0	0	0	gccgtgtattactgtgcgag	VHS881-4.1	gccgtgtattactgtgcgag	..c.....a....
5	95	25	36	18	11	2	2	0	1	1	1	gccatgtattactgtgcgag	VHS881-9.1	gccatgtattactgtgcgag	..ca.....
840	341	230	147	69	21	19	11	2	2	2	2				
	341	571	718	787	808	827	838	840							

88 89 90 91 92 93 94 95 Número de codón como en la Tabla 195

Reconocimiento		Tallo		Bucle		Tallo	
.....							
(VHS881-1.1)	5'-gctgtgtat tact-gtgcgag	cAcATccgTg		TTgTT		cAcggATgTg-3'	
(VHS881-1.2)	5'-gccgtgtat tact-gtgcgag	cAcATccgTg		TTgTT		cAcggATgTg-3'	
(VHS881-2.1)	5'-gccgtgtat tact-gtgcgag	cAcATccgTg		TTgTT		cAcggATgTg-3'	
(VHS881-4.1)	5'-gccgtgtat tact-gtgcgag	cAcATccgTg		TTgTT		cAcggATgTg-3'	
(VHS881-9.1)	5'-gccatgtat tact-gtgcgag	cAcATccgTg		TTgTT		cAcggATgTg-3'	

| sitio de escisión del sustrato

(FOK)act) 5'-cAcATccgTg TTgTT cAcggATgTg-3'

(VHEx881) 5'-AAATAgTAgAc TgcAgTgTcc TcAgcccTTA AgcTgTTcAT cTgcAAgTAg-
AgAgTATTcT TAgAgTTgTc TcTAgAcTTA gTgAAgcg-3'

! obsérvese que VHEx881 es el complemento inverso del ON siguiente

! [RC] 5'-cgCttcacTaag-

! Scab.....

! 3-23 sintético como en la Tabla 206

! |TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|tug|cag|atg|-

! XbaI...

! |aac|agc|TTA|AGg|gct|gag|gac|aCT|GCA|Gtc|tac|tat|t-3'

! AIII...
(VHBA881) 5'-cgCttcacTaag-
 |TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|tgg|cag|atg|-
 |aac|agC|TTA|AGg|gct|gag|gac|aCT|GCA|Gtc|tac|tat|tgt|gcg|ag-3'
(VHBB881) 5'-cgCttcacTaag-
 |TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|tgg|cag|atg|-
 |aac|agC|TTA|AGg|gct|gag|gac|aCT|GCA|Gtc|tac|tat|tgt|Acg|ag-3'
(VH881PCR) 5'-cgCttcacTaag|TCT|AGA|gac|aac-3'

Tabla 17: Kappa, bases 12-30

ID	Ntot	0	1	2	3	4	5	6	Nombre	Secuencia	Forma punteada
1	84	40	21	20	1	2	0	0	SK12O12	gaccagcttcacatccc	gaccagcttcacatccc
2	32	19	3	6	2	1	0	1	SK12A17	gactcagcttcacatccc	...t.....ct....
3	26	17	8	1	0	0	0	0	SK12A27	gacgcagcttcaggcacc	...g.....gg.a...
4	40	21	18	1	0	0	0	0	SK12A11	gacgcagcttcaggcacc	...g.....g.a...
1	182	97	50	28	3	3	0	1			
1	97	147	175	178	181	181	182				
Adaptadores URE:											
TalloBucle. Tallo Reconocimiento											
(SzKB1230-O12)	5'-cAcATccgTg TTgTT cAcggATgTg ggAggATggAgAcTgggTc-3'										
[RC]	5'-gaccagcttcacatccc cAcATccgTg AAcAA cAcggATgTg-3'										
Reconocimiento TalloBucle. Tallo											
FokI. FokI.											
TalloBucle. Tallo Reconocimiento											
(SzKB1230-A17)	5'-cAcATccgTg TTgTT cAcggATgTg ggAggATggAgAcTggTc-3'										
[RC]	5'-gactcagcttcacatccc cAcATccgTg AAcAA cAcggATgTg-3'										
Reconocimiento TalloBucle. Tallo											
FokI. FokI.											
TalloBucle. Tallo Reconocimiento											
(SzKB1230-A27)	5'-cAcATccgTg TTgTT cAcggATgTg ggTgccTggAgAcTggTc-3'										
[RC]	5'-gacgcagcttcaggcacc cAcATccgTg AAcAA cAcggATgTg-3'										
Reconocimiento TalloBucle. Tallo											
FokI. FokI.											
TalloBucle. Tallo Reconocimiento											
(SzKB1230-A11)	5'-cAcATccgTg TTgTT cAcggATgTg ggTggcTggAgAcTggTc-3'										
[RC]	5'-gacgcagcttcaggcacc cAcATccgTg AAcAA cAcggATgTg-3'										
Reconocimiento TalloBucle. Tallo											

	FokI.	FokI.
Qué pasa en la cadena superior:		
(S2KB1230-O12*)	5'-gac cca gtc tcc a-tc ctc c-3' Sitio de escisión en el sustrato	
(S2KB1230-A17*)	5'-gac tca gtc tcc a-ct ctc c-3'	
(S2KB1230-A27*)	5'-gac gca gtc tcc a-gg cac c-3'	
(S2KB1230-A11*)	5'-gac gca gtc tcc a-gc cac c-3'	
(kapextURE)	5'-ccTctactctTgTcAcAgTgcAcAA gAc ATc cAg-3' ! cadena con sentido Scab.....ApaLI.	
(kapextUREPCR)	5'-ccTctactctTgTcAcAgTg-3' Scab.....	
(kaBR01UR)	5'-ggAggATggA cTggATgTcT TgTgcAcTgT gAcAAGAgTA gAgg-3'	
[RC]	5'-ccTctactctTgTcAcAgTgcAcAA gAc ATc cAg tcc a-tc ctc c-3' ON anterior es R.C. de éste	
(kaBR02UR)	5'-ggAgAgTggA cTggATgTcT TgTgcAcTgT gAcAAGAgTA gAgg-3'	
[RC]	5'-ccTctactctTgTcAcAgTgcAcAA gAc ATc cAg tcc a-ct ctc c-3' ON anterior es R.C. de éste	
(kaBR03UR)	5'-ggTgccTggA cTggATgTcT TgTgcAcTgT gAcAAGAgTA gAgg-3'	
[RC]	5'-ccTctactctTgTcAcAgTgcAcAA gAc ATc cAg tcc a-gg cac c-3' ON anterior es R.C. de éste	
(kaBR04UR)	5'-ggTggcTggA cTggATgTcT TgTgcAcTgT gAcAAGAgTA gAgg-3'	
[RC]	5'-ccTctactctTgTcAcAgTgcAcAA gAc ATc cAg tcc a-gc cac c-3' ON anterior es R.C. de éste Scab.....ApaLI.	

Tabla 18 Adaptadores URE de Lambda bases 13.3 a 19.3

Número de secuencias 128									
Número de emparejamientos erróneos									
Id	Nrot	0	1	2	3	4	5	6	7 8 Nombre Secuencia Forma punteada
1	58	45	7	1	0	0	2	2	1 · VL133-2a2 gtctctgggacagtcgac gtctctgggacagtcgac
2	16	10	1	0	1	0	1	0	2 VL133-3l ggccctgggacagacagtc ·g·cttg.....a.ag.
3	17	6	0	0	4	1	1	5	0 VL133-2c gtctctgggacagtcagtcag.
4	37	3	0	10	4	4	3	7	4 2 VL133-1c ggcccccaggaggggc ·g·c..g..ag.g.
128	64	8	11	5	8	5	11	11	5
64	72	83	88	96	101	112	123	128	
Tallos Bucle . Tallo Reconocimiento									
(VL133-2a2) 5'-cAcATccgTg TTgTT cAcgATgTg gAcTgTcTgTccAaggAgAc-3'									
[RC] 5'-gtctctgggacagtcacAcATccgTg AAcAA cAcgATgTg-3'									
Reconocimiento Tallo Bucle . Tallo									
Tallos Bucle . Tallo Reconocimiento									
(VL133-3l) 5'-cAcATccgTg TTgTT cAcgATgTg gAcTgTcTgTccAaggcc-3'									
[RC] 5'-ggccctgggacagacagtc cAcATccgTg AAcAA cAcgATgTg-3'									
Reconocimiento Tallo Bucle . Tallo									
Tallos Bucle . Tallo Reconocimiento									
(VL133-2c) 5'-cAcATccgTg TTgTT cAcgATgTg gAcTgTcTgTccAaggAgAc-3'									
[RC] 5'-gtctctgggacagtcacAcATccgTg AAcAA cAcgATgTg-3'									
Reconocimiento Tallo Bucle . Tallo									
Tallos Bucle . Tallo Reconocimiento									
(VL133-1c) 5'-cAcATccgTg TTgTT cAcgATgTg gAcTcTgcccTggggcc-3'									
[RC] 5'-ggcccccaggaggggc cAcATccgTg AAcAA cAcgATgTg-3'									

Qué pasa en la cadena superior:

```

!           | sitio de escisión en la cadena superior
(VL133-2a2*) 5'-g tct cct g|ga cag tcg atc
!
(VL133-3l*) 5'-g gcc ttg g|ga cag aca gtc
!
(VL133-2c*) 5'-g tct cct g|ga cag tca gtc
!
(VL133-1c*) 5'-g gcc cca g|gg cag agg gtc
!
! Los Extensores y Puentes siguientes codifican todos la secuencia de AA de 2a2 para los codones 1-15
!           1
(ON_LamEx133) 5'-ccTcTgAcTgAgT gcA cAg -
!
!       2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
!       AGt gcT TtA acC caA ccG gcT AGT gtT AGC ggT-
!
!       13 14 15
!       tcC ccG g! 2a2
!           1
(ON_LamB1-133) [RC] 5'-ccTcTgAcTgAgT gcA cAg -
!
!       2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
!       AGt gcT TtA acC caA ccG gcT AGT gtT AGC ggT-
!
!       13 14 15
!       tcC ccG g ga cag tcg at-3'! 2a2 N.B. la seq precisa es el
!                               complemento inverso de
!                               la mostrada
!
(ON_LamB2-133) [RC] 5'-ccTcTgAcTgAgT gcA cAg -
!
!       2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
!       AGt gcT TtA acC caA ccG gcT AGT gtT AGC ggT-
!
!       13 14 15
!       tcC ccG g ga cag aca gt-3'! 3l N.B. la seq precisa es el
!                               complemento inverso de
!                               la mostrada
!
(ON_LamB3-133) [RC] 5'-ccTcTgAcTgAgT gcA cAg -
!
!       2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
!       AGt gcT TtA acC caA ccG gcT AGT gtT AGC ggT-
!
!       13 14 15
!       tcC ccG g ga cag tca gt -3'! 2c N.B. la seq precisa es el :
!                               complemento inverso de
!                               la mostrada
!
(ON_LamB4-133) [RC] 5'-ccTcTgAcTgAgT gcA cAg -

```

```

!
!
      2   3   4   5   6   7   8   9   10  11  12
AGt gct TtA acC caA ccG gct AGT gtT AGC ggT-s
!
!
      13  14  15
tcC ccG g gg cag agg gt-3' ! 1c N.B. la seq precisa es el
!                                     complemento inverso de
!                                     la mostrada
!
!
(ON_Lam133PCR) 5'-ccTcTgAcTgAgT gcA cAg AGt gc-3'

```

Tabla 19: Escisión de 75 cadenas ligeras humanas.

Enzima	Reconocimiento*	Nch	Ns	Localización planeada del sitio
AfeI AGCgct		0	0	
AflII Cttaag		0	0	HC FR3
AgeI Accggt		0	0	
AscI	GGcgcgcc	0	0	Después de LC
BglII Agatct		0	0	
BsiWI Cgtacg		0	0	
BspDI AT	cgat	0	0	
BssHII Gcgcg		0	0	
BstBI T	Tcgaa	0	0	
DraIII CACNNNGtg		0	0	
EagI Cggcc	g	0	0	
FseI GGCCGGcc		0	0	
FspI T	GCgca	0	0	
HpaI GT	Taac	0	0	
MfeI Caattg		0	0	HC FR1
MluI Acgctg		0	0	
NcoI	Ccatgg	0	0	Señal de cadena pesada
NheI	Gctagc	0	0	HC/conector de anclaje
NotI	GCggccgc	0	0	In conector después de HC
NruI T	CGcga	0	0	

ES 2 375 952 T3

Enzima	Reconocimiento*	Nch	Ns	Localización planeada del sitio
PacI T	TAATtaa	0	0	
PmeI GT	TTaaac	0	0	
PmlI CACgtg		0	0	
PvuI CGAT	cg	0	0	
SacII CCGCgg		0	0	
Sall Gtcgac		0	0	
SfiI	GGCCNNNNnggcc	0	0	Señal de Cadena Pesada
Sgfi GCGA	Tcgc	0	0	
SnaBI T	ACgta	0	0	
StuI AGGcct		0	0	
XbaI T	ctaga	0	0	HC FR3
AatII GACG	Tc	1	1	
AclI AACgtt		1	1	
AseI AT	taat	1	1	
BsmI GAAT	GCN	1	1	
BspEI T	ccgga	1	1	HC FR1
BstXI CCANN	NNNTGG	1	1	HC FR2
DrdI GACNNNN	nngtc	1	1	
HindIII Aagctt		1	1	
PciI Acatgt		1	1	
SapI gaa	gagc	1	1	
Scal AGT	act	1	1	
SexAI Acc	wggt	1	1	
SpeI Actagt		1	1	
TliI Ctcgag		1	1	
XhoI Ctcgag		1	1	

ES 2 375 952 T3

Enzima	Reconocimiento*	Nch	Ns	Localización planeada del sitio
BcgI cgan	nnnnntgc	2	2	
BlpI GCtnagc		2	2	
BssSI Ctcgtg		2	2	
BstAPI GCANNNN	ntgc	2	2	
Espl GCtnagc		2	2	
KasI Ggcgcc		2	2	
PfiMI CCANN	NNntgg	2	2	
XmnI GAANNnnttc		2	2	
ApaLI	Gtgcac	3	3	seq señal LC
NaeI GCCggc		3	3	
NgoMI Gccggc		3	3	
PvuII CAGctg		3	3	
RsrII CGg	wccg	3	3	
BsrBI GAGcgg		4	4	
BsrDI GCAATGNNn		4	4	
BstZ17I GT	Atac	4	4	
EcoRI Gaattc		4	4	
SphI GCAT	Gc	4	4	
SspI AAT	att	4	4	
AccI GT	mkac	5	5	
BclI T	gatca	5	5	
BsmBI Nnn	nnngagacg	5	5	
BsrGI T	gtaca	5	5	
Oral T	TTaaa	6	6	
NdeI CATatg		6	6	HC FR4
SwaI AT	TTaaat	6	6	

ES 2 375 952 T3

Enzima	Reconocimiento*	Nch	Ns	Localización planeada del sitio
BamHI Ggatcc		7	7	
SacI GAGC	Tc	7	7	
BciVI GT	ATCCNNNNNN	8	8	
BsaBI GAT	NNnnatc	8	8	
NsiI ATGCA		8	8	
Bsp120I Gggccc		9	9	CH1
ApaI GGGCCc		9	9	CH1
PspOOM1 Gggccc		9	9	
BspHI T	catga	9	11	
EcoRV GAT	atc	9	9	
AhdI GACNNNn	ngtc	11	11	
BbsI GAAGAC		11	14	
PsiI T	TAtaa	12	12	
BsaI GGT	CTCNnnnn	13	15	
XmaI Cccgg	g	13	14	
AvaI C	ycgrg	14	16	
BglI GCCNNN	Nnggc	14	17	
AlwNI CAGNNNctg		16	16	
BspMI ACCT	GC	17	19	
XcmI CCANN	NNNnnntgg	17	26	
BstEII Ggtnacc		19	22	HC FR4
Sse8387I CCT	GCAgg	20	20	
AvrII Cctagg		22	22	
HincII GT	Yrac	22	22	
BsgI GT	GCAG	27	29	
MscI TGGcca		30	34	

Enzima	Reconocimiento*	Nch	Ns	Localización planeada del sitio
BseRI NNnn	nnnnnnctcctc	32	35	
Bsu36I CCtna	gg	35	37	
PstI CT	GCAg	35	40	
Ecil nnn	nnnnntccgcc	38	40	
PpuMI RGg	wccy	41	50	
StyI Cc	wwgg	44	73	
EcoO109I RGgncc	y	46	70	
Acc65I Ggtacc		50	51	
KpnI GGT	ACc	50	51	
BpmI ctccag		53	82	
Avall Gg	wcc	71	124	
* la escisión se produce en la cadena superior después de la última base en mayúsculas. Para RE que cortan secuencias palindrómicas, la cadena inferior se corta en el sitio simétrico.				

Tabla 20: Escisión de 79 cadenas pesadas humanas

Enzima	Reconocimiento	Nch	Ns	Localización planeada del sitio
AfeI AGCgct		0	0	
AflII	Cttaag	0	0	HC FR3
AscI	GGcgcgcc	0	0	Después de LC
BsiWI Cgtacg		0	0	
BspDI AT	cgat	0	0	
BssHII Gcgcg		0	0	
FseI GGCCGGcc		0	0	
HpaI GT	Taac	0	0	
NheI	Gctagc	0	0	Conector HC
NotI	Gcggccgc	0	0	En conector, HC/anclaje
NruI T	CGcga	0	0	

Enzima	Reconocimiento	Nch	Ns	Localización planeada del sitio
Nsil ATGCA		0	0	
PacI T	TAATtaa	0	0	
PciI Acatgt		0	0	
PmeI GT	TTaaac	0	0	
PvuI CGAT	cg	0	0	
RsrII CGg	wccg	0	0	
SapI gaa	gagc	0	0	
SfiI	GGCCIJNNNnggcc	0	0	Seq señal HC
SgfI GCGA	Tcgc	0	0	
Swal AT	TTaat	0	0	
AclI AACgtt		1	1	
AgeI Accggt		1	1	
AseI AT	taat	1	1	
AvrII Cctagg		1	1	
BsmI GAAT	GCN	1	1	
BsrBI GAGcgg		1	1	
BsrDI GCAATGN	Nn	1	1	
DraI T	TTaaa	1	1	
FspI T	GCgca	1	1	
HindIII Aagctt		1	1	
MfeI	Caattg	1	1	HC FR1
NaeI GCCggc		1	1	
NgoMI Gccggc		1	1	
SpeI Actagt		1	1	
Acc65I Ggtacc		2	2	
BstBI T	Tcgaa	2	2	

Enzima	Reconocimiento	Nch	Ns	Localización planeada del sitio
KpnI GGT	ACc	2	2	
MluI Acgctg		2	2	
NcoI	Ccatgg	2	2	Seq señal En HC
NdeI	CAtatg	2	2	HC FR4
PmlI CACgtg		2	2	
XcmI CCANN	NNNnnntgg	2	2	
BcgI cgan	nnnnntgc	3	3	
BclI T	gatca	3	3	
BglI GCCNNN	Nnggc	3	3	
BsaBI GAT	NNnnatc	3	3	
BsrGI T	gtaca	3	3	
SnaBI T	ACgta	3	3	
Sse8387I CCT	GCAgg	3	3	
ApaLI	Gtgcac	4	4	Señal LC/FR1
BspHI T	catga	4	4	
BssSI Ctcgtg		4	4	
PsiI T	TATAa	4	5	
SphI GCAT	Gc	4	4	
AhdI GACNNNn	ngtc	5	5	
BspEI	Tccgga	5	5	HC FR1
MscI TGGcca		5	5	
SacI GAGC	Tc	5	5	
ScaI AGT	act	5	5	
SexAI Acc	wggt	5	6	
SspI AAT	att	5	5	
TliI Ctcgag		5	5	

ES 2 375 952 T3

Enzima	Reconocimiento	Nch	Ns	Localización planeada del sitio
XhoI Ctcgag		5	5	
BbsI GAAGAC		7	8	
BstAPI GCANNNN	ntgc	7	8	
BstZ17I GT	Atac	7	7	
EcoRV GAT	atc	7	7	
EcoRI Gaattc		8	8	
BlnI GCtnagc		9	9	
Bsu36I CCtna	gg	9	9	
DraIII CACNNNgtg		9	9	
EspI GCtnagc		9	9	
StuI AGGcct		9	13	
XbaI	Tctaga	9	9	HC FR3
Bsp120I	Gggccc	10	11	CH1
ApaI	GGGCCc	10	11	CH1
PspOoMI Gggccc		10	11	
BciVI GT	ATCCNNNNNN	11	11	
Sall Gtcgac		11	12	
DrdI GACNNNN	nngtc	12	12	
KasI Ggcgcc		12	12	
XmaI Cccgg	g	12	14	
BglII Agatct		14	14	
HincII GT	Yrac	16	18	
BamHI Ggatcc		17	17	
PfiMI CCANN	NNntgg	17	18	
BsmBI Nnn	nnngagacg	18	21	
BstXI	CCANNNNNntgg	18	19	HC FR2

ES 2 375 952 T3

Enzima	Reconocimiento	Nch	Ns	Localización planeada del sitio
XmnI GAANNnnttc		18	18	
SacII CCGCgg		19	19	
PstI CT	GCAg	20	24	
PvuII CAGctg		20	22	
AvaI C	ycgrg	21	24	
EagI Cggcc	g	21	22	
AatII GACG	Tc	22	22	
BspMI ACCT	GC	27	33	
AccI GT	mkac	30	43	
StyI Cc	wwgg	36	49	
AlwNI CAGNNNcgg		38	44	
BsaI GGT	CTCNnnnn	38	44	
PpuMI RGg	wccy	43	46	
BsgI GT	GCAG	44	54	
BseRI NNnn	nnnnnnctcctc	48	60	
Ecil nnn	nnnnnntccgcc	52	57	
BstEII	Ggtnacc	54	61	HC Fr4, 47/79 tienen uno
EcoO109I RGgncc	y	54	86	
BpmI ctccag		60	121	
Avall Gg	wcc	71	140	

Tabla 21: MALIA3, anotado

! MALIA3 9532 bases

```

-----
1 aat gct act act att agt aga att gat gcc acc ttt tca gct cgc gcc
! gene ii continued
49 cca aat gaa aat ata gct aaa cag gtt att gac cat ttg cga aat gta
97 tct aat ggt caa act aaa tct act cgt tcg cag aat tgg gaa tca act
145 gtt aca tgg aat gaa act tcc aga cac cgt act tta gtt gca tat tta
193 aaa cat gtt gag cta cag cac cag att cag caa tta agc tct aag cca
241 tcc gca aaa atg acc tct tat caa aag gag caa tta aag gta ctc tct
289 aat cct gac ctg ttg gag ttt gct tcc ggt ctg gtt cgc ttt gaa gct
337 cga att aaa acg cga tat ttg aag tct ttc ggg ctt cct ctt aat ctt
385 ttt gat gca atc cgc ttt gct tct gac tat aat agt cag ggt aaa gac
433 ctg att ttt gat tta tgg tca ttc tcg ttt tct gaa ctg ttt aaa gca
481 ttt gag ggg gat tca ATG aat att tat gac gat tcc gca gta ttg gac
! RBS?..... Start gene x, ii continues
529 gct atc cag tct aaa cat ttt act att acc ccc tct ggc aaa act tct
577 ttt gca aaa gcc tct cgc tat ttt ggt ttt tat cgt cgt ctg gta aac
625 gag ggt tat gat agt gtt gct ctt act atg cct cgt aat tcc ttt tgg
673 cgt tat gta tct gca tta gtt gaa tgt ggt att cct aaa tct caa ctg
721 atg aat ctt tct acc tgt aat aat gtt gtt ccg tta gtt cgt ttt att
769 aac gta gat ttt tct tcc caa cgt cct gac tgg tat aat gag cca gtt
817 ctt aaa atc gca TAA
! End X & II
832 ggtaattca ca
!
! M1 E5 Q10 T15
843 ATG att aaa gtt gaa att aaa cca tct caa gcc caa ttt act act cgt
! Start gene V
!
! S17 S20 P25 E30
891 tct ggt gtt tct cgt cag ggc aag cct tat tca ctg aat gag cag ctt
!
! V35 E40 V45
939 tgt tac gtt gat ttg ggt aat gaa tat ccg gtt ctt gtc aag att act
!
! D50 A55 L60
987 ctt gat gaa ggt cag cca gcc tat gcg cct ggt cTG TAC Acc gtt cat
! BsrGI...
! L65 V70 S75 R80
1035 ctg tcc tct ttc aaa gtt ggt cag ttc ggt tcc ctt atg att gac cgt
!
! P85 K87 end of V
1083 ctg cgc ctc gtt ccg gct aag TAA C
!
! 1108 ATG gag cag gtc gcg gat ttc gac aca att tat cag gcg atg
! Start gene VII
!
! 1150 ata caa atc tcc gtt gta ctt tgt ttc gcg ctt ggt ata atc
!
! VII and IX overlap.
! ..... S2 V3 L4 V5 S10
1192 gct ggg ggt caa agA TGA gt gtt tta gtg tat tct ttc gcc tct ttc gtt
! End VII
! Istart IX
! L13 W15 G20 T25 E29
1242 tta ggt tgg tgc ctt cgt agt ggc att acg tat ttt acc cgt tta atg gaa

```

```

!
! 1293 act tcc tc
!
!      .... parada de IX, IX y VIII superposición por cuatro bases
! 1301 ATG aaa aag tct tta gtc ctc aaa gcc tct gta gcc gtt gct acc ctc
!      Secuencia señal de comienzo de viii.
!
! 1349 gtt ccg atg ctg tct ttc gct gct gaa qgt gac gat ccc gca aaa gcg
!      VIII madura --->
! 1397 gcc ttt aac tcc ctg caa gcc tca gcg acc gaa tat atc ggt tat gcg
! 1445 tgg gcg atg gtt gtt gtc att
! 1466 gtc ggc gca act atc ggt atc aag ctg ttt aag
! 1499 aaa ttc acc tcg aaa gca ! 1515
!      ..... -35 ..
!
! 1517      agc tga taaaccgat acaattaaag gctccttttg
!      ..... -10 ...
!
! 1552 gagccttttt ttttGGAGAt ttt ! S.D. subrayado
!
!      <----- III      secuencia señal      ----->
!      M   K   K   L   L   F   A   I   P   L   V
! 1575 caac GTG aaa aaa tta tta ttc gca att cct tta gtt ! 1611
!
!      V   P   F   Y   S   H   S   A   Q
! 1612 gtt cct ttc tat tct cac aGT gcA Cag tCT
!      ApaLI...
!
! 1642      GTC GTG ACG CAG CCG CCC TCA GTG TCT GGG GCC CCA GGG CAG
!      AGG GTC ACC ATC TCC TGC ACT GGG AGC AGC TCC AAC ATC GGG GCA
!      BstEII...
! 1729 GGT TAT GAT GTA CAC TGG TAC CAG CAG CTT CCA GGA ACA GCC CCC AAA
! 1777 CTC CTC ATC TAT GGT AAC AGC AAT CGG CCC TCA GGG GTC CCT GAC CGA
! 1825 TTC TCT GGC TCC AAG TCT GGC ACC TCA GCC TCC CTG GCC ATC ACT
! 1870 GGG CTC CAG GCT GAG GAT GAG GCT GAT TAT
! 1900 TAC TGC CAG TCC TAT GAC AGC AGC CTG AGT
! 1930 GGC CTT TAT GTC TTC GGA ACT GGG ACC AAG GTC ACC GTC
!      BstEII...
! 1969 CTA GGT CAG CCC AAG GCC AAC CCC ACT GTC ACT
! 2002 CTG TTC CCG CCC TCC TCT GAG GAG CTC CAA GCC AAC AAG GCC ACA CTA
! 2050 GTG TGT CTG ATC AGT GAC TTC TAC CCG GGA GCT GTG ACA GTG GCC TGG
! 2098 AAG GCA GAT AGC AGC CCC GTC AAG GCG GGA GTG GAG ACC ACC ACA CCC
! 2146 TCC AAA CAA AGC AAC AAC AAG TAC GCG GCC AGC AGC TAT CTG AGC CTG
! 2194 ACG CCT GAG CAG TGG AAG TCC CAC AGA AGC TAC AGC TGC CAG GTC ACG
! 2242 CAT GAA GGG AGC ACC GTG GAG AAG ACA GTG GCC CCT ACA GAA TGT TCA
! 2290 TAA TAA ACCG CCTCCACCGG GCGCGCCAAT TCTATTTCAA GGAGACAGTC ATA
!      AscI.....
!
!      PelB señal ----->
!      M   K   Y   L   L   P   T   A   A   A   G   L   L   L   L
! 2343 ATG AAA TAC CTA TTG CCT ACG GCA GCC GCT GGA TTG TTA TTA CTC
!
!      16 17 18 19 20      21 22
!      A  A  Q  P  A      M  A
! 2388 gcG GCC cag ccG GCC      atq gcc
!      SfiI.....
!      NgoMI... (1/2)
!      NcoI.....
!

```

```

2409      FR1(DP47/V3-23)-----
          23  24  25  26  27  28  29  30
          E   V   Q   L   L   E   S   G
          gaa|gtt|CAA|TTG|tta|gag|tct|ggt|
              | MfeI |

-----FR1-----
          31  32  33  34  35  36  37  38  39  40  41  42  43  44  45
          G   G   L   V   Q   P   G   G   S   L   R   L   S   C   A
2433      |ggc|ggt|ctt|ggt|cag|cct|ggt|ggt|tct|tta|cgt|ctt|tct|tgc|gct|

-----FR1----->|...CDR1.....|---FR2-----
          46  47  48  49  50  51  52  53  54  55  56  57  58  59  60
          A   S   G   F   T   F   S   S   Y   A   M   S   W   V   R
2478      |gct|TCC|GGA|ttc|act|ttc|tct|tCG|TAC|Gct|atg|tct|tgg|ggt|cgC|
              | BspEI |                      | BsiWI |                      |BstXI.

-----FR2----->|...CDR2.....
          61  62  63  64  65  66  67  68  69  70  71  72  73  74  75
          Q   A   P   G   K   G   L   E   W   V   S   A   I   S   G
2523      |CAa|gct|ccT|GGt|aaa|ggt|ttg|gag|tgg|ggt|tct|gct|atc|tct|ggt|
          ...BstXI |

.....CDR2.....|---FR3---
          76  77  78  79  80  81  82  83  84  85  86  87  88  89  90
          S   G   G   S   T   Y   Y   A   D   S   V   K   G   R   F
2568      |tct|ggt|ggc|agt|act|tac|tat|gct|gac|tcc|ggt|aaa|ggt|cgc|ttc|

-----FR3-----
          91  92  93  94  95  96  97  98  99  100  101  102  103  104  105
          T   I   S   R   D   N   S   K   N   T   L   Y   L   Q   M
2613      |act|atc|TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|
              | XbaI |

-----FR3----->|
          106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120
          N   S   L   R   A   E   D   T   A   V   Y   Y   C   A   K
2658      |aac|agC|TTA|AGg|gct|gag|gac|aCT|GCA|Gtc|tac|tat|tgc|gct|aaa|
              |AflIII |                      | PstI |

.....CDR3.....|---FR4-----
          121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133 134 135
          D   Y   E   G   T   G   Y   A   F   D   I   W   G   Q   G
2703      |gac|tat|gaa|ggt|act|ggt|tat|gct|ttc|gaC|ATA|TGg|ggt|caa|ggt|
              | NdeI | (1/4)

-----FR4----->|
          136 137 138 139 140 141 142
          T   M   V   T   V   S   S
2748      |act|atG|GTC|ACC|gtc|tct|agt
              | BstEII |

```

Desde BstEII hacia adelante, pV323 es el mismo que pCES1, excepto como se indica. Los sitios BstEII pueden aparecer en cadenas ligeras; no es probable que sean únicos en el vector final.

```

!
!
!           143 144 145 146 147 148 149 150 151 152
!           A   S   T   K   G   P   S   V   F   P
2769      gcc tcc acc aaG GGC CCa tcg GTC TTC ccc
!           Bsp120I.      BbsI...(2/2)
!           ApaI....
!
!           153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165 166 167
!           L   A   P   S   S   K   S   T   S   G   G   T   A   A   L
2799      ctg gca ccC TCC TCc aag agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg
!           BseRI...(2/2)
!
!           168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180 181 182
!           G   C   L   V   K   D   Y   F   P   E   P   V   T   V   S
2844      ggc tgc ctg GTC AAG GAC TAC TTC CCc gaA CCG GTg acg gtg tct
!           AgeI....
!
!           183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195 196 197
!           W   N   S   G   A   L   T   S   G   V   H   T   F   P   A
2889      tgg aac tca GGC GCC ctg acc agc ggc gtc cac acc ttc ccg gct
!           KasI...(1/4)
!
!           198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210 211 212
!           V   L   Q   S   S   G   L   Y   S   L   S   S   V   V   T
2934      gtc cta cag tCt agc GGa ctc tac tcc ctc agc agc gta gtg acc
!           (Bsu36I...) (inactivado)
!
!           213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225 226 227
!           V   P   S   S   S   L   G   T   Q   T   Y   I   C   N   V
2979      gtg ccC tCt tct agc tTG Ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg
!           (BstXI.....) N.B. destrucción de sitios BstXI y Bpml.
!
!           228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239 240 241 242
!           N   H   K   P   S   N   T   K   V   D   K   K   V   E   P
3024      aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aaa gtt gag ccc
!
!           243 244 245
!           K   S   C   A   A   A   H   H   H   H   H   H   S   A
3069      aaa tct tgt GCG GCC GcT cat cac cac cat cat cac tct gct
!           NotI.....
!
!           E   Q   K   L   I   S   E   E   D   L   N   G   A   A
3111      gaa caa aaa ctc atc tca gaa gag gat ctg aat ggt gcc gca
!
!           D   I   N   D   D   R   M   A   S   G   A
3153      GAT ATC aac gat gat cgt atg gct AGC ggc gcc
!           sitio de escisión de rEK.....  NheI...  KasI...
!           EcoRV..
!
! Dominio 1 -----
!           A   E   T   V   E   S   C   L   A
3183      gct gaa act gtt gaa agt tgt tta gca
!
!           K   P   H   T   E   I   S   F
3210      aaa ccc cat aca gaa aat tca ttt
!
!           T   N   V   W   K   D   D   K   T
3234      aCT AAC GTC TGG AAA GAC GAC AAA Act

```

```

!
!   L   D   R   Y   A   N   Y   E   G   C   L   W   N   A   T   G   V
3261 tta gat cgt tac gct aac tat gag ggt tgt ctg tgG AAT GCT aca ggc gtt
!                                     BsmI_____
!
!   V   V   C   T   G   D   E   T   Q   C   Y   G   T   W   V   P   I
3312 gta gtt tgt act ggt GAC GAA ACT CAG TGT TAC GGT ACA TGG GTT cct att
!
!   G   L   A   I   P   E   N
3363 ggg ctt gct atc cct gaa aat
!
! L1 linker -----
!   E   G   G   G   S   E   G   G   G   S
3384 gag ggt ggt ggc tct gag ggt ggc ggt tct
!
!   E   G   G   G   S   E   G   G   G   T
3414 gag ggt ggc ggt tct gag ggt ggc ggt act
!
! Dominio 2 -----
! 3444 aaa cct cct gag tac ggt gat aca cct att ccg ggc tat act tat atc aac
! 3495 cct ctc gac ggc act tat ccg cct ggt act gag caa aac ccc gct aat cct
! 3546 aat cct tct ctt GAG GAG tct cag cct ctt aat act ttc atg ttt cag aat
!                                     BseRI_____
! 3597 aat agg ttc cga aat agg cag ggg gca tta act gtt tat acg ggc act
! 3645 gtt act caa ggc act gac ccc gtt aaa act tat tac cag tac act cct
! 3693 gta tca tca aaa gcc atg tat gac gct tac tgg aac ggt aaa ttC AGA
!                                     AlwNI
! 3741 GAC TGc gct ttc cat tct ggc ttt aat gaa gat cca ttc gtt tgt gaa
!       AlwNI
! 3789 tat caa ggc caa tcg tct gac ctg cct caa cct cct gtc aat gct
!
! 3834 ggc ggc ggc tct
! comienzo L2 -----
! 3846 ggt ggt ggt tct
! 3858 ggt ggc ggc tct
! 3870 gag ggt ggt ggc tct gag ggt ggc ggt tct
! 3900 gag ggt ggc ggc tct gag gga ggc ggt tcc
! 3930 ggt ggt ggc tct ggt ! final L2
!
! Dominio 3 -----
!   S   G   D   F   D   Y   E   K   M   A   N   A   N   K   G   A
3945 tcc ggt gat ttt gat tat gaa aag atg gca aac gct aat aag ggg gct
!
!   M   T   E   N   A   D   E   N   A   L   Q   S   D   A   K   G
3993 atg acc gaa aat gcc gat gaa aac gcg cta cag tct gac gct aaa ggc
!
!   K   L   D   S   V   A   T   D   Y   G   A   A   I   D   G   F
4041 aaa ctt gat tct gtc gct act gat tac ggt gct gct atc gat ggt ttc
!
!   I   G   D   V   S   G   L   A   N   G   N   G   A   T   G   D
4089 att ggt gac gtt tcc ggc ctt gct aat ggt aat ggt gct act ggt gat
!
!   F   A   G   S   N   S   Q   M   A   Q   V   G   D   G   D   N
4137 ttt gct ggc tct aat tcc caa atg gct caa gtc ggt gac ggt gat aat
!
!   S   P   L   M   N   N   F   R   Q   Y   L   P   S   L   P   Q
4185 tca cct tta atg aat aat ttc cgt caa tat tta cct tcc ctc cct caa

```

```

!
!
!   S   V   E   C   R   P   F   V   F   S   A   G   K   P   Y   E
4233 tcg gtt gaa tgt cgc cct ttt gtc ttt agc gct ggt aaa cca tat gaa
!
!   F   S   I   D   C   D   K   I   N   L   F   R
4281 ttt tct att gat tgt gac aaa ata aac tta ttc cgt
!
!                                     Final del Dominio 3
!
!   G   V   F   A   F   L   L   Y   V   A   T   F   M   Y   V   F140
4317 ggt gtc ttt gcg ttt ctt tta tat gtt gcc acc ttt atg tat gta ttt
!
!   comienzo del segmento transmembrana
!
!   S   T   F   A   N   I   L
4365 tct acg ttt gct aac ata ctg
!
!   R   N   K   E   S
4386 cgt aat aag gag tct TAA ! parada de iii
!
!   Anclaje intracelular.
!
!   M1 P2 V L L5 G I P L L10 L R F L G15
4404 tc ATG cca gtt ctt ttg ggt att ccg tta tta ttg cgt ttc ctc ggt
!
!   Comienzo de VI
!
4451 ttc ctt ctg gta act ttg ttc ggc tat ctg ctt act ttt ctt aaa aag
4499 ggc ttc ggt aag ata gct att gct att tca ttg ttt ctt gct ctt att
4547 att ggg ctt aac tca att ctt gtg ggt tat ctc tct gat att agc gct
4595 caa tta ccc tct gac ttt gtt cag ggt gtt cag tta att ctc ccg tct
4643 aat gcg ctt ccc tgt ttt tat gtt att ctc tct gta aag gct gct att
4691 ttc att ttt gac gtt aaa caa aaa atc gtt tct tat ttg gat tgg gat
!
!
!   M1 A2 V3 F5 L10 G13
4739 aaa TAA t ATG gct gtt tat ttt gta act ggc aaa tta ggc tct gga
!
!   final de VI Comienzo del gen I
!
!   14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28
!   K T L V S V G K I Q D K I V A
4785 aag acg ctc gtt agc gtt ggt aag att cag gat aaa att gta gct
!
!   29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43
!   G C K I A T N L D L R L Q N L
4830 ggg tgc aaa ata gca act aat ctt gat tta agg ctt caa aac ctc
!
!   44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58
!   P Q V G R F A K T P R V L R I
4875 ccg caa gtc ggg agg ttc gct aaa acg cct cgc gtt ctt aga ata
!
!   59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73
!   P D K P S I S D L L A I G R G
4920 ccg gat aag cct tct ata tct gat ttg ctt gct att ggg cgc ggt
!
!   74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88
!   N D S Y D E N K N G L L V L D
4965 aat gat tcc tac gat gaa aat aaa aac ggc ttg ctt gtt ctc gat
!
!   89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103
!   E C G T W F N T R S W N D K E
5010 gag tgc ggt act tgg ttt aat acc cgt tct tgg aat gat aag gaa
!

```

ES 2 375 952 T3

```

!      104 105 106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118
!      R   Q   P   I   I   D   W   F   L   H   A   R   K   L   G
5055 aga cag ccg att att gat tgg ttt cta cat gct cgt aaa tta gga
!
!      119 120 121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133
!      W   D   I   I   F   L   V   Q   D   L   S   I   V   D   K
5100 tgg gat att att ttt ctt gtt cag gac tta tct att gtt gat aaa
!
!      134 135 136 137 138 139 140 141 142 143 144 145 146 147 148
!      Q   A   R   S   A   L   A   E   H   V   V   Y   C   R   R
5145 cag gcg cgt tct gca tta gct gaa cat gtt gtt tat tgt cgt cgt
!
!      149 150 151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163
!      L   D   R   I   T   L   P   F   V   G   T   L   Y   S   L
5190 ctg gac aga att act tta cct ttt gtc ggt act tta tat tct ctt
!
!      164 165 166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178
!      I   T   G   S   K   M   P   L   P   K   L   H   V   G   V
5235 att act ggc tcg aaa atg cct ctg cct aaa tta cat gtt ggc gtt
!
!      179 180 181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193
!      V   K   Y   G   D   S   Q   L   S   P   T   V   E   R   W
5280 gtt aaa tat ggc gat tct caa tta agc cct act gtt gag cgt tgg
!
!      194 195 196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208
!      L   Y   T   G   K   N   L   Y   N   A   Y   D   T   K   Q
5325 ctt tat act ggt aag aat ttg tat aac gca tat gat act aaa cag
!
!      209 210 211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223
!      A   F   S   S   N   Y   D   S   G   V   Y   S   Y   L   T
5370 gct ttt tct agt aat tat gat tcc ggt gtt tat tct tat tta acg
!
!      224 225 226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238
!      P   Y   L   S   H   G   R   Y   F   K   P   L   N   L   G
5415 cct tat tta tca cac ggt cgg tat ttc aaa cca tta aat tta ggt
!
!      239 240 241 242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253
!      Q   K   M   K   L   T   K   I   Y   L   K   K   F   S   R
5460 cag aag atg aaa tta act aaa ata tat ttg aaa aag ttt tct cgc
!
!      254 255 256 257 258 259 260 261 262 263 264 265 266 267 268
!      V   L   C   L   A   I   G   F   A   S   A   F   T   Y   S
5505 gtt ctt tgt ctt gcg att gga ttt gca tca gca ttt aca tat agt
!
!      269 270 271 272 273 274 275 276 277 278 279 280 281 282 283
!      Y   I   T   Q   P   K   P   E   V   K   K   V   V   S   Q
5550 tat ata acc caa cct aag ccg gag gtt aaa aag gta gtc tct cag
!
!      284 285 286 287 288 289 290 291 292 293 294 295 296 297 298
!      T   Y   D   F   D   K   F   T   I   D   S   S   Q   R   L
5595 acc tat gat ttt gat aaa ttc act att gac tct tct cag cgt ctt
!
!      299 300 301 302 303 304 305 306 307 308 309 310 311 312 313
!      N   L   S   Y   R   Y   V   F   K   D   S   K   G   K   L
5640 aat cta agc tat cgc tat gtt ttc aag gat tct aag gga aaa TTA
!                                     PacI
!

```

```

!      314 315 316 317 318 319 320 321 322 323 324 325 326 327 328
!      I   N   S   D   D   L   Q   K   Q   G   Y   S   L   T   Y

5685 ATT AAt agc gac gat tta cag aag caa ggt tat tca ctc aca tat
!      PacI

!      329 330 331 332 333 334 335 336 337 338 339 340 341 342 343
!      i   I   D   L   C   T   V   S   I   K   K   G   N   S   N   E
!      iv                                     M1 K
5730 att gat tta tgt act gtt tcc att aaa aaa ggt aat tca aAT Gaa
!
!
!
!
!      344 345 346 347 348 349
!      i   I   V   K   C   N   .End of I
!      iv   L3 L   N5 V   I7 N   F V10
5775 att gtt aaa tgt aat TAA T TTT GTT
!
!      IV continuación .....
5800 ttc ttg atg ttt gtt tca tca tct tct ttt gct cag gta att gaa atg
5848 aat aat tgc cct ctg cgc gat ttt gta act tgg tat tca aag caa tca
5896 ggc gaa tcc gtt att gtt tct ccc gat gta aaa ggt act gtt act gta
5944 tat tca tct gac gtt aaa cct gaa aat cta cgc aat ttc ttt att tct
5992 gtt tta cgt gct aat aat ttt gat atg gtt ggt tca att cct tcc ata
6040 att cag aag tat aat cca aac aat cag gat tat att gat gaa ttg cca
6088 tca tct gat aat cag gaa tat gat gat aat tcc gct cct tct ggt ggt
6136 ttc ttt gtt ccg caa aat gat aat gtt act caa act ttt aaa att aat
6184 aac gtt cgg gca aag gat tta ata cga gtt gtc gaa ttg ttt gta aag
6232 tct aat act tct aaa tcc tca aat gta tta tct att gac ggc tct aat
6280 cta tta gtt gtt TCT gca cct aaa gat att tta gat aac ctt cct caa
!
!      ApaLI eliminado
6328 ttc ctt tct act gtt gat ttg cca act gac cag ata ttg att gag ggt
6376 ttg ata ttt gag gtt cag caa ggt gat gct tta gat ttt tca ttt gct
6424 gct ggc tct cag cgt ggc act gtt gca ggc ggt gtt aat act gac cgc
6472 ctc acc tct gtt tta tct tct gct ggt ggt tgc ttc ggt att ttt aat
6520 ggc gat gtt tta ggg cta tca gtt cgc gca tta aag act aat agc cat
6568 tca aaa ata ttg tct gtg cca cgt att ctt acg ctt tca ggt cag aag
6616 ggt tct atc tct gtT GGC CAG aat gtc cct ttt att act ggt cgt gtg
!
!      MscI
6664 act ggt gaa tct gcc aat gta aat aat cca ttt cag acg att gag cgt
6712 caa aat gta ggt att tcc atg agc gtt ttt cct gtt gca atg gct ggc
6760 ggt aat att gtt ctg gat att acc agc aag gcc gat agt ttg agt tct
6808 tct act cag gca agt gat gtt att act aat caa aga agt att gct aca
6856 acg gtt aat ttg cgt gat gga cag act ctt tta ctc ggt ggc ctc act
6904 gat tat aaa aac act tct caa gat tct ggc gta ccg ttc ctg tct aaa
6952 atc cct tta atc ggc ctc ctg ttt agc tcc cgc tct gat tcc aac gag
7000 gaa agc acg tta tac gtg ctc gtc aaa gca acc ata gta cgc gcc ctg
7048 TAG cggcgcatt
!
!      End IV
7060 aagcgcggcg ggtgtggtgg ttacgcgcag cgtgaccgct acacttgcca ggcgcctagc
7120 gccgcgtcct ttgcgtttct tcccttcctt tctcgccacg ttcGCCGGCt ttcccgccta
!
!      NgoMI
7180 agctctaaat cgggggctcc ctttaggggt ccgatttagt gctttacggc acctcgaccc
7240 caaaaaactt gatttggtg atggttCACG TAGTGggcca tcgccctgat agacggtttt
!
!      DraIII
7300 tcgccctttG ACGTTGGAGT Ccaggttctt taatagtgga ctcttggtcc aaactggaac
!
!      DrdI
7360 aacactcaac cctatctcgg gctattcttt tgatttataa gggattttgc cgatttcgga
7420 accaccatca aacaggattt tcgcctgctg gggcaaacca gcgtggaccg cttgctgcaa
7480 ctctctcagg gccaggcgtt gaagggaat CAGCTGttgc cCGTCTCact ggtgaaaaga
!
!      PvuII. BsmBI.
7540 aaaaccaccc tGGATCC AAGCTT
!
!      BamHI HindIII (1/4)

```



```

!                               Inserto que porta el gen bla
7563   gcagggtg gcacttttcg gggaaatgtg cgcggaaccc
7600   ctatttgttt atttttctaa atacattcaa atatGTATCC gctcatgaga caataaccct
!                               BciVI
7660   gataaatgct tcaataatat tgaaaaAGGA AGAgT
!                               RBS.?...
!   Start bla gene
7695   ATG agt att caa cat ttc cgt gtc gcc ctt att ccc ttt ttt gcg gca ttt
7746   tgc ctt cct gtt ttt gct cac cca gaa acg ctg gtg aaa gta aaa gat gct
7797   gaa gat cag ttg ggC gCA CGA Gtg ggt tac atc gaa ctg gat ctc aac agc
!                               BssSI...
!                               ApaLI eliminado
7848   ggt aag atc ctt gag agt ttt cgc ccc gaa gaa cgt ttt cca atg atg agc
7899   act ttt aaa gtt ctg cta tgt cat aca cta tta tcc cgt att gac gcc ggg
7950   caa gaG CAA CTC GGT CGc cgg gcg cgg tat tct cag aat gac ttg gtt gAG
!                               BcgI                               ScaI
8001   TAC Tca cca gtc aca gaa aag cat ctt acg gat ggc atg aca gta aga gaa
!                               ScaI
8052   tta tgc agt gct gcc ata acc atg agt gat aac act gcg gcc aac tta ctt
8103   ctg aca aCG ATC Gga gga ccg aag gag cta acc gct ttt ttg cac aac atg
!                               PvuI
8154   ggg gat cat gta act cgc ctt gat cgt tgg gaa ccg gag ctg aat gaa gcc
8205   ata cca aac gac gag cgt gac acc acg atg cct gta gca atg cca aca acg
8256   tTG CGC Aaa cta tta act ggc gaa cta ctt act cta gct tcc cgg caa caa
!                               FspI....
8307   tta ata gac tgg atg gag gcg gat aaa gtt gca gga cca ctt ctg cgc tcg
8358   GCC ctt ccG Gct ggc tgg ttt att gct gat aaa tct gga gcc ggt gag cgt
!                               BglI
8409   gGG TCT Cgc ggt atc att gca gca ctg ggg cca gat ggt aag ccc tcc cgt
!                               BsaI
8460   atc gta gtt atc tac acG ACg ggg aGT Cag gca act atg gat gaa cga aat
!                               AhdI
8511   aga cag atc gct gag ata ggt gcc tca ctg att aag cat tgg TAA ctgt
!                               stop
8560   cagaccaagt ttactcatat atactttaga ttgatttaaa acttcatttt taatttaaaa
8620   ggatctaggt gaagatcctt ttgataatc tcatgaccaa aatcccttaa cgtgagtttt
8680   cgttccactg tacgtaagac cccc
8704   AAGCTT GTCGAC tgaa tggcgaatgg cgctttgcct
!                               HindIII SalI..
!                               (2/2) HincII
8740   ggtttccggc accagaagcg gtgccggaaa gctggctgga gtgcgatctt
!
8790   CCTGAGG
!                               Bsu36I
8797   ccgat actgtcgtcg tcccctcaaa ctggcagatg
8832   cacggttacg atgcgcccat ctacaccaac gtaacctatc ccattacggt caatccgccg
8892   tttgttccca cggagaatcc gacgggttgt tactcgtcga catttaatgt tgatgaaagc
8952   tggtacagg aaggccagac gcgaattatt ttgatggcg ttctatttg ttaaaaaatg
9012   agctgattta acaaaaaattt aacgcgaatt ttaacaaaat attaacgttt acaATTTAAA
!                               SwaI...
9072   Tatttgctta tacaatcttc ctgtttttgg ggcttttctg attatcaacc GGGGTAcT
!                               RBS?
9131   ATG att gac atg cta gtt tta cga tta ccg ttc atc gat tct ctt gtt tgc
!   Start gene II
9182   tcc aga ctc tca ggc aat gac ctg ata gcc ttt gtA GAT CTc tca aaa ata
!                               BglII...
9233   gct acc ctc tcc ggc atg aat tta tca gct aga acg gtt gaa tat cat att

9284   gat ggt gat ttg act gtc tcc ggc ctt tct cac cct ttt gaa tct tta cct
9335   aca cat tac tca ggc att gca ttt aaa ata tat gag ggt tct aaa aat ttt
9386   tat cct tgc gtt gaa ata aag gct tct ccc gca aaa gta tta cag ggt cat
9437   aat gtt ttt ggt aca acc gat tta gct tta tgc tct gag gct tta ttg ctt
9488   aat ttt gct aat tct ttg cct tgc ctg tat gat tta ttg gat gtt ! 9532
! el gen II continúa

```

Tabla 21B: Secuencia de MALIA3, condensada

LOCUS ORIGIN	MALIA3	9532	CIRCULAR
1	AATGCTACTA	CTATTAGTAG	AATTGATGCC
61	ATAGCTAAAC	AGGTTATTGA	CCATTTGCGA
121	CGTTCGCAGA	ATTGGGAATC	AACTGTTACA
181	GTTGCATATT	TAAACATGT	TGAGCTACAG
241	TCCGCAAAAA	TGACCTCTTA	TCAAAAGGAG
361	TCTTTCGGGC	TTCCCTCTAA	TCTTTTGTAT
421	CAGGGTAAAG	ACCTGATTTT	TGATTTATGG
481	TTTGAGGGGG	ATTCAATGAA	TATTTATGAC
541	AAACATTTTA	CTATTACCCC	CTCTGGCAAA
601	GGTTTTTATC	GTCGTCTGGT	AAACGAGGGT
661	AATTCCTTTT	GGCGTTATGT	ATCTGCATTA
721	ATGAATCTTT	CTACCTGTAA	TAATGTTGTT
781	TCTTCCCAAT	GTCCCTGACTG	GTATTAATGAG
841	CAATGATTAA	AGTTGAAATT	AAACCATCTC
901	CTCGTCAGGG	CAAGCCTTAT	TCACTGAATG
961	AATATCCGGT	TCTTGTCAAG	ATTACTCTTG
1021	TGTACACCGT	TCATCTGTCC	TCTTTCAAAG
1081	GTCTGCGCCT	CGTTCCGGCT	AAGTAACATG
1141	CAGGCCATGA	TACAAATCTC	CGTTGTACTT
1201	CAAAGATGAG	TGTTTTAGTG	TATTTCTTCG
1261	GTGGCATTAC	GTATTTTACC	CGTTAATGAG
1321	CAAAGCCTCT	GTAGCCGTTG	CTACCTCTCG
1381	CGATCCCGCA	AAAGCGGCCT	TTAATCTCCT
1441	TGCGTGGGCG	ATGGTTGTTG	TCATTTGTCGG
1501	ATTACCTCG	AAAGCAAGCT	GATAAACCGA
1561	TTTTTGAGAG	TTTTCAACGT	GAAAAAATTA
1621	TATTCTCACA	GTGCACAGTC	TGTCGTGACG
1681	CAGAGGTCA	CCATCTCCTG	CACCTGGGAGC
1741	CACTGGTACC	AGCAGCTTCC	AGGAACAGCC
1801	CGGCCCTCAG	GGGTCCCTGA	CCGATTCTCT
1861	GCCATCACTG	GGCTCCAGGC	TGAGGATGAG
1921	AGCCTGAGTG	GCCTTTATGT	TTTCGGAAC
1981	AAGGCCAACC	CCACTGTAC	TCTGTTCCCG
2041	GCCACACTAG	TGTGTCGTAT	CAGTGACTTC
2101	GCAGATAGCA	GCCCCGTCAA	GGCGGGAGTG
2161	AACAAGTACG	CGGCCAGCAG	CTATCTGAGC
2221	AGCTACAGCT	GCCAGGTCAC	GCATGAAGGG
2281	GAATGTTTAT	AATAAACCGC	CTCCACCGGG
2341	TAATGAAATA	CCTATTGCCT	ACGGCAGCCG
2401	CCATGGCCGA	AGTTCAATTG	TTAGAGTCTG
2461	TACGCTCTTC	TTGCGCTGCT	TCCGGATTCA
2521	GCCAAGCTCC	TGGTAAAGGT	TTGGAGTGGG
2581	CTTACTATGC	TGACTCCGTT	AAAGGTCGCT
2641	CTCTCTACTT	GCAGATGAAC	AGCTTAAGGG
2701	AAGACTATGA	AGGTACTGGT	TATGCTTTTC
2761	TCTCTAGTGC	CTCCACCAAG	GGCCCATCGG
2821	CCTCTGGGGG	CACAGCGGCC	CTGGGCTGCC
2881	CGGTGTCGTG	GAACTCAGGC	GCCCTGACCA
2941	AGTCTAGCGG	ACTCTACTCC	CTCAGCAGCG
3001	CCCAGACCTA	CATCTGCAAC	GTGAATCACA
3061	TTGAGCCCAA	ATCTTGTGCG	GCCGCTCATC
3121	TCATCTCAGA	AGAGGATCTG	AATGGTGCCG
3181	CCGCTGAAAC	TGTTGAAAGT	TGTTTAGCAA
3241	TCTGGAAGA	CGACAAAAC	TTAGATCGTT
			ACGCTAACTA
			TGAGGGTTGT
			CTGTGGAATG

```

3301 CTACAGGCGT TGTAGTTGT ACTGGTGACG AAACCTCAGTG TTACGGTACA TGGGTTCCCTA
3361 TTGGGCTTGC TATCCCTGAA AATGAGGGTG GTGGCTCTGA GGGTGGCGGT TCTGAGGGTG
3421 GCGGTTCTGA GGGTGGCGGT ACTAAACCTC CTGAGTACGG TGATACACCT ATTCGGGGCT
3481 ATACTTATAT CAACCCCTCT GACGGCACTT ATCCGCCTGG TACTGAGCAA AACCCCGCTA
3541 ATCCTAATCC TTCTCTTGAG GAGTCTCAGC CTCTTAATAC TTTCATGTTT CAGAATAATA
3601 GGTTCCGAAA TAGGCAGGGG GCATTAACCTG TTTATACGGG CACTGTACTT CAAGGCACTG
3661 ACCCCGTTAA AACTTATTAC CAGTACACTC CTGTATCATC AAAAGCCATG TATGACGCTT
3721 ACTGGAACGG TAAATTCAGA GACTGCGCTT TCCATTCTGG CTTTAATGAA GATCCATTCTG
3781 TTTGTGAATA TCAAGGCCAA TCGTCTGACC TGCCTCAACC TCCTGTCAAT GCTGGCGGCG
3841 GCTCTGGTGG TGGTTCTGGT GCGGCTCTG AGGGTGGTGG CTCTGAGGGT GCGGTTCTG
3901 AGGGTGGCGG CTCTGAGGGA GCGGTTCCG GTGGTGGGTC TGGTTCGGGT GATTTTGATT
3961 ATGAAAAGAT GGCAAACGCT AATAAGGGGG CTATGACCGA AAATGCCGAT GAAAACGCGC
4021 TACAGTCTGA CGCTAAAGGC AAGCTTGATT CTGTGCTAC TGATTACGGT GCTGCTATCG
4081 ATGGTTTCAT TGGTGACGTT TCCGGCCTTG CTAATGGTAA TGGTGCTACT GGTGATTTTG
4141 CTGGCTCTAA TTCCCAAATG GCTCAAGTCG GTGACGGTGA TAATTCACCT TTAATGAATA
4201 ATTTCCGTCA ATATTTACCT TCCCTCCCTC AATCGGTTGA ATGTCGCCCT TTTGCTTTA
4261 GCGTGGTAA ACCATATGAA TTCTTATTG ATTGTGACAA AATAAACTTA TTTGGGTGG
4321 TCTTTGCGTT TCTTTTATAT GTTGCCACCT TTATGTATGT ATTTTCTACG TTTGCTAACA
4381 TACTGCGTAA TAAGGAGTCT TAATCATGCC AGTTCTTTTG GGTATTCGGT TATTATTGCG
4441 TTTCTCGGT TCTCTTCTGG TAACTTTGGT CGGCTATCTG CTTACTTTTC TTAAGGATTA
4501 CTTGGTAAG ATAGCTATTG CTATTTTATT GTTCTTGCT CTTATTATTG GGCTTAACCT
4561 AATTCTTGTG GGTATCTCT CTGATATTAG CGCTCAATTA CCCTCTGACT TTGTTACGGG
4621 TGTTCAAGTA ATTCTCCCGT CTAATGCGCT TCCCTGTTTT TATGTTATTC TCTCTGTAAG
4681 GGCTGCTATT TTCATTTTGG ACGTTAAACA AAAAATCGTT TCTTATTGG TTTGGGATAA
4741 ATAATATGGC TGTTTATTTT GTAACGGCA AATTAGGCTC TGGAAGACG CTCGTTAGCG
4801 TTGGTAAGAT TCAGGATAAA ATTGTAGCTG GGTGCAAAAT AGCAACTAAT CTTGATTTAA
4861 GGCTTCAAAA CCTCCCGCAA GTCGGGAGGT TCGCTAAAAC GCCTCGCGTT CTTAGAATAC
4921 CGGATAAGCC TTCTATATCT GATTGTCTTG CTATTGGGCG CGGTAATGAT TCTTACGATC
4981 AAAATAAAAA CGGCTTGCTT GTTCTCGATG AGTGCGGTAC TTGGTTTAAAT ACCCGTTCTT
5041 GGAATGATAA GGAAAGACAG CCGATTATTG ATTGGTTTCT ACATGCTCGT AAATTAGGAT
5101 GGGATATTAT TTTTCTTGTT CAGGACTTAT CTATTGTTGA TAAACAGGCG CGTCTGCTAT
5161 TAGCTGAACA TGTTGTTTAT TGTCGTCGTC TGGACAGAAT TACTTTACCT TTTGTCGGTA
5221 CTTTATATTC TCTTATTACT GGCCTGAAAA TGCCTCTGCC TAAATTACAT GTTGGCGTTG
5281 TTAAATATGG CGATTCTCAA TTAAGCCCTA CTGTTGAGCG TTGGCTTTAT ACTGTAAGA
5341 ATTTGTATAA CGCATATGAT ACTAAACAGG CTTTTTCTAG TAATTATGAT TCCGGTGTTT
5401 ATTTCTTATT AACGCCTTAT TTATCACACG GTCGGTATTT CAAACCATTA AATTTAGGTC
5461 AGAAGATGAA ATTAACATAA ATATATTGTA AAAAGTTTTT TCGCGTTCTT TGTCTGCGA
5521 TTGGATTTGC ATCAGCATTT ACATATAGTT ATATAACCCA ACCTAAGCCG GAGGTTAAAA
5581 AGGTAGTCTC TCAGACCTAT GATTTTGATA AATTCACAT TGAATCTTCT CAGCGTCTTA
5641 ATCTAAGCTA TCGCTATGTT TTCAAGGATT CTAAGGGAAA ATTAATTAAT AGCGACGATT
5701 TACAGAAGCA AGGTTATTCA CTCACATATA TTGATTTATG TACTGTTTCC ATTAAGAAAG
5761 GTAATTCAAA TGAAATTGTT AAATGTAATT AATTTTGTGT TCTTGATGTT TGTTTCATCA
5821 TCTTCTTTTG CTCAGGTAAT TGAATGAAT AATTCGCCTC TGCGCGATTT TGTAACTTGG
5881 TATTCAAAGC AATCAGGCGA ATCCGTTATT GTTCTCCCG ATGTAAAAGG TACTGTTACT
5941 GTATATTTCAT CTGACGTTAA ACCTGAAAT CTACGCAATT TCTTTATTTC TGTTTACGT
6001 GCTAATAATT TTGATATGGT TGGTTCAATT CCTTCCATAA TTCAGAAGTA TAATCCAAAC
6061 AATCAGGATT ATATTGATGA ATTGCCATCA TCTGATAATC AGGAATATGA TGATAATTCC
6121 GCTCCTTCTG ATGGTTTCTT TGTTCCGCAA AATGATAATG TTAATCAAAC TTTTAAATTT
6181 AATAACGTTT GGGCAAAGGA TTTAATACGA GTTGTCGAAT TGTTTGTAAA GTCTAATACT
6241 TCTAAATCCT CAAATGTATT ATCTATTGAC GGCTCTAATC TATTAGTTGT TTCTGCACCT
6301 AAAGATATTT TAGATAACCT TCCTCAATTC CTTTCTACTG TTGATTGCCC AACTGACCAG
6361 ATATTGATTG AGGGTTTGAT ATTTGAGGTT CAGCAAGGTG ATGCTTTAGA TTTTTCATTT
6421 GCTGCTGGCT CTCAGCGTGG CACTGTTGCA GCGGTTGTTA ATACTGACCG CCTCACCTCT
6481 GTTTTATCTT CTGCTGGTGG TTCGTTCCGT ATTTTAAATG GCGATGTTT AGGGCTATCA
6541 GTTCGCGCAT TAAAGACTAA TAGCCATTCA AAAATATTGT CTGTGCCACG TATTCTTACG
6601 CTTTCAGGTC AGAAGGGTTC TATCTCTGTT GGCCAGAATG TCCCTTTTAT TACTGGTCGT
6661 GTGACTGGTG AATCTGCCAA TGTAATAAT CCATTTTCTA CGATTGAGCG TCAAAATGTA
6721 GGTATTTCCA TGAGCGTTT TCCTGTTGCA ATGGCTGGCG GTAATATTGT TCTGGATATT

```

```

6781 ACCAGCAAGG CCGATAGTTT GAGTTCCTCT ACTCAGGCAA GTGATGTTAT TACTAATCAA
6841 AGAAGTATTG CTACAACGGT TAATTTGCGT GATGGACAGA CTCTTTTACT CGGTGGCCTC
6901 ACTGATTATA AAAACACTTC TCAAGATTCT GGCGTACCGT TCCTGTCTAA AATCCCTTTA
6961 ATCGGCCTCC TGTTTAGCTC CCGCTCTGAT TCCAACGAGG AAAGCACGTT ATACGTGCTC
7021 GTCAAAGCAA CCATAGTACG CGCCTGTAG CGGCGCATT ACGCGCGCGG GTGTGGTGGT
7081 TACGCGCAGC GTGACCGCTA CACTTGCCAG CGCCCTAGCG CCCGCTCCTT TCGCTTTCTT
7141 CCCTTCCTTT CTCGCCACGT TCGCCGGCTT TCCCGTCAA GCTCTAAATC GGGGGCTCCC
7201 TTTAGGGTTC CGATTTAGTG CTTTACGGCA CCTCGACCCC AAAAAAATTG ATTTGGGTGA
7261 TGGTTCACGT AGTGGGCCAT CGCCCTGATA GACGGTTTTT CGCCCTTTGA CGTTGGAGTC
7321 CACGTTCTTT AATAGTGGAC TCTTGTTCCA AACTGGAACA ACACCAACC CTATCTCGGG
7381 CTATTCTTTT GATTTATAAG GGATTTTGCC GATTTTCGGAA CCACCATCAA ACAGGATTTT
7441 CGCCTGCTGG GGCAAACCAG CGTGGACCGC TTGCTGCAAC TCTCTCAGG CCAGGCGGTG
7501 AAGGGCAATC AGCTGTTGCC CGTCTCACTG GTGAAAAGAA AAACCACCTT GGATCCAAGC
7561 TTGCAGGTGG CACTTTTCGG GGAAATGTGC GCGGAACCCC TATTTGTTTA TTTTCTAAA
7621 TACATTCAAA TATGTATCCG CTATGAGAC AATAACCTG ATAAATGCTT CAATAATATT
7681 GAAAAAGGAA GAGTATGAGT ATTCAACATT TCCGTGTCGC CCTTATTCCC TTTTTGCGG
7741 CATTTTGCCT TCCTGTTTTT GCTCACCCAG AAACGCTGGT GAAAGTAAAA GATGCTGAAG
7801 ATCAGTTGGG CGCACGAGTG GGTTACATCG AACTGGATCT CAACAGCGGT AAGATCCTTG
7861 AGAGTTTTTCG CCCCAGAGAA CGTTTTCCAA TGATGAGCAC TTTTAAAGTT CTGCTATGTC
7921 ATACACTATT ATCCCGTATT GACGCCGGGC AAGAGCAACT CGGTCGCCGG GCGCGGTATT
7981 CTCAGAATGA CTTGGTTGAG TACTCACCAG TCACAGAAAA GCATCTTACG GATGGCATGA
8041 CAGTAAGAGA ATTATGCAGT GCTGCCATAA CCATGAGTGA TAACACTGCG GCCAACTTAC
8101 TTCTGACAAC GATCGGAGGA CCGAAGGAGC TAACCGCTTT TTTGCACAAC ATGGGGGATC
8161 ATGTAACCTG CTTGATCGT TGGGAACCGG AGCTGAATGA AGCCATACCA AACGACGAGC
8221 GTGACACCAC GATGCCTGTA GCAATGCCAA CAACGTTGCG CAAACTATTA ACTGGCGAAC
8281 TACTTACTCT AGCTTCCCGG CAACAATTAA TAGACTGGAT GGAGGCGGAT AAAGTTGCAG
8341 GACCACTTCT GCGCTCGGCC CTTCCGGCTG GCTGGTTTAT TGCTGATAAA TCTGGAGCCG
8401 GTGAGCGTGG GTCTCGCGGT ATCATTGCAG CACTGGGGCC AGATGGTAAG CCCTCCCGTA
8461 TCGTAGTTAT CTACACGACG GGGAGTCAGG CAACTATGGA TGAACGAAAT AGACAGATCG
8521 CTGAGATAGG TGCCTCACTG ATTAAGCATT GGTAACGTG AGACCAAGTT TACTCATATA
8581 TACTTTAGAT TGATTTAAAA CTTCATTTTT AATTTAAAAG GATCTAGGTG AAGATCCTTT
8641 TTGATAATCT CATGACCAAA ATCCCTTAAC GTGAGTTTTT GTTCCACTGT ACGTAAGACC
8701 CCCAAGCTTG TCGACTGAAT GGCGAATGGC GCTTTGCCTG GTTCCGGGA CCAGAAGCGG
8761 TGCCGGAAAG CTGGCTGGAG TCGGATCTTC CTGAGGCCGA TACTGTGCTC GTCCCTCAA
8821 ACTGGCAGAT GCACGGTTAC GATGCGCCCA TCTACACCA CGTAACCTAT CCCATTACGG
8881 TCAATCCGCC GTTTGTTCCT ACGGAGAATC CGACGGGTTG TTAAGTCTC ACATTTAATG
8941 TTGATGAAAG CTGGCTACAG GAAGGCCAGA CGCAATTAT TTTTGATGGC GTTCCTATTG
9001 GTTAAAAAAT GAGCTGATTT AACAAAAAAT TAACGCGAAT TTTAACAAAA TATTAACGTT
9061 TACAATTTAA ATATTTGCTT ATACAATCTT CCTGTTTTTG GGGCTTTTCT GATTATCAAC
9121 CGGGGTACAT ATGATTGACA TGCTAGTTTT ACGATTACCG TTCATCGATT CTCTTGTTTG
9181 CTCCAGACTC TCAGGCAATG ACCTGATAGC CTTTGTAGAT CTCTCAAAAA TAGCTACCCT
9241 CTCCGGCATG AATTTATCAG CTAGAACGGT TGAATATCAT ATTGATGGTG ATTTGACTGT
9301 CTCCGGCCTT TCTACCCCTT TTGAATCTTT ACCTACACAT TACTCAGGCA TTGCATTTAA
9361 AATATATGAG GGTTCTAAAA ATTTTATCC TTGCGTTGAA ATAAAGGCTT CTCCGCAAA
9421 AGTATTACAG GGTCAATAAT TTTTGGTAC AACCGATTTA GCTTTATGCT CTGAGGCTTT
9481 ATTGCTTAAT TTTGCTAATT CTTTGCCTTG CCTGTATGAT TTATTGGATG TT

```

Tabla 22: Cebadores usados en amplificación RACE:

Cadena pesada	
HuCμ-FOR (1a PCR)	5'-TGG AAG AGG CAC GTT CTT TTC TTT-3'
HuCμ-Anidado (2a PCR)	5' CTT TTC TTT GTT GCC GTT GGG GTG-3'
Cadena ligera kappa	
HuCKFor (1a PCR)	5'-ACA CTC TCC CCT GTT GAA GCT CTT-3'
HuCKForAscl(2a PCR)	5' -ACC GCC TCC ACC GGG CGC GCC TTA TTA ACA CTC TCC CCT GTT GAA GCT CTT-3'
Cadena ligera lambda	
HuClambdaFor (1a PCR)	
HuCL2-FOR	5'-TGA ACA TTC TGT AGG GGC CAC TG-3'
HuCL7-FOR	5'-AGA GCA TTC TGC AGG GGC CAC TG-3'
HuClambdaForAscl (2a PCR)	
HuCL2-FOR-ASC	5' -ACC GCC TCC ACC GGG CGC GCC TTA TTA TGA ACA TTC TGT AGG GGC CAC TG-3'
HuCL7-FOR-ASC	5' -ACC GCC TCC ACC GGG CGC GCC TTA TTA AGA GCA TTC TGC AGG GGC CAC TG-3'
Cebadores 5' GeneRAcer proporcionados con el kit (Invitrogen)	
5'A 1a PCR	5'CGACTGGAGCACGAGGACACTGA 3'
5'NA 2a pCR	5'GGACACTGACATGGACTGAAGGAGTA-3'

Tabla 23: ON usados en la Captura de cadenas ligeras kappa usando el método CJ y *BsmAI*

Todos los ON están escritos 5' a 3'.	
REadapters (6)	
ON_20SK15012 gggA	ggATggAgAcTgggTc
ON_20SK15L12 gggAA	gATggAgAcTgggTc
ON_20SK15A17 gggA	gAgTggAgAcTgAgTc
ON_20SK15A27 gggT	gccTggAgAcTgcgTc
ON_20SK15A11 gggT	ggcTggAgAcTgcgTc
ON_20SK15B3 gggA	gTcTggAgAcTgggTc
Puentes (6)	
kapbri1012 gggA	ggATggAgAcTgggTcATcTggATgTcTTgTgcAcTgTgAcAgAgg
kapbri1L12 gggAA	gATggAgAcTgggTcATcTggATgTcTTgTgcAcTgTgAcAgAgg
kapbrilA17 gggA	gAgTggAgAcTgggTcATcTggATgTcTTgTgcAcTgTgAcAgAgg
kapbri1A27 gggT	gccTggAgAcTgggTcATcTggATgTcTTgTgcAcTgTgAcAgAgg
kapbri1A11 gggT	ggcTggAgAcTgggTcATcTggATgTcTTgTgcAcTgTgAcAgAgg
kapbrilB3 gggA	gTcTggAgAcTgggTcATcTggATgTcTTgTgcAcTgTgAcAgAgg
Extensor (5' biotinilado)	
kapextl bio	ccTcTgTcAcAgTgcAcAAgAcATccAgATgAcccAgTcTcc
Cebadores	
kaPCRtl ccT	cTgTcAcAgTgcAcAAgAc
kapfor	5'-aca ctc tcc cct gtt gaa gct ctt-3'

Tabla 24: Programa de PCR para la amplificación de ADN kappa

95°C	5 minutos	
95°C	15 segundos	
65°C	30 segundos	
72°C	1 minuto	

ES 2 375 952 T3

72°C	7 minutos	
4°C manten	ido	
Reactivos (reacción de 100 ul):		
Molde 50	ng	
10x tampón de PCR turbo	1x	
Pfu turbo	4U	
dNTPs	200 µM cada uno	
kaPCRtl 300	nM	
kapfor 300	nM	

Tabla 25: h3401-h2 capturada Mediante CJ con BsmAI

```

! 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
! S A Q D I Q M T Q S P A T L S
! aGTGCA Caa gac atc cag atg acc cag tct cca gcc acc ctg tct
! ApaLI... a gcc acc ! L25,L6,L20,L2,L16,A11
! Extensor ..... Puente ...

! 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30
! V S P G E R A T L S C R A S Q
! gtg tct cca ggg gaa agg gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag

! 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45
! S V S N N L A W Y Q Q K P G Q
! agt gtt agt aac aac tta gcc tgg tac cag cag aaa cct ggc cag

! 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60
! V P R L L I Y G A S T R A T D
! gtt ccc agg ctc ctc atc tat ggt gca tcc acc agg gcc act gat

! 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75
! I P A R F S G S G S G T D F T
! atc cca gcc agg ttc agt ggc agt ggg tct ggg aca gac ttc act

! 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90
! L T I S R L E P E D F A V Y Y
! ctc acc atc agc aga ctg gag cct gaa gat ttt gca gtg tat tac

! 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105
! C Q R Y G S S P G W T F G Q G
! tgt cag cgg tat ggt agc tca ccg ggg tgg acg ttc ggc caa ggg

! 106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120
! T K V E I K R T V A A P S V F
! acc aag gtg gaa atc aaa cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc

! 121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133 134 135
! I F P P S D E Q L K S G T A S
! atc ttc ccg cca tct gat gag cag tgg aaa tct gga act gcc tct

! 136 137 138 139 140 141 142 143 144 145 146 147 148 149 150
! V V C L L N N F Y P R E A K V
! gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc tat ccc aga gag gcc aaa gta

! 151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165
! Q W K V D N A L Q S G N S Q E
! cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa tgc ggt aac tcc cag gag

! 166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180
! S V T E Q D S K D S T Y S L S
! agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc acc tac agc ctc agc

```


! 181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195
! S T L T L S K A D Y E K H K V
agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag aaa cac aaa gtc

! 196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210
! Y A C E V T H Q G L S S P V T
tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tgc cct gtc aca

! 211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223
! K S F N K G E C K G E F A
aag agc ttc aac aaa gga gag tgt aag ggc gaa ttc gc.....

Tabla 26: h3401-d8 KAPPA capturada con CJy *BsmAI*

```

! 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
! S A Q D I Q M T Q S P A T L S
aGT GCA Caa gac atc cag atg acc cag tct cct gcc acc ctg tct
! ApaLI... Extensor .....a gcc acc ! L25,L6,L20,L2,L16,A11
! A GCC ACC CTG TCT ! L2

! 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30
! V S P G E R A T L S C R A S Q
gtg tct cca ggt gaa aga gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag
! GTG TCT CCA GGG GAA AGA GCC ACC CTC TCC TGC ! L2

! 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45
! N L L S N L A W Y Q Q K P G Q
aat ctt ctc agc aac tta gcc tgg tac cag cag aaa cct ggc cag

! 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60
! A P R L L I Y G A S T G A I G
gct ccc agg ctc ctc atc tat ggt gct tcc acc ggg gcc att ggt

! 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75
! I P A R F S G S G S G T E F T
atc cca gcc agg ttc agt ggc agt ggg tct ggg aca gag ttc act

! 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90
! L T I S S L Q S E D F A V Y F
ctc acc atc agc agc ctg cag tct gaa gat ttt gca gtg tat ttc

! 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105
! C Q Q Y G T S P P T F G G G T
tgt cag cag tat ggt acc tca ccg ccc act ttc ggc gga ggg acc

! 106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120
! K V E I K R T V A A P S V F I
aag gtg gag atc aaa cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc

! 121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133 134 135
! F P P S D E Q L K S G T A S V
ttc ccg cca tct gat gag cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt

! 136 137 138 139 140 141 142 143 144 145 146 147 148 149 150
! V C P L N N F Y P R E A K V Q
gtg tgc ccg ctg aat aac ttc tat ccc aga gag gcc aaa gta cag

! 151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165
! W K V D N A L Q S G N S Q E S
tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa tgc ggt aac tcc cag gag agt

! 166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180
! V T E Q D N K D S T Y S L S S
gtc aca gag cag gac aac aag gac agc acc tac agc ctc agc agc

```

! 181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195

! T L T L S K V D Y E K H E V Y

acc ctg acg ctg agc aaa gta gac tac gag aaa cac gaa gtc tac

! 196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210

! A C E V T H Q G L S S P V T K

gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctt agc tcg ccc gtc acg aag

! 211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223

! S F N R G E C K K E F V

agc ttc aac agg gga gag tgt aag aaa gaa ttc gtt t

Tabla 27: Marco V3-23 con los codones variegados mostrados

```

!
!           17 18 19 20 21 22
!           A Q P A M A
!
! 5'-ctg tct gaa cG GCC cag ccG GCC atg gcc 29
! 3'-gac aga ctt gc cgg gtc ggc cgg tac cgg
!
! Scab.....SfiI.....
!           NgoMI...
!           NcoI....
!
!           FR1(DP47/V3-23)-----
!           23 24 25 26 27 28 29 30
!           E V Q L L E S G
!           gaa|gtt|CAA|TTG|tta|gag|tct|ggt| 53
!           ctt|caa|gtt|aac|aat|ctc|aga|cca|
!           | MfeI |
!
! -----FR1-----
! 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45
! G G L V Q P G G S L R L S C A
! |ggc|ggt|ctt|gtt|cag|ect|ggt|ggt|tct|tta|cgt|ctt|tct|tgc|gct| 98
! |ccg|cca|gaa|caa|gtc|gga|cca|cca|aga|aat|gca|gaa|aga|acg|cga|
!
! Sitios para variar --> *** *** ***
! -----FR1----->|...CDR1.....|-----FR2-----
! 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60
! A S G F T F S S Y A M S W V R
! |gct|TCC|GGA|ttc|act|tct|tct|tCG|TAC|Gct|atg|tct|tgg|gtt|cgC| 143
! |cga|agg|cct|aag|tga|aag|aga|agc|atg|cga|tac|aga|cc|caa|cgg|
! | BspEI | | BsiWI | | BstXI.
!
! Sitios para variar --> *** *** ***
! -----FR2----->|...CDR2.....
! 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75
! Q A P G K G L E W V S A I S G
! |CAa|gct|ccT|GGt|aaa|ggt|ttg|gag|tgg|gtt|tct|gct|atc|tct|ggt| 188
! |ggt|cga|gga|cca|ttt|cca|aac|ctc|acc|caa|aga|cga|tag|aga|cca|
! ...BstXI |
!
! *** ***
! .....CDR2.....|-----FR3-----
! 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90
! S G G S T Y Y A D S V K G R F
! |tct|ggt|ggc|agt|act|tac|tat|gct|gac|tcc|gtt|aaa|ggt|cgc|ttc| 233
! |aga|cca|ccg|tca|tga|atg|ata|cga|ctg|agg|caa|ttt|cca|gcg|aag|
!
! -----FR3-----
! 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105
! T I S R D N S K N T L Y L Q M
! |act|atc|TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg| 278
! |tga|tag|aga|tct|ctg|ttg|aga|ttc|tta|tga|gag|atg|aac|gtc|tac|
! | XbaI |
!
! -----FR3----->|
! 106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120
! N S L R A E D T A V Y Y C A K
! |aac|agC|TTA|AGg|gct|gag|gac|aCT|GCA|Gtc|tac|tat|tgc|gct|aaa| 323
! |ttg|tcg|aat|tcc|cga|ctc|ctg|tga|cgt|cag|atg|ata|acg|cga|tt|

```

```

!      |AflII|      |PstI|
!
!      CDR3-----|---FR4-----
!      121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133 134 135
!      D Y E G T G Y A F D I W G Q G
!      |gac|tat|gaa|ggg|act|ggg|tat|gct|ttc|gaC|ATA|TGg|ggg|caa|ggg| 368
!      |ctg|ata|ctt|cca|tga|cca|ata|tga|aag|ctg|tat|acc|cca|gtt|cca|
!      |NdeI|
!
!      -----FR4----->|
!      136 137 138 139 140 141 142
!      T M V T V S S
!      |act|atG|GTC|ACC|gtc|tct|agt- 389
!      |tga|tac|cag|tgg|cag|aga|tca-
!      |BstEII|
!
!      143 144 145 146 147 148 149 150 151 152
!      A S T K G P S V F P
!      gcc tcc acc aaG GGC CCa tgg GTC TTC ccc-3' 419
!      cgg agg tgg ttc ccg ggt agc cag aag ggg-5'
!      BspI20I. BbsI...(2/2)
!      ApaI....

(SFPRMET) 5'-ctg tct gaa cG GCC cag ccG-3'
(TOPFR1A) 5'-ctg tct gaa cG GCC cag ccG GCC atg gcc-
            gaa|gtt|CAA|TTG|tta|gag|tct|ggg|-
            |ggc|ggg|ctt|gtt|cag|cct|ggg|ggg|tct|tta-3'
(BOTFR1B) 3'-caa|gtc|gga|cca|cca|aga|aat|gca|gaa|aga|acg|cga|-
            |cga|agg|ect|aag|tga|aag-5' ! cadena inferior
(BOTFR2) 3'-acc|caa|gcg|-
            |gtt|cga|gga|cca|ttt|cca|aac|ctc|acc|caa|aga|-5' ! bottom strand
(BOTFR3) 3'- a|cga|ctg|agg|caa|ttt|cca|gcg|aag|-
            |tga|tag|aga|tct|ctg|ttg|aga|ttc|tta|tga|gag|atg|aac|gtc|tac|-
            |ttg|tcg|aat|tcc|cga|ctc|ctg|tga-5'
(F06) 5'-gC|TTA|AGg|gct|gag|gac|aCT|GCA|Gtc|tac|tat|tgc|gct|aaa|-
            |gac|tat|gaa|ggg|act|ggg|tat|gct|ttc|gaC|ATA|TGg|ggg|c-3'
(BOTFR4) 3'-cga|aag|ctg|tat|acc|cca|gtt|cca|-
            |tga|tac|cag|tgg|cag|aga|tca-
            cgg agg tgg ttc ccg ggt agc cag aag ggg-5' ! bottom strand
(BOTPRCPRIM) 3'-gg ttc ccg ggt agc cag aag ggg-5'
!
! CDR1 diversidad
!
! (ON-vgC1) 5'-|gct|TCC|GGA|ttc|act|ttc|tct|<1>|TAC|<1>|atg|<1>|
!      CDR1.....6859
!      |tgg|gtt|cgC|CAa|gct|ccT|GG-3'
!
! <1> significa una mezcla equimolar de {ADEF GHIKLMNPQRSTVWY}; no C
!      (no es una secuencia)
!
! CDR2 diversidad
!
! (ON-vgC2) 5'-ggg|ttg|gag|tgg|gtt|tct|<2>|atc|<2>|<3>|-
!      CDR2.....
!      |tct|ggg|ggc|<1>|act|<1>|tat|gct|gac|tcc|gtt|aaa|gg-3'
!      CDR2.....
! <1> es una mezcla equimolar de {ADEF GHIKLMNPQRSTVWY}; no C
! <2> es una mezcla equimolar de {YRWVGS}; no ACDEF GHIKLMNPQT
! <3> es una mezcla equimolar de {PS}; no ACDEF GHIKLMNPQRTVWY

```

Tabla 28: Relleno usado en VH

1 TCCGGAGCTT CAGATCTGTT TGCCTTTTTT TGGGGTGGTG CAGATCGCGT TACGGAGATC
 61 GACCGACTGC TTGAGCAAAA GCCACGCTTA ACTGCTGATC AGGCATGGGA TGTATTTCGC
 121 CAAACCAAGTC GTCAGGATCT TAACCTGAGG CTTTTTTTAC CTACTCTGCA AGCAGCGACA
 181 TCTGGTTTGA CACAGAGCGA TCCGCGTCGT CAGTTGGTAG AAACAATTAAC ACGTTGGGAT
 241 GGCAATCAATT TGCTTAATGA TGATGGTAAA ACCTGGCAGC AGCCAGGCTC TGCCATCCTG
 301 AACGTTTGGC TGACCAGTAT GTTGAAGCGT ACCGTAGTGG CTGCCGTACC TATGCCATTT
 361 GATAAGTGGT ACAGCGCCAG TGGCTACGAA ACAACCCAGG ACGGCCCAAC TGGTTCGCTG
 421 AATATAAGTG TTGGAGCAAA AATTTTGTAT GAGGCGGTGC AGGGAGACAA ATCACCAATC
 481 CCACAGGCGG TTGATCTGTT TGCTGGGAAA CCACAGCAGG AGGTTGTGTT GGCTGCGCTG
 541 GAAGATACCT GGGAGACTCT TTCCAAACGC TATGGCAATA ATGTGAGTAA CTGGAAAACA
 601 CCTGCAA TGG CCTTAACGTT CCGGGCAAAT AATTTCTTTG GTGTACCGCA GGCCGCAGCG
 661 GAAGAAACGC GTCATCAGGC GGAGTATCAA AACCGTGGAA CAGAAACGA TATGATTGTT
 721 TTCTCACCAA CGACAAGCGA TCGTCCTGTG CTTGCCTGGG ATGTGGTTCG ACCCGGTCAG
 781 AGTGGGTTTA TTGCTCCCGA TGGAACAGTT GATAAGCACT ATGAAGATCA GCTGAAAAATG
 841 TACGAAAAAT TTGGCCCTAA GTCGCTCTGG TTAACGAAGC AGGATGTGGA GGCGCATAAG
 901 GAGTCGTCTA GA

Tabla 29: Secuencia de ADN de pCES5

```

! pCES5 6680 bases = pCes4 con rellenos en CDR-1 y CDR3 2000.12.13
!
! Ngene = 6680
! RE útiles (cortan MAnoLI menos de 3 veces) 2000.06.05
!
! No cortadoras
!Acc65I Ggtacc      AfeI AGCgct      AvrII Cctagg
!BsaBI GATNNnnatc  BsiWI Cgtacg      BsmFI Nnnnnnnnnnnnnngtccc
!BsrGI Tgtaca      BstAPI GCANNNNntgc BstBI TTcgaa
!BstZ17I GTAtac    BtrI CACgtg        Ecl136I GAGctc
!EcoRV GATatc      FseI GGCCGGcc      KpnI GGTACc
!MscI TGGcca       NruI TCGcga        NsiI ATGCAc
!PacI TTAATtaa     PmeI GTTTaaac      PmlI CACgtg
!PpuMI RGgwccy     PshAI GACNNnngtc   SacI GAGCTc
!SacII CCGCgg      SbfI CCTGCAgg      SexAI Accwggc
!SgfI GCGATcgc     SnaBI TACgta       SpeI Actagt
!SphI GCATGc       Sse8387I CCTGCAgg  StuI AGGcct
!SwaI ATTTaaat     XmaI Cccggg
!
! cortadoras
! Enzimas que cortan más de 3 veces.
!AlwNI CAGNNNctg      5
!BglI ctgcac          4
!BsrFI Rccggy         5
!EarI CTCTTCNnnn      4
!FauI nNNNNNNGCGGG    10
!
! Enzimas que cortan de 1 a 3 veces.
!
!EcoO109I RGgnccy      3    7 2636 4208
!BssSI Ctcgtg          1    12
!"- Caccgag            1 1703
!BspHI Tcatga          3    43 148 1156
!AatII GACGTc          1    65

```

```

!BciVI GTATCCNNNNNN 2 140 1667
!Eco57I CTGAAG 1 301
!-"- cttcag 2 1349
!AvaI Cycgrg 3 319 2347 6137
!BsiHKA I GWGCWc 3 401 2321 4245
!HgiAI GWGCWc 3 401 2321 4245
!BcgI gcannnnntcg 1 461
!ScaI AGTact 1 505
!PvuI CGATcg 3 616 3598 5926
!FspI TGCgca 2 763 5946
!BglI GCCNNNNnggc 3 864 2771 5952
!BpmI CTGGAG 1 898
!-"- ctccag 1 4413
!BsaI GGTCTCnnnn 1 916
!AhdI GACNNNnngtc 1 983
!EamI I05I GACNNNnngtc 1 983
!DrdI GACNNNNnngtc 3 1768 6197 6579
!SapI gaagagc 1 1998
!PvuII CAGctg 3 2054 3689 5896
!PflMI CCANNNNntgg 3 2233 3943 3991
!HindIII Aagctt 1 2235
!ApaLI Gtgcac 1 2321
!BspMI Nnnnnnnnngcaggt 1 2328
!-"- ACCTGCNNNNn 2 3460
!PstI CTGCag 1 2335
!AccI GTmkac 2 2341 2611
!HincII GTYrac 2 2341 3730
!SalI Gtcgac 1 2341
!TliI Ctcgag 1 2347
!XhoI Ctcgag 1 2347
!BbsI gtcttc 2 2383 4219
!BlpI GCtnagc 1 2580
!EspI GCtnagc 1 2580
!SgrAI CRccggyg 1 2648
!AgeI Accggt 2 2649 4302
!AscI GGcggcc 1 2689
!BssHII Gcgcg 1 2690

```


!SfiI GGCCNNNNnggcc	1	2770
!NaeI GCCggc	2	2776 6349
!NgoMIV Gccggc	2	2776 6349
!BtgI Ccrygg	3	2781 3553 5712
!DsaI Ccrygg	3	2781 3553 5712
!NcoI Ccatgg	1	2781
!StyI Ccwwgg	3	2781 4205 4472
!MfeI Caatg	1	2795
!BspEI Tccgga	1	2861
!BglII Agatct	1	2872
!BclI Tgatca	1	2956
!Bsu36I CCtnagg	3	3004 4143 4373
!XcmI CCANNNNNnnntgg	1	3215
!MluI Aceggt	1	3527
!HpaI GTTaac	1	3730
!XbaI Tctaga	1	3767
!		
!AflII Cttaag	1	3811
!BsmI NGcattc	1	3821
!-"- GAATGCN	1	4695
!RsrII CGgwccg	1	3827
!NheI Gctagc	1	4166
!BstEII Ggtnacc	1	4182
!BsmBI CGTCTCNnnnn	2	4188 6625
!-"- Nnnnnngagacg	1	6673
!ApaI GGGCCc	1	4209
!BanII GRGCYc	3	4209 4492 6319
!BspI20I Gggccc	1	4209
!PspOMI Gggccc	1	4209
!BseRI NNnnnnnnnnctctc	1	4226
!-"- GAGGAGNNNNNNNNNN	1	4957
!EcoNI CCTNNnnnagg	1	4278
!PflFI GACNngtc	1	4308
!TthI III GACNngtc	1	4308
!KasI Ggcgcc	2	4327 5967
!BstXI CCANNNNNntgg	1	4415
!NotI GCggccgc	1	4507

```

!EagI Cggccg      1  4508
!BamHI Ggatcc     1  5169
!BspDI ATcgat     1  5476
!NdeI CAtatg      1  5672
!EcoRI Gaattc      1  5806
!PstI TTAtaa      1  6118
!DraIII CACNNNgtg  1  6243
!BsaAI YACgtr     1  6246
-----
1  gacgaaaggg cCTCGTGata cgcctatTT tataggTtaa tgtcalgata ataatggTt
!      BssSI.(1/2)
61  cttAGACGTC aggtggcact ttccggggaa atgtgcgcgg aaccctatt tgtttattt
!      AatII.
121 tctaaataca ttcaaatatG TATCCgctca tgagacaata accctgataa atgcttcaat
!      BciVI..(1 of 2)
181 aatattgaaa aaggaagagt
! Base # 201 a 1061 = gen ApR de pUC119 con algunos sitios de RE eliminados
!
!      1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
!      M S I Q H F R V A L I P F F A
201  atg agt att caa cat ttc cgt gtc gcc ctt att ccc ttt ttt gcg
!
!      16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30
!      A F C L P V F A H P E T L V K
246  gca ttt tgc ctt cct gtt ttt gct cac cca gaa acg ctg gtg aaa
!
!      31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45
!      V K D A E D Q L G A R V G Y I
291  gta aaa gat gct gaa gat cag ttg ggt gcc cga gtg ggt tac atc
!
!      46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60
!      E L D L N S G K I L E S F R P
336  gaa ctg gat ctc aac agc ggt aag atc ctt gag agt ttt cgc ccc
!
!      61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75
!      E E R F P M M S T F K V L L C
381  gaa gaa cgt ttt cca atg atg agc act ttt aaa gtt ctg cta tgt

```

```

!
!   76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90
!   G A V L S R I D A G Q E Q L G
! 426   ggc gcg gta tta tcc cgt att gac gcc ggg caa gaG CAa ctc ggT
!           Bcgl.....
!
!   91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105
!   R R I H Y S Q N D L V E Y S P
! 471   CGc cgc ata cac tat tct cag aat gac ttg gtt gAG TAC Tca cca
!..Bcgl.....      Scal....
!
!   106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120
!   V T E K H L T D G M T V R E L
! 516   gtc aca gaa aag cat ctt acg gat ggc atg aca gla aga gaa tta
!
!   121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133 134 135
!   C S A A I T M S D N T A A N L
! 561   tgc agt gct gcc ata acc atg agt gat aac act gcg gcc aac tta
!
!   136 137 138 139 140 141 142 143 144 145 146 147 148 149 150
!   L L T T I G G P K E L T A F L
! 606   ctt ctg aca aCG ATC Gga gga ccg aag gag cta acc gct ttt ttg
!           Pvul.... (1/2)
!
!   151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165
!   H N M G D H V T R L D R W E P
! 651   cac aac atg ggg gat cat gla act cgc ctt gat cgt tgg gaa ccg
!
!   166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180
!   E L N E A I P N D E R D T T M
! 696   gag ctg aat gaa gcc ata cca aac gac gag cgt gac acc acg atg
!
!   181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195
!   P V A M A T T L R K L L T G E
! 741   cct gla GCA ATG gca aca acg tTG CGC Aaa cta tta act ggc gaa
!           BsrDI..(1/2)      Fspl.... (1/2)
!
!

```

```

!      196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210
!      L L T L A S R Q Q L I D W M E
786    cta ctt act cta gct tcc cgg caa caa tta ala gac tgg atg gag
!
!      211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225
!      A D K V A G P L L R S A L P A
831    gcg gat aaa gtt gca gga cca ctt ctg cgc tcg gcc ctt ccg gct
!
!      226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239 240
!      G W F I A D K S G A G E R G S
876    ggc tgg ttt att gct gat aaa tCT GGA Gcc ggt gag cgt gGG TCT
!      BpmI....(1/2)      BsaI....
!
!      241 242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253 254 255
!      R G I I A A L G P D G K P S R
921    Cgc ggt atC ATT GCa gca ctg ggg cca gat ggt aag ccc tcc cgt
! BsaI.....      BsrDI...(2/2)
!
!      256 257 258 259 260 261 262 263 264 265 266 267 268 269 270
!      I V V I Y T T G S Q A T M D E
966    atc gla gtt atc tac acG ACg ggg aGT Cag gca act atg gat gaa
!      AhdI.....
!
!      271 272 273 274 275 276 277 278 279 280 281 282 283 284 285
!      R N R Q I A E I G A S L I K H
1011   cga aat aga cag atc gct gag ala ggt gcc tca ctg att aag cat
!
!      286 287
!      W .
1056   tgg taa
1062   ctgtcagac caagtttact
1081   catalatact ttagattgat ttaaaacttc atttttaatt taaaaggatc taggtgaaga
1141   tccittttga taatctcatg accaaaatcc cttaacgtga gtttcgttc cactgagcgt
1201   cagaccccggt agaaaagatc aaaggatctt ctgagatcc ttttttctg cgcgtaatct
1261   gctgcttgca aacaaaaaaaa ccaccgctac cagcgggtggg ttgtttgccg gatcaagagc
1321   taccaactct ttttccgaag gtaactggct tcagcagagc gcagatacca aatactgtcc
1381   ttctagtgtg gccgtagtta ggccaccact tcaagaactc tgtagcaccg cctacatacc

```

```

1441  tcgctctgct aatcctgtta ccagtggtcg ctgccagtg cgataagtcg tgcctaccg
1501  ggttggaactc aagacgatag ttaccggata aggcgcagcg gtcgggctga acgggggggtt
1561  cgtgcataca gccagccttg gagcgaacga cctacaccga actgagatag ctacagcgtg
1621  agcattgaga aagcgccacg ctcccggaag ggagaaaggc ggacagGTAT CCggaagcg
!                                     BciVI.. (2 of 2)
1681  gcagggtcgg aacaggagag cgCACGAGgg agcttcagg gggaaacgcc tggatcttt
!                                     BssSI.(2/2)
1741  atagtcctgt cgggtttcgc cactctgac ttgagcgtcg attttgtga tgcctgcag
1801  gggggcggag cctatggaaa aacgccagca acgcggcctt ttacggtc ctggcctttt
1861  gctggccttt tgctACATG Tctttctcg cgttatcccc tgattctgt gataaccgia
!                                     PciI...
1921  ttaccgctt ttagtgagct gataccgtc gccgcagcgc aacgaccgag cgcagcgagt
1981  cagtgcgca ggaagcgGAA GAGCgcccc tacgcaaacc gccttcccc gcgcgttggc
!                                     Sapl....
2041  cgattcatta atgCAGCTGg cagcagcgtt ttcccgactg gaaagcgggc agtgagcga
!                                     PvuII.(1/3)
2101  acgcaatTAA TGTgagttag ctacatcatt aggcacccca ggcTTTACAc ttatgcttc
!                                     ...-35.. Plac ...-10.
2161  cggctcgtat gttgtgtgga attgtgagcg gataacaatt tcacaCAGGA AACAGCTATG
!                                     M13Rev_seq_primer
2221  ACcatgatta cgCCAAGCTT TGGagcctt ttttggaga tttaaac
!                                     PfiMI.....
!                                     Hind3.
! señal::conector::CLigera
!
!      1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
!      fM K K L L F A I P L V V P F Y
2269  gtg aaa aaa tta tta ttc gca att cct tta gtt gtt cct ttc tat
!
!      Conector ..... Final de FR4
!      16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30
!      S H S A Q V Q L Q V D L E I K
2314  tct cac aGT GCA Cag gtc caa CTG CAG GTC GAC CTC GAG atc aaa
!      ApaLI..... PstI... XhoI...
!      BspMI...
!      Sall...
!      AccI...(1/2)

```

```

!                               HincII.(1/2)
!
! los dominios Vligeros podrian clonarse como fragmentos ApaLI-XhoI.
! los segmentos VL-CL(kappa) pueden clonarse como fragmentos ApaLI-AscI. <-----
!
! Ckappa-----
! 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45
! R G T V A A P S V F I F P P S
! 2359 cgt gga act gtg gct gca cca tct GTC TTC atc ttc ccg cca tct
!                               BbsI...(1/2)
!
! 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60
! D E Q L K S G T A S V V C L L
! 2404 gat gag cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg
!
! 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75
! N N F Y P R E A K V Q W K V D
! 2449 aat aac ttc tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat
!
! 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90
! N A L Q S G N S Q E S V T E Q
! 2494 aac gcc ctc caa tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag
!
! 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105
! D S K D S T Y S L S S T L T L
! 2539 gac agc aag gac agc acc tac agc ctc agc agc acc ctg acG CTG
!                               EspI...
!
! 106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120
! S K A D Y E K H K V Y A C E V
! 2584 AGC aaa gca gac tac gag aaa cac aaa GTC TAC gcc tgc gaa gtc
! ...EspI....                               AccI...(2/2)
!
! 121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133 134 135
! T H Q G L S S P V T K S F N R
! 2629 acc cat cag ggc ctg agt tcA CCG GTg aca aag agc ttc aac agg
!                               AgeI....(1/2)

```

```

!
! 136 137 138 139 140
! G E C . .
! 2674 gga gag tgt taa taa GG CGCGCCaatt
!           AscI.....
!           BssHII.
!
! 2701 ctatttcaag gagacagtca ta
!
! PelB::3-23(con relleno)::CH1::III gen de fusión
!
! 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
! M K Y L L P T A A A G L L L L
! 2723 atg aaa tac cta ttg cct acg gca gcc gct gga ttg tta tta ctc
!
!-----
!
! 16 17 18 19 20 21 22
! A A Q P A M A
! 2768 gcG GCC cag ccG GCC atg gcc
! SfiI.....
! NgoMIV..(1/2)
! NcoI....
!
! FRI(DP47/V3-23)-----
! 23 24 25 26 27 28 29 30
! E V Q L L E S G
! 2789 gaa|gtt|CAA|TTG|tta|gag|tct|gg|
!      |MfeI|
!
!-----FRI-----
! 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45
! G G L V Q P G G S L R L S C A
! 2813 |ggc|gg|ctt|gtt|cag|cct|gg|gg|tct|tta|cgt|ctt|tct|tgc|gct|
!

```

```

!  ----FR1----
!  46 47 48
!  A S G
2858 |gc|TCC|GGA|
!  | BspEI |
!
!  Relleno para CDR1, FR2 y CDR2 ----->
!  No hay codones de parada en este relleno.
2867          gcttcAGATC Tgtttgcctt
!          BglII..
2887  ttgtggggt ggtgcagatc gcgttacgga gatcgaccga ctgcttgagc aaaagccacg
2947  ctaactgcT GATCAGgcat gggatgttat tcgccaacc agtcgcagg atcttaacct
!  BclI...
3007  gaggettttt ttacctactc tgcaagcagc gacatctggt ttgacacaga gcgatccgcg
3067  tcgtcagttg gtagaaccat taacacgttg ggaigggcatc aatttgctta atgatgatgg
3127  taaaacctgg cagcagccag gctctgccat cctgaacgtt tggctgacca giatgttgaa
3187  gcgtaccgta gtggctgccg tacctatgCC Atttgataag TGGtacagcg ccagtggcta
!  XcmI.....
3247  cgaaacaacc caggacggcc caactgggtc gctgaatata agtgttgag caaaaattt
3307  giatgaggcg gtgcaggag acaaatcacc aatccacag gcggtgac tgtttgctgg
3367  gaaaccacag caggaggttg tgtggctgc gctggaagal acctgggaga ctcttccaa
3427  acgtatggc aataatgtga gtaactggaa aacacctgca atggcctaa cgttccgggc
3487  aaataatttc ttgggtgtac cgcaggccgc agcgggaagaa ACGCGTcacc aggcggagta
!  MluI..
3547  tcaaaaccgt ggaacagaaa acgatatgat tgttttctca ccaacgacaa gcgatcgicc
3607  tgtgcttgc tgggatgtgg tcgcaccgg tcagagtggg ttattgcic ccgatggaac
3667  agttgataag cactatgaag atcagcigaa aatgtacgaa aatttggcc gtaagtcgt
!  PvuII.
3727  ctgGTTAACg aagcaggatg tggaggcgca taaggagtcg
!  HpaI..
!  HincII(2/2)
!
!  -----FR3-----
!  4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16
!  93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105
!  S R D N S K N T L Y L Q M
3767  |TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|

```



```

!      | XbaI |
!
!      ---FR3----->|
!      17 18 19 20
!      106 107 108 109
!      N S L s l s i r s g
3806 |aac|agC|TTA|AG t ctg agc att CGG TCC G
!      |AflI|      RsrII..
!
!      q h s p t .
3834 gg caa cat tct cca aac tga ccagacga cacaaacggc
3872 ttacgctaaa tcccgcgcat gggatggtaa agaggaggcg tctttgctgg cctggactca
3932 tcagatgaag gccaaaaatt ggcaggagtg gacacagcag gcagcgaaac aagcactgac
3992 catcaactgg tactatgctg atgtaaacgg caatatgggt taigtacata ctggtgctta
4052 tccagatcgt caatcaggcc algalccgcg attaccggt cctggtacgg gaaaatggga
4112 ctggaaaggg ctattgccit ttgaaatgaa ccctaagggt tataaccccc ag
4164 aa GCTAGC ctgcggcttc
!      NheI..
!
4182 G|GTC|ACC|      gtc tca agc
!      |BstEII|
!
!      136 137 138 139 140 141 142 143 144 145 146 147 148 149 150
!      A S T K G P S V F P L A P S S
4198 gcc tcc acc aag ggc cca tct gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc
!
!      151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165
!      K S T S G G T A A L G C L V K
4243 aag agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag
!
!      166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180
!      D Y F P E P V T V S W N S G A
4288 gac tac ttc ccc gaa ccg gtg acg glg tct tgg aac tca ggc gcc
!

```

```

!      181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195
!      L T S G V H T F P A V L Q S S
4333   ctg acc agc ggc gtc cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca
!
!      196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210
!      G L Y S L S S V V T V P S S S
4378   gga ctc tac tcc ctc agc agc gta glg acc glg ccc tcc agc agc
!
!      211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225
!      L G T Q T Y I C N V N H K P S
4423   tlg ggc acc cag acc tac atc lgc aac glg aat cac aag ccc agc
!
!      226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238
!      N T K V D K K V E P K S C
4468   aac acc aag glg gac aaG AAA GTT GAG CCC AAA TCT TGT
!      ON-TQHdirec .....
!
!      Conector Poli His
!      139 140 141 142 143 144 145 146 147 148 149 150
!      A A A H H H H H H G A A
4507   GCG GCC GCa cat cat cat cac cat cac ggg gcc gca
!      NotI.....
!      EagI....
!
!      151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165
!      E Q K L I S E E D L N G A A .
4543   gaa caa aaa ctc atc tca gaa gag gat ctg aat ggg gcc gca tag
!
!      Mature III----->...
!      166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180
!      T V E S C L A K P H T E N S F
4588   act gtt gaa agt lgt lta gca aaa cct cat aca gaa aat tca ttt
!
!      181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195
!      T N V W K D D K T L D R Y A N
4633   act aac gtc tgg aaa gac gac aaa act tta gat cgt tac gct aac
!

```

```

!   196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210
!   Y E G C L W N A T G V V V C T
4678  tat gag ggc tgt ctg tgG AAT GCt aca ggc gtt glg gtt tgt act
!
!   BsmI....
!
!   211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225
!   G D E T Q C Y G T W V P I G L
4723  ggt gac gaa act cag tgt tac ggt aca tgg gtt cct att ggg ctt
!
!   226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239 240
!   A I P E N E G G G S E G G G S
4768  gct atc cct gaa aat gag ggt ggt ggc tct gag ggt ggc ggt tct
!
!   241 242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253 254 255
!   E G G G S E G G G T K P P E Y
4813  gag ggt ggc ggt tct gag ggt ggc ggt act aaa cct cct gag tac
!
!   256 257 258 259 260 261 262 263 264 265 266 267 268 269 270
!   G D T P I P G Y T Y I N P L D
4858  ggt gat aca cct att ccg ggc tat act tat atc aac cct ctc gac
!
!   271 272 273 274 275 276 277 278 279 280 281 282 283 284 285
!   G T Y P P G T E Q N P A N P N
4903  ggc act tat ccg cct ggt act gag caa aac ccc gct aat cct aat
!
!   286 287 288 289 290 291 292 293 294 295 296 297 298 299 300
!   P S L E E S Q P L N T F M F Q
4948  cct tct ctt GAG GAG tct cag cct ctt aat act ttc atg ttt cag
!
!   BseRI..(2/2)
!
!   301 302 303 304 305 306 307 308 309 310 311 312 313 314 315
!   N N R F R N R Q G A L T V Y T
4993  aat aat agg ttc cga aat agg cag ggt gca tta act gtt tat acg
!
!   316 317 318 319 320 321 322 323 324 325 326 327 328 329 330
!   G T V T Q G T D P V K T Y Y Q
5038  ggc act gtt act caa ggc act gac ccc gtt aaa act tat tac cag

```

```

!
!   331 332 333 334 335 336 337 338 339 340 341 342 343 344 345
!   Y T P V S S K A M Y D A Y W N
5083  tac act cct gta tca tca aaa gcc atg tat gac gct tac tgg aac
!
!   346 347 348 349 350 351 352 353 354 355 356 357 358 359 360
!   G K F R D C A F H S G F N E D
5128  ggt aaa ttc aga gac tgc gct ttc cat tct ggc ttt aat gaG GAT
!                                     BamHI..
!
!   361 362 363 364 365 366 367 368 369 370 371 372 373 374 375
!   P F V C E Y Q G Q S S D L P Q
5173  CCa ttc gtt tgt gaa tat caa ggc caa tcg tct gAC CTG Cct caa
! BamHI...                               BspMI...(2/2)
!
!   376 377 378 379 380 381 382 383 384 385 386 387 388 389 390
!   P P V N A G G G S G G G S G G
5218  cct cct gtc aat gct ggc ggc ggc tct ggt ggt ggt tct ggt ggc
!
!   391 392 393 394 395 396 397 398 399 400 401 402 403 404 405
!   G S E G G G S E G G G S E G G
5263  ggc tct gag ggt ggc ggc tct gag ggt ggc ggt tct gag ggt ggc
!
!   406 407 408 409 410 411 412 413 414 415 416 417 418 419 420
!   G S E G G G S G G G S G S G D
5308  ggc tct gag ggt ggc ggt tcc ggt ggc ggc tcc ggt tcc ggt gat
!
!   421 422 423 424 425 426 427 428 429 430 431 432 433 434 435
!   F D Y E K M A N A N K G A M T
5353  ttt gal tat gaa aaa atg gca aac gct aat aag ggg gct atg acc
!
!   436 437 438 439 440 441 442 443 444 445 446 447 448 449 450
!   E N A D E N A L Q S D A K G K
5398  gaa aat gcc gat gaa aac gcg cta cag tct gac gct aaa ggc aaa
!

```

! 451 452 453 454 455 456 457 458 459 460 461 462 463 464 465
! L D S V A T D Y G A A I D G F
5443 ctt gal tct gtc gct act gat tac ggt gct gct ATC GAT ggt ttc
! BspDI..
!
! 466 467 468 469 470 471 472 473 474 475 476 477 478 479 480
! I G D V S G L A N G N G A T G
5488 att ggt gac gtt tcc ggc ctt gct aat ggt aat ggt gct act ggt
!
! 481 482 483 484 485 486 487 488 489 490 491 492 493 494 495
! D F A G S N S Q M A Q V G D G
5533 gat ttt gct ggc tct aat tcc caa atg gct caa gtc ggt gac ggt
!
! 496 497 498 499 500 501 502 503 504 505 506 507 508 509 510
! D N S P L M N N F R Q Y L P S
5578 gat aat tca cct tta atg aat aat ttc cgt caa tat tta cct tct
!
! 511 512 513 514 515 516 517 518 519 520 521 522 523 524 525
! L P Q S V E C R P Y V F G A G
5623 ttg cct cag tcg gtt gaa tgt cgc cct tat gtc ttt ggc gct ggt
!
! 526 527 528 529 530 531 532 533 534 535 536 537 538 539 540
! K P Y E F S I D C D K I N L F
5668 aaa cCA TAT Gaa ttt tct att gat tgt gac aaa ata aac tta ttc
! NdeI....
!
! 541 542 543 544 545 546 547 548 549 550 551 552 553 554 555
! R G V F A F L L Y V A T F M Y
5713 cgt ggt gtc ttt gcg ttt ctt tta tat gtt gcc acc ttt atg tat
!
! 556 557 558 559 560 561 562 563 564 565 566 567 568 569 570
! V F S T F A N I L R N K E S .
5758 gta ttt tcg acg ttt gct aac ata ctg cgt aat aag gag tct taa
!

```

! 571
!
! 5803   taa GAATTC
!       EcoRI.
5812   actggccgt cgtttacaa cgtcgtgact gggaaaaccc tggcgttacc caacttaac
5871   gccttcgagc acatccccct ttgccagct ggcgtaatag cgaagaggcc cgcacCGATC
!
5931   Gcccttccca acagtTGCGC Agcctgaatg gcgaatGGCG CCtgatgcgg tattttccc
! ...PvuI... (3/3)   FspI... (2/2)   KspI... (2/2)
5991   ttacgcatct gtgcgggtatt tcacaccgca tataaattgt aaacgttaat attttgttaa
6051   aattgcggtt aaattttgt taaatcagct cttttttaa ccaataggcc gaaatcggca
6111   aaatcccTTA TAAatcaaaa gaatagcccc agalagggtt gagtgttgtt ccagtttgga
!       PstI...
6171   acaagagtc actattaaag aacgtggact ccaacgtcaa agggcgaaaa accgtctatc
6231   agggcgatgg ccCACtacGT Gaaccatcac ccaatcaag tttttgggg tcgaggtgcc
!       DraIII...
6291   glaaagcact aaatcggaac cctaaaggga gccccgatt tagagcttga cggggaaaGC
!
6351   CGGCgaacgt ggcgagaaag gaagggaaga aagcgaaagg agcgggcgct agggcgctgg
! ..NgoMIV.(2/2)
6411   caagtgtagc ggtcacgctg cgcgtaacca ccacaccgc cgcgcttaat gcgccgtac
6471   agggcgcgta ctatggttc ttgacgggt gcagtcacg lacaatctgc tctgatgccg
6531   calagttaag ccagccccga caccgccaac caccgctga cgcgccctga cgggcttgc
6591   tgctcccgcc atccgcttac agacaagctg tgaccgtctc cgggagctgc atgtgtcaga
6651   ggtttcacc gtcacaccg aaacgcgcga

```

Tabla 30: Oligonucleótidos usados para clonar la diversidad CDR1/2

Todas las secuencias son 5' a 3'.
1) ON_CD1Bsp, 30 bases
A c c T c A c T g g c T T c c g g A 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18
T T c A c T T T c T c T 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30
2) ON_Br12, 42 bases
A g A A A c c c A c T c c A A A c c 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18
T T T A c c A g g A g c T T g g c g 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36
A A c c c A 37 38 39 40 41 42
3) ON_CD2Xba. 51 bases

g g A A g g c A g T g A T c T A g A 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18
g A T A g T g A A g c g A c c T T T 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36
A A c g g A g T c A g c A T A 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51
4) ON_BotXba, 23 bases
g g A A g g c A g T g A T c T A g A 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18
g A T A g 19 20 21 22 23

Tabla 31: Oligonucleótidos Puente/Extensor

ON_Lam1aB7(rc)	GTGCTGACTCAGCCACCCTC. 20	
ON_Lam2aB7(rc)	GCCCTGACTCAGCCTGCCTC. 20	
ON_Lam31B7(rc)	GAGCTGACTCAGG.ACCCTGC 20	
ON_Lam3rB7(rc)	GAGCTGACTCAGCCACCCTC. 20	
ON_LamHf1cBrg(rc) CCT	CGACAGCGAAGTGCACAGAGCGTCTTGACTCAGCC..... 38	
ON_LamHf1cExt CCT	CGACAGCGAAGTGCACAGAGCGTCTTG..... 30	
ON_LamHf2b2Brg(rc) CCT	CGACAGCGAAGTGCACAGAGCGCTTTGACTCAGCC..... 38	
ON_LamHf2b2Ext CCT	CGACAGCGAAGTGCACAGAGCGCTTTG..... 30	
ON_LamHf2dBrg(rc) CCT	CGACAGCTAAGTGCACAGAGCGCTTTGACTCAGCC..... 38	
ON_LamHf2dExt CCT	CGACAGCGAAGTGCACAGAGCGCTTTG..... 30	
ON_LamHf31Brg(rc) CCT	CGACAGCGAAGTGCACAGAGCGAATTGACTCAGCC..... 38	
ON_LamHf31Ext CCT	CGACAGCGAAGTGCACAGAGCGAATTG..... 30	
ON_LamHf3rBrg(rc) CCT	CGACAGCGAAGTGCACAGTACGAATTGACTCAGCC..... 38	
ON_LamHf3rExt CCT	CGACAGCGAAGTGCACAGTACGAATTG..... 30	
ON_lamPlePCR CCT	CGACAGCGAAGTGCACAG.....	21
Consenso		

Tabla 32: Oligonucleótidos usados para hacer el ADNss localmente
bicatenario

Adaptadores (8)

H43HF3.1?02#1	5'-cc	gtg	tat	tac	tgt	gcg	aga	g-3'
H43.77.97.1-03#2	5'-ct	gtg	tat	tac	tgt	gcg	aga	g-3'
H43.77.97.323#22	5'-cc	gtg	tat	tac	tgt	gcg	aga	g-3'
H43.77.97.330#23	5'-ct	gtg	tat	tac	tgt	gcg	aga	g-3'
H43.77.97.439#44	5'-ct	gtg	tat	tac	tgt	gcg	aga	g-3'
H43.77.97.551#48	5'-cc	gtg	tat	tac	tgt	gcg	aga	g-3'

Tabla 33: Pares Puente/extensor

Puentes (2)	
H43.XABr1	
5'ggtgtagtgaTCTAGtgacaactctaagaataactctctacttgagatgaacagCTTtAGgg ctgaggacaCTGCAGtctactattgtgcgaga-3'	
H43.XABr2	
5'ggtgtagtgaTCTAGtgacaactctaagaataactctctacttgagatgaacagCTTtAGgg ctgaggacaCTGCAGtctactattgtgcgaaa-3'	
Extensor	
H43.XAExt	
5'ATAgTAGAcTgcAgTgTccTcAgccctTAAgcTgTtcATcTgcAAgTAGAgAgTATTcTTAg AgTTgTcTcTAGATcAcTAcAcc-3'	

Tabla 34: Cebadores de PCR

Cebadores	
H43.XAPCR2 gactgg	gTgTAgTgATcTAg
Hucmnest cttttc	tttggtgccgttggggtg

Tabla 35: Programa de PCR para la amplificación del ADN de CDR3 de cadena pesada

95 grados C	5 minutos	
95 grados C	20 segundos	
60 grados C	30 segundos	repetir 20x
72 grados C	1 minuto	
72 grados C	7 minutos	
4 grados C	mantenido	
Reactivos (reacción de 100 ul):		
Molde	5ul mezcla de ligación	
10x tampón de PCR	1x	
Taq 5	U	
dNTPs	200 uM cada uno	
MgCl2 2mM		
H43.XAPCR2-biotina	400 nM	
Hucmnest	200 nM	

! Tabla 36: Secuencia anotada de CJR DY3F7 (CJR-A05) 10251 bases

! No cortadoras

! BclI Tgatca	BsiWI Cgtacg	BssSI Cacgag
! Bst217I GTAtac	BtrI CACgtg	EcoRV GATatc
! FseI GGCCGGcc	HpaI GTTaaac	MluI Acgcgt
! PmeI GTTTaaac	PmlI CACgtg	PpuMI RGgwccy
! RsrII CGgwccg	SapI GCTCTTC	SexAI Accwgtt
! SgfI GCGATcgc	SgrAI CRccggyg	SphI GCATGc
! StuI AGGcct	XmaI Cccggg	

! cortadoras

! Enzimas que cortan de 1 a 4 veces y otras características

! Final de los genes II y X		829		
! Comienzo del gen V		843		
! BsrGI Tgtaca	1	1021		
! BspMI Nnnnnnnnnngcaggt	3	1104	5997	9183
! -"- ACCTGCNNNNn	1	2281		
! Final del gen V		1106		
! Comienzo del gen VII		1108		
! BsaBI GATNNnnatc	2	1149	3967	
! Comienzo del gen IX		1208		
! Final del gen VII		1211		
! SnaBI TACgta	2	1268	7133	
! BspHI Tcatga	3	1299	6085	7093
! Comienzo del gen VIII		1301		
! Final del gen IX		1304		
! Final del gen VIII		1522		
! Comienzo del gen III		1578		
! EagI Cggccg	2	1630	8905	
! XbaI Tctaga	2	1643	8436	
! KasI Ggcgcc	4	1650	8724	9039 9120
! BsmI GAATGCN	2	1769	9065	
! BseRI GAGGAGNNNNNNNNNN	2	2031	8516	
! -"- NNnnnnnnnnctcctc	2	7603	8623	
! AlwNI CAGNNNctg	3	2210	8072	8182
! BspDI ATcgat	2	2520	9883	
! NdeI CATatg	3	2716	3796	9847
! Final del gen III		2846		
! Comienzo del gen VI		2848		
! AfeI AGCgct	1	3032		
! Final del gen VI		3187		
! Comienzo del gen I		3189		
! EarI CTCTTCNnnn	2	4067	9274	
! -"- Nnnnngaagag	2	6126	8953	
! PacI TTAATtaa	1	4125		
! Comienzo del gen IV		4213		
! Final del gen I		4235		
! BsmFI Nnnnnnnnnnnnnnnngtccc	2	5068	9515	
! MscI TGGcca	3	5073	7597	9160
! PsiI TTAtaa	2	5349	5837	
! End gene IV		5493		
! Start ori		5494		
! NgoMIV Gccggc	3	5606	8213	9315
! BanII GRGCYc	4	5636	8080	8606 8889
! DraIII CACNNNgtg	1	5709		
! DrdI GACNNNNngtc	1	5752		
! AvaI Cycgrg	2	5818	7240	

!PvuII CAGctg	1	5953		
!BsmBI CGTCTCnnnn	3	5964	8585	9271
! Final de la región ori		5993		
!BamHI Ggatcc	1	5994		
!HindIII Aagctt	3	6000	7147	7384
!BciVI GTATCCNNNNNN	1	6077		
! Comienzo de bla		6138		
!Eco57I CTGAAG	2	6238	7716	
!SpeI Actagt	1	6257		
!BcgI gcannnnntcg	1	6398		
!ScaI AGTact	1	6442		
!PvuI CGATcg	1	6553		
!FspI TGCgca	1	6700		
!BglI GCCNNNNnggc	3	6801	8208	8976
!BsaI GGTCTCnnnn	1	6853		
!AhdI GACNNNngtc	1	6920		
!Eam1105I GACNNNngtc	1	6920		
! Final de bla		6998		
!AccI GTmkac	2	7153	8048	
!HincII GTYrac	1	7153		
!SalI Gtcgac	1	7153		
!XhoI Ctcgag	1	7240		
! Comienzo de la región PlacZ		7246		
! Final de la región PlacZ		7381		
!PflMI CCANNNNntgg	1	7382		
!RBS1		7405		
! comienzo de la seq señal M13-iii para LC		7418		
!ApaLI Gtgcac	1	7470		
! final de la seq señal M13-iii		7471		
! Comienzo de la cadena ligera kappa L20:JK1		7472		
!PflFI GACNngtc	3	7489	8705	9099
!SbfI CCTGCAgg	1	7542		
!PstI CTGCAg	1	7543		
!KpnI GGTACc	1	7581		
!XcmI CCANNNNNnnntgg	2	7585	9215	
!NsiI ATGCAt	2	7626	9503	
!BsgI ctgcac	1	7809		
!BbsI gtcttc	2	7820	8616	
!BlpI GCtnagc	1	8017		
!EspI GCtnagc	1	8017		
!EcoO109I RGgnccy	2	8073	8605	
!Ecl136I GAGctc	1	8080		
!SacI GAGCTc	1	8080		
! Final de la cadena ligera		8122		
!AscI GGcgcgcc	1	8126		
!BssHII Gcgcgcc	1	8127		
!RBS2		8147		
!SfiI GGCCNNNNnggcc	1	8207		
!NcoI Ccatgg	1	8218		
!Start 3-23, FR1		8226		
!MfeI Caattg	1	8232		
!BspEI Tccgga	1	8298		
!Start CDR1		8316		
!Start FR2		8331		
!BstXI CCANNNNNntgg	2	8339	8812	
!EcoNI CCTNNnnnagg	2	8346	8675	
!Start FR3		8373		
!XbaI Tctaga	2	8436	1643	
!AflIII Cttaag	1	8480		
!Start CDR3		8520		
!AatII GACGTc	1	8556		

```

! Comienzo FR4                                8562
! PshAI GACNNnngtc                            2    8573    9231
! BstEII Ggtnacc                              1    8579
! Comienzo CH1                                8595
! ApaI GGGCCc                                  1    8606
! Bsp120I Gggccc                              1    8606
! PspOMI Gggccc                              1    8606
! AgeI Accggt                                 1    8699
! Bsu36I CCTnagg                             2    8770    9509
! Final de CH1                                8903
! NotI GCggccgc                               1    8904
! Comienzo etiqueta His6                      8913
! Comienzo etiqueta cMyc                      8931
! Codón ámbar                                 8982
! NheI Gctagc                                 1    8985
! Comienzo M13 III Dominio 3                  8997
! NruI TCGcga                                 1    9106
! BstBI TTcgaa                                1    9197
! EcoRI Gaattc                                 1    9200
! XcmI CCANNNNNnnnnntgg                     1    9215
! BstAPI GCANNNNNntgc                        1    9337
! SacII CCGCgg                               1    9365
! Final anclaje soporteIII                   9455
! AvrII Cctagg                               1    9462
! Terminador trp                            9470
! SwaI ATTTaaat                              1    9784
! Comienzo gen II                            9850
! BglII Agatct                               1    9936
! -----
!      1 aat gct act act att agt aga att gat gcc acc ttt tca gct cgc gcc
! gene ii continued
!      49 cca aat gaa aat ata gct aaa cag gtt att gac cat ttg cga aat gta
!      97 tct aat ggt caa act aaa tct act cgt tcg cag aat tgg gaa tca act
!     145 gtt aTa tgg aat gaa act tcc aga cac cgt act tta gtt gca tat tta
!     193 aaa cat gtt gag cta cag caT TaT att cag caa tta agc tct aag cca
!     241 tcc gca aaa atg acc tct tat caa aag gag caa tta aag gta ctg tct
!     289 aat cct gac ctg ttg gag ttt gct tcc ggt ctg gtt cgc ttt gaa gct
!     337 cga att aaa acg cga tat ttg aag tct ttc ggg ctt cct ctt aat ctt
!     385 ttt gat gca atc cgc ttt gct tct gac tat aat agt cag ggt aaa gac
!     433 ctg att ttt gat tta tgg tca ttc tcg ttt tct gaa ctg ttt aaa gca
!     481 ttt gag ggg gat tca ATG aat att tat gac gat tcc gca gta ttg gac
! Comienzo gen x, ii continúa
!     529 gct atc cag tct aaa cat ttt act att acc ccc tct ggc aaa act tct
!     577 ttt gca aaa gcc tct cgc tat ttt ggt ttt tat cgt cgt ctg gta aac
!     625 gag ggt tat gat agt gtt gct ctt act atg cct cgt aat tcc ttt tgg
!     673 cgt tat gta tct gca tta gtt gaa tgt ggt att cct aaa tct caa ctg
!     721 atg aat ctt tct acc tgt aat aat gtt gtt ccg tta gtt cgt ttt att
!     769 aac gta gat ttt tct tcc caa cgt cct gac tgg tat aat gag cca gtt
!     817 ctt aaa atc gca TAA
! Final X & II
!     832 ggtaattca ca
!
!      M1      E5      Q10      T15
!     843 ATG att aaa gtt gaa att aaa cca tct caa gcc caa ttt act act cgt
! Comienzo gen V
!
!      S17      S20      P25      E30
!     891 tct ggt gtt tct cgt cag ggc aag cct tat tca ctg aat gag cag ctt
!
!      V35      E40      V45
!     939 tgt tac gtt gat ttg ggt aat gaa tat ccg gtt ctt gtc aag att act

```

```

!
!           D50           A55           L60
! 987 ctt gat gaa ggt cag cca gcc tat gcg cct ggt cTG TAC Acc gtt cat
!                               BsrGI...
!           L65           V70           S75           R80
! 1035 ctg tcc tct ttc aaa gtt ggt cag ttc ggt tcc ctt atg att gac cgt
!
!           P85           K87 final de V
! 1083 ctg cgc ctc gtt ccg gct aag TAA C
!
! 1108 ATG gag cag gtc gcg gat ttc gac aca att tat cag gcg atg
! Comienzo gen VII
!
! 1150 ata caa atc tcc gtt gta ctt tgt ttc gcg ctt ggt ata atc
!
!           VII y IX superposición.
!           ..... S2 V3 L4 V5           S10
! 1192 gct ggg ggt caa agA TGA gt gtt tta gtg tat tct ttT gcc tct ttc gtt
!           Final VII
!           | comienzo IX
!           L13           W15           G20           T25           E29
! 1242 tta ggt tgg tgc ctt cgt agt ggc att acg tat ttt acc cgt tta atg gaa
!
! 1293 act tcc tc
!
!           .... parada de IX, IX y VIII superposición por cuatro bases
! 1301 ATG aaa aag tct tta gtc ctc aaa gcc tct gta gcc gtt gct acc ctc
! Comienzo secuencia señal de viii.
!
! 1349 gtt ccg atg ctg tct ttc gct gct gag ggt gac gat ccc gca aaa gcg
!                               VIII madura --->
! 1397 gcc ttt aac tcc ctg caa gcc tca gcg acc gaa tat atc ggt tat gcg
! 1445 tgg gcg atg gtt gtt gtc att
! 1466 gtc ggc gca act atc ggt atc aag ctg ttt aag
!
! bases 1499-1539 son promotor probable para iii
! 1499 aaa ttc acc tcg aaa gca ! 1515
!           ..... -35 ..
!
! 1517           agc tga taaaccgat acaattaaag gtccttttg
!           ..... -10 ...
!
! 1552 gagccttttt ttt GGAGAt ttt ! S.D. mayúscula, puede haber 9 Ts
!
!           <----- III secuencia señal ----->
!           M K K L L F A I P L V V P F
! 1574 caac GTG aaa aaa tta tta ttc gca att cct tta gtt gtt cct ttc ! 1620
!
!           Y S G A A E S H L D G A
! 1620 tat tct ggc gCG GCC Gaa tca caT CTA GAc ggc gcc
!           EagI.... XbaI....
!
! Dominio 1 -----
!           A E T V E S C L A
! 1656 gct gaa act gtt gaa agt tgt tta gca
!
!           K S H T E I S F T N V W K D D K T
! 1683 aaA Tcc cat aca gaa aat tca ttt aCT AAC GTC TGG AAA GAC GAC AAA ACt
!
!           L D R Y A N Y E G S L W N A T G V
! 1734 tta gat cgt tac gct aac tat gag ggC tgt ctg tgG AAT GCt aca ggc gtt

```

```

!
!                                     BsmI....
!
!       V   V   C   T   G   D   E   T   Q   C   Y   G   T   W   V   P   I
1785 gta gtt tgt act ggt GAC GAA ACT CAG TGT TAC GGT ACA TGG GTT cct att
!
!       G   L   A   I   P   E   N
1836 ggg ctt gct atc cct gaa aat
!
! L1 conector -----
!       E   G   G   G   S   E   G   G   G   S
1857 gag ggt ggt ggc tct gag ggt ggc ggt tct
!
!       E   G   G   G   S   E   G   G   G   T
1887 gag ggt ggc ggt tct gag ggt ggc ggt act
!
! Dominio 2 -----
1917 aaa cct cct gag tac ggt gat aca cct att ccg ggc tat act tat atc aac
1968 cct ctc gac ggc act tat ccg cct ggt act gag caa aac ccc gct aat cct
2019 aat cct tct ctt GAG GAG tct cag cct ctt aat act ttc atg ttt cag aat
!
!                                     BseRI..
2070 aat agg ttc cga aat agg cag ggg gca tta act gtt tat acg ggc act
2118 gtt act caa ggc act gac ccc gtt aaa act tat tac cag tac act cct
2166 gta tca tca aaa gcc atg tat gac gct tac tgg aac ggt aaa ttC AGA
!
!                                     AlwNI
2214 GAC TGc gct ttc cat tct ggc ttt aat gaG gat TTa ttT gtt tgt gaa
!
!                                     AlwNI
2262 tat caa ggc caa tcg tct gac ctg cct caa cct cct gtc aat gct
!
2307 ggc ggc ggc tct
! comienzo L2 -----
2319 ggt ggt ggt tct
2331 ggt ggc ggc tct
2343 gag ggt ggt ggc tct gag gga ggc ggt tcc
2373 ggt ggt ggc tct ggt ! end L2
!
! Muchas secuencias publicadas del fago derivado de M13 tienen un conector más largo
! que el mostrado aquí por repeticiones del resto EGGGS dos veces más.
!
! Dominio 3 -----
!       S   G   D   F   D   Y   E   K   M   A   N   A   N   K   G   A
2388 tcc ggt gat ttt gat tat gaa aag atg gca aac gct aat aag ggg gct
!
!       M   T   E   N   A   D   E   N   A   L   Q   S   D   A   K   G
2436 atg acc gaa aat gcc gat gaa aac gcg cta cag tct gac gct aaa ggc
!
!       K   L   D   S   V   A   T   D   Y   G   A   A   M   D   G   F
2484 aaa ctt gat tct gtc gct act gat tac ggt gct gct atc gat ggt ttc
!
!       I   G   D   V   S   G   L   A   N   G   N   G   A   T   G   D
2532 att ggt gac gtt tcc ggc ctt gct aat ggt aat ggt gct act ggt gat
!
!       F   A   G   S   N   S   Q   M   A   Q   V   G   D   G   D   N
2580 ttt gct ggc tct aat tcc caa atg gct caa gtc ggt gac ggt gat aat
!
!       S   P   L   M   N   N   F   R   Q   Y   L   P   S   L   P   Q
2628 tca cct tta atg aat aat ttc cgt caa tat tta cct tcc ctc cct caa
!
!       S   V   E   C   R   P   F   V   F   G   A   G   K   P   Y   E
2676 tcg gtt gaa tgt cgc cct ttt gtc ttt Ggc gct ggt aaa cca tat gaa
!
!       F   S   I   D   C   D   K   I   N   L   F   R

```

```

2724 ttt tct att gat tgt gac aaa ata aac tta ttc cgt
                                     Final del Dominio 3
!
!
!   G   V   F   A   F   L   L   Y   V   A   T   F   M   Y   V   F140
2760 ggt gtc ttt gcg ttt ctt tta tat gtt gcc acc ttt atg tat gta ttt
      comienzo del segmento transmembrana
!
!   S   T   F   A   N   I   L
2808 tct acg ttt gct aac ata ctg
!
!   R   N   K   E   S
2829 cgt aat aag gag tct TAA ! stop of iii
      Anclaje intracelular.
!
!
!   M1  P2  V   L   L5  G   I   P   L   L10  L   R   F   L   G15
2847 tc ATG cca gtt ctt ttg ggt att ccg tta tta ttg cgt ttc ctc ggt
      Comienzo de VI
!
!
2894 ttc ctt ctg gta act ttg ttc ggc tat ctg ctt act ttt ctt aaa aag
2942 ggc ttc ggt aag ata gct att gct att tca ttg ttt ctt gct ctt att
2990 att ggg ctt aac tca att ctt gtg ggt tat ctc tct gat att agc gct
3038 caa tta ccc tct gac ttt gtt cag ggt gtt cag tta att ctc ccg tct
3086 aat gcg ctt ccc tgt ttt tat gtt att ctc tct gta aag gct gct att
3134 ttc att ttt gac gtt aaa caa aaa atc gtt tct tat ttg gat tgg gat
!
!
!   M1  A2  V3      F5      L10      G13
3182 aaa TAA t ATG gct gtt tat ttt gta act ggc aaa tta ggc tct gga
      final VI      Comienzo del gen I
!
!
!   K   T   L   V   S   V   G   K   I   Q   D   K   I   V   A
3228 aag acg ctc gtt agc gtt ggt aag att cag gat aaa att gta gct
!
!
!   G   C   K   I   A   T   N   L   D   L   R   L   Q   N   L
3273 ggg tgc aaa ata gca act aat ctt gat tta agg ctt caa aac ctc
!
!
!   P   Q   V   G   R   F   A   K   T   P   R   V   L   R   I
3318 ccg caa gtc ggg agg ttc gct aaa acg cct cgc gtt ctt aga ata
!
!
!   P   D   K   P   S   I   S   D   L   L   A   I   G   R   G
3363 ccg gat aag cct tct ata tct gat ttg ctt gct att ggg cgc ggt
!
!
!   N   D   S   Y   D   E   N   K   N   G   L   L   V   L   D
3408 aat gat tcc tac gat gaa aat aaa aac ggc ttg ctt gtt ctc gat
!
!
!   E   C   G   T   W   F   N   T   R   S   W   N   D   K   E
3453 gag tgc ggt act tgg ttt aat acc cgt tct tgg aat gat aag gaa
!
!
!   R   Q   P   I   I   D   W   F   L   H   A   R   K   L   G
3498 aga cag ccg att att gat tgg ttt cta cat gct cgt aaa tta gga
!
!
!   W   D   I   I   F   L   V   Q   D   L   S   I   V   D   K
3543 tgg gat att att ttt ctt gtt cag gac tta tct att gtt gat aaa
!
!
!   Q   A   R   S   A   L   A   E   H   V   V   Y   C   R   R
3588 cag gcg cgt tct gca tta gct gaa cat gtt gtt tat tgt cgt cgt
!
!
!   L   D   R   I   T   L   P   F   V   G   T   L   Y   S   L
3633 ctg gac aga att act tta cct ttt gtc ggt act tta tat tct ctt
!
!
!   I   T   G   S   K   M   P   L   P   K   L   H   V   G   V
3678 att act ggc tcg aaa atg cct ctg cct aaa tta cat gtt ggc gtt

```



```

!
!   V   K   Y   G   D   S   Q   L   S   P   T   V   E   R   W
3723 gtt aaa tat ggc gat tct caa tta agc cct act gtt gag cgt tgg
!
!   L   Y   T   G   K   N   L   Y   N   A   Y   D   T   K   Q
3768 ctt tat act ggt aag aat ttg tat aac gca tat gat act aaa cag
!
!   A   F   S   S   N   Y   D   S   G   V   Y   S   Y   L   T
3813 gct ttt tct agt aat tat gat tcc ggt gtt tat tct tat tta acg
!
!   P   Y   L   S   H   G   R   Y   F   K   P   L   N   L   G
3858 cct tat tta tca cac ggt cgg tat ttc aaa cca tta aat tta ggt
!
!   Q   K   M   K   L   T   K   I   Y   L   K   K   F   S   R
3903 cag aag atg aaa tta act aaa ata tat ttg aaa aag ttt tct cgc
!
!   V   L   C   L   A   I   G   F   A   S   A   F   T   Y   S
3948 gtt ctt tgt ctt gcg att gga ttt gca tca gca ttt aca tat agt
!
!   Y   I   T   Q   P   K   P   E   V   K   K   V   V   S   Q
3993 tat ata acc caa cct aag ccg gag gtt aaa aag gta gtc tct cag
!
!   T   Y   D   F   D   K   F   T   I   D   S   S   Q   R   L
4038 acc tat gat ttt gat aaa ttc act att gac tct tct cag cgt ctt
!
!   N   L   S   Y   R   Y   V   F   K   D   S   K   G   K   L
4083 aat cta agc tat cgc tat gtt ttc aag gat tct aag gga aaa TTA
!                                     PacI
!
!   I   N   S   D   D   L   Q   K   Q   G   Y   S   L   T   Y
4128 ATT AAT agc gac gat tta cag aag caa ggt tat tca ctc aca tat
!   PacI
!
!   i   I   D   L   C   T   V   S   I   K   K   G   N   S   N   E
!   iv                                     M1 K
4173 att gat tta tgt act gtt tcc att aaa aaa ggt aat tca aAT Gaa
!                                     Comienzo IV
!
!   i   I   V   K   C   N   . Final de I
!   iv   L3 L   N5 V   I7 N   F   V10
4218 att gtt aaa tgt aat TAA T TTT GTT
!   IV continuación .....
4243 ttc ttg atg ttt gtt tca tca tct tct ttt gct cag gta att gaa atg
4291 aat aat tcg cct ctg cgc gat ttt gta act tgg tat tca aag caa tca
4339 ggc gaa tcc gtt att gtt tct ccc gat gta aaa ggt act gtt act gta
4387 tat tca tct gac gtt aaa cct gaa aat cta cgc aat ttc ttt att tct
4435 gtt tta cgt gcA aat aat ttt gat atg gtA ggt tcT aAC cct tcc atT
4483 att cag aag tat aat cca aac aat cag gat tat att gat gaa ttg cca
4531 tca tct gat aat cag gaa tat gat gat aat tcc gct cct tct ggt ggt
4579 ttc ttt gtt ccg caa aat gat aat gtt act caa act ttt aaa att aat
4627 aac gtt ccg gca aag gat tta ata cga gtt gtc gaa ttg ttt gta aag
4675 tct aat act tct aaa tcc tca aat gta tta tct att gac ggc tct aat
4723 cta tta gtt gtt agt gcT cct aaa gat att tta gat aac ctt cct caa
4771 ttc ctt tcA act gtt gat ttg cca act gac cag ata ttg att gag ggt
4819 ttg ata ttt gag gtt cag caa ggt gat gct tta gat ttt tca ttt gct
4867 gct ggc tct cag cgt ggc act gtt gca ggc ggt gtt aat act gac cgc
4915 ctc acc tct gtt tta tct tct gct ggt ggt tcg ttc ggt att ttt aat
4963 ggc gat gtt tta ggg cta tca gtt cgc gca tta aag act aat agc cat
5011 tca aaa ata ttg tct gtg cca cgt att ctt acg ctt tca ggt cag aag
5059 ggt tct atc tct gtT GGC CAg aat gtc cct ttt att act ggt cgt gtg
!                                     MscI....

```

```

5107 act ggt gaa tct gcc aat gta aat aat cca ttt cag acg att gag cgt
5155 caa aat gta ggt att tcc atg agc gtt ttt cct gtt gca atg gct ggc
5203 ggt aat att gtt ctg gat att acc agc aag gcc gat agt ttg agt tct
5251 tct act cag gca agt gat gtt att act aat caa aga agt att gct aca
5299 acg gtt aat ttg cgt gat gga cag act ctt tta ctc ggt ggc ctc act
5347 gat tat aaa aac act tct caG gat tct ggc gta ccg ttc ctg tct aaa
5395 atc cct tta atc ggc ctc ctg ttt agc tcc cgc tct gat tct aac gag
5443 gaa agc acg tta tac gtg ctc gtc aaa gca acc ata gta cgc gcc ctg
5491 TAG cggcgcatt
! Final IV
5503 aagcgcggcg ggtgtggtgg ttacgcgcag cgtgaccgct acacttgcca gcgccctagc
5563 gcccgctcct ttcgctttct tcccttcctt tctcgccacg ttcGCCGGCt tccccgtca
! NgoMI.
5623 agctctaaat cgggggctcc cttaggggtt ccgatttagt gctttacggc acctcgaccc
5683 caaaaaactt gatttggtg atgggtCACG TAGTGggcca tcgccctgat agacggtttt
! DraIII....
5743 tcgccctttG ACgTTGGAGT Ccacgttctt taatagtgga ctcttggtcc aaactggaac
! DrdI.....
5803 aacactcaac cctatctcgg gctattcttt tgatttataa gggattttgc cgatttcgga
5863 accaccatca aacaggattt tcgcctgctg gggcaaacca gcgtggaccg cttgctgcaa
5923 ctctctcagg gccaggcggg gaagggcaat CAGCTGttgc cCGTCTCact ggtgaaaaga
! PvuII. BsmBI.
5983 aaaaccaccc tGGATCC AAGCTT
! BamHI HindIII (1/2)
! Inserto que porta el gen bla
6006 gcagggtg gcacttttcg gggaaatgtg gcgcgaaccc
6043 ctatttggtt atttttctaa atacattcaa atatGTATCC gctcatgaga caataaccct
! BciVI
6103 gataaatgct tcaataatat tgaaaaAGGA AGAgt
! RBS.?...
! Comienzo del gen bla
6138 ATG agt att caa cat ttc cgt gtc gcc ctt att ccc ttt ttt gcg gca ttt
6189 tgc ctt cct gtt ttt gct cac cca gaa acg ctg gtg aaa gta aaa gat gct
6240 gaa gat cag ttg ggC gca CTA GTg ggt tac atc gaa ctg gat ctc aac agc
! SpeI....
! ApaLI & BssSI Eliminados
6291 ggt aag atc ctt gag agt ttt cgc ccc gaa gaa cgt ttt cca atg atg agc
6342 act ttt aaa gtt ctg cta tgt GGC GcG Gta tta tcc cgt att gac gcc ggg
6393 caa gaG CAA CTC GGT CGc CGC ATA cAC tat tct cag aat gac ttg gtt gAG
! BcgI..... ScaI
6444 TAC Tca cca gtc aca gaa aag cat ctt acg gat ggc atg aca gta aga gaa
! ScaI.
6495 tta tgc agt gct gcc ata acc atg agt gat aac act gcg gcc aac tta ctt
6546 ctg aca aCG ATC Gga gga ccg aag gag cta acc gct ttt ttg cac aac atg
! PvuI....
6597 ggg gat cat gta act cgc ctt gat cgt tgg gaa ccg gag ctg aat gaa gcc
6648 ata cca aac gac gag cgt gac acc acg atg cct gta gca atg Gca aca acg
6699 tTG CGC Aaa cta tta act ggc gaa cta ctt act cta gct tcc cgg caa caa
! FspI....
6750 tta ata gac tgg atg gag gcg gat aaa gtt gca gga cca ctt ctg cgc tcg
6801 GCC ctt ccG Gct ggc tgg ttt att gct gat aaa tct gga gcc ggt gag cgt
! BglI.....
6852 gGG TCT Cgc ggt atc att gca gca ctg ggg cca gat ggt aag ccc tcc cgt
! BsaI....
6903 atc gta gtt atc tac acG ACg ggg aGT Cag gca act atg gat gaa cga aat
! AhdI.....
6954 aga cag atc gct gag ata ggt gcc tca ctg att aag cat tgg TAA ctgt
! parada
7003 cagaccaagt ttactcatat atactttaaa ttgatttaaa acttcatttt taattttaaaa
7063 ggatctaggt gaagatcctt ttgataatc tcatgaccaa aatcccttaa cgtgagtttt

```

```

7123 cgttccactg tacgtaagac cccc
7147 AAGCTT  GTCGAC tgaa tggcgaatgg cgctttgcct
! HindIII  SalI..
! (2/2)    HincII
7183 ggtttccggc accagaagcg gtgccggaaa gctggctgga gtgcgatctt
!
! Comienzo del casete de presentación de Fab, el Fab DSR-A05, seleccionado
! para unión a un antígeno proteico.
!
7233 CCTGAcG CTCGAG
! xBsu36I XhoI..
!
! El promotor PlacZ está en el bloque siguiente
!
7246          cgcaacgc aattaatgtg agtttagctca
7274 ctcattaggc accccagget ttacacttta tgcttccggc tcgtatgttg
7324 tgttgaattg tgagcggata acaatttcac acaggaaaca gctatgacca
7374 tgattacgCC AagcttTGGA gccttttttt tggagatttt caac
! PflMI.....
! Hind3. (hay 3)
! Secuencia señal del gen iii:
!
! 1  2  3  4  5  6  7  8  9  10 11 12 13 14 15
! M  K  K  L  L  F  A  I  P  L  V  V  P  F  Y
7418 gtg aaa aaa tta tta ttc gca att cct tta gtt gtt cct ttc tat
!
! 16 17 18          Comienzo de la cadena ligera (L20:JK1)
! S  H  S  A  Q  D  I  Q  M  T  Q  S  P  A
7463 tct cac aGT GCA Caa gac atc caq atg acc cag tct cca gcc
! ApaLI...
! Secuencia suministrada por el extensor.....
!
! T  L  S  L
7505 acc ctg tct ttg
!
! S  P  G  E  R  A  T  L  S  C  R  A  S  Q  G
7517 tct cca ggg gaa aga gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag Ggt
!
! V  S  S  Y  L  A  W  Y  Q  Q  K  P  G  Q  A
7562 gtt agc agc tac tta gcc tgg tac cag cag aaa cct ggc cag gct
!
! P  R  L  L  I  Y  D  A  S  S  R  A  T  G  I
7607 ccc agg ctc ctc atc tat gAt gca tcc aAc agg gcc act ggc atc
!
! P  A  R  F  S  G  S  G  P  G  T  D  F  T  L
7652 cca gCc agg ttc agt ggc agt ggg Cct ggg aca gac ttc act ctc
!
! T  I  S  S  L  E  P  E  D  F  A  V  Y  Y  C
7697 acc atc agc agC ctA gag cct gaa gat ttt gca gtT tat tac tgt
!
! Q  Q  R  S  W  H  P  W  T  F  G  Q  G  T  R
7742 cag cag CGt aAc tgg cat ccg tgg ACG TTC GGC CAA GGG ACC AAG
!
! V  E  I  K  R  T  V  A  A  P  S  V  F  I  F
7787 gtg gaa atc aaa cga act gtg gCT GCA Cca tct gtc ttc atc ttc
! BsgI....
!
! P  P  S  D  E  Q  L  K  S  G  T  A  S  V  V
7832 ccg cca tct gat gag cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg
!
! C  L  L  N  N  F  Y  P  R  E  A  K  V  Q  W
7877 tgc ctg ctg aat aac ttc tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg

```

```

!
!      K   V   D   N   A   L   Q   S   G   N   S   Q   E   S   V
7922  aag gtg gat aac gcc ctc caa tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc
!
!      T   E   R   D   S   K   D   S   T   Y   S   L   S   S   T
7967  aca gag cgg gac agc aag gac agc acc tac agc ctc agc agc acc
!
!      L   T   L   S   K   A   D   Y   E   K   H   K   V   Y   A
8012  ctg acG CTG AGC aaa gca gac tac gag aaa cac aaa gtc tac gcc
!      EspI.....
!
!      C   E   V   T   H   Q   G   L   S   S   P   V   T   K   S
8057  tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctG AGC TCg ccc gtc aca aag agc
!      SacI....
!
!      F   N   R   G   E   C   .   .
8102  ttc aac agg gga gag tgt taa taa
!
!      GGC GCG CCaattctat ttcaaGGAGA cagtcata
8126  AscI..... RBS2.
!
!      PelB  secuencia señal  ----- (22 codons) ----->
!      1   2   3   4   5   6   7   8   9   10  11  12  13  14  15
8160  M   K   Y   L   L   P   T   A   A   A   G   L   L   L   L
!      atg aaa tac cta ttg cct acg gca gcc gct gga ttg tta tta ctc
!
!      ...PelB  señal  -----> Comienzo VH, FR1----->
!      16  17  18  19  20  21  22  23  24  25  26  27  28  29  30
8205  A   A   Q   P   A   M   A   E   V   Q   L   L   E   S   G
!      gcG GCC cag ccG GCC atg gcc gaa gtt CAA TTG tta gag tct ggt
!      SfiI..... MfeI...
!      NcoI....
!
!      31  32  33  34  35  36  37  38  39  40  41  42  43  44  45
8250  G   G   L   V   Q   P   G   G   S   L   R   L   S   C   A
!      ggc ggt ctt gtt cag cct ggt ggt tct tta cgt ctt tct tgc gct
!
!      ...FR1-----> CDR1-----> FR2----->
!      46  47  48  49  50  51  52  53  54  55  56  57  58  59  60
8295  A   S   G   F   T   F   S   T   Y   E   M   R   W   V   R
!      gct TCC GGA ttc act ttc tct act tac gag atg cgt tgg gtt cgC
!      BspEI.. BstXI...
!
!      FR2-----> CDR2 ----->
!      61  62  63  64  65  66  67  68  69  70  71  72  73  74  75
8340  Q   A   P   G   K   G   L   E   W   V   S   Y   I   A   P
!      CAa gct cct GGt aaa ggt ttg gag tgg gtt tct tat atc gct cct
!      BstXI.....
!
!      ...CDR2-----> FR3----->
!      76  77  78  79  80  81  82  83  84  85  86  87  88  89  90
8385  S   G   G   D   T   A   Y   A   D   S   V   K   G   R   F
!      tct ggt ggc gat act gct tat gct gac tcc gtt aaa ggt cgc ttc
!
!      91  92  93  94  95  96  97  98  99  100 101 102 103 104 105
8430  T   I   S   R   D   N   S   K   N   T   L   Y   L   Q   M
!      act atc TCT AGA gac aac tct aag aat act ctc tac ttg caa atg
!      XbaI...
!      Suministrado por el extensor-----
!
!      -----FR3----->

```

```

!      106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120
!      N   S   L   R   A   E   D   T   A   V   Y   Y   C   A   R
8475   aac agC TTA AGg qct gaq qac act gca qtc tac tat tgt gcg agg
!      AflII...
!      del extensor ----->
!
!      CDR3-----> FR4-->
!      121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133 134 135
!      R   L   D   G   Y   I   S   Y   Y   Y   G   M   D   V   W
8520   agg ctc gat ggc tat att tcc tac tac tac ggt atg GAC GTC tgg
!                                     AatII..
!
!      136 137 138 139 140 141 142 143 144 145
!      G   Q   G   T   T   V   T   V   .   S   S
8565   ggc caa ggg acc acG GTC ACC gtc tca agc
!                               BstEII...
!
!      CH1 de IgG1 ----->
!      A   S   T   K   G   P   S   V   F   P   L   A   P   S   S
8595   gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc
!
!      K   S   T   S   G   G   T   A   A   L   G   C   L   V   K
8640   aag agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag
!
!      D   Y   F   P   E   P   V   T   V   S   W   N   S   G   A
8685   gac tac ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc
!
!      L   T   S   G   V   H   T   F   P   A   V   L   Q   S   S
8730   ctg acc agc ggc gtc cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tCC TCA
!                                     Bsu36I....
!
!      G   L   Y   S   L   S   S   V   V   T   V   P   S   S   S
8775   GGa ctc tac tcc ctc agc agc gta gtg acc gtg ccc tcc agc agc
!      Bsu36I....
!
!      L   G   T   Q   T   Y   I   C   N   V   N   H   K   P   S
8820   ttg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc
!
!      N   T   K   V   D   K   K   V   E   P   K   S   C   A   A
8865   aac acc aag gtg gac aag aaa gtt gag ccc aaa tct tgt GCG GCC
!                                     NotI.....
!
!      A   H   H   H   H   H   H   G   A   A   E   Q   K   L   I
8910   GCa cat cat cat cac cat cac ggg gcc gca gaa caa aaa ctc atc
!      ..NotI.... etiqueta H6..... Etiqueta Myc .....
!
!      S   E   E   D   L   N   G   A   A   q   A   S   S   A
8955   tca gaa gag gat ctg aat ggg gcc gca tag GCT AGC tct gct
!      Etiqueta Myc.....
!                                     NheI...
!
!      Ámbar
!
!      III'stump
!
!      Dominio 3 de III -----
!
!      S   G   D   F   D   Y   E   K   M   A   N   A   N   K   G   A
8997   agt ggc gac ttc gac tac gag aaa atg gct aat gcc aac aaa GGC GCC
!      tcc t t t t t a g a c t t g g t !W.T.
!                                     KasI... (2/4)
!
!      M   T   E   N   A   D   E   N   A   L   Q   S   D   A   K   G

```

```

9045 atG ACT GAG AAC GCT GAC GAG aat gct ttg caa agc gat gcc aag ggt
!      c a t c t a c g c a g tct c t a c !W.T.
!
!      K L D S V A T D Y G A A I D G F
9093 aag tta gac agc gTC GCG Acc gac tat GGC GCC gcc ATC GAc ggc ttt
!      a c t t tct t t t c t t t t t c !W.T.
!      NruI.... KasI...(3/4)
!
!      I G D V S G L A N G N G A T G D
9141 atc ggc gat gtc agt ggt tTG GCC Aac ggc aac gga gcc acc gga gac
!      t t c t tcc c c t t t t t t t t !W.T.
!      MscI....(3/3)
!
!      F A G S N S Q M A Q V G D G D N
9189 ttc GCA GGT tcG AAT Tct cag atg gcC CAG GTT GGA GAT GGg gac aac
!      t t c t c a t a c t c t t !W.T.
!      BspMI.. (2/2) XcmI.....
!      EcoRI...
!
!      S P L M N N F R Q Y L P S L P Q
9237 agt ccg ctt atg aac aac ttt aga cag tac ctt ccg tct ctt ccg cag
!      tca t t a t t c c t a t t a t c c t a !W.T.
!
!      S V E C R P F V F S A G K P Y E
9285 agt gtc gag tgc cgt cca ttc gtt ttc tct gcc ggc aag cct tac gag
!      tcg t a t c t t c t agc t t a a t a !W.T.
!
!      F S I D C D K I N L F R
9333 ttc aGC Atc gac TGC gat aag atc aat ctt ttC CGC
!      t tct t t t c a a c t a c t !W.T.
!      BstAPI..... SacII...
!      Final Dominio 3
!
!      G V F A F L L Y V A T F M Y V F
9369 GGc gtt ttc gct ttc ttg cta tac gtc gct act ttc atg tac gtt ttc
!      t c t g t c t t a t t c c t t a t !W.T.
!      comienzo del segmento transmembrana
!
!      S T F A N I L R N K E S
9417 aGC ACT TTC GCC AAT ATT TTA Cgc aac aaa gaa agc
!      tct g t t c a c g t t a g tct !W.T.
!      Anclaje intracelular.
!
!      . .
9453 tag tga tct CCT AGG
!      AvrII..
!
9468 aag ccc gcc taa tga gcg ggc ttt ttt ttt ct ggt
!      | terminador trp |
!
Final casete Fab
9503 ATGCAT CCTGAGG ccgat actgtcgtcg tcccctcaaa ctggcagatg
!      NsiI.. Bsu36I.(3/3)
9551 cacggttacg atgcgcccat ctacaccaac gtgacctatc ccattacggt caatccgccg
9611 tttgttccca cggagaatcc gacgggttgt tactcgctca catttaatgt tgatgaaagc
9671 tggctacagg aaggccagac gcgaattatt ttgatggcg ttctattgg ttaaaaaatg
9731 agctgattta acaaaaattt aaTgcgaatt ttaacaaaat attaacgttt acaATTATAA
!      SwaI...
9791 Tatttgctta tacaatcttc ctgtttttgg ggctttttctg attatcaacc GGGGTAcac
9850 ATG att gac atg cta gtt tta cga tta ccg ttc atc gat tct ctt gtt tgc

```

```

!           Comienzo gen II
9901 tcc aga ctc tca ggc aat gac ctg ata gcc ttt gtA GAT CTc tca aaa ata
!                                     BglII...
9952 gct acc ctc tcc ggc atT aat tta tca gct aga acg gtt gaa tat cat .att
10003 gat ggt gat ttg act gtc tcc ggc ctt tct cac cct ttt gaa tct tta cct
10054 aca cat tac tca ggc att gca ttt aaa ata tat gag ggt tct aaa aat ttt
10105 tat cct tgc gtt gaa ata aag gct tct ccc gca aaa gta tta cag ggt cat
10156 aat gtt ttt ggt aca acc gat tta gct tta tgc tct gag gct tta ttg ctt
10207 aat ttt gct aat tct ttg cct tgc ctg tat gat tta ttg gat gtt !
! gen II continúa
! ----- Fin de la Tabla -----

```

Tabla 37: Seq de ADN del gen iii w.t. de M13

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	fM	K	K	L	L	F	A	I	P	L	V	V	P	F	Y
1579	gtg	aaa	aaa	tta	tta	ttc	gca	att	cct	tta	ggt	ggt	cct	ttc	tat
	Secuencia señal														
	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
	S	H	S	A	E	T	V	E	S	C	L	A	K	P	H
1624	tct	cac	tcc	gct	gaa	act	ggt	gaa	agt	tgt	tta	gca	aaa	ccc	cat
	Secuencia señal > Dominio 1-----														
	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
	T	E	N	S	F	T	N	V	W	K	D	D	K	T	L
1669	aca	gaa	aat	tca	ttt	act	aac	gtc	tgg	aaa	gac	gac	aaa	act	tta
	Dominio 1-----														
	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
	D	R	Y	A	N	Y	E	G	C	L	W	N	A	T	G
1714	gat	cgt	tac	gct	aac	tat	gag	ggt	tgt	ctg	tgG	AAT	GCt	aca	ggc
	Dominio 1-----														
	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
	V	V	V	C	T	G	D	E	T	Q	C	Y	G	T	W
1759	ggt	gta	ggt	tgt	act	ggt	gac	gaa	act	cag	tgt	tac	ggt	aca	tgg
	Dominio 1-----														
	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
	V	P	I	G	L	A	I	P	E	N	E	G	G	G	S
1804	ggt	cct	att	ggg	ctt	gct	atc	cct	gaa	aat	gag	ggt	ggt	ggc	tct
	Dominio 1-----> Conector 1-----														
	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
	E	G	G	G	S	E	G	G	G	S	E	G	G	G	T
1849	gag	ggt	ggc	ggt	tct	gag	ggt	ggc	ggt	tct	gag	ggt	ggc	ggt	act
	Conector 1----->														
	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
	K	P	P	E	Y	G	D	T	P	I	P	G	Y	T	Y
1894	aaa	cct	cct	gag	tac	ggt	gat	aca	cct	att	ccg	ggc	tat	act	tat
	Dominio 2-----														
	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135
	I	N	P	L	D	G	T	Y	P	P	G	T	E	Q	N
1939	atc	aac	cct	ctc	gac	ggc	act	taT	CCG	CCt	ggt	act	gag	caa	aac
	Dominio 2-----														
	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150
	P	A	N	P	N	P	S	L	E	E	S	Q	P	L	N
1984	ccc	gct	aat	cct	aat	cct	tct	ctt	GAG	GAG	tct	cag	cct	ctt	aat
	Dominio 2-----														
	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165
	T	F	M	F	Q	N	N	R	F	R	N	R	Q	G	A
2029	act	ttc	atg	ttt	cag	aat	aat	agg	ttc	cga	aat	agg	cag	ggg	gca
	Dominio 2-----														
	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180


```

!      L   T   V   Y   T   G   T   V   T   Q   G   T   D   P   V
2074 tta act gtt tat acg ggc act gtt act caa ggc act gac ccc gtt
!      Dominio 2-----
!
!      181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195
!      K   T   Y   Y   Q   Y   T   P   V   S   S   K   A   M   Y
2119 aaa act tat tac cag tac act cct gta tca tca aaa gcc atg tat
!      Dominio 2-----
!
!      196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210
!      D   A   Y   W   N   G   K   F   R   D   C   A   F   H   S
2164 gac gct tac tgg aac ggt aaa ttC AGa gaC TGc gct ttc cat tct
!                                     AlwNI.....
!      Dominio 2-----
!
!      211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225
!      G   F   N   E   D   P   F   V   C   E   Y   Q   G   Q   S
2209 ggc ttt aat gaG GAT CcA ttc gtt tgt gaa tat caa ggc caa tcg
!                                     BamHI...
!      Dominio 2-----
!
!      226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239 240
!      S   D   L   P   Q   P   P   V   N   A   G   G   G   S   G
2254 tct gac ctg cct caa cct cct gtc aat gct ggc ggc ggc tct ggt
!      Dominio 2-----> Conector 2-----
!
!      241 242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253 254 255
!      G   G   S   G   G   G   S   E   G   G   G   S   E   G   G
2299 ggt ggt tct ggt ggc ggc tct gag ggt ggt ggc tct gag ggt ggc
!      Conector 2-----
!
!      256 257 258 259 260 261 262 263 264 265 266 267 268 269 270
!      G   S   E   G   G   G   S   E   G   G   G   S   G   G   G
2344 ggt tct gag ggt ggc ggc tct gag gga ggc ggt tcc ggt ggt ggc
!      Conector 2-----
!
!      271 272 273 274 275 276 277 278 279 280 281 282 283 284 285
!      S   G   S   G   D   F   D   Y   E   K   M   A   N   A   N
2389 tct ggt tcc ggt gat ttt gat tat gaa aag atg gca aac gct aat
!      Conector 2> Dominio 3-----
!
!      286 287 288 289 290 291 292 293 294 295 296 297 298 299 300
!      K   G   A   M   T   E   N   A   D   E   N   A   L   Q   S
2434 aag ggg gct atg acc gaa aat gcc gat gaa aac gcg cta cag tct
!      Dominio 3-----
!
!      301 302 303 304 305 306 307 308 309 310 311 312 313 314 315
!      D   A   K   G   K   L   D   S   V   A   T   D   Y   G   A
2479 gac gct aaa ggc aaa ctt gat tct gtc gct act gat tac ggt gct
!      Dominio 3-----
!
!      316 317 318 319 320 321 322 323 324 325 326 327 328 329 330
!      A   I   D   G   F   I   G   D   V   S   G   L   A   N   G
2524 gct atc gat ggt ttc att ggt gac gtt tcc ggc ctt gct aat ggt
!      Dominio 3-----
!
!      331 332 333 334 335 336 337 338 339 340 341 342 343 344 345
!      N   G   A   T   G   D   F   A   G   S   N   S   Q   M   A
2569 aat ggt gct act ggt gat ttt gct ggc tct aat tcc caa atg gct
!      Dominio 3-----
!

```

```

!      346 347 348 349 350 351 352 353 354 355 356 357 358 359 360
!      Q   V   G   D   G   D   N   S   P   L   M   N   N   F   R
! 2614 caa gtc ggt gac ggt gat aat tca cct tta atg aat aat ttc cgt
!      Dominio 3-----
!
!      361 362 363 364 365 366 367 368 369 370 371 372 373 374 375
!      Q   Y   L   P   S   L   P   Q   S   V   E   C   R   P   F
! 2659 caa tat tta cct tcc ctc cct caa tcg gtt gaa tgt cgc cct ttt
!      Dominio 3-----
!
!      376 377 378 379 380 381 382 383 384 385 386 387 388 389 390
!      V   F   S   A   G   K   P   Y   E   F   S   I   D   C   D
! 2704 gtc ttt agc gct ggt aaa cca tat gaa ttt tct att gat tgt gac
!      Dominio 3-----
!
!      391 392 393 394 395 396 397 398 399 400 401 402 403 404 405
!      K   I   N   L   F   R   G   V   F   A   F   L   L   Y   V
! 2749 aaa ata aac tta ttc cgt ggt gtc ttt gcg ttt ctt tta tat gtt
!      Dominio 3-----> Segmento transmembrana -----
!
!      406 407 408 409 410 411 412 413 414 415 416 417 418 419 420
!      A   T   F   M   Y   V   F   S   T   F   A   N   I   L   R
! 2794 gcc acc ttt atg tat gta ttt tct acg ttt gct aac ata ctg cgt
!      Segmento transmembrana -----> ICA--
!
!      421 422 423 424 425
!      N   K   E   S   .
! 2839 aat aag gag tct taa ! 2853
!      ICA-----> ICA = anclaje intracelular
!
!----- Fin de la Tabla -----

```

Tabla 38: Anclaje maduro completo III derivado de anclaje III de M13 con ADN recodificado

```

!
!      1   2   3
!      A   A   A
!  1    GCG gcc gca
!      NotI.....
!
!      4   5   6   7   8   9  10  11  12  13  14  15  16  17
!      H   H   H   H   H   H   G   A   A   E   Q   K   L   I
!  10   cat cat cat cac cat cac ggg gcc gca gaa caa aaa ctc atc
!
!      18  19  20  21  22  23  24  25  26  27  28  29
!      S   E   E   D   L   N   G   A   A   .   A   S
!  52   tca gaa gag gat ctg aat ggg gcc gca Tag GCT AGC
!                               NheI...
!
!      30  31  32  33  34  35  36      37  38  39
!      D   I   N   D   D   R   M      A   S   T
!  88   GAT ATC aac gat gat cgt atg gct tct act
! (ON_G37bot) [RC] 5'-c aac gat gat cgt atg gcG CAT Gct gcc gag aca g-3'
! EcoRV..
!      Sitio de escisión de enteroquinasa.
!
! Comienzo III maduro (recodificado)      Dominio 1 ---->
!      40  41  42  43
!      A   E   T   V
!  118   |gcC|gaG|acA|gtC|
!      t   a   t   t ! W.T.
!
!      44  45  46  47  48  49  50  51  52  53  54  55  56  57  58
!      E   S   C   L   A   K   P   H   T   E   N   S   F   T   N
!  130   |gaa|TCC|tgC|CTG|GCC|AaG|ccT|caC|acT|gaG|aat|AGT|ttC|aCA|Aat|
!      agt t t a a a c t a a tca t t c ! W.T.
!                               MscI....
!
!      59  60  61  62  63  64  65  66  67  68  69  70  71  72  73
!      V   W   K   D   D   K   T   L   D   R   Y   A   N   Y   E
!  175   |gtg|TGG|aaG|gaT|gaT|aaG|acC|CtT|gAT|CGA|TaT|gcC|aaT|taC|gaA|
!      c   a   c   c   a   t t a t c t c t g ! W.T.
!                               BspDI...
!
!      74  75  76  77  78  79  80  81  82  83  84  85  86  87  88
!      G   C   L   W   N   A   T   G   V   V   V   C   T   G   D
!  220   |ggC|tgC|TtA|tgg|aat|gcC|ACC|GGC|GtC|gtT|gtC|TGC|ACG|ggC|gaT|
!      t   t c g t a t a t t t t t c ! W.T.
!                               SgrAI..... BsgI....
!
!      89  90  91  92  93  94  95  96  97  98  99  100 101 102 103
!      E   T   Q   C   Y   G   T   W   V   P   I   G   L   A   I
!  265   |gaG|acA|caA|tgC|taT|ggC|ACG|TGg|gtG|ccG|atA|gGC|TTA|GCC|atA|
!      a   t   g   t   c   t   a t t t g c t t c ! W.T.
!                               PmlI.... BlpI.....
!
! Dominio 1-----> Conector 1----->
!  104 105 106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118
!  P   E   N   E   G   G   G   S   E   G   G   G   S   E   G
!  310 |ccG|gaG|aaC|gaA|ggC|ggC|ggT|AGC|gaA|ggC|ggT|ggC|AGC|gaA|ggC|
!      t   a   t   g   t   t   c tct g t c t tct g t ! W.T.
!
! Conector 1-----> Dominio 2----->

```

180

```

!      HincII.
!
!      Conector 2-----> Dominio 3-->
!      269 270 271 272 273 274 275 276 277 278 279 280 281 282 283
!      E  G  G  G  S  E  G  G  G  S  G  G  G  S  G
!      805 |gaA|ggC|ggA|ggT|AGC|gaA|ggA|ggT|ggC|AGC|ggA|ggC|ggT|AGC|ggC|
!      g  t  t  c tct  g  t  c  t tct  g  t  c tct  t ! W.T.
!
!      ----- Dominio 3----->
!      284 285 286 287 288 289 290 291 292 293 294 295 296 297 298
!      S  G  D  F  D  Y  E  K  M  A  N  A  N  K  G
!      850 |AGT|ggC|gac|ttc|gac|tac|gag|aaa|atg|gct|aat|gcc|aac|aaa|GGC|
!      tcc  t  t  t  t  t  a  g  a  c  t  t  g  g ! W.T.
!      KasI....
!
!      299 300 301 302 303 304 305 306 307 308 309 310 311 312 313
!      A  M  T  E  N  A  D  E  N  A  L  Q  S  D  A
!      895 |GCC|atg|act|gag|aac|gct|gac|gaG|AAT|GCA|ctg|caa|agt|gat|gCC|
!      t  c  a  t  c  t  a  c  g  a  g  tct  c  t ! W.T.
!      KasI.... BsmI.... StyI...
!
!      314 315 316 317 318 319 320 321 322 323 324 325 326 327 328
!      K  G  K  L  D  S  V  A  T  D  Y  G  A  A  I
!      940 |AAG|GGT|aag|tta|gac|agc|gTC|GCC|Aca|gac|tat|ggT|GCT|gcc|atc|
!      a  c  a  c  t  t tct  t  t  t  c  t ! W.T.
!      StyI..... PflFI.....
!
!      329 330 331 332 333 334 335 336 337 338 339 340 341 342 343
!      D  G  F  I  G  D  V  S  G  L  A  N  G  N  G
!      985 |gac|ggc|gtt|atc|ggc|gat|gtc|agt|ggT|ctg|gct|aac|ggc|aac|gga|
!      t  t  c  t  t  c  t tcc  c c t  t  t  t ! W.T.
!
!      344 345 346 347 348 349 350 351 352 353
!      A  T  G  D  F  A  G  S  N  S
!      1030 |gcc|acc|gga|gac|ttc|GCA|GGT|tcG|AAT|TCt|
!      t  t  t  t  t  c  t  c ! W.T.
!      BstBI...
!      EcoRI...
!      BspMI..
!
!      354 355 356 357 358 359 360 361 362 363
!      Q  M  A  Q  V  G  D  G  D  N
!      1060 |cag|atg|gcC|CAG|GTT|GGA|GAT|GGg|gac|aac|
!      a  t  a  c  t  c  t  t  t ! W.T.
!      XcmI.....
!
!      364 365 366 367 368 369 370 371 372 373 374 375 376 377 378 379
!      S  P  L  M  N  N  F  R  Q  Y  L  P  S  L  P  Q
!      1090 |agt|ccg|ctt|atg|aac|aac|ttt|aga|cag|tac|ctt|ccg|tct|ctt|ccg|cag|
!      tca  t t a  t  t  c c t  a  t t a  t  c  c  t  a ! W.T.
!
!      380 381 382 383 384 385 386 387 388 389 390 391 392 393 394 395
!      S  V  E  C  R  P  F  V  F  S  A  G  K  P  Y  E
!      1138 |agt|gtc|gag|tgc|cgt|cca|ttc|gtt|ttc|tct|gcc|ggc|aac|cct|tac|gag|
!      tcg  t  a  t  c  t  t  c  t agc  t  t  a  a  t  a ! W.T.
!
!      Dominio 3----->
!      396 397 398 399 400 401 402 403 404 405 406 407
!      F  S  I  D  C  D  K  I  N  L  F  R
!      1186 |ttc|aGC|Atc|gac|TGC|gat|aag|atc|aat|ctt|ttC|CGC|
!      t tct  t  t  t  c  a  a  c t a  t

```

```

!           BstAPI.....                      SacII...
!
!           segmento transmembrana ----->
!           408 409 410 411 412 413 414 415 416 417 418 419 420 421 422 423
!           G  V  F  A  F  L  L  Y  V  A  T  F  M  Y  V  F
1222  GGc gtt ttc gct ttc ttg cta tac gtc gct act ttc atg tac gtt ttc
!           t   c   t   g   t   c   t   t   a   t   t   c   c   t   t   a   t   ! W.T.
!
!           424 425 426 427 428 429 430      431 432 433 434 435
!           S  T  F  A  N  I  L      R  N  K  E  S
1270  aGC ACT TTC GCC AAT ATT TTA      Cgc aac aaa gaa agc
!           tct g   t   t   c   a   c   g      t   t   g   g   tct ! W.T.
!
!                               Anclaje intracelular.
!
!           1306      tag tga tct CCT AGG
!                               AvrII..
!
!           1321 aag ccc gcc taa tga gcg ggc ttt ttt ttt ct ggt
!           | Terminador trp |
!
! Final del casete Fab
!----- Fin de la Tabla -----

```

Tabla 39: ON para hacer deleciones en III

```

! ON para usarse con NheI
!
N
(ON_G29 inf )      5'-c gTT gAT ATc gcT Agc cTA Tgc-3' !
22
! éste es el complemento inverso de      5'-gca tag gct agc gat atc aac g-3'
!                               NheI... scab.....
(ON_G104 sup ) 5'-g|ata|ggc|tta|gcT|aGC|ccg|gag|aac|gaa|gg-3' !
30
!                               Scab.....NheI... 104 105 106 107 108
(ON_G236 sup ) 5'-c|ttt|cac|agc|ggg|ttc|GCT|AGC|gac|cct|ttt|gtc|tgc-3' !
37
!                               NheI... 236 237 238 239 240
(ON_G236tCS) 5'-c|ttt|cac|agc|ggg|ttc|GCT|AGC|gac|cct|ttt|gtc|Agc-
!                               NheI... 236 237 238 239 240
!                               gag|tac|cag|ggg|c-3' !
50

! ON para usarse con SphI G CAT Gc
(ON_X37 inf )      5'-gAc TgT cTc ggc Agc ATg cgc cAT Acg ATc ATc gTT g-3' !
37
!                               N D D R M A H A
! (ON_X37 inf )=[RC] 5'-c aac gat gat cgt atg gcG CAT Gct gcc gag aca gtc-3'
!                               SphI....Scab.....
(ON_X104 sup ) 5'-g|gtG ccg|ata|ggc|ttG|CAT|GCa|ccg|gag|aac|gaa|gg-3' !
36
!                               Scab.....SphI.... 104 105 106 107 108
(ON_X236 sup ) 5'-c|ttt|cac|agc|ggg|ttG|CaT|gCa|gac|cct|ttt|gtc|tgc-3' !
37
!                               SphI... 236 237 238 239 240
(ON_X236tCS) 5'-c|ttt|cac|agc|ggg|ttG|CaT|gCa|gac|cct|ttt|gtc|Agc-
!                               NheI... 236 237 238 239 240
!                               gag|tac|cag|ggg|c-3' !
50

```

Tabla 40: Titulaciones de fagos y enriquecimientos de unas selecciones con una biblioteca de Fab humano basada en DY3F31

	Entrada (cfu totales)	Salida (cfu totales)	Proporción salida/entrada
R1-ox seleccionado en phOx-BSA	$4,5 \times 10^{12}$	$3,4 \times 10^5$	$7,5 \times 10^{-8}$
R2-Strep seleccionado en lechos Strep	$9,2 \times 10^{12}$	3×10^8	$3,3 \times 10^{-5}$

Tabla 41: Frecuencia de positivos en ELISA en bibliotecas de Fab basadas en DY3F31

	Anti-M13 HRP	9E10/RAMHRP	Anti-CK/CL Gar-HRP
R2-ox (con inducción con IPTG) R2-ox (sin IPTG)	18/44 13/44	10/44 ND	10/44 ND
R3-strep (con IPTG)	39/44	38/44	36/44
R3-strep (sin IPTG)	33/44	ND	ND

5 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> LADNER, ROBERT C.
COHEN, EDWARD H.
NASTRI, HORACIO G.
ROOKEY, KRISTIN L.

10 HOET, RENE
HOOGENBOOM, HENDRICUS R. J. M.

<120> NUEVOS MÉTODOS PARA CONSTRUIR BIBLIOTECAS QUE COMPRENDEN MIEMBROS PRESENTADOS Y/O EXPRESADOS DE UNA FAMILIA DIVERSA DE PÉPTIDOS, POLIPÉPTIDOS O PROTEÍNAS Y LAS NUEVAS BIBLIOTECAS

15 <130> DYAX/002 CIP2

<140> 10/045,674
<141> 2001-10-25

<150> 06/198,069
<151> 2000-04-17

20 <150> 09/837,306
<151> 2001-04-17

<160> 635

<170> PatentIn Ver. 2.1

25 <210> 1
<211> 17
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

30 <400> 1
catgtgtatt actgtgc 17

<210> 2
<211> 44
<212> ADN
35 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 2
 cacatccgtg cttctgcac ggatgtggca cagtaataca catg 44

5 <210> 3
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

10 <400> 3
 gtgtattaga ctgctgcc 18

<210> 4
 <211> 43
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

20 <400> 4
 ggcagcagtc taatacacca catccgtgtt cttcacggat gtg 43

<210> 5
 <211> 47
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 5
 cacatccgtg ttgttacac ggatgtggtg tcttacagtc cattctg 47

<210> 6
 30 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

35 <400> 6
 cagaatggac tgtaagacac 20

<210> 7
 <211> 43
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 7
 atcgagtctc actgagccac atccgtggtt ttccacggat gtg 43

45 <210> 8
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

50

<400> 8
 gctcagtggag actcgat 17

 <210> 9
 <211> 24
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 10 <221> base_modificada
 <222> (10)..(24)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 9
 cacgaggagn nnnnnnnnnn nnnn 24

 15 <210> 10
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 10
 atgaccgaat tgctacaag 1 9

 <210> 11
 <211> 46
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 11
 30 gactcctcag cttcttgctg aggagtcctt gtagcaattc ggtcat 46

 <210> 12
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 35 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: etiqueta 6 His

 <400> 12
 His His His His His His
 1 5

 <210> 13
 40 <211> 10
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 45 <221> base_modificada
 <222> (6)..(10)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 13
 50 gtctcnnnnn 10

<210> 14
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(6)
 10 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 14
 nnnnnngaga c 11

<210> 15
 <211> 24
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 20 <221> base_modificada
 <222> (11)..(24)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 15
 cacg gatgtg nnnnnnnnnn nnnn 24

25 <210> 16
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 30 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(14)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

35 <400> 16
 nnnnnnnnnn nnnncacatc cgtg 24

<210> 17
 <211> 14
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 17
 gtgtattact gtgc 14

45 <210> 18
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 50 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 18
 cacatccgtg cacg gatgtg gcacagtaat acac 34

<210> 19
 <211> 14
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 19
 gtgtattaga ctgc 14

10 <210> 20
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

15 <400> 20
 gcagtcta acaccacatc cgtgcacgga tgtg 34

<210> 21
 <211> 34
 <212> ADN

20 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 21
 cacatccgtg cacggatgtg gtgtcttaca gtcc 34

25 <210> 22
 <211> 14
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

30 <400> 22
 ggactgtaag acac 14

<210> 23
 <211> 34

35 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

40 <400> 23
 gagtctcact gagccacatc cgtgcacgga tgtg 34

<210> 24
 <211> 14
 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 24
 gctcagtggag actc 14

50 <210> 25
 <211> 14

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 5 <400> 25
 gtgtattact gtgc 14
 <210> 26
 <211> 14
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 26
 gtatatattact gtgc 14
 15 <210> 27
 <211> 14
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 20 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 27
 gtgtattact gtaa 14
 <210> 28
 <211> 14
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 28
 30 gtgtattact gtac 14
 <210> 29
 <211> 14
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 29
 ttgtattact gtgc 14
 <210> 30
 40 <211> 14
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 45 <400> 30
 ttgtatcact gtgc 14
 <210> 31
 <211> 14
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 31
 acatattact gtgc 14

5 <210> 32
 <211> 14
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

10 <400> 32
 acgtattact gtgc 14

<210> 33
 <211> 14
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 33
 20 atgtattact gtgc 14

<210> 34
 <211> 101
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 34
 agggtcacca tgaccaggga cactgccatc agcacagcct acatgabcga gctgagcagg 60
 ctgagatctg acgacacggc cgtgtattac tgtgagagag a 101

<210> 35
 <211> 98
 <212> ADN
 30 <213> Homo sapiens

<400> 35
 agagtcacca ttaccaggga cacatccgcg agcacagcct acatggagct gagcagcctg 60
 agatctgaag acacggcgtg gtattactgt gcgagaga 98

<210> 36
 <211> 98
 35 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 36
 agagtcacca tgaccaggaa cactccata agcacagcct acatggagct gagcagcctg 60
 agatctgagg acacggccgt gtattactgt gcgagagg 98

<210> 37
 <211> 98
 40 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 37
 agagtcacca tgaccacaga cacatccacg agcacagcct acatggagct gaggagcctg 60
 agatctgacg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98

45 <210> 38
 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

ES 2 375 952 T3

<400> 38
 agagtcacca tgaccgagga cacatctaca gacacagcct acatggagct gagcagcctg 60
 agatctgagg acacggccgt gtattactgt gcaacaga 98

5 <210> 39
 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 39
 agagtcacca ttaccaggga cagggtctatg agcacagcct acatggagct gagcagcctg 60
 agatctgagg acacagccat gtattactgt gcaagata 98

10 <210> 40
 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 40
 agagtcacca tgaccaggga cactgtccacg agcacagtct acatggagct gagcagcctg 60
 agatctgagg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98

15 <210> 41
 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

20 <400> 41
 agagtcacca ttaccaggga catgtccaca agcacagcct acatggagct gagcagcctg 60
 agatccgagg acacggccgt gtattactgt gcggcaga 98

<210> 42
 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 42
 agagtcacga ttaccgcgga cgaatccacg agcacagcct acatggagct gagcagcctg 60
 agatctgagg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 43
 <211> 98
 <212> ADN
 30 <213> Homo sapiens

<400> 43
 agagtcacga ttaccgcgga caaatccacg agcacagcct acatggagct gagcagcctg 60
 agatctgagg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 44
 <211> 98
 35 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 44
 agagtcacca taaccgcgga cactgtctaca gacacagcct acatggagct gagcagcctg 60
 agatctgagg acacggccgt gtattactgt gcaacaga 98

<210> 45
 <211> 100
 <212> ADN
 40 <213> Homo sapiens

<400> 45
 aggcctcacca tcaccaagga cacctccaaa aaccaggtgg tccttacaat gaccaacatg 60
 gaccctgtgg acacagccac atattactgt gcacacagac 100

ES 2 375 952 T3

<210> 46
 <211> 100
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5 <400> 46
 aggctcacca tctccaagga cacctccaaa agccaggtgg tccttaccat gaccaacatg 60
 gaccctgtgg acacagccac atattactgt gcacggatac 100

<210> 47
 <211> 100
 <212> ADN
 10 <213> Homo sapiens

<400> 47
 aggctcacca tctccaagga cacctccaaa aaccaggtgg tccttacaat gaccaacatg 60
 gaccctgtgg acacagccac gtattactgt gcacggatac 100

<210> 48
 <211> 98
 15 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 48
 cgattcacca tctccagaga caacgccaaag aactcactgt atctgcaa at gaacagcctg 60
 agagccgagg acacggctgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 49
 20 <211> 100
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 49
 cgattcacca tctccagaga caacgccaaag aactccctgt atctgcaa at gaacagcctg 60
 agagctgagg acacggcctt gtattactgt gcaaaagata 100

25 <210> 50
 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 50
 30 cgattcacca tctccaggga caacgccaaag aactcactgt atctgcaa at gaacagcctg 60
 agagccgagg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 51
 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

35 <400> 51
 cgattcacca tctccagaga aaatgccaaag aactccttgt atcttcaa at gaacagcctg 60
 agagccgggg acacggctgt gtattactgt gcaagaga 98

<210> 52
 <211> 98
 <212> ADN
 40 <213> Homo sapiens

<400> 52
 agattcacca tctcaagaga tgattcaaaa aacacgctgt atctgcaa at gaacagcctg 60
 aaaaccgagg acacagccgt gtattactgt accacaga 98

<210> 53
 <211> 98
 45 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

ES 2 375 952 T3

<400> 53
 cgattcacca tctccagaga caacgccaaag aactccctgt atctgcaa at gaacagtctg 60
 agagccgagg acacggcctt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 54
 <211> 98
 5 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 54
 cgattcacca tctccagaga caacgccaaag aactcactgt atctgcaa at gaacagcctg 60
 agagccgagg acacggctgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 55
 10 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 55
 cggttcacca tctccagaga caattccaag aacacgctgt atctgcaa at gaacagcctg 60
 agagccgagg acacggcctt atattactgt gcgaaaga 98

15 <210> 56
 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 56
 20 cgattcacca tctccagaga caattccaag aacacgctgt atctgcaa at gaacagcctg 60
 agagctgagg acacggctgt gtattactgt gcgaaaga 98

<210> 57
 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 57
 cgattcacca tctccagaga caattccaag aacacgctgt atctgcaa at gaacagcctg 60
 agagctgagg acacggctgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 58
 <211> 98
 <212> ADN
 30 <213> Homo sapiens

<400> 58
 cgattcacca tctccagaga caattccaag aacacgctgt atctgcaa at gaacagcctg 60
 agagctgagg acacggctgt gtattactgt gcgaaaga 98

<210> 59
 <211> 98
 35 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 59
 cgattcacca tctccagaga caattccaag aacacgctgt atctgcaa at gaacagcctg 60
 agagccgagg acacggctgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 60
 40 <211> 100
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 60
 cgattcacca tctccagaga caacagcaaa aactccctgt atctgcaa at gaacagtctg 60
 agaactgagg acaccgcctt gtattactgt gcaaaagata 100

<210> 61
 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5 <400> 61
 cgattcacca tctccagaga caatgccaaag aactcactgt atctgcaa at gaacagcctg 60
 agagacgagg acacggctgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 62
 <211> 98
 <212> ADN
 10 <213> Homo sapiens

<400> 62
 agattcacca tctcaagaga tggttccaaa agcatcgctt atctgcaa at gaacagcctg 60
 aaaaccgagg acacagccgt gtattactgt actagaga 98

<210> 63
 <211> 98
 <212> ADN
 15 <213> Homo sapiens

<400> 63
 cgattcacca tctccagaga caattccaag aacacgctgt atcttcaa at gaacagcctg 60
 agagccgagg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 64
 <211> 98
 <212> ADN
 20 <213> Homo sapiens

<400> 64
 agattcacca tctccagaga caattccaag aacacgctgt atcttcaa at ggcagcctg 60
 agagctgagg acatggctgt gtattactgt gcgagaga 98

25 <210> 65
 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 65
 agattcacca tctccagaga caattccaag aacacgctgt atcttcaa at gaacagcctg 60
 30 agagctgagg acacggctgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 66
 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

35 <400> 66
 agattcacca tctcaagaga tgattcaaag aactcactgt atctgcaa at gaacagcctg 60
 aaaaccgagg acacggccgt gtattactgt gctagaga 98

<210> 67
 <211> 98
 <212> ADN
 40 <213> Homo sapiens

<400> 67
 aggttcacca tctccagaga tgattcaaag aacacggcgt atctgcaa at gaacagcctg 60
 aaaaccgagg acacggccgt gtattactgt actagaga 98

<210> 68
 <211> 98
 <212> ADN
 45 <213> Homo sapiens

ES 2 375 952 T3

<400> 68
 cgattcacca tctccagaga caacgccaaag aacacgctgt atctgcaa at gaacagctctg 60
 agagccgagg acacggctgt gtattactgt gcaagaga 98

<210> 69
 <211> 98
 5 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 69
 agattcacca tctccagaga caattccaag aacacgctgc atcttcaa at gaacagcctg 60
 agagctgagg acacggctgt gtattactgt aagaaaga 98

<210> 70
 10 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 70
 cgagtcacca tatcagtaga caagtccaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
 accgccgcgg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98

15 <210> 71
 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 71
 20 cgagtcacca tgcagtaga cacgtccaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
 accgccgtgg acacggccgt gtattactgt gcgagaaa 98

<210> 72
 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 72
 cgagttacca tatcagtaga cacgtetaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
 actgccgcgg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 73
 <211> 98
 <212> ADN
 30 <213> Homo sapiens

<400> 73
 cgagtcacca tatcagtaga caggccaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
 accgccgcgg acacggccgt gtattactgt gccagaga 98

<210> 74
 <211> 98
 35 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 74
 cgagttacca tatcagtaga cacgtccaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
 actgccgcag acacggccgt gtattactgt gccagaga 98

<210> 75
 40 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 75
 cgagttacca tatcagtaga cacgtctaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
 actgccgcgg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98

ES 2 375 952 T3

<210> 76
 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5 <400> 76
 cgagtcacca tatcagtaga cacgtccaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
 accgccgcgg acacggctgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 77
 <211> 98
 <212> ADN
 10 <213> Homo sapiens

<400> 77
 cgagtcacca tatccgtaga cacgtccaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
 accgccgcag acacggctgt gtattactgt gcgagaca 98

<210> 78
 <211> 98
 <212> ADN
 15 <213> Homo sapiens

<400> 78
 cgagtcacca tatcagtaga cacgtccaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
 accgctgcgg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 79
 <211> 98
 <212> ADN
 20 <213> Homo sapiens

<400> 79
 cgagtcacca tatcagtaga cacgtccaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
 accgctgcgg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 80
 <211> 98
 <212> ADN
 25 <213> Homo sapiens

<400> 80
 cgagtcacca tatcagtaga cacgtccaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
 accgccgcag acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 81
 <211> 98
 <212> ADN
 30 <213> Homo sapiens

<400> 81
 caggtcacca tctcagccga caagtccatc agcaccgcct acctgcagtg gagcagcctg 60
 aaggcctcgg acaccgccat gtattactgt gcgagaca 98

<210> 82
 <211> 96
 <212> ADN
 40 <213> Homo sapiens

<400> 82
 cacgtcacca tctcagctga caagtccatc agcactgcct acctgcagtg gagcagcctg 60
 aaggcctcgg acaccgccat gtattactgt gcgaga 96

<210> 83
 <211> 98
 <212> ADN
 45 <213> Homo sapiens

<400> 83
 cgaataacca tcaaccaga cacatccaag aaccagttct ccctgcagct gaactctgtg 60
 actcccagg acacggctgt gtattactgt gcaagaga 98

<210> 84
 <211> 98
 5 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 84
 cggtttgtct tctccttgga cacctctgtc agcacggcat atctgcagat ctgcagccta 60
 aaggctgagg acactgccgt gtattactgt gcgagaga 98

10 <210> 85
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220> <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

15 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (3)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 85
 gcnnnnnnng c 11

20 <210> 86
 <211> 10
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(7)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

30 <400> 86
 caynnnnrtg 10

<210> 87
 <211> 11
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 40 <222> (6)..(11)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 87
 gagtcnnnnn n 11

45 <210> 88
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(6)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 5 <400> 88
 nnnnnngaga c 11
 <210> 89
 <211> 10
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base modificada
 15 <222> (4)..(7)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 89
 gaannnttc 10
 <210> 90
 20 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de nucleótidos 3-23 FR3 sintética
 25 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(90)
 <220>
 <221> base_modificada
 30 <222> (3)
 <223> A, T, C o G
 <220>
 <221> base_modificada
 35 <222> (9)
 <223> A, T, C o G
 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (12)
 <223> A, T, C o G
 40 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (21)
 <223> A, T, C o G
 <220>
 45 <221> base_modificada
 <222> (30)
 <223> A, T, C o G
 <220>
 50 <221> base_modificada
 <222> (36)
 <223> A, T, C o G
 <220>
 <221> base_modificada

<222> (51)
 <223> A, T, C o G

 <220>
 <221> base_modificada
 5 <222> (57)
 <223> A, T, C o G

 <220>
 <221> base_modificada
 10 <222> (60)
 <223> A, T, C o G

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (69)
 <223> A, T, C o G

 15 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (72)
 <223> A, T, C o G

 20 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (75)
 <223> A, T, C o G

 <220>
 <221> base_modificada
 25 <222> (78)
 <223> A, T, C o G

 <220>
 <221> base modificada
 <222> (87)
 30 <223> A, T, C o G

 <400> 90
 acn ath wsn mgn gay aay wsn aar aay acn ytn tay ttn car atg aay 48
 Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
 1 5 10 15

 wsn ttr mgn gcn gar gay acn gcn gtn tay tay tgy gcn aar 90
 Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys
 20 25 30

 <210> 91
 <211> 30
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de la proteína 3-23 FR3 sintética

 <400> 91
 Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
 1 5 10 15

 Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys
 20 25 30
 40

 <210> 92
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 45 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

<400> 92
 agttctccct gcagctgaac tc 22

 <210> 93
 <211> 22
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

 <400> 93
 10 cactgtatct gcaaatgaac ag 22

 <210> 94
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

 <400> 94
 ccctgtatct gcaaatgaac ag 22

 <210> 95
 20 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

 25 <400> 95
 ccgcctacct gcagtggagc ag 22

 <210> 96
 <211> 22
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

 <400> 96
 cgctgtatct gcaaatgaac ag 22

 35 <210> 97
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

 <400> 97
 cggcatatct gcagatctgc ag 22

 <210> 98
 <211> 22
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

 <400> 98
 50 cggcgtatct gcaaatgaac ag 22

<210> 99
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

<400> 99
 ctgcctacct gcagtggagc ag 22

10 <210> 100
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

15 <400> 100
 tcgcctatct gcaaatgaac ag 22

<210> 101
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 101
 cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct acttgcagat gaacagctta 60
 agg 63

25 <210> 102
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

30 <400> 102
 caagtagaga gtattcttag agttgtctct agacttagtg aagcg 45

<210> 103
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 103
 cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct acttgcagct gaac 54

<210> 104
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 104
 cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct acttgcaaat gaac 54

<210> 105
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 5 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 105
 cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct actgcagtg gage 54
 <210> 106
 10 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador
 15 <400> 106
 cgcttcacta agtctagaga c 21
 <210> 107
 <211> 22
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética
 <400> 107
 acatggagct gagcagcctg ag 22
 25 <210> 108
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 30 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética
 <400> 108
 acatggagct gagcaggctg ag 22
 <210> 109
 <211> 22
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética
 <400> 109
 40 acatggagct gaggagcctg ag 22
 <210> 110
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 45 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética
 <400> 110
 acctgcagtg gagcagcctg aa 22
 <210> 111
 50 <211> 22

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

 5 <400> 111
 atctgcaaat gaacagcctg aa 22

 <210> 112
 <211> 22
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

 <400> 112
 atctgcaaat gaacagcctg ag 22

 15 <210> 113
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

 <400> 113
 atctgcaaat gaacagtctg ag 22

 <210> 114
 <211> 22
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

 <400> 114
 30 atctgcagat ctgcagccta aa 22

 <210> 115
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 35 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

 <400> 115
 atcttcaaat gaacagcctg ag 22

 <210> 116
 40 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

 45 <400> 116
 atcttcaaat gggcagcctg ag 22

 <210> 117
 <211> 22
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

<400> 117
 ccctgaagct gagctctgtg ac 22

5 <210> 118
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

10 <400> 118
 ccctgcagct gaactctgtg ac 22

<210> 119
 <211> 22
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

20 <400> 119
 tccttacaat gaccaacatg ga 22

<210> 120
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

<400> 120
 tccttaccat gaccaacatg ga 22

<210> 121
 <211> 22
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

35 <400> 121
 acatggagct gagcagcctg ag 22

<210> 122
 <211> 22
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 122
 ccctgaagct gagctctgtg ac 22

45 <210> 123
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

50

<400> 123
 cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct acttgcagat gaac 54

 <210> 124
 <211> 60
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 124 cgcttcactc agtctagaga taacagtaaa aatactttgt acttgcagct gagcgcctg 60
 10 <210> 125
 <211> 60
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 15 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 125
 cgcttcactc agtctagaga taacagtaaa aatactttgt acttgcagct gagctctgtg 60

 <210> 126
 <211> 52
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 126
 25 tcagctgcaa gtacaaagta ttttactgt tatctctaga ctgagtgaag cg 52

 <210> 127
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 30 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 127
 cgcttcactc agtctagaga taac 24

 <210> 128
 35 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 128
 40 ccgtgtatta ctgtgcgaga ga 22

 <210> 129
 <211> 22
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 129
 ctgtgtatta ctgtgcgaga ga 22

<210> 130
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 130
 ccgtgtatta ctgtgcgaga gg 22

10 <210> 131
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

15 <400> 131
 ccgtgtatta ctgtgcaaca ga 22

<210> 132
 <211> 22
 <212> ADN

20 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 132
 ccatgtatta ctgtgcaaga ta 22

25 <210> 133
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

30 <400> 133
 ccgtgtatta ctgtgcggca ga 22

<210> 134
 <211> 22
 <212> ADN

35 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 134
 ccacatatta ctgtgcacac ag 22

<210> 135
 <211> 22
 <212> ADN

40 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 135
 ccacatatta ctgtgcacgg at 22

<210> 136
 <211> 22

50

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 5 <400> 136
 ccacgtatta ctgtgcacgg at 22

 <210> 137
 <211> 22
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 137
 cctgtatta ctgtgcaaaa ga 22

 15 <210> 138
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 138
 ctgtgtatta ctgtgcaaga ga 22

 <210> 139
 <211> 22
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 139
 30 ccgtgtatta ctgtaccaca ga 22

 <210> 140
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 35 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 140
 cctgtatca ctgtgcgaga ga 22

 <210> 141
 40 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 45 <400> 141
 ccgtatatta ctgtgcgaaa ga 22

 <210> 142
 <211> 22
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 142
 ctgtgtatta ctgtgcgaaa ga 22

5 <210> 143
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

10 <400> 143
 ccgtgtatta ctgtactaga ga 22

<210> 144
 <211> 22
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

20 <400> 144
 ccgtgtatta ctgtgctaga ga 22

<210> 145
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 145
 ccgtgtatta ctgtactaga ca 22

<210> 146
 <211> 22
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

35 <400> 146
 ctgtgtatta ctgtaagaaa ga 22

<210> 147
 <211> 22
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 147
 ccgtgtatta ctgtgcgaga aa 22

<210> 148
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

50 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 148
 ccgtgtatta ctgtgccaga ga 22

 <210> 149
 <211> 22
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 149
 10 ctgtgtatta ctgtgcgaga ca 22

 <210> 150
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 150
 ccatgtatta ctgtgcgaga ca 22

 <210> 151
 20 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 25 <400> 151
 ccatgtatta ctgtgcgaga 2 0

 <210> 152
 <211> 21
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 152
 ccgtgtatta ctgtgcgaga g 21

 35 <210> 153
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 153
 ctgtgtatta ctgtgcgaga g 21

 <210> 154
 <211> 21
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 154
 50 ccgtgtatta ctgtgcgaga g 21

<210> 155
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 155
 ccgtatatta ctgtgcgaaa g 21

10 <210> 156
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

15 <400> 156
 ctgtgtatta ctgtgcgaaa g 21

<210> 157
 <211> 21
 <212> ADN

20 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 157
 ctgtgtatta ctgtgcgaga c 21

25 <210> 158
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

30 <400> 158
 ccatgtatta ctgtgcgaga c 21

<210> 159
 <211> 20

35 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

40 <400> 159
 ccatgtatta ctgtgcgaga 2 0

<210> 160
 <211> 94
 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 160
 ggtgtagtga tctagtgaca actctaagaa tactctctac ttgcagatga acagctttag 60
 ggctgaggac actgcagtct actattgtgc gaga 94

<210> 161
 <211> 94

50

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

5 <400> 161
 ggtgtagtga tctagtgaca actctaagaa tactctctac ttgcagatga acagcttttag 60
 ggctgaggac actgcagtct actattgtgc gaaa 94

<210> 162
 <211> 85
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 162
 atagtagact gcagtgtcct cagcccttaa gctgttcac tgcaagtaga gagtattctt 60
 agagttgtct ctagatcact acacc 85

15 <210> 163
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 163
 ggtgtagtga tctagagaca ac 22

<210> 164
 <211> 55
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 164
 30 ggtgtagtga aacagcttta gggctgagga cactgcagtc tactattgtg cgaga 55

<210> 165
 <211> 55
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 165
 ggtgtagtga aacagcttta gggctgagga cactgcagtc tactattgtg cgaaa 55

<210> 166
 40 <211> 46
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

45 <400> 166
 atagtagact gcagtgtcct cagcccttaa gctgttcac tacacc 46

<210> 167
 <211> 46

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 5 <400> 167
 ggtgtagtga aacagcttaa gggctgagga cactgcagtc tactat 46
 <210> 168
 <211> 26
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 168
 ggtgtagtga aacagcttaa gggctg 26
 15 <210> 169
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética
 <400> 169
 agttctccct gcagctgaac tc 22
 <210> 170
 <211> 22
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética
 <400> 170
 30 cactgtatct gcaaatgaac ag 22
 <210> 171
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética
 <400> 171
 ccctgtatct gcaaatgaac ag 22
 <210> 172
 40 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética
 45 <400> 172
 ccgcctacct gcagtggagc ag 22
 <210> 173
 <211> 22
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

 <400> 173
 cgctgtatct gcaaatgaac ag 22

 5 <210> 174
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 10 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

 <400> 174
 cggcatatct gcagatctgc ag 22

 <210> 175
 15 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

 <400> 175
 20 cggcgtatct gcaaatgaac ag 22

 <210> 176
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 25 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

 <400> 176
 ctgcctacct gcagtggagc ag 22

 <210> 177
 30 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

 35 <400> 177
 tcgcctatct gcaaatgaac ag 22

 <210> 178
 <211> 22
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 178
 acatggagct gagcagcctg ag 22

 45 <210> 179
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 50 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

	<400> 179 acatggagct gagcaggctg ag	22
5	<210> 180 <211> 22 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
	<220> <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético	
10	<400> 180 acatggagct gaggagcctg ag	22
	<210> 181 <211> 22 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
15	<220> <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético	
	<400> 181 acctgcagtg gagcagcctg aa	22
20	<210> 182 <211> 22 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
	<220> <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético	
25	<400> 182 atctgcaaat gaacagcctg aa	22
	<210> 183 <211> 22 <212> ADN	
30	<213> Secuencia Artificial	
	<220> <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético	
	<400> 183 atctgcaaat gaacagcctg ag	22
35	<210> 184 <211> 22 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
	<220> <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético	
40	<400> 184 atctgcaaat gaacagtctg ag	22
	<210> 185 <211> 22 <212> ADN	
45	<213> Secuencia Artificial	
	<220> <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético	
50	<400> 185 atctgcagat ctgcagccta aa	22

<210> 186
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 186
 atcttcaaat gaacagcctg ag 22

10 <210> 187
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

15 <400> 187
 atcttcaaat gggcagcctg ag 22

<210> 188
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 188
 ccctgaagct gagctctgtg ac 22

25 <210> 189
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

30 <400> 189
 ccctgcagct gaactctgtg ac 22

<210> 190
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 190
 tccttacaat gaccaacatg ga 22

<210> 191
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 191
 tccttaccat gaccaacatg ga 22

<210> 192
 <211> 22

50

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 5 <400> 192
 ccgtgtatta ctgtgcgaga ga 22
 <210> 193
 <211> 22
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 193
 ctgtgtatta ctgtgcgaga ga 22
 15 <210> 194
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 194
 ccgtgtatta ctgtgcgaga gg 22
 <210> 195
 <211> 22
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 195
 30 ccgtgtatta ctgtgcaaca ga 22
 <210> 196
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 196
 ccatgtatta ctgtgcaaga ta 22
 <210> 197
 40 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 45 <400> 197
 ccgtgtatta ctgtgcggca ga 22
 <210> 198
 <211> 22
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 198
 ccacatatta ctgtgcacac ag 22

5 <210> 199
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

10 <400> 199
 ccacatatta ctgtgcacgg at 22

<210> 200
 <211> 22
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

20 <400> 200
 ccacgtatta ctgtgcacgg at 22

<210> 201
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 201
 cctgtatta ctgtgcaaaa ga 22

<210> 202
 <211> 22
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

35 <400> 202
 ctgtgtatta ctgtgcaaga ga 22

<210> 203
 <211> 22
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 203
 ccgtgtatta ctgtaccaca ga 22

<210> 204
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

50 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 204
 cctgtatca ctgtgcgaga ga 22

 <210> 205
 <211> 22
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 205
 10 ccgtatatta ctgtgcgaaa ga 22

 <210> 206
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 206
 ctgtgtatta ctgtgcgaaa ga 22

 <210> 207
 20 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 25 <400> 207
 ccgtgtatta ctgtactaga ga 22

 <210> 208
 <211> 22
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 208
 ccgtgtatta ctgtgctaga ga 22

 35 <210> 209
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 209
 ccgtgtatta ctgtactaga ca 22

 <210> 210
 <211> 22
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 210
 50 ctgtgtatta ctgtaagaaa ga 22

<210> 211
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 211
 ccgtgtatta ctgtgcgaga aa 22

10 <210> 212
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

15 <400> 212
 ccgtgtatta ctgtgccaga ga 22

<210> 213
 <211> 22
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 213
 ctgtgtatta ctgtgcgaga ca 22

25 <210> 214
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 30 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 214
 ccatgtatta ctgtgcgaga ca 22

<210> 215
 <211> 22
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 215
 40 ccatgtatta ctgtgcgaga aa 22

<210> 216
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

45 <400> 216
 cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggata caccttcacc 90

<210> 217
 <211> 90
 <212> ADN
 50 <213> Homo sapiens

ES 2 375 952 T3

<400> 217
 cagggtccagc ttgtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt 60
 tcctgcaagg cttctggata caccttcact 90

5 <210> 218
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 218
 cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggtc 60
 tcctgcaagg cttctggata caccttcacc 90

10 <210> 219
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 219
 cagggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggtc 60
 tcctgcaagg cttctggata cacctttacc 90

15 <210> 220
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 220
 cagggtccagc tgggtacagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggtc 60
 20 tcctgcaagg tttccggata caccctcact 90

<210> 221
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 221
 cagatgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaaga ctgggtcctc agtgaagggtt 60
 tcctgcaagg cttccggata caccttcacc 90

<210> 222
 <211> 90
 <212> ADN
 30 <213> Homo sapiens

<400> 222
 cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggtt 60
 tcctgcaagg catctggata caccttcacc 90

<210> 223
 <211> 90
 35 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 223
 caaatgcagc tgggtgcagtc tgggcctgag gtgaagaagc ctggggacctc agtgaagggtc 60
 tcctgcaagg cttctggatt cacctttact 90

<210> 224
 <211> 90
 40 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 224
 cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaagggtc 60
 tcctgcaagg cttctggagg caccttcagc 90

ES 2 375 952 T3

<210> 225
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5 <400> 225
 cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggctcctc ggtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggagg caccttcagc 90

<210> 226
 <211> 90
 <212> ADN
 10 <213> Homo sapiens

<400> 226
 gaggtccagc tgggtacagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggctac agtgaaaatc 60
 tcctgcaagg tttctggata caccttcacc 90

<210> 227
 <211> 90
 <212> ADN
 15 <213> Homo sapiens

<400> 227
 cagatcacct tgaaggagtc tgggtcctacg ctgggtgaaac ccacacagac cctcacgctg 60
 acctgcacct tctctgggtt ctcactcagc 90

<210> 228
 <211> 90
 <212> ADN
 20 <213> Homo sapiens

<400> 228
 cagggtcacct tgaaggagtc tgggtcctgtg ctgggtgaaac ccacagagac cctcacgctg 60
 acctgcaccg tctctgggtt ctcactcagc 90

<210> 229
 <211> 90
 <212> ADN
 25 <213> Homo sapiens

<400> 229
 cagggtcacct tgaaggagtc tgggtcctgcg ctgggtgaaac ccacacagac cctcacactg 60
 acctgcacct tctctgggtt ctcactcagc 90

<210> 230
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

35 <400> 230
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt 90

<210> 231
 <211> 90
 <212> ADN
 40 <213> Homo sapiens

<400> 231
 gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat 90

<210> 232
 <211> 90
 <212> ADN
 45 <213> Homo sapiens

ES 2 375 952 T3

<400> 232
 cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtcaagc ctggagggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 233
 <211> 90
 5 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 233
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 234
 10 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 234
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtaaagc ctgggggggtc ccttagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

15 <210> 235
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 235
 20 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggt gtggtacggc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 236
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 236
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ctggtcaagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 237
 <211> 90
 <212> ADN
 30 <213> Homo sapiens

<400> 237
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 238
 <211> 90
 35 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 238
 cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggagggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 239
 40 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 239
 cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggagggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

ES 2 375 952 T3

<210> 240
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5 <400> 240
cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 241
 <211> 90
 <212> ADN
 10 <213> Homo sapiens

<400> 241
cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt 90

<210> 242
 <211> 90
 15 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 242
gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggagtc gtggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat 90

<210> 243
 20 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 243
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

25 <210> 244
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 244
 30 <210> 244
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc cagggcggtc cctgagactc 60
tcctgtacag cttctggatt cacctttggt 90

<210> 245
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

35 <400> 245
gaggtgcagc tgggtggagac tggaggagtc ttgatccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctgggtt caccgtcagt 90

<210> 246
 <211> 90
 <212> ADN
 40 <213> Homo sapiens

<400> 246
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 247
 <211> 90

ES 2 375 952 T3

<212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 247
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt 90

 5 <210> 248
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 248
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggagggtc cctgagactc 60
 10 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

 <210> 249
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 15 <400> 249
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgaaactc 60
 tcctgtgcag cctctgggtt caccttcagt 90

 <210> 250
 <211> 90
 <212> ADN
 20 <213> Homo sapiens

 <400> 250
 gaggtgcagc tgggtggagtc cgggggaggc ttagttcagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

 <210> 251
 <211> 90
 25 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 251
 gaggtgcagc tgggtggagtc tcggggagtc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt 90

 <210> 252
 30 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 252
 caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggggac cctgtccctc 60
 acctgcgctg tctctggttg ctccatcagc 90

 35 <210> 253
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 253
 caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggacac cctgtccctc 60
 40 acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc 90

 <210> 254
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

ES 2 375 952 T3

<400> 254
 caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc 90

<210> 255
 <211> 90
 5 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 255
 cagctgcagc tgcaggagtc cggctcagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
 acctgcgctg tctctggtgg ctccatcagc 90

<210> 256
 <211> 90
 10 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 256
 caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc 90

<210> 257
 <211> 90
 15 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 257
 caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc 90

<210> 258
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 258
 caggtgcagc tacagcagtg gggcgcagga ctgttgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
 acctgcgctg tctatggtgg gtccttcagt 90

<210> 259
 <211> 90
 <212> ADN
 30 <213> Homo sapiens

<400> 259
 cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc 90

<210> 260
 <211> 90
 35 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 260
 caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt 90

<210> 261
 <211> 90
 40 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 261
 caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtgg ctccgacagc 90

<210> 262
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5 <400> 262
cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcgctg tctctgggta ctccatcagc 90

<210> 263
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

10 <400> 263
gagggtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc 60
tcctgtaagg gttctgggata cagctttacc 90

<210> 264
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

15 <400> 264
gaagtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaggatc 60
tcctgtaagg gttctgggata cagctttacc 90

<210> 265
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

20 <400> 265
cagggtacagc tgcagcagtc aggtccagga ctggtgaagc cctcgcagac cctctcactc 60
acctgtgcca tctccgggga cagtgtctct 90

<210> 266
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 266
cagggtgcagc tgggtgcaatc tgggtctgag ttgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt 60
tcctgcaagg cttctgggata caccttcact 90

<210> 267
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 267
 ccgtgtatta ctgtgcgaga ga 22

<210> 268
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

45 <400> 268
 ctgtgtatta ctgtgcgaga ga 22

<210> 269
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 269
 ccgtgtatta ctgtgcgaga gg 22

10 <210> 270
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

15 <400> 270
 ccgtatatta ctgtgcgaaa ga 22

<210> 271
 <211> 22
 <212> ADN

20 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 271
 ctgtgtatta ctgtgcgaaa ga 22

25 <210> 272
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

30 <400> 272
 ctgtgtatta ctgtgcgaga ca 22

<210> 273
 <211> 22
 <212> ADN

35 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 273
 ccatgtatta ctgtgcgaga ca 22

<210> 274
 <211> 22
 <212> ADN

40 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 274
 ccatgtatta ctgtgcgaga aa 22

<210> 275
 <211> 69

50

ES 2 375 952 T3

<212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 275
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

 5 <210> 276
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 276
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 10 atcacttgc 69

 <210> 277
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 15 <400> 277
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

 <210> 278
 <211> 69
 <212> ADN
 20 <213> Homo sapiens

 <400> 278
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

 <210> 279
 <211> 69
 25 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 279
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

 <210> 280
 <211> 69
 30 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 280
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

 <210> 281
 <211> 69
 35 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 281
 aacatccaga tgacccagtc tccatctgcc atgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 40 atcacttgt 69

 <210> 282
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

ES 2 375 952 T3

<400> 282
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgt 69

5 <210> 283
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 283
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgt 69

10 <210> 284
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 284
 gccatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

15 <210> 285
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

20 <400> 285
 gccatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

<210> 286
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 286
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgt 69

<210> 287
 <211> 69
 <212> ADN
 30 <213> Homo sapiens

<400> 287
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctct gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgt 69

<210> 288
 <211> 69
 <212> ADN
 35 <213> Homo sapiens

<400> 288
 gacatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

<210> 289
 <211> 69
 <212> ADN
 40 <213> Homo sapiens

<400> 289
 gccatccgga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

ES 2 375 952 T3

<210> 290
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5 <400> 290
 gccatccgga tgacccagtc tccatcctca ttctctgcat ctacaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgt 69

<210> 291
 <211> 69
 <212> ADN
 10 <213> Homo sapiens

<400> 291
 gtcattctgga tgacccagtc tccatcctta ctctctgcat ctacaggaga cagagtcacc 60
 atcagttgt 69

<210> 292
 <211> 69
 <212> ADN
 15 <213> Homo sapiens

<400> 292
 gccatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

<210> 293
 <211> 69
 <212> ADN
 20 <213> Homo sapiens

<400> 293
 gacatccaga tgacccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

<210> 294
 <211> 69
 <212> ADN
 25 <213> Homo sapiens

<400> 294
 gatattgtga tgacccagac tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60
 atctcctgc 69

<210> 295
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

35 <400> 295
 gatattgtga tgacccagac tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60
 atctcctgc 69

<210> 296
 <211> 69
 <212> ADN
 40 <213> Homo sapiens

<400> 296
 gatgttgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccttggaga gccggcctcc 60
 atctcctgc 69

<210> 297
 <211> 69
 <212> ADN
 45 <213> Homo sapiens

<400> 297
 gatgttgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaca gccggcctcc 60
 atctcctgc 69

5 <210> 298
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 298
 gatattgtga tgaccagac tccactctct ctgtccgta cccctggaca gccggcctcc 60
 atctcctgc 69

10 <210> 299
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 299
 gatattgtga tgaccagac tccactctct ctgtccgta cccctggaca gccggcctcc 60
 atctcctgc 69

15 <210> 300
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 300
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60
 atctcctgc 69

20 <210> 301
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 301
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60
 atctcctgc 69

<210> 302
 <211> 69
 <212> ADN
 30 <213> Homo sapiens

<400> 302
 gatattgtga tgaccagac tccactctcc tcacctgtca cccctggaca gccggcctcc 60
 atctcctgc 69

<210> 303
 <211> 69
 35 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 303
 gaaattgtgt tgacgcagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgc 69

<210> 304
 <211> 69
 40 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 304
 gaaattgtgt tgacgcagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgc 69

<210> 305
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5 <400> 305
 gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgc 69

<210> 306
 <211> 69
 <212> ADN
 10 <213> Homo sapiens

<400> 306
 gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgc 69

<210> 307
 <211> 69
 15 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 307
 gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgc 69

20 <210> 308
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 308
 gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgc 69

25 <210> 309
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 309
 gaaattgtaa tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 30 ctctcctgc 69

<210> 310
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

35 <400> 310
 gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
 atcaactgc 69

<210> 311
 <211> 69
 <212> ADN
 40 <213> Homo sapiens

<400> 311
 gaaacgacac tcacgcagtc tccagcattc atgtcagcga ctccaggaga caaagtcaac 60
 atctcctgc 69

<210> 312
 <211> 69

ES 2 375 952 T3

<212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 312
 gaaattgtgc tgactcagtc tccagacttt cagtctgtga ctccaaagga gaaagtcacc 60
 atcacctgc 69

 5 <210> 313
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 313
 gaaattgtgc tgactcagtc tccagacttt cagtctgtga ctccaaagga gaaagtcacc 60
 10 atcacctgc 69

 <210> 314
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 15 <400> 314
 gatgttgtga tgacacagtc tccagctttc ctctctgtga ctccaggga gaaagtcacc 60
 atcacctgc 69

 <210> 315
 <211> 66
 <212> ADN
 20 <213> Homo sapiens

 <400> 315
 cagtctgtgc tgactcagcc accctcgggtg tctgaagccc ccaggcagag ggtcaccatc 60
 tcctgt 66

 <210> 316
 <211> 66
 25 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 316
 cagtctgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
 tcctgc 66

 <210> 317
 <211> 66
 30 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 317
 cagtctgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc 60
 tcttgt 66

 <210> 318
 <211> 66
 35 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 318
 cagtctgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc 60
 40 tcttgt 66

 <210> 319
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 319
 cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcgggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
 tcctgc 66

5 <210> 320
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 320
 cagtctgccc tgactcagcc tccctccgctg tccgggtctc ctggacagtc agtcaccatc 60
 tcctgc 66

10 <210> 321
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 321
 cagtctgccc tgactcagcc tcgctcagtg tccgggtctc ctggacagtc agtcaccatc 60
 tcctgc 66

15 <210> 322
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

20 <400> 322
 cagtctgccc tgactcagcc tgectccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
 tcctgc 66

<210> 323
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 323
 cagtctgccc tgactcagcc tccctccgtg tccgggtctc ctggacagtc agtcaccatc 60
 tcctgc 66

<210> 324
 <211> 66
 <212> ADN
 30 <213> Homo sapiens

<400> 324
 cagtctgccc tgactcagcc tgectccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
 tcctgc 66

<210> 325
 <211> 66
 35 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 325
 tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc 60
 acctgc 66

40 <210> 326
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 326
 tcctatgagc tgactcagcc actctcagtg tcagtggccc tgggacagac ggccaggatt 60
 acctgt 66

ES 2 375 952 T3

<210> 327
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 5 <400> 327
 tcctatgagc tgacacagcc accctcgggtg tcagtgtccc caggacaaac ggccaggatc 60
 acctgc 66
 <210> 328
 <211> 66
 <212> ADN
 10 <213> Homo sapiens
 <400> 328
 tcctatgagc tgacacagcc accctcgggtg tcagtgtccc taggacagat ggccaggatc 60
 acctgc 66
 <210> 329
 <211> 66
 <212> ADN
 15 <213> Homo sapiens
 <400> 329
 tcttctgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc 60
 acatgc 66
 <210> 330
 <211> 66
 <212> ADN
 20 <213> Homo sapiens
 <400> 330
 tcctatgtgc tgactcagcc accctcagtg tcagtggccc caggaaagac ggccaggatt 60
 acctgt 66
 <210> 331
 <211> 66
 <212> ADN
 25 <213> Homo sapiens
 <400> 331
 tcctatgagc tgacacagct accctcgggtg tcagtgtccc caggacagac agccaggatc 60
 acctgc 66
 <210> 332
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 35 <400> 332
 tcctatgagc tgatgcagcc accctcgggtg tcagtgtccc caggacagac ggccaggatc 60
 acctgc 66
 <210> 333
 <211> 66
 <212> ADN
 40 <213> Homo sapiens
 <400> 333
 tcctatgagc tgacacagcc atcctcagtg tcagtgtctc cgggacagac agccaggatc 60
 acctgc 66
 <210> 334
 <211> 66
 <212> ADN
 45 <213> Homo sapiens

ES 2 375 952 T3

<400> 334
 ctgcctgtgc tgactcagcc cccgtctgca tctgccttgc tgggagcctc gatcaagctc 60
 acctgc 66

5 <210> 335
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 335
 cagcctgtgc tgactcaatc atcctctgcc tctgcttccc tgggagcctc ggtcaagctc 60
 acctgc 66

10 <210> 336
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 336
 cagcctgtgc tgactcaatc gccctctgcc tctgcctccc tgggagcctc ggtcaagctc 60
 acctgc 66

15 <210> 337
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

20 <400> 337
 cagcctgtgc tgactcagcc accttcctcc tccgcatctc ctggagaatc cgccagactc 60
 acctgc 66

<210> 338
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 338
 caggctgtgc tgactcagcc ggcttccctc tctgcatctc ctggagcatc agccagtctc 60
 acctgc 66

<210> 339
 <211> 66
 <212> ADN
 30 <213> Homo sapiens

<400> 339
 cagcctgtgc tgactcagcc atcttcccat tctgcatctt ctggagcatc agtcagactc 60
 acctgc 66

<210> 340
 <211> 66
 35 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 340
 aattttatgc tgactcagcc ccactctgtg tcggagtctc cggggaagac ggtaaccatc 60
 tcctgc 66

40 <210> 341
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 341
 cagactgtgg tgactcagga gccctcactg actgtgtccc caggagggac agtcactctc 60
 acctgt 66

ES 2 375 952 T3

<210> 342
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5 <400> 342
 caggctgtgg tgactcagga gccctcactg actgtgtccc caggagggac agtcactctc 60
 acctgt 66

<210> 343
 <211> 66
 <212> ADN
 10 <213> Homo sapiens

<400> 343
 cagactgtgg tgaccagga gccatcggtc tcagtgtccc ctggagggac agtcacactc 60
 acttgt 66

<210> 344
 <211> 66
 <212> ADN
 15 <213> Homo sapiens

<400> 344
 cagcctgtgc tgactcagcc accttctgca tcagcctccc tgggagcctc ggtcacactc 60
 acctgc 66

<210> 345
 <211> 66
 <212> ADN
 20 <213> Homo sapiens

<400> 345
 caggcagggc tgactcagcc accctcggtg tccaagggct tgagacagac cgccacactc 60
 acctgc 66

25 <210> 346
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 30 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (1) .. (6)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

35 <400> 346
 nnnnnngact c 11

<210> 347
 <211> 11
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 45 <222> (6) .. (11)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 347
 gagtcnnnnn n 11

<210> 348
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 5 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (3) .. (9)
 10 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 348
 gcnnnnnnng c 11
 <210> 349
 <211> 11
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 20 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (11)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 349
 acctgcnnnn n 11
 25 <210> 350
 <211> 25
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 30 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 350
 cacatccgtg ttgttcacgg atgtg 25
 <210> 351
 <211> 88
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 351
 aatagtagac tgcagtgtcc tcagccctta agctgttcat ctgcaagtag agagtattct 60
 40 tagagttgtc tctagactta gtgaagcg 88
 <210> 352
 <211> 88
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 45 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 352
 cgcttcaacta agtctagaga caactctaag aatactctct acttgcagat gaacagctta 60
 agggctgagg acactgcagt ctactatt 88
 <210> 353
 50 <211> 95

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 5 <400> 353
 cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct acttgcagat gaacagctta 60
 agggctgagg acactgcagt ctactattgt gcgag 95

 <210> 354
 <211> 95
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 354
 cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct acttgcagat gaacagctta 60
 agggctgagg acactgcagt ctactattgt acgag 95

 15 <210> 355
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 355
 cgcttcacta agtctagaga caac 24

 <210> 356
 <211> 15
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 30 <221> base_modificada
 <222> (8) .. (15)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 356 cacctgcnnn nnnnn 15

 <210> 357
 35 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 40 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (17)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 357
 45 cagctcnnnn nnnnnnn 1 7

 <210> 358
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 5 <222> (7) .. (17)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 358
 gaagacnnnn nnnnnnn 17

 <210> 359
 10 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 15 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (6) .. (17)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 359
 20 gcagcnnnnn nnnnnnn 17

 <210> 360
 <211> 12
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 25 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (12)
 30 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 360
 gaagacnnnn nn 12

 <210> 361
 <211> 22
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 40 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (22)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 361
 cttgagnnnn nnnnnnnnnn nn 22

 45 <210> 362
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 50 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada

<222> (6) .. (19)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 362
 acggcnnnnn nnnnnnnnn 19

 5 <210> 363
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 10 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (6) .. (18)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 15 <400> 363
 acggcnnnnn nnnnnnnnn 18

 <210> 364
 <211> 12
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 25 <222> (7) .. (12)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 364
 gtatccnnnn nn 12

 <210> 365
 30 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 35 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (11)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 365
 40 actgggnnnn n 11

 <210> 366
 <211> 10
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 45 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (6) .. (10)
 50 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 366
 ggatcnnnnn 10

<210> 367
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 5 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (6) .. (11)
 10 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 367
 gcatcnnnnn n 11
 <210> 368
 <211> 16
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 20 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (16)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 368
 gaggagnnnn nnnnnn 1 6
 25 <210> 369
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 30 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (6) .. (19)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 35 <400> 369
 gggacnnnnn nnnnnnnn 19
 <210> 370
 <211> 14
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 45 <222> (7) .. (14)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 370
 acctgcnnnn nnnn 14
 <210> 371
 50 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base modificada
 5 <222> (7) .. (17)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 371
 ggcggannnn nnnnnnn 17

 <210> 372
 10 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 15 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (22)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 372
 20 ctgaagnnnn nnnnnnnnn nn 22

 <210> 373
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 25 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (6) .. (11)
 30 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 373
 cccgcnnnn n 11

 <210> 374
 <211> 18
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 40 <222> (6) .. (18)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 374
 ggatgnnnnn nnnnnnnn 18

 <210> 375
 45 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 50 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada

<222> (7) .. (22)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 375
 ctggagnnnnn nnnnnnnnnn nn 22

 5 <210> 376
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 10 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (6)..(15)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 15 <400> 376
 gacgcnnnnn nnnnn 15

 <210> 377
 <211> 13
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 25 <222> (6) .. (13)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 377
 ggtgannnnn nnn 13

 <210> 378
 30 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 35 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (6) .. (13)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 378
 40 gaagannnnn nnn 13

 <210> 379
 <211> 10
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 45 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (6) .. (10)
 50 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 379
 gagtcnnnnn 10

<210> 380
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 5 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (26)
 10 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 380
 tccracnnnn nnnnnnnnnn nnnnnn 26
 <210> 381
 <211> 11
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 20 <221> base_modificada
 <222> (5) .. (11)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 381
 cctcnnnnnn n 11
 25 <210> 382
 <211> 10
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 30 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (6) .. (10)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 35 <400> 382
 gagtcnnnnn 10
 <210> 383
 <211> 18
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 45 <222> (7) .. (18)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 383
 cccacannnn nnnnnnnn 18
 <210> 384
 <211> 14
 50 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 5 <222> (6) .. (14)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 384
 gcacnnnnnn nnnn 14

 <210> 385
 10 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 15 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (6) .. (13)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 385
 20 ggtgannnnn nnn 13

 <210> 386
 <211> 12
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 25 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (5) .. (12)
 30 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 386
 cccgnnnnnn nn 12

 <210> 387
 <211> 19
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 40 <221> base_modificada
 <222> (6) .. (19)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 387
 ggatgnnnnn nnnnnnnn 19

 45 <210> 388
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 50 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada

<222> (7) .. (17)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 388
 gaccgannnn nnnnnnn 17

 5 <210> 389
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 10 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (17)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 15 <400> 389
 cacccannnn nnnnnnn 17

 <210> 390
 <211> 17
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base modificada
 25 <222> (7) .. (17)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 390
 caarcannnn nnnnnnn 1 7

 <210> 391
 30 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

 35 <400> 391
 gctgtgtatt actgtgcgag 20

 <210> 392
 <211> 20
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

 <400> 392
 gccgtgtatt actgtgcgag 20

 45 <210> 393
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 50 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

<400> 393
 gccgtatatt actgtgcgag 20

 <210> 394
 <211> 20
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

 <400> 394
 10 gccgtgtatt actgtacgag 20

 <210> 395
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

 <400> 395
 gccatgtatt actgtgcgag 20

 <210> 396
 20 <211> 25
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 25 <400> 396
 cacatccgtg ttgtcacgg atgtg 25

 <210> 397
 <211> 88
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 397
 aatagtagac tgcagtgtcc tcagccctta agctgttcat ctgcaagtag agagtattct 60
 tagagttgtc tctagactta gtgaagcg 88

 35 <210> 398
 <211> 95
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 398
 cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct acttgcagat gaacagctta 60
 agggctgagg aactgcagt ctactattgt gcgag 95

 <210> 399
 <211> 24
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 399
 cgcttcacta agtctagaga caac 24

 <210> 400
 <211> 44
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 400
 10 cacatccgtg ttgttcacgg atgtgggagg atggagactg ggctc 44

 <210> 401
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 401
 cacatccgtg ttgttcacgg atgtgggaga gtggagactg agtc 44

 <210> 402
 20 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 25 <400> 402
 cacatccgtg ttgttcacgg atgtgggtgc ctggagactg cgtc 44

 <210> 403
 <211> 44
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 403
 cacatccgtg ttgttcacgg atgtgggtgg ctggagactg cgtc 44

 35 <210> 404
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 404
 cctctactct tgtcacagt cacaagacat ccag 34

 <210> 405
 <211> 20
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 405
 50 cctctactct tgtcacagt 2 0

<210> 406
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 406
 ggaggatgga ctggatgtct tgtgcactgt gacaagagta gagg 44

10 <210> 407
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

15 <400> 407
 ggagagtgga ctggatgtct tgtgcactgt gacaagagta gagg 44

<210> 408
 <211> 44
 <212> ADN

20 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 408
 ggtgcctgga ctggatgtct tgtgcactgt gacaagagta gagg 44

25 <210> 409
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

30 <400> 409
 ggtggctgga ctggatgtct tgtgcactgt gacaagagta gagg 44

<210> 410
 <211> 44
 <212> ADN

35 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 410
 cacatccgtg ttgttcacgg atgtggatcg actgtccagg agac 44

<210> 411
 <211> 44
 <212> ADN

40 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 411
 cacatccgtg ttgttcacgg atgtggactg tctgtccaa ggcc 44

<210> 412
 <211> 44

50

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

5 <400> 412
 cacatccgtg ttgttcacgg atgtggactg actgtccagg agac 44

<210> 413
 <211> 44
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 413
 cacatccgtg ttgttcacgg atgtggaccc tctgccctgg ggcc 44

15 <210> 414
 <211> 59
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 414
 cctctgactg agtgcacaga gtgctttaac ccaaccggct agtgtttagcg gttccccgg 59

<210> 415
 <211> 69
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 415
cctctgactg agtgcacaga gtgctttaac ccaaccggct agtgtttagcg gttccccggg 60
acagtcagt 69

30 <210> 416
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 35 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 416
cctctgactg agtgcacaga gtgctttaac ccaaccggct agtgtttagcg gttccccggg 60
acagacagt 69

<210> 417
 <211> 69
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 417
cctctgactg agtgcacaga gtgctttaac ccaaccggct agtgtttagcg gttccccggg 60
acagtcagt 69

45

<210> 418
 <211> 70
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 418
 cctctgactg agtgcacaga gtgctttaac ccaaccggct agtggttagcg gtstccccgg 60
 ggcagagggt 70

10 <210> 419
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

15 <400> 419
 cctctgactg agtgcacaga gtgc 24

<210> 420
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (5)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 420
 ggccnnnnng gcc 13

30 <210> 421
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

35 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4) .. (12)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 421
 ccannnnnnn nntgg 15

<210> 422
 <211> 12
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (4) .. (9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

50

<400> 422
 cgannnnnt gc 12

 <210> 423
 <211> 11
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 10 <221> base_modificada
 <222> (4) .. (8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 423
 gccnnnnngg c 11

 15 <210> 424
 <211> 10
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4) .. (7)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 25 <400> 424
 gatnnnnatc 10

 <210> 425
 <211> 11
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 35 <222> (4) .. (8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 425
 gacnnnnngt c 11

 <210> 426
 40 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 45 <221> base_modificada
 <222> (4) .. (8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 426
 50 gcannnnntg c 11

 <210> 427
 <211> 12

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 5 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (12)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 10 <400> 427
 gtatccnnnn nn 12

 <210> 428
 <211> 12
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4) .. (9)
 20 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 428
 gacnnnnnng tc 12

 <210> 429
 <211> 11
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 30 <221> base_modificada
 <222> (4) .. (8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 429
 ccannnnntg g 11

 35 <210> 430
 <211> 12
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (1) .. (6)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 45 <400> 430
 nnnnnngaga cg 12

 <210> 431
 <211> 12
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (4) .. (9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

5 <400> 431
 ccannnnnnt gg 12

<210> 432
 <211> 10
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 15 <222> (4) .. (7)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 432
 gaannnnnttc 10

20 <210> 433
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

25 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (11)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 433
 30 ggtctcnnnn n 11

<210> 434
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (1) .. (10)
 40 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 434
 nnnnnnnnnn ctctc 16

<210> 435
 <211> 15
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (1) .. (9)
 50 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 435
 nnnnnnnnt ccgcc 15

 <210> 436
 <211> 13
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 10 <221> base_modificada
 <222> (5)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 436
 ggccnnnnng gcc 13

 15 <210> 437
 <211> 12
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 25 <400> 437
 ccannnnnt gg 12

 <210> 438
 <211> 12
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 35 <222> (4)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 438
 gacnnnnng tc 12

 <210> 439
 40 <211> 12
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 45 <221> base_modificada
 <222> (4)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 439
 50 cgannnnnt gc 12

 <210> 440
 <211> 11

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 5 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 10 <400> 440
 gcannnnntg c 11

 <210> 441
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)
 20 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 441
 ccannnnntg g 11

 <210> 442
 <211> 10
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 30 <221> base_modificada
 <222> (4)..(7)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 442
 gaannnnnttc 10

 35 <210> 443
 <211> 12
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(6)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 45 <400> 443
 nnnnnngaga cg 12

 <210> 444
 <211> 12
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (7)..(12)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

5 <400> 444
 gtatccnnnn nn 12
 <210> 445
 <211> 11
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 15 <222> (4)..(8)
 <223> A, C, G, otra o desconocida
 <400> 445
 gacnnnnngt c 11
 <210> 446
 20 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 25 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (7)..(11)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 446
 30 ggtctcnnnn n 11
 <210> 447
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)
 40 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 447
 gccnnnnngg c 11
 <210> 448
 <211> 15
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 50 <222> (4)..(12)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 448
 ccannnnnnn nntgg 15

 <210> 449
 <211> 16
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 10 <221> base modificada
 <222> (1)..(10)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 449
 nnnnnnnnnn ctctc 16

 15 <210> 450
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 25 <400> 450
 nnnnnnnnnt cggcc 15

 <210> 451
 <211> 9532
 <212> ADN
 30 <213> Organismo Desconocido

 <220>
 <223> Descripción de Organismo Desconocido: Secuencia de nucleótidos MALIA3

 <220>
 <221> CDS
 35 <222> (1579)..(1638)

 <220>
 <221> CDS
 <222> (2343)..(3443)

 <220>
 40 <221> CDS
 <222> (3945)..(4400)

 <220>
 <221> CDS
 <222> (4406)..(4450)

 45 <220>
 <221> CDS
 <222> (4746)..(5789)

 <400> 451

```

aatgctacta ctattagtag aattgatgcc accttttcag ctcgcgcccc aaatgaaaat 60
atagctaaac agggtattga ccatttgcca aatgtatcta atgggtcaaac taaatctact 120
cgttcgcaga attgggaatc aactgttaca tggaatgaaa cttccagaca ccgtacttta 180
gttgcatatt taaaacatgt tgagctacag caccagattc agcaattaag ctctaagcca 240
tccgcaaaaa tgacctctta tcaaaaggag caattaaagg tactctctaa tcctgacctg 300
ttggagtttg cttccggtct gggttcgcttt gaagctcgaa ttaaaacgcg atatttgaag 360
tctttcgggc ttctctctaa tctttttgat gcaatccgct ttgcttctga ctataatagt 420
cagggtaaag acctgatttt tgatttatgg tcattctcgt tttctgaact gtttaaagca 480
tttgaggggg attcaatgaa tatttatgac gattccgcag tattggacgc tatccagtct 540
aaacatttta ctattacccc ctctggcaaa acttcttttg caaaagcctc tcgctatttt 600
ggtttttctc gtcgtctggt aaacgagggt tatgatagtg ttgctcttac tatgcctcgt 660
aattcctttt ggcgttatgt atctgcatta gttgaatgtg gtattcctaa atctcaactg 720
atgaatcttt ctacctgtaa taatgttggt ccgttagttc gttttattaa cgtagatttt 780
tcttcccaac gtctgactg gtataatgag ccagttctta aaatcgcata aggtaattca 840
caatgattaa agttgaaatt aaaccatctc aagcccaatt tactactcgt tctggtgttt 900
ctcgtcaggg caagccttat tcactgaatg agcagctttg ttacgttgat ttgggtaatg 960
aatatccggg tcttgtcaag attactcttg atgaagggtca gccagcctat gcgcctgggc 1020
tgtacaccgt tcatctgtcc tctttcaaag ttggtcagtt cggttccctt atgattgacc 1080
gtctgcgcct cgttccggct aagtaacatg gagcaggtcg cggatttcga cacaatttat 1140
caggcgatga taaaaatctc cgttgtactt tgtttcgcgc ttggtataat cgctgggggt 1200
caaagatgag tgtttttagtg tattctttcg cctctttcgt tttaggttg tgccctcgta 1260
gtggcattac gtattttacc cgtttaatgg aaacttcctc atgaaaaagt ctttagtcct 1320
caaagcctct gtagccgttg ctaccctcgt tccgatgctg tctttcgctg ctgaggggtga 1380
cgatcccgca aaagcggcct ttaactccct gcaagcctca gcgaccgaat atatcggtta 1440
tgcgtagggc atggttggtg tcattgtcgg cgcaactatc ggtatcaagc tgtttaagaa 1500
attcacctcg aaagcaagct gataaaccga tacaattaaa ggctcctttt ggagcctttt 1560
tttttggaga ttttcaac gtg aaa aaa tta tta ttc gca att cct tta gtt 1611
Met Lys Lys Leu Leu Phe Ala Ile Pro Leu Val
1 5 10
gtt cct ttc tat tct cac agt gca cag tctgtcgtga cgcagccgcc 1658
Val Pro Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln

```

15

20

```

ctcagtgtct ggggccccag ggcagagggg caccatctcc tgcactggga gcagctccaa 1718
catcggggca ggttatgatg tacactggta ccagcagctt ccaggaacag cccccaaact 1778
cctcatctat ggtaacagca atcggccctc aggggtccct gaccgattct ctggctccaa 1838
gtctggcacc tcagcctccc tggccatcac tgggctccag gctgaggatg aggctgatta 1898
ttactgccag tcctatgaca gcagcctgag tggcctttat gtcttcggaa ctgggaccaa 1958
ggtcaccgtc ctaggtcagc ccaaggccaa cccactgtc actctgttcc cgccctcctc 2018
tgaggagctc caagccaaca aggccacact agtgtgtctg atcagtgact tctaccggg 2078
agctgtgaca gtggcctgga aggcagatag cagccccgtc aaggcgggag tggagaccac 2138
cacaccctcc aaacaaagca acaacaagta cgcggccagc agctatctga gcctgacgcc 2198
tgagcagtgg aagtcccaca gaagctacag ctgccaggtc acgcatgaag ggagcaccgt 2258
ggagaagaca gtggccccta cagaatgttc ataataaacc gcctccaccg ggcgcgccaa 2318
ttctatttca aggagacagt cata atg aaa tac cta ttg cct acg gca gcc 2369
                        Met Lys Tyr Leu Leu Pro Thr Ala Ala
                        25

gct gga ttg tta tta ctc gcg gcc cag ccg gcc atg gcc gaa gtt caa 2417
Ala Gly Leu Leu Leu Leu Ala Ala Gln Pro Ala Met Ala Glu Val Gln
30                        35                        40                        45

ttg tta gag tct ggt ggc ggt ctt gtt cag cct ggt ggt tct tta cgt 2465
Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
50                        55                        60

ctt tct tgc gct gct tcc gga ttc act ttc tct tcg tac gct atg tct 2513
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser
65                        70                        75

tgg gtt cgc caa gct cct ggt aaa ggt ttg gag tgg gtt tct gct atc 2561
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile
80                        85                        90

tct ggt tct ggt ggc agt act tac tat gct gac tcc gtt aaa ggt cgc 2609
Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
95                        100                        105

ttc act atc tct aga gac aac tct aag aat act ctc tac ttg cag atg 2657
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
110                        115                        120                        125

aac agc tta agg gct gag gac act gca gtc tac tat tgc gct aaa gac 2705
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Asp
130                        135                        140

tat gaa ggt act ggt tat gct ttc gac ata tgg ggt caa ggt act atg 2753
Tyr Glu Gly Thr Gly Tyr Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met

```

ES 2 375 952 T3

145					150					155						
gtc	acc	gtc	tct	agt	gcc	tcc	acc	aag	ggc	cca	tcg	gtc	ttc	ccc	ctg	2801
Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	
		160					165					170				
gca	ccc	tcc	tcc	aag	agc	acc	tct	ggg	ggc	aca	gcg	gcc	ctg	ggc	tgc	2849
Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	
	175					180					185					
ctg	gtc	aag	gac	tac	ttc	ccc	gaa	ccg	gtg	acg	gtg	tcg	tgg	aac	tca	2897
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	
	190				195					200					205	
ggc	gcc	ctg	acc	agc	ggc	gtc	cac	acc	ttc	ccg	gct	gtc	cta	cag	tct	2945
Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	
				210					215					220		
agc	gga	ctc	tac	tcc	ctc	agc	agc	gta	gtg	acc	gtg	ccc	tct	tct	agc	2993
Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	
			225					230					235			
ttg	ggc	acc	cag	acc	tac	atc	tgc	aac	gtg	aat	cac	aag	ccc	agc	aac	3041
Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	
		240					245					250				
acc	aag	gtg	gac	aag	aaa	gtt	gag	ccc	aaa	tct	tgt	gcg	gcc	gct	cat	3089
Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Ala	Ala	Ala	His	
	255					260					265					
cac	cac	cat	cat	cac	tct	gct	gaa	caa	aaa	ctc	atc	tca	gaa	gag	gat	3137
His	His	His	His	His	Ser	Ala	Glu	Gln	Lys	Leu	Ile	Ser	Glu	Glu	Asp	
	270				275					280					285	
ctg	aat	ggt	gcc	gca	gat	atc	aac	gat	gat	cgt	atg	gct	ggc	gcc	gct	3185
Leu	Asn	Gly	Ala	Ala	Asp	Ile	Asn	Asp	Asp	Arg	Met	Ala	Gly	Ala	Ala	
			290					295						300		
gaa	act	gtt	gaa	agt	tgt	tta	gca	aaa	ccc	cat	aca	gaa	aat	tca	ttt	3233
Glu	Thr	Val	Glu	Ser	Cys	Leu	Ala	Lys	Pro	His	Thr	Glu	Asn	Ser	Phe	
			305					310					315			
act	aac	gtc	tgg	aaa	gac	gac	aaa	act	tta	gat	cgt	tac	gct	aac	tat	3281
Thr	Asn	Val	Trp	Lys	Asp	Asp	Lys	Thr	Leu	Asp	Arg	Tyr	Ala	Asn	Tyr	
		320					325					330				
gag	ggt	tgt	ctg	tgg	aat	gct	aca	ggc	gtt	gta	gtt	tgt	act	ggt	gac	3329
Glu	Gly	Cys	Leu	Trp	Asn	Ala	Thr	Gly	Val	Val	Val	Cys	Thr	Gly	Asp	
	335					340					345					
gaa	act	cag	tgt	tac	ggt	aca	tgg	gtt	cct	att	ggg	ctt	gct	atc	cct	3377
Glu	Thr	Gln	Cys	Tyr	Gly	Thr	Trp	Val	Pro	Ile	Gly	Leu	Ala	Ile	Pro	
	350				355				360						365	
gaa	aat	gag	ggt	ggt	ggc	tct	gag	ggt	ggc	ggt	tct	gag	ggt	ggc	ggt	3425
Glu	Asn	Glu	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Gly	Gly	Gly	
			370					375						380		

tct gag ggt ggc ggt act aaacctcctg agtacggtga tacacctatt	3473
Ser Glu Gly Gly Gly Thr	
385	
ccgggctata cttatatcaa ccctctcgac ggcacttata cgcctggtac tgagcaaaac	3533
cccgctaata ctaatccttc tcttgaggag tctcagcctc ttaatacttt catgtttcag	3593
aataataggt tccgaaatag gcagggggca ttaactgttt atacgggcac tgttactcaa	3653
ggcactgacc ccgttaaaac ttattaccag tacactcctg tatcatcaaa agccatgtat	3713
gacgcttact ggaacggtaa attcagagac tgcgctttcc attctggctt taatgaagat	3773
ccattcggtt gtgaatatca aggccaatcg tctgacctgc ctcaacctcc tgtcaatgct	3833
ggcggcggct ctggtggtgg ttctggtggc ggctctgagg gtggtggctc tgaggggtggc	3893
ggttctgagg gtggcggctc tgagggaggc ggttccggtg gtggctctgg t tcc ggt	3950
Ser Gly	
gat ttt gat tat gaa aag atg gca aac gct aat aag ggg gct atg acc	3998
Asp Phe Asp Tyr Glu Lys Met Ala Asn Ala Asn Lys Gly Ala Met Thr	
390 395 400 405	
gaa aat gcc gat gaa aac gcg cta cag tct gac gct aaa ggc aaa ctt	4046
Glu Asn Ala Asp Glu Asn Ala Leu Gln Ser Asp Ala Lys Gly Lys Leu	
410 415 420	
gat tct gtc gct act gat tac ggt gct gct atc gat ggt ttc att ggt	4094
Asp Ser Val Ala Thr Asp Tyr Gly Ala Ala Ile Asp Gly Phe Ile Gly	
425 430 435	
gac gtt tcc ggc ctt gct aat ggt aat ggt gct act ggt gat ttt gct	4142
Asp Val Ser Gly Leu Ala Asn Gly Asn Gly Ala Thr Gly Asp Phe Ala	
440 445 450	
ggc tct aat tcc caa atg gct caa gtc ggt gac ggt gat aat tca cct	4190
Gly Ser Asn Ser Gln Met Ala Gln Val Gly Asp Gly Asp Asn Ser Pro	
455 460 465	
tta atg aat aat ttc cgt caa tat tta cct tcc ctc cct caa tcg gtt	4238
Leu Met Asn Asn Phe Arg Gln Tyr Leu Pro Ser Leu Pro Gln Ser Val	
470 475 480 485	
gaa tgt cgc cct ttt gtc ttt agc gct ggt aaa cca tat gaa ttt tct	4286
Glu Cys Arg Pro Phe Val Phe Ser Ala Gly Lys Pro Tyr Glu Phe Ser	
490 495 500	
att gat tgt gac aaa ata aac tta ttc cgt ggt gtc ttt gcg ttt ctt	4334
Ile Asp Cys Asp Lys Ile Asn Leu Phe Arg Gly Val Phe Ala Phe Leu	
505 510 515	
tta tat gtt gcc acc ttt atg tat gta ttt tct acg ttt gct aac ata	4382
Leu Tyr Val Ala Thr Phe Met Tyr Val Phe Ser Thr Phe Ala Asn Ile	
520 525 530	
ctg cgt aat aag gag tct taatc atg cca gtt ctt ttg ggt att ccg tta	4432

ES 2 375 952 T3

Leu Arg Asn Lys Glu Ser 535	Met Pro Val Leu Leu Gly Ile Pro Leu 540	545	
tta ttg cgt ttc ctc ggt ttccttctg taactttgtt cggctatctg Leu Leu Arg Phe Leu Gly 550			4480
cttacttttc ttaaaaaggg cttcggtaag atagctattg ctatttcatt gtttcttgct cttattattg ggcttaactc aattcttggt gggtatctct ctgatattag cgctcaatta ccctctgact ttgttcaggg tgttcagtta attctccggt ctaatgcgct tccttgtttt tatgttattc tctctgtaaa ggctgctatt ttcatttttg acgttaaaca aaaaatcgtt tcttatttggt attgggataa ataat atg gct gtt tat ttt gta act ggc aaa Met Ala Val Tyr Phe Val Thr Gly Lys 555 560			4772
tta ggc tct gga aag acg ctc gtt agc gtt ggt aag att cag gat aaa Leu Gly Ser Gly Lys Thr Leu Val Ser Val Gly Lys Ile Gln Asp Lys 565 570 575			4820
att gta gct ggg tgc aaa ata gca act aat ctt gat tta agg ctt caa Ile Val Ala Gly Cys Lys Ile Ala Thr Asn Leu Asp Leu Arg Leu Gln 580 585 590 595			4868
aac ctc ccg caa gtc ggg agg ttc gct aaa acg cct cgc gtt ctt aga Asn Leu Pro Gln Val Gly Arg Phe Ala Lys Thr Pro Arg Val Leu Arg 600 605 610			4916
ata ccg gat aag cct tct ata tct gat ttg ctt gct att ggg cgc ggt Ile Pro Asp Lys Pro Ser Ile Ser Asp Leu Leu Ala Ile Gly Arg Gly 615 620 625			4964
aat gat tcc tac gat gaa aat aaa aac ggc ttg ctt gtt ctc gat gag Asn Asp Ser Tyr Asp Glu Asn Lys Asn Gly Leu Leu Val Leu Asp Glu 630 635 640			5012
tgc ggt act tgg ttt aat acc cgt tct tgg aat gat aag gaa aga cag Cys Gly Thr Trp Phe Asn Thr Arg Ser Trp Asn Asp Lys Glu Arg Gln 645 650 655			5060
ccg att att gat tgg ttt cta cat gct cgt aaa tta gga tgg gat att Pro Ile Ile Asp Trp Phe Leu His Ala Arg Lys Leu Gly Trp Asp Ile 660 665 670 675			5108
att ttt ctt gtt cag gac tta tct att gtt gat aaa cag gcg cgt tct Ile Phe Leu Val Gln Asp Leu Ser Ile Val Asp Lys Gln Ala Arg Ser 680 685 690			5156
gca tta gct gaa cat gtt gtt tat tgt cgt cgt ctg gac aga att act Ala Leu Ala Glu His Val Val Tyr Cys Arg Arg Leu Asp Arg Ile Thr 695 700 705			5204
tta cct ttt gtc ggt act tta tat tct ctt att act ggc tcg aaa atg Leu Pro Phe Val Gly Thr Leu Tyr Ser Leu Ile Thr Gly Ser Lys Met 710 715 720			5252

ES 2 375 952 T3

cct ctg cct aaa tta cat gtt ggc gtt gtt aaa tat ggc gat tct caa	5300
Pro Leu Pro Lys Leu His Val Gly Val Val Lys Tyr Gly Asp Ser Gln	
725 730 735	
tta agc cct act gtt gag cgt tgg ctt tat act ggt aag aat ttg tat	5348
Leu Ser Pro Thr Val Glu Arg Trp Leu Tyr Thr Gly Lys Asn Leu Tyr	
740 745 750 755	
aac gca tat gat act aaa cag gct ttt tct agt aat tat gat tcc ggt	5396
Asn Ala Tyr Asp Thr Lys Gln Ala Phe Ser Ser Asn Tyr Asp Ser Gly	
760 765 770	
gtt tat tct tat tta acg cct tat tta tca cac ggt cgg tat ttc aaa	5444
Val Tyr Ser Tyr Leu Thr Pro Tyr Leu Ser His Gly Arg Tyr Phe Lys	
775 780 785	
cca tta aat tta ggt cag aag atg aaa tta act aaa ata tat ttg aaa	5492
Pro Leu Asn Leu Gly Gln Lys Met Lys Leu Thr Lys Ile Tyr Leu Lys	
790 795 800	
aag ttt tct cgc gtt ctt tgt ctt gcg att gga ttt gca tca gca ttt	5540
Lys Phe Ser Arg Val Leu Cys Leu Ala Ile Gly Phe Ala Ser Ala Phe	
805 810 815	
aca tat agt tat ata acc caa cct aag ccg gag gtt aaa aag gta gtc	5588
Thr Tyr Ser Tyr Ile Thr Gln Pro Lys Pro Glu Val Lys Lys Val Val	
820 825 830 835	
tct cag acc tat gat ttt gat aaa ttc act att gac tct tct cag cgt	5636
Ser Gln Thr Tyr Asp Phe Asp Lys Phe Thr Ile Asp Ser Ser Gln Arg	
840 845 850	
ctt aat cta agc tat cgc tat gtt ttc aag gat tct aag gga aaa tta	5684
Leu Asn Leu Ser Tyr Arg Tyr Val Phe Lys Asp Ser Lys Gly Lys Leu	
855 860 865	
att aat agc gac gat tta cag aag caa ggt tat tca ctc aca tat att	5732
Ile Asn Ser Asp Asp Leu Gln Lys Gln Gly Tyr Ser Leu Thr Tyr Ile	
870 875 880	
gat tta tgt act gtt tcc att aaa aaa ggt aat tca aat gaa att gtt	5780
Asp Leu Cys Thr Val Ser Ile Lys Lys Gly Asn Ser Asn Glu Ile Val	
885 890 895	
aaa tgt aat taattttgtt ttcttgatgt ttgtttcatc atcttctttt	5829
Lys Cys Asn	
900	
gctcaggtaa ttgaaatgaa taattcgcct ctgcgcgatt ttgtaacttg gtattcaaag	5889
caatcaggcg aatccgttat tgtttctccc gatgtaaaag gtactgttac tgtatattca	5949
tctgacgtta aacctgaaaa tctacgcaat ttctttatct ctgttttacg tgctaataat	6009
tttgatatgg ttggttcaat tccttcata attcagaagt ataatccaaa caatcaggat	6069
tatattgatg aattgccatc atctgataat caggaatatg atgataattc cgctccttct	6129

ggtggtttct ttgttccgca aaatgataat gttactcaaa cttttaaaat taataacggt 6189
 cgggcaaagg atttaatacg agttgtcgaa ttgtttgtaa agtctaatac ttctaaatcc 6249
 tcaaattgat tatctattga cggctctaata ctattagttg tttctgcacc taaagatatt 6309
 ttagataacc ttctcaatt cctttctact gttgatttgc caactgacca gatattgatt 6369
 gagggtttga tatttgaggt tcagcaaggt gatgctttag atttttcatt tgctgctggc 6429
 tctcagcgtg gcaactgttg aggcggtgtt aatactgacc gcctcacctc tgttttatct 6489
 tctgctggtg gttcgttcgg tatttttaata ggcatgttt tagggctatc agttcgcgca 6549
 ttaaagacta atagccattc aaaaatattg tctgtgccac gtattcttac gctttcaggt 6609
 cagaagggtt ctatctctgt tggccagaat gtccctttta ttactggtcg tgtgactggt 6669
 gaatctgcca atgtaaataa tccatttcag acgattgagc gtcaaaatgt aggtatttcc 6729
 atgagcgttt ttctgtttgc aatggctggc ggtaatatgt ttctggatat taccagcaag 6789
 gccgatagtt tgagttcttc tactcaggca agtgatgtta ttactaatca aagaagtatt 6849
 gctacaacgg ttaatttgcg tgatggacag actcttttac tcggtggcct cactgattat 6909
 aaaaacactt ctcaagattc tggcgtaccg ttctgtcta aaatcccttt aatcggcctc 6969
 ctgttttagct cccgctctga ttccaacgag gaaagcacgt tatacgtgct cgtcaaagca 7029
 accatagtagc gcgccttgta gcggcgcatc aagcgcggcg ggtgtggtgg ttacgcgcag 7089
 cgtgaccgct acacttgcca gcgccttagc gcccgctcct ttcgctttct tcccttccct 7149
 tctcgccacg ttcgccggct ttccccgtca agctctaaat cgggggctcc ctttaggggt 7209
 ccgatttagt gctttacggc acctcgacct caaaaaactt gatttgggtg atggttcacg 7269
 tagtgggcca tcgccctgat agacggtttt tcgccctttg acgttggagt ccacgttctt 7329
 taatagtgga ctcttgttcc aaactggaac aacactcaac cctatctcgg gctattcttt 7389
 tgatttataa gggattttgc cgatttcgga accaccatca aacaggattt tcgcctgctg 7449
 gggcaaacca gcgtggaccg cttgctgcaa ctctctcagg gccaggcggg gaagggaat 7509
 cagctgttgc ccgtctcact ggtgaaaaga aaaaccaccc tggatccaag cttgcagggtg 7569
 gcacttttcg gggaaatgtg cgcggaaccc ctatttgttt atttttctaa atacattcaa 7629
 atatgtatcc gctcatgaga caataaccct gataaatgct tcaataatat tgaaaaagga 7689
 agagtatgag tattcaacat ttccgtgtcg cccttattcc cttttttgcg gcattttgcc 7749
 ttctgtttt tgctcaccga gaaacgctgg tgaaagtaaa agatgctgaa gatcagttgg 7809
 gcgcacgagt gggttacatc gaactggatc tcaacagcgg taagatcctt gagagttttc 7869

```

gccccgaaga acgttttcca atgatgagca cttttaaagt tctgctatgt catacactat 7929
tatcccgtat tgacgccggg caagagcaac tcggtcgccg ggcgcggtat tctcagaatg 7989
acttggttga gtactcacca gtcacagaaa agcatcttac ggatggcatg acagtaagag 8049
aattatgcag tgctgccata accatgagtg ataacactgc ggccaactta cttctgacaa 8109
cgatcggagg accgaaggag ctaaccgctt ttttgacaaa catgggggat catgtaactc 8169
gccttgatcg ttgggaaccg gagctgaatg aagccatacc aaacgacgag cgtgacacca 8229
cgatgcctgt agcaatgcc acaacgttgc gcaaactatt aactggcgaa ctacttactc 8289
tagcttcccg gcaacaatta atagactgga tggaggcgga taaagttgca ggaccacttc 8349
tgcgctcggc ccttccggct ggctggttta ttgctgataa atctggagcc ggtgagcgtg 8409
ggtctcgcgg tatcattgca gcaactgggc cagatggtaa gccctcccgt atcgtagtta 8469
tctacacgac ggggagtcag gcaactatgg atgaacgaaa tagacagatc gctgagatag 8529
gtgcctcact gattaagcat tggtaactgt cagaccaagt ttactcatat atactttaga 8589
ttgatttaaa acttcatttt taatttaaaa ggatctaggt gaagatcctt tttgataatc 8649
tcatgaccaa aatcccttaa cgtgagtttt cgttccactg tacgtaagac cccaagctt 8709
gtcgactgaa tggcgaatgg cgctttgcct ggtttccggc accagaagcg gtgccggaaa 8769
gctggctgga gtgcgatcct cctgaggccg atactgtcgt cgtcccctca aactggcaga 8829
tgcaagggtta cgatgcgccc atctacacca acgtaacctt tcccattacg gtcaatccgc 8889
cgtttggttc cacggagaat ccgacggggt gttactcgct cacatttaat gttgatgaaa 8949
gctggctaca ggaaggccag acgcgaatta tttttgatgg cgttcctatt ggttaaaaaa 9009
tgagctgatt taacaaaaat ttaacgcgaa ttttaacaaa atattaacgt ttacaattta 9069
aatatttgct tatacaatct tcctgttttt ggggcttttc tgattatcaa ccgggggtaca 9129
tatgattgac atgctagttt tacgattacc gttcatcgat tctcttggtt gctccagact 9189
ctcaggcaat gacctgatag cctttgtaga tctctcaaaa atagctaccc tctccggcat 9249
gaatttatca gctagaacgg ttgaatatca tattgatggg gatttgactg tctccggcct 9309
ttctcacctt tttgaatctt tacctacaca ttactcaggc attgcattta aaatatatga 9369
gggttctaaa aatttttatc cttgcgttga aataaaggct tctccgcaa aagtattaca 9429
gggtcataat gtttttggtt caaccgatgt agctttatgc tctgaggctt tattgcttaa 9489
ttttgctaatt tctttgcctt gcctgtatga tttattggat gtt 9532

```

<210> 452

<211> 20

<212> PRT

<213> Organismo Desconocido

<220>

<223> Descripción de Organismo Desconocido: secuencia peptídica MALIA3

<400> 452

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

His Ser Ala Gln
20

5 <210> 453

<211> 367

<212> PRT

<213> Organismo Desconocido

<220>

10 <223> Descripción de Organismo Desconocido: Secuencia de la proteína MALIA3

<400> 453

Met Lys Tyr Leu Leu Pro Thr Ala Ala Ala Gly Leu Leu Leu Leu Ala
1 5 10 15

Ala Gln Pro Ala Met Ala Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly
20 25 30

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
35 40 45

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
50 55 60

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
65 70 75 80

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
85 90 95

Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Asp Tyr Glu Gly Thr Gly Tyr Ala
115 120 125

Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
130 135 140

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
145 150 155 160

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro

ES 2 375 952 T3

165	170	175
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val		
180	185	190
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser		
195	200	205
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile		
210	215	220
Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val		
225	230	235
Glu Pro Lys Ser Cys Ala Ala Ala His His His His His Ser Ala		
245	250	255
Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn Gly Ala Ala Asp Ile		
260	265	270
Asn Asp Asp Arg Met Ala Gly Ala Ala Glu Thr Val Glu Ser Cys Leu		
275	280	285
Ala Lys Pro His Thr Glu Asn Ser Phe Thr Asn Val Trp Lys Asp Asp		
290	295	300
Lys Thr Leu Asp Arg Tyr Ala Asn Tyr Glu Gly Cys Leu Trp Asn Ala		
305	310	315
Thr Gly Val Val Val Cys Thr Gly Asp Glu Thr Gln Cys Tyr Gly Thr		
325	330	335
Trp Val Pro Ile Gly Leu Ala Ile Pro Glu Asn Glu Gly Gly Gly Ser		
340	345	350
Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Thr		
355	360	365

<210> 454

<211> 152

<212> PRT

5 <213> Organismo Desconocido

<220>

<223> Descripción de Organismo Desconocido: Secuencia de la proteína MALIA3

<400> 454

Ser Gly Asp Phe Asp Tyr Glu Lys Met Ala Asn Ala Asn Lys Gly Ala		
1	5	10
Met Thr Glu Asn Ala Asp Glu Asn Ala Leu Gln Ser Asp Ala Lys Gly		
20	25	30
Lys Leu Asp Ser Val Ala Thr Asp Tyr Gly Ala Ala Ile Asp Gly Phe		
35	40	45

ES 2 375 952 T3

Ile Gly Asp Val Ser Gly Leu Ala Asn Gly Asn Gly Ala Thr Gly Asp
50 55 60
Phe Ala Gly Ser Asn Ser Gln Met Ala Gln Val Gly Asp Gly Asp Asn
65 70 75 80
Ser Pro Leu Met Asn Asn Phe Arg Gln Tyr Leu Pro Ser Leu Pro Gln
85 90 95
Ser Val Glu Cys Arg Pro Phe Val Phe Ser Ala Gly Lys Pro Tyr Glu
100 105 110
Phe Ser Ile Asp Cys Asp Lys Ile Asn Leu Phe Arg Gly Val Phe Ala
115 120 125
Phe Leu Leu Tyr Val Ala Thr Phe Met Tyr Val Phe Ser Thr Phe Ala
130 135 140
Asn Ile Leu Arg Asn Lys Glu Ser
145 150

<210> 455

<211> 15

<212> PRT

5 <213> Organismo Desconocido

<220>

<223> Descripción de Organismo Desconocido: secuencia peptídica MALIA3

<400> 455

Met Pro Val Leu Leu Gly Ile Pro Leu Leu Leu Arg Phe Leu Gly
1 5 10 15

10 <210> 456

<211> 34B

<212> PRT

<213> Organismo Desconocido

<220>

15 <223> Descripción de Organismo Desconocido: Secuencia de la proteína MALIA3

<400> 456

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

Val Ser Val Gly Lys Ile Gln Asp Lys Ile Val Ala Gly Cys Lys Ile
20 25 30

Ala Thr Asn Leu Asp Leu Arg Leu Gln Asn Leu Pro Gln Val Gly Arg
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Pro Arg Val Leu Arg Ile Pro Asp Lys Pro Ser Ile
50 55 60

ES 2 375 952 T3

Ser Asp Leu Leu Ala Ile Gly Arg Gly Asn Asp Ser Tyr Asp Glu Asn
65 70 75 80

Lys Asn Gly Leu Leu Val Leu Asp Glu Cys Gly Thr Trp Phe Asn Thr
85 90 95

Arg Ser Trp Asn Asp Lys Glu Arg Gln Pro Ile Ile Asp Trp Phe Leu
100 105 110

His Ala Arg Lys Leu Gly Trp Asp Ile Ile Phe Leu Val Gln Asp Leu
115 120 125

Ser Ile Val Asp Lys Gln Ala Arg Ser Ala Leu Ala Glu His Val Val
130 135 140

Tyr Cys Arg Arg Leu Asp Arg Ile Thr Leu Pro Phe Val Gly Thr Leu
145 150 155 160

Tyr Ser Leu Ile Thr Gly Ser Lys Met Pro Leu Pro Lys Leu His Val
165 170 175

Gly Val Val Lys Tyr Gly Asp Ser Gln Leu Ser Pro Thr Val Glu Arg
180 185 190

Trp Leu Tyr Thr Gly Lys Asn Leu Tyr Asn Ala Tyr Asp Thr Lys Gln
195 200 205

Ala Phe Ser Ser Asn Tyr Asp Ser Gly Val Tyr Ser Tyr Leu Thr Pro
210 215 220

Tyr Leu Ser His Gly Arg Tyr Phe Lys Pro Leu Asn Leu Gly Gln Lys
225 230 235 240

Met Lys Leu Thr Lys Ile Tyr Leu Lys Lys Phe Ser Arg Val Leu Cys
245 250 255

Leu Ala Ile Gly Phe Ala Ser Ala Phe Thr Tyr Ser Tyr Ile Thr Gln
260 265 270

Pro Lys Pro Glu Val Lys Lys Val Val Ser Gln Thr Tyr Asp Phe Asp
275 280 285

Lys Phe Thr Ile Asp Ser Ser Gln Arg Leu Asn Leu Ser Tyr Arg Tyr
290 295 300

Val Phe Lys Asp Ser Lys Gly Lys Leu Ile Asn Ser Asp Asp Leu Gln
305 310 315 320

Lys Gln Gly Tyr Ser Leu Thr Tyr Ile Asp Leu Cys Thr Val Ser Ile
325 330 335

Lys Lys Gly Asn Ser Asn Glu Ile Val Lys Cys Asn
340 345

<210> 457

<211> 24

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador

<400> 457
 tggaagaggc acgttctttt cttt 24
 <210> 458
 <211> 24
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador
 <400> 458
 10 cttttctttg ttgccgttgg ggtg 24
 <210> 459
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador
 <400> 459
 acactctccc ctgttgaagc tctt 24
 <210> 460
 20 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador
 25 <400> 460
 accgcctcca ccgggcgcgc cttattaaca ctctcccctg ttgaagctct t 51
 <210> 461
 <211> 23
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador
 <400> 461
 tgaacattct gtaggggccca ctg 23
 35 <210> 462
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador
 <400> 462
 agagcattct gcaggggccca ctg 23
 <210> 463
 <211> 50
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador
 <400> 463
 50 accgcctcca ccgggcgcgc cttattatga acattctgta ggggccactg 50

<210> 464
 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador

<400> 464
 accgcctcca ccgggcgcgc cttattaaga gcattctgca ggggccactg 50

10 <210> 465
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador

15 <400> 465
 cgactggagc acgaggacac tga 23

<210> 466
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador

<400> 466
 ggacactgac atggactgaa ggagta 26

25 <210> 467
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

30 <400> 467
 gggaggatgg agactgggtc 20

<210> 468
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 468
 gggaagatgg agactgggtc 20

<210> 469
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 469
 gggagagtgg agactgagtc 20

50 <210> 470
 <211> 20

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 5 <400> 470
 ggggcctgg agactgcgtc 20
 <210> 471
 <211> 20
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 471
 gggggcctgg agactgcgtc 20
 15 <210> 472
 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 472
 gggagatgg agactgggtc atctggatgt ctgtgcact gtgacagagg 50
 <210> 473
 <211> 50
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 473
 30 gggaagatgg agactgggtc atctggatgt ctgtgcact gtgacagagg 50
 <210> 474
 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 474
 gggagagtgg agactgggtc atctggatgt ctgtgcact gtgacagagg 50
 <210> 475
 40 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 45 <400> 475
 ggggcctgg agactgggtc atctggatgt ctgtgcact gtgacagagg 50
 <210> 476
 <211> 50
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 476
 ggggtgctgg agactgggtc atctggatgt cttgtgcact gtgacagagg 50
 5 <210> 477
 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 10 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 477
 gggagtctgg agactgggtc atctggatgt cttgtgcact gtgacagagg 50
 <210> 478
 <211> 42
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 478
 20 cctctgtcac agtgacaag acatccagat gaccagctct cc 42
 <210> 479
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 25 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador
 <400> 479
 cctctgtcac agtgacaag ac 22
 <210> 480
 30 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador
 35 <400> 480
 acactctccc ctgtgaagc tctt 24
 <210> 481
 <211> 668
 <212> ADN
 40 <213> Homo sapiens
 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(668)\
 <400> 481

ES 2 375 952 T3

```

agt gca caa gac atc cag atg acc cag tct cca gcc acc ctg tct gtg 48
Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val
1 5 10 15

tct cca ggg gaa agg gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag agt gtt 96
Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val
20 25 30

agt aac aac tta gcc tgg tac cag cag aaa cct ggc cag gtt ccc agg 144
Ser Asn Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Val Pro Arg
35 40 45

ctc ctc atc tat ggt gca tcc acc agg gcc act gat atc cca gcc agg 192
Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Asp Ile Pro Ala Arg
50 55 60

ttc agt ggc agt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc aga 240
Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg
65 70 75 80

ctg gag cct gaa gat ttt gca gtg tat tac tgt cag cgg tat ggt agc 288
Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Gly Ser
85 90 95

tca ccg ggg tgg acg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gaa atc aaa cga 336
Ser Pro Gly Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag cag 384
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc tat 432
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa tcg 480
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

ggg aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc acc 528

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag aaa 576
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg cct 624
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

gtc aca aag agc ttc aac aaa gga gag tgt aag ggc gaa ttc gc 668
Val Thr Lys Ser Phe Asn Lys Gly Glu Cys Lys Gly Glu Phe Ala
210 215 220

```

<210> 482

<211> 223

<212> PRT

<213> Homo sapiens

ES 2 375 952 T3

<400> 482

Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val
1 5 10 15

Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val
20 25 30

Ser Asn Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Val Pro Arg
35 40 45

Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Asp Ile Pro Ala Arg
50 55 60

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg
65 70 75 80

Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Gly Ser
85 90 95

Ser Pro Gly Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Lys Gly Glu Cys Lys Gly Glu Phe Ala
210 215 220

<210> 483

<211> 13

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

10 <400> 483

agccaccctg tct 13

<210> 484

<211> 700

<212> ADN

15 <213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(699)

ES 2 375 952 T3

<400> 484

```

agt gca caa gac atc cag atg acc cag tct cct gcc acc ctg tct gtg 48
Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val
1 . 5 10 15

tct cca ggt gaa aga gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag gtg tct 96
Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Val Ser
20 25 30

cca ggg gaa aga gcc acc ctc tcc tgc aat ctt ctc agc aac tta gcc 144
Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Asn Leu Leu Ser Asn Leu Ala
35 40 45

tgg tac cag cag aaa cct ggc cag gct ccc agg ctc ctc atc tat ggt 192
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly
50 55 60

gct tcc acc ggg gcc att ggt atc cca gcc agg ttc agt ggc agt ggg 240
Ala Ser Thr Gly Ala Ile Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly
65 70 75 80

tct ggg aca gag ttc act ctc acc atc agc agc ctg cag tct gaa gat 288
Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser Glu Asp
85 90 95

ttt gca gtg tat ttc tgt cag cag tat ggt acc tca ccg ccc act ttc 336
Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Gly Thr Ser Pro Pro Thr Phe
100 105 110

ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa cga act gtg gct gca cca tct 384
Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser
115 120 125

gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag cag ttg aaa tct gga act gcc 432
Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala
130 135 140

tct gtt gtg tgc ccg ctg aat aac ttc tat ccc aga gag gcc aaa gta 480
Ser Val Val Cys Pro Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
145 150 155 160

cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa tcg ggt aac tcc cag gag agt 528
Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser
165 170 175

gtc aca gag cag gac aac aag gac agc acc tac agc ctc agc agc acc 576
Val Thr Glu Gln Asp Asn Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr
180 185 190

ctg acg ctg agc aaa gta gac tac gag aaa cac gaa gtc tac gcc tgc 624
Leu Thr Leu Ser Lys Val Asp Tyr Glu Lys His Glu Val Tyr Ala Cys
195 200 205

gaa gtc acc cat cag ggc ctt agc tcg ccc gtc acg aag agc ttc aac 672
Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn
210 215 220

agg gga gag tgt aag aaa gaa ttc gtt t 700
Arg Gly Glu Cys Lys Lys Glu Phe Val
225 230

```

<210> 485

<211> 233

<212> PRT

<213> Homo sapiens

5

<400> 485

```

Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val
 1           5           10           15

Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Val Ser
          20           25           30

Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Asn Leu Leu Ser Asn Leu Ala
      35           40           45

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly
 50           55           60

Ala Ser Thr Gly Ala Ile Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 65           70           75           80

Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser Glu Asp
          85           90           95

Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Gly Thr Ser Pro Pro Thr Phe
          100           105           110

Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser
      115           120           125

Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala
      130           135           140

Ser Val Val Cys Pro Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
      145           150           155           160

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser
          165           170           175

Val Thr Glu Gln Asp Asn Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr
      180           185           190

Leu Thr Leu Ser Lys Val Asp Tyr Glu Lys His Glu Val Tyr Ala Cys
      195           200           205

Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn
      210           215           220

Arg Gly Glu Cys Lys Lys Glu Phe Val
      225           230

```

<210> 486

<211> 419

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de nucleótidos de 3-23 VH sintética

<220>

<221> CDS

<222> (12)..(419)

ES 2 375 952 T3

<400> 486

```

ctgtctgaac g gcc cag ccg gcc atg gcc gaa gtt caa ttg tta gag tct 50
      Ala Gln Pro Ala Met Ala Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser
        1              5              10

ggt ggc ggt ctt gtt cag cct ggt ggt tct tta cgt ctt tct tgc gct 98
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
  15              20              25

gct tcc gga ttc act ttc tct tcg tac gct atg tct tgg gtt cgc caa 146
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln
  30              35              40              45

gct cct ggt aaa ggt ttg gag tgg gtt tct gct atc tct ggt tct ggt 194
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly
      50              55              60

ggc agt act tac tat gct gac tcc gtt aaa ggt cgc ttc act atc tct 242
Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
      65              70              75

aga gac aac tct aag aat act ctc tac ttg cag atg aac agc tta agg 290
Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg
      80              85              90

gct gag gac act gca gtc tac tat tgc gct aaa gac tat gaa ggt act 338
Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Asp Tyr Glu Gly Thr
      95              100             105

ggt tat gct ttc gac ata tgg ggt caa ggt act atg gtc acc gtc tct 386
Gly Tyr Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser
  110              115              120             125

agt gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc 419
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
      130              135

```

<210> 487

<211> 136

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de la proteína 3-23 VH sintética

ES 2 375 952 T3

<400> 487

Ala Gln Pro Ala Met Ala Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly
1 5 10 15
Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
20 25 30
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
35 40 45
Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
50 55 60
Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
65 70 75 80
Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
85 90 95
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Asp Tyr Glu Gly Thr Gly Tyr Ala
100 105 110
Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120 125
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135

<210> 488

<211> 20

5 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador

<400> 488

10 ctgtctgaac ggcccagccg 20

<210> 489

<211> 83

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

15 <220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 489

ctgtctgaac ggcccagccg gccatggccg aagttcaatt gtttagagtct ggtggcggtc 60
ttgttcagcc tggtggttct tta 83

<210> 490

20 <211> 54

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

25 <400> 490

gaaagtgaat ccggaagcag cgcaagaaag acgtaaagaa ccaccaggct gaac 54

<210> 491

<211> 42

<212> ADN

30 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 491
 agaaacccac tccaaacctt taccaggagc ttggcgaacc ca 42

 <210> 492
 <211> 94
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 492
 agtgtcctca gcccttaagc tggtcatctg caagtagaga gtattcttag agttgtctct 60
 10 agagatagtg aagcgacctt taacggagtc agca 94

 <210> 493
 <211> 81
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 493
 gcttaagggc tgaggacact gcagtctact attgcgctaa agactatgaa ggtactggtt 60
 atgctttcga catatggggt c 81

 <210> 494
 20 <211> 72
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 25 <400> 494
 ggggaagacc gatgggccct tgggtggaggc actagagacg gtgaccatag taccttgacc 60
 tatgtcgaaa gc 72

 <210> 495
 <211> 23
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador

 <400> 495
 ggggaagacc gatgggccct tgg 23

 35 <210> 496
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base modificada
 <222> (22)..(24)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 45 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (28)..(30)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (34)..(36)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

5 <220>
 <223> nnn codifica cualquier aminoácido excepto Cys

<400> 496
 gcttccggat tcactttctc tnnntacnnn atgnnntggg ttcgccaagc tcttgg 56

10 <210> 497
 <211> 68
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

15 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (19)..(21)
 <223> A, T, C or G

20 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (25)..(30)
 <223> A, T, C or G

25 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (40)..(42)
 <223> A, T, C or G

30 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (46)..(48)
 <223> A, T, C or G

<400> 497
 ggtttggagt gggtttctnn nactnnnnnn tctggtggcn nnactnnnta tgctgactcc 60
 gttaaagg 68

35 <210> 498
 <211> 912
 <212> ADN
 <213> Escherichia coli

<400> 498
 tccggagctt cagatctgtt tgcctttttg tggggtggtg cagatcgcgt tacggagatc 60
 gaccgactgc ttgagcaaaa gccacgctta actgctgata aggcattgga tggtattcgc 120
 caaaccagtc gtcaggatct taacctgagg ctttttttac ctactctgca agcagcgaca 180
 tctggtttga cacagagcga tccgcgtcgt cagttggtag aaacattaac acgttgggat 240
 ggcattcaatt tgcttaataa tgatggtaaa acctggcagc agccaggctc tgccatcctg 300
 aacgtttggc tgaccagtat gttgaagcgt accgtagtgg ctgccgtacc tatgccattt 360
 gataagtggg acagcgccag tggctacgaa acaaccagc acggcccaac tgggtcgcgtg 420
 aatataagtg ttggagcaaa aattttgtat gaggcgtgac agggagacaa atcaccaatc 480
 ccacaggcgg ttgatctgtt tgctgggaaa ccacagcagg aggttggtgt ggctgcgctg 540
 gaagatacct gggagactct ttccaaacgc tatggcaata atgtgagtaa ctggaaaaca 600
 cctgcaatgg ccttaacggt ccgggcaaat aatttctttg gtgtaccgca ggccgcagcg 660
 gaagaaacgc gtcattcagg ggagtatcaa aaccgtggaa cagaaaacga tatgattgtt 720
 ttctcaccaa cgacaagcga tcgtcctgtg cttgcctggg atgtggctgc acccggtcag 780
 agtgggttta ttgctcccga tggaaacagtt gataagcact atgaagatca gctgaaaatg 840
 tacgaaaatt ttggccgtaa gtcgctctgg ttaacgaagc aggatgtgga ggcgcataag 900
 gagtcgtcta ga 912

40 <210> 499
 <211> 10

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 5 <220> .
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(7)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 10 <400> 499
 gatnnnnatc 10

 <210> 500
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(15)
 20 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 500
 nnnnnnnnnn nnnnngtccc 20

 <210> 501
 <211> 11
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 30 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 501
 gcannnnntg c 11

 35 <210> 502
 <211> 10
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (9)..(7)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 45 <400> 502
 gacnnnngtc 10

 <210> 503
 <211> 12
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(7)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 5 <400> 503
 nnnnnnngcg gg 12
 <210> 504
 <211> 12
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 15 <222> (7)..(12)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 504
 gtatccnnnn nn 12
 <210> 505
 20 <211> 12
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 25 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 505
 30 gcannnnnnt cg 12
 <210> 506
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)
 40 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 506
 gccnnnnngg c 11
 <210> 507
 <211> 11
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 50 <222> (7)..(11)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 507
 ggtctcnnnn n 11

 <210> 508
 <211> 11
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 10 <221> base_modificada
 <222> (4)..(11)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 508
 gacnnnnngt c 11

 15 <210> 509
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 25 <400> 509
 gacnnnnngt c 11

 <210> 510
 <211> 12
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 35 <222> (4)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 510
 gacnnnnng tc 12

 <210> 511
 <211> 11
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 45 <222> (4)..(8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 511 ccannnnntg g 11

 50 <210> 512
 <211> 15

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 5 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 512
 10 nnnnnnnnng caggt 15
 <210> 513
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (7)..(11)
 20 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 513
 acctgcnnnn n 11
 <210> 514
 <211> 13
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 30 <221> base_modificada
 <222> (5)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 514
 ggccnnnnng gcc 13
 35 <210> 515
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(12)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 45 <400> 515
 ccannnnnnn nntgg 15
 <210> 516
 <211> 11
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (11)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

5 <400> 516
 cgtctcnnnn n 11

<210> 517
 <211> 12
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(6)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

15 <400> 517
 nnnnnngaga cg 12

<210> 518
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(10)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

25 <400> 518
 nnnnnnnnnn ctctc 16

<210> 519
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (7)..(16)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

40 <400> 519
 gaggagnnnn nnnnnn 1 6

<210> 520
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

50 <220>

<400> 520
 cctnnnnnag g 11

 <210> 521
 <211> 12
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 10 <221> base_modificada
 <222> (4)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 521
 ccannnnnnt gg 12

 15 <210> 522
 <211> 6680
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de nucleótidos del vector pCES5

 <220>
 <221> CDS
 <222> (201)..(1058)

 <220>
 25 <221> CDS
 <222> (2269)..(2682)

 <220>
 <221> CDS
 <222> (2723)..(2866)

 30 <220>
 <221> CDS
 <222> (3767)..(3850)

 <220>
 <221> CDS
 35 <222> (4198)..(5799)

<400> 522

```

gacgaaaggg cctcgtgata cgcctatctt tataggttaa tgtcatgata ataatgggtt 60
cttagacgtc aggtggcact ttctggggaa atgtgcgcgg aaccctatt tgtttatctt 120
tctaaataca ttcaaataatg tatccgctca tgagacaata accctgataa atgcttcaat 180
aatattgaaa aaggaagagt atg agt att caa cat ttc cgt gtc gcc ctt att 233
          Met Ser Ile Gln His Phe Arg Val Ala Leu Ile
              1             5             10

ccc ttt ttt gcg gca ttt tgc ctt cct gtt ttt gct cac cca gaa acg 281
Pro Phe Phe Ala Ala Phe Cys Leu Pro Val Phe Ala His Pro Glu Thr
          15             20             25

ctg gtg aaa gta aaa gat gct gaa gat cag ttg ggt gcc cga gtg ggt 329
Leu Val Lys Val Lys Asp Ala Glu Asp Gln Leu Gly Ala Arg Val Gly
          30             35             40

tac atc gaa ctg gat ctc aac agc ggt aag atc ctt gag agt ttt cgc 377
Tyr Ile Glu Leu Asp Leu Asn Ser Gly Lys Ile Leu Glu Ser Phe Arg
          45             50             55

ccc gaa gaa cgt ttt cca atg atg agc act ttt aaa gtt ctg cta tgt 425
Pro Glu Glu Arg Phe Pro Met Met Ser Thr Phe Lys Val Leu Leu Cys
          60             65             70             75

ggc gcg gta tta tcc cgt att gac gcc ggg caa gag caa ctc ggt cgc 473
Gly Ala Val Leu Ser Arg Ile Asp Ala Gly Gln Glu Gln Leu Gly Arg
          80             85             90

cgc ata cac tat tct cag aat gac ttg gtt gag tac tca cca gtc aca 521
Arg Ile His Tyr Ser Gln Asn Asp Leu Val Glu Tyr Ser Pro Val Thr
          95             100             105

gaa aag cat ctt acg gat ggc atg aca gta aga gaa tta tgc agt gct 569
Glu Lys His Leu Thr Asp Gly Met Thr Val Arg Glu Leu Cys Ser Ala
          110             115             120

gcc ata acc atg agt gat aac act gcg gcc aac tta ctt ctg aca acg 617
Ala Ile Thr Met Ser Asp Asn Thr Ala Ala Asn Leu Leu Leu Thr Thr
          125             130             135

atc gga gga ccg aag gag cta acc gct ttt ttg cac aac atg ggg gat 665
Ile Gly Gly Pro Lys Glu Leu Thr Ala Phe Leu His Asn Met Gly Asp
          140             145             150             155

cat gta act cgc ctt gat cgt tgg gaa ccg gag ctg aat gaa gcc ata 713
His Val Thr Arg Leu Asp Arg Trp Glu Pro Glu Leu Asn Glu Ala Ile
          160             165             170

cca aac gac gag cgt gac acc acg atg cct gta gca atg gca aca acg 761
Pro Asn Asp Glu Arg Asp Thr Thr Met Pro Val Ala Met Ala Thr Thr
          175             180             185

ttg cgc aaa cta tta act ggc gaa cta ctt act cta gct tcc cgg caa 809

```

Leu	Arg	Lys	Leu	Leu	Thr	Gly	Glu	Leu	Leu	Thr	Leu	Ala	Ser	Arg	Gln	
		190					195					200				
caa	tta	ata	gac	tgg	atg	gag	gcg	gat	aaa	gtt	gca	gga	cca	ctt	ctg	857
Gln	Leu	Ile	Asp	Trp	Met	Glu	Ala	Asp	Lys	Val	Ala	Gly	Pro	Leu	Leu	
	205					210					215					
cgc	tcg	gcc	ctt	ccg	gct	ggc	tgg	ttt	att	gct	gat	aaa	tct	gga	gcc	905
Arg	Ser	Ala	Leu	Pro	Ala	Gly	Trp	Phe	Ile	Ala	Asp	Lys	Ser	Gly	Ala	
220					225					230					235	
ggt	gag	cgt	ggg	tct	cgc	ggt	atc	att	gca	gca	ctg	ggg	cca	gat	ggt	953
Gly	Glu	Arg	Gly	Ser	Arg	Gly	Ile	Ile	Ala	Ala	Leu	Gly	Pro	Asp	Gly	
			240						245					250		
aag	ccc	tcc	cgt	atc	gta	gtt	atc	tac	acg	acg	ggg	agt	cag	gca	act	1001
Lys	Pro	Ser	Arg	Ile	Val	Val	Ile	Tyr	Thr	Thr	Gly	Ser	Gln	Ala	Thr	
			255					260					265			
atg	gat	gaa	cga	aat	aga	cag	atc	gct	gag	ata	ggt	gcc	tca	ctg	att	1049
Met	Asp	Glu	Arg	Asn	Arg	Gln	Ile	Ala	Glu	Ile	Gly	Ala	Ser	Leu	Ile	
		270					275					280				
aag	cat	tgg	taactgtcag	accaagttta	ctcatatata	ctttagattg										1098
Lys	His	Trp														
		285														
atttaaaaact	tcattttttaa	tttaaaagga	tctaggtgaa	gataccttttt	gataatctca											1158
tgacccaaaat	cccttaacgt	gagttttcgt	tccactgagc	gtcagacccc	gtagaaaaga											1218
tcaaaggatc	ttcttgagat	cctttttttc	tgcgcgtaat	ctgctgcttg	caaacaaaaa											1278
aaccaccgct	accagcgggtg	gtttgtttgc	cggatcaaga	gctaccaact	ctttttccga											1338
aggtaactgg	cttcagcaga	gcgcagatac	caaatactgt	ccttctagt	tagccgtagt											1398
taggccacca	cttcaagaac	tctgtagcac	cgctacata	cctcgctctg	ctaatacctgt											1458
taccagtggc	tgctgccagt	ggcgataagt	cgtgtcttac	cgggttgac	tcaagacgat											1518
agttaccgga	taaggcgag	cggtcgggt	gaacggggg	ttcgtgcata	cagcccagct											1578
tggagcgaac	gacctacacc	gaactgagat	acctacagcg	tgagcattga	gaaagcgcca											1638
cgtttcccga	agggagaaaag	gcggacaggt	atccggttaag	cggcaggggtc	ggaacaggag											1698
agcgacagag	ggagcttcca	gggggaaacg	cctgggtatct	ttatagtcct	gtcgggtttc											1758
gccacctctg	acttgagcgt	cgatTTTTgt	gatgctcgtc	aggggggagg	agcctatgga											1818
aaaacgccag	caacgcggcc	tttttacggt	tcctggcctt	ttgctggcct	tttgctcaca											1878
tgttctttcc	tgcgttatcc	cctgattctg	tggataaccg	tattaccgcc	tttgagttag											1938
ctgataccgc	tcgccgcagc	cgaacgaccg	agcgacgca	gtcagttagc	gaggaagcgg											1998
aagagcgccc	aatacgcaaa	ccgcctctcc	ccgcgcgttg	gccgattcat	taatgcagct											2058

ggcacgacag gtttcccacgac tggaaagcgg gcagtgagcg caacgcaatt aatgtgagtt 2118
agctcactca ttaggcaccc caggctttac actttatgct tccggctcgt atgttggtgtg 2178
gaattgtgag cggataacaa tttcacacag gaaacagcta tgaccatgat tacgccaagc 2238
tttggagcct tttttttgga gattttcaac gtg aaa aaa tta tta ttc gca att 2292
Met Lys Lys Leu Leu Phe Ala Ile
290

cct tta gtt gtt cct ttc tat tct cac agt gca cag gtc caa ctg cag 2340
Pro Leu Val Val Pro Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln Val Gln Leu Gln
295 300 305 310

gtc gac ctc gag atc aaa cgt gga act gtg gct gca cca tct gtc ttc 2388
Val Asp Leu Glu Ile Lys Arg Gly Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
315 320 325

atc ttc ccg cca tct gat gag cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt 2436
Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val
330 335 340

gtg tgc ctg ctg aat aac ttc tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg 2484
Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp
345 350 355

aag gtg gat aac gcc ctc caa tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca 2532
Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr
360 365 370

gag cag gac agc aag gac agc acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg 2580
Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr
375 380 385 390

ctg agc aaa gca gac tac gag aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc 2628
Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val
395 400 405

acc cat cag ggc ctg agt tca ccg gtg aca aag agc ttc aac agg gga 2676
Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly
410 415 420

gag tgt taataaggcg cgccaattct atttcaagga gacagtcata atg aaa tac 2731
Glu Cys Met Lys Tyr
425

cta ttg cct acg gca gcc gct gga ttg tta tta ctc gcg gcc cag ccg 2779
Leu Leu Pro Thr Ala Ala Ala Gly Leu Leu Leu Leu Ala Ala Gln Pro
430 435 440

gcc atg gcc gaa gtt caa ttg tta gag tct ggt ggc ggt ctt gtt cag 2827
Ala Met Ala Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
445 450 455

cct ggt ggt tct tta cgt ctt tct tgc gct gct tcc gga gcttcagatc 2876
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
460 465 470

tgtttgcctt tttgtggggt ggtgcagatc gcgttacgga gatcgaccga ctgcttgagc 2936
 aaaagccacg cttaactgct gatcaggcat gggatgttat tcgccaaacc agtcgtcagg 2996
 atcttaacct gaggcttttt ttacctactc tgcaagcagc gacatctggt ttgacacaga 3056
 gcgatccgcg tcgtcagttg gtagaaacat taacacggtg ggatggcatc aatttgctta 3116
 atgatgatgg taaaacctgg cagcagccag gctctgccat cctgaacgtt tggctgacca 3176
 gtatgttgaa gcgtaccgta gtggctgccg tacctatgcc atttgataag tggtagacag 3236
 ccagtggcta cgaaacaacc caggacggcc caactgggtc gctgaatata agtgttggag 3296
 caaaaatttt gtatgaggcg gtgcaggag acaaatcacc aatcccacag gcggttgatc 3356
 tgtttgctgg gaaaccacag caggaggttg tgttggtgc gctggaagat acctgggaga 3416
 ctctttccaa acgctatggc aataatgtga gtaactggaa aacacctgca atggccttaa 3476
 cgttccgggc aaataatttc tttggtgtac cgcaggccgc agcggaagaa acgctcatc 3536
 aggcggagta tcaaaaccgt ggaacagaaa acgatatgat tgttttctca ccaacgacaa 3596
 gcgatcgccc tgtgcttgcc tgggatgtgg tcgcacccgg tcagagtggg tttattgctc 3656
 ccgatggaac agttgataag cactatgaag atcagctgaa aatgtacgaa aattttggcc 3716
 gtaagtcgct ctggttaacg aagcaggatg tggaggcgca taaggagtcg tct aga 3772
 Ser Arg
 gac aac tct aag aat act ctc tac ttg cag atg aac agc tta agt ctg 3820
 Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Ser Leu
 475 480 485 490
 agc att cgg tcc ggg caa cat tct cca aac tgaccagacg acacaaacgg 3870
 Ser Ile Arg Ser Gly Gln His Ser Pro Asn
 495 500
 ctacgctaa atccccgcga tgggatggta aagagggtgc gtctttgctg gcctggactc 3930
 atcagatgaa ggccaaaaat tggcaggagt ggacacagca ggcagcgaaa caagcactga 3990
 ccataactg gtactatgct gatgtaaacg gcaatattgg ttatgttcat actggtgctt 4050
 atccagatcg tcaatcaggc catgatccgc gattaccctg tcctggtacg ggaaaatggg 4110
 actggaaagg gctattgcct ttgaaatga accctaagggt gtataacccc cagaagctag 4170
 cctgcggctt cggtcaccgt ctcaagc gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc 4224
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 505
 ccc ctg gca ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg 4272
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 510 515 520 525

ES 2 375 952 T3

ggc tgc ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg	4320
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp	
530 535 540	
aac tca ggc gcc ctg acc agc ggc gtc cac acc ttc ccg gct gtc cta	4368
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu	
545 550 555	
cag tcc tca gga ctc tac tcc ctc agc agc gta gtg acc gtg ccc tcc	4416
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser	
560 565 570	
agc agc ttg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc	4464
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro	
575 580 585	
agc aac acc aag gtg gac aag aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gcg gcc	4512
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Ala Ala	
590 595 600 605	
gca cat cat cat cac cat cac ggg gcc gca gaa caa aaa ctc atc tca	4560
Ala His His His His His His Gly Ala Ala Glu Gln Lys Leu Ile Ser	
610 615 620	
gaa gag gat ctg aat ggg gcc gca tag act gtt gaa agt tgt tta gca	4608
Glu Glu Asp Leu Asn Gly Ala Ala Thr Val Glu Ser Cys Leu Ala	
625 630 635	
aaa cct cat aca gaa aat tca ttt act aac gtc tgg aaa gac gac aaa	4656
Lys Pro His Thr Glu Asn Ser Phe Thr Asn Val Trp Lys Asp Asp Lys	
640 645 650	
act tta gat cgt tac gct aac tat gag ggc tgt ctg tgg aat gct aca	4704
Thr Leu Asp Arg Tyr Ala Asn Tyr Glu Gly Cys Leu Trp Asn Ala Thr	
655 660 665	
ggc gtt gtg gtt tgt act ggt gac gaa act cag tgt tac ggt aca tgg	4752
Gly Val Val Val Cys Thr Gly Asp Glu Thr Gln Cys Tyr Gly Thr Trp	
670 675 680	
gtt cct att ggg ctt gct atc cct gaa aat gag ggt ggt ggc tct gag	4800
Val Pro Ile Gly Leu Ala Ile Pro Glu Asn Glu Gly Gly Gly Ser Glu	
685 690 695 700	
ggt ggc ggt tct gag ggt ggc ggt tct gag ggt ggc ggt act aaa cct	4848
Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Thr Lys Pro	
705 710 715	
cct gag tac ggt gat aca cct att ccg ggc tat act tat atc aac cct	4896
Pro Glu Tyr Gly Asp Thr Pro Ile Pro Gly Tyr Thr Tyr Ile Asn Pro	
720 725 730	
ctc gac ggc act tat ccg cct ggt act gag caa aac ccc gct aat cct	4944
Leu Asp Gly Thr Tyr Pro Pro Gly Thr Glu Gln Asn Pro Ala Asn Pro	
735 740 745	
aat cct tct ctt gag gag tct cag cct ctt aat act ttc atg ttt cag	4992
Asn Pro Ser Leu Glu Glu Ser Gln Pro Leu Asn Thr Phe Met Phe Gln	

ES 2 375 952 T3

750	755	760	
aat aat agg ttc cga aat agg cag ggt gca tta act gtt tat acg ggc Asn Asn Arg Phe Arg Asn Arg Gln Gly Ala Leu Thr Val Tyr Thr Gly 765 770 775 780			5040
act gtt act caa ggc act gac ccc gtt aaa act tat tac cag tac act Thr Val Thr Gln Gly Thr Asp Pro Val Lys Thr Tyr Tyr Gln Tyr Thr 785 790 795			5088
cct gta tca tca aaa gcc atg tat gac gct tac tgg aac ggt aaa ttc Pro Val Ser Ser Lys Ala Met Tyr Asp Ala Tyr Trp Asn Gly Lys Phe 800 805 810			5136
aga gac tgc gct ttc cat tct ggc ttt aat gag gat cca ttc gtt tgt Arg Asp Cys Ala Phe His Ser Gly Phe Asn Glu Asp Pro Phe Val Cys 815 820 825			5184
gaa tat caa ggc caa tcg tct gac ctg cct caa cct cct gtc aat gct Glu Tyr Gln Gly Gln Ser Ser Asp Leu Pro Gln Pro Pro Val Asn Ala 830 835 840			5232
ggc ggc ggc tct ggt ggt ggt tct ggt ggc ggc tct gag ggt ggc ggc Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly 845 850 855 860			5280
tct gag ggt ggc ggt tct gag ggt ggc ggc tct gag ggt ggc ggt tcc Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser 865 870 875			5328
ggt ggc ggc tcc ggt tcc ggt gat ttt gat tat gaa aaa atg gca aac Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Asp Phe Asp Tyr Glu Lys Met Ala Asn 880 885 890			5376
gct aat aag ggg gct atg acc gaa aat gcc gat gaa aac gcg cta cag Ala Asn Lys Gly Ala Met Thr Glu Asn Ala Asp Glu Asn Ala Leu Gln 895 900 905			5424
tct gac gct aaa ggc aaa ctt gat tct gtc gct act gat tac ggt gct Ser Asp Ala Lys Gly Lys Leu Asp Ser Val Ala Thr Asp Tyr Gly Ala 910 915 920			5472
gct atc gat ggt ttc att ggt gac gtt tcc ggc ctt gct aat ggt aat Ala Ile Asp Gly Phe Ile Gly Asp Val Ser Gly Leu Ala Asn Gly Asn 925 930 935 940			5520
ggt gct act ggt gat ttt gct ggc tct aat tcc caa atg gct caa gtc Gly Ala Thr Gly Asp Phe Ala Gly Ser Asn Ser Gln Met Ala Gln Val 945 950 955			5568
ggt gac ggt gat aat tca cct tta atg aat aat ttc cgt caa tat tta Gly Asp Gly Asp Asn Ser Pro Leu Met Asn Asn Phe Arg Gln Tyr Leu 960 965 970			5616
cct tct ttg cct cag tcg gtt gaa tgt cgc cct tat gtc ttt ggc gct Pro Ser Leu Pro Gln Ser Val Glu Cys Arg Pro Tyr Val Phe Gly Ala 975 980 985			5664

ES 2 375 952 T3

```

ggt aaa cca tat gaa ttt tct att gat tgt gac aaa ata aac tta ttc 5712
Gly Lys Pro Tyr Glu Phe Ser Ile Asp Cys Asp Lys Ile Asn Leu Phe
990 995 1000

cgt ggt gtc ttt gcg ttt ctt tta tat gtt gcc acc ttt atg tat gta 5760
Arg Gly Val Phe Ala Phe Leu Leu Tyr Val Ala Thr Phe Met Tyr Val
1005 1010 1015 1020

ttt tcg acg ttt gct aac ata ctg cgt aat aag gag tct taataagaat 5809
Phe Ser Thr Phe Ala Asn Ile Leu Arg Asn Lys Glu Ser
1025 1030

tcactggccg tcgtttttaca acgtcgtgac tgggaaaacc ctggcgttac ccaacttaat 5869
cgcccttgac caccatcccc tttcgccagc tggcgtaata gcgaagaggc ccgcaccgat 5929
cgcccttccc aacagttgcg cagcctgaat ggcgaaatggc gcctgatgcg gtattttctc 5989
cttacgcac tcgtcggtat ttcacaccgc atataaattg taaacgttaa tattttgtta 6049
aaattcgcgt taaatttttg ttaaatcagc tcatttttta accaataggc cgaaatcggc 6109
aaaaatccctt ataaatcaaa agaataagccc gagatagggt tgagtgttgt tccagtttg 6169
aacaagagtc cactattaaa gaacgtggac tccaacgtca aagggcgaaa aaccgtctat 6229
cagggcgatg gccactacg tgaaccatca cccaaatcaa gttttttggg gtcgaggtgc 6289
cgtaaagcac taaatcggaa ccctaaaggg agccccgat ttagagcttg acggggaaaag 6349
ccggcgaaacg tggcgagaaa ggaagggaag aaagcgaaaag gagcgggcgc tagggcgctg 6409
gcaagtgtag cggtcacgct gcgcgtaacc accacaccgc ccgcgcttaa tgcgcgcta 6469
cagggcgctg actatggttg ctttgacggg tgcagtctca gtacaatctg ctctgatgcc 6529
gcatagttaa gccagccccg acaccgcgca acaccgctg acgcgccttg acgggcttgt 6589
ctgctcccg catccgctta cagacaagct gtgaccgtct ccgggagctg catgtgtcag 6649
aggttttcac cgtcatcacc gaaacgcgcg a 6680

```

<210> 523

<211> 286

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de proteína del vector pCES5

<400> 523

```

Met Ser Ile Gln His Phe Arg Val Ala Leu Ile Pro Phe Phe Ala Ala
 1           5           10           15

Phe Cys Leu Pro Val Phe Ala His Pro Glu Thr Leu Val Lys Val Lys
          20           25           30

```

ES 2 375 952 T3

```

Asp Ala Glu Asp Gln Leu Gly Ala Arg Val Gly Tyr Ile Glu Leu Asp
    35                                40                                45

Leu Asn Ser Gly Lys Ile Leu Glu Ser Phe Arg Pro Glu Glu Arg Phe
    50                                55                                60

Pro Met Met Ser Thr Phe Lys Val Leu Leu Cys Gly Ala Val Leu Ser
    65                                70                                75                                80

Arg Ile Asp Ala Gly Gln Glu Gln Leu Gly Arg Arg Ile His Tyr Ser
    85                                90                                95

Gln Asn Asp Leu Val Glu Tyr Ser Pro Val Thr Glu Lys His Leu Thr
    100                                105                                110

Asp Gly Met Thr Val Arg Glu Leu Cys Ser Ala Ala Ile Thr Met Ser
    115                                120                                125

Asp Asn Thr Ala Ala Asn Leu Leu Leu Thr Thr Ile Gly Gly Pro Lys
    130                                135                                140

Glu Leu Thr Ala Phe Leu His Asn Met Gly Asp His Val Thr Arg Leu
    145                                150                                155                                160

Asp Arg Trp Glu Pro Glu Leu Asn Glu Ala Ile Pro Asn Asp Glu Arg
    165                                170                                175

Asp Thr Thr Met Pro Val Ala Met Ala Thr Thr Leu Arg Lys Leu Leu
    180                                185                                190

Thr Gly Glu Leu Leu Thr Leu Ala Ser Arg Gln Gln Leu Ile Asp Trp
    195                                200                                205

Met Glu Ala Asp Lys Val Ala Gly Pro Leu Leu Arg Ser Ala Leu Pro
    210                                215                                220

Ala Gly Trp Phe Ile Ala Asp Lys Ser Gly Ala Gly Glu Arg Gly Ser
    225                                230                                235                                240

Arg Gly Ile Ile Ala Ala Leu Gly Pro Asp Gly Lys Pro Ser Arg Ile
    245                                250                                255

Val Val Ile Tyr Thr Thr Gly Ser Gln Ala Thr Met Asp Glu Arg Asn
    260                                265                                270

Arg Gln Ile Ala Glu Ile Gly Ala Ser Leu Ile Lys His Trp
    275                                280                                285

```

<210> 524

<211> 138

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

5

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de proteína del vector pCES5

<400> 524

```

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

His Ser Ala Gln Val Gln Leu Gln Val Asp Leu Glu Ile Lys Arg Gly
          20           25           30

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
      35           40           45

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 50           55           60

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 65           70           75           80

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
          85           90           95

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
      100           105           110

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
      115           120           125

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
      130           135

```

<210> 525

<211> 48

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de proteína del vector pCES5

<400> 525

```

Met Lys Tyr Leu Leu Pro Thr Ala Ala Ala Gly Leu Leu Leu Ala
 1           5           10           15

Ala Gln Pro Ala Met Ala Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly
          20           25           30

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
      35           40           45

```

<210> 526

<211> 28

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de proteína del vector pCES5

<400> 526

```

Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
 1           5           10           15

Ser Leu Ser Ile Arg Ser Gly Gln His Ser Pro Asn
      20           25

```

<210> 527

<211> 533

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de proteína del vector pCES5

ES 2 375 952 T3

<400> 527

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

ES 2 375 952 T3

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

<210> 528

<211> 30

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 528
 acctcactgg ctcccgatt cactttctct 30

 <210> 529
 <211> 42
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 529
 10 agaaaccac tccaaacctt taccaggagc ttggcgaacc ca 42

 <210> 530
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 530
 ggaaggcagt gatctagaga tagtgaagcg acctttaacg gagtcagcat a 51

 <210> 531
 20 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 25 <400> 531
 ggaaggcagt gatctagaga tag 23

 <210> 532
 <211> 20
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 532
 gtgctgactc agccaccctc 20

 35 <210> 533
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 533
 gccctgactc agcctgcctc 20

 <210> 534
 <211> 20
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 534
 50 gagctgactc aggaccctgc 20

<210> 535
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 535
 gagctgactc agccaccctc 20

10 <210> 536
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

15 <400> 536
 cctcgacagc gaagtcaca gagcgtcttg actcagcc 38

<210> 537
 <211> 30
 <212> ADN

20 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 537
 cctcgacagc gaagtcaca gagcgtcttg 30

25 <210> 538
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

30 <400> 538
 cctcgacagc gaagtcaca gagcgtcttg actcagcc 38

<210> 539
 <211> 30
 <212> ADN

35 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 539
 cctcgacagc gaagtcaca gagcgtcttg 30

<210> 540
 <211> 38
 <212> ADN

40 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 540
 cctcgacagc taagtcaca gagcgtcttg actcagcc 38

<210> 541
 <211> 30

50

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 5 <400> 541
 cctcgacagc gaagtcaca gagcgcttgg 30

 <210> 542
 <211> 38
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 542
 cctcgacagc gaagtcaca gagcgaattg actcagcc 38

 15 <210> 543
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 543
 cctcgacagc gaagtcaca gagcgaattg 30

 <210> 544
 <211> 38
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 544
 30 cctcgacagc gaagtcaca gtacgaattg actcagcc 38

 <210> 545
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 35 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 545
 cctcgacagc gaagtcaca gtacgaattg 30

 <210> 546
 40 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 45 <400> 546
 cctcgacagc gaagtcaca g 21

 <210> 547
 <211> 21
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 547
 ccgtgtatta ctgtgcgaga g 21

5 <210> 548
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

10 <400> 548
 ctgtgtatta ctgtgcgaga g 21

<210> 549
 <211> 21
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

20 <400> 549
 ccgtatatta ctgtgcgaaa g 21

<210> 550
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 550
 ctgtgtatta ctgtgcgaaa g 21

<210> 551
 30 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

35 <400> 551
 ctgtgtatta ctgtgcgaga c 21

<210> 552
 <211> 21
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 552
 ccatgtatta ctgtgcgaga c 21

45 <210> 553
 <211> 94
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

50

<400> 553
 ggtgtagtga tctagtga actctaagaa tactctctac ttgcagatga acagcttttag 60
 ggctgaggac actgcagtct actattgtgc gaga 94

5 <210> 554
 <211> 94
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

10 <400> 554
 ggtgtagtga tctagtga actctaagaa tactctctac ttgcagatga acagcttttag 60
 ggctgaggac actgcagtct actattgtgc gaaa 94

<210> 555
 <211> 85
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 555
 atagtagact gcagtgtcct cagcccttaa gctgttcac tgcaagtaga gagtattctt 60
 agagttgtct ctagatcact acacc 85

20 <210> 556
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador

25 <400> 556
 gactgggtgt agtgatctag 20

<210> 557
 <211> 24
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador

<400> 557
 ctttctttg ttgccgttgg ggtg 24

35 <210> 558
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

45 <400> 558
 nnnnnnnnng caggt 15

<210> 559
 <211> 11

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 5 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (7)..(11)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 10 <400> 559
 acctgcnnnn n 11

 <210> 560
 <211> 10
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base modificada
 <222> (4)..(7)
 20 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 560
 gatnnnnatc 10

 <210> 561
 <211> 16
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 30 <221> base_modificada
 <222> (7)..(16)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 561
 gaggagnnnn nnnnnn 1 6

 35 <210> 562
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(10)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 45 <400> 562
 nnnnnnnnnn ctctc 16

 <210> 563
 <211> 10
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (7)..(10)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 5 <400> 563
 ctcttcnnnn 10
 <210> 564
 <211> 11
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 15 <222> (1)..(5)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 564
 nnnnngaaga g 11
 <210> 565
 20 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 25 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(15)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 565
 30 nnnnnnnnnn nnnnngtccc 20
 <210> 566
 <211> 12
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(9)
 40 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 566
 gacnnnnnng tc 12
 <210> 567
 <211> 11
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 50 <222> (7)..(11)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 567
 cgtctcnnnn n 11

 <210> 568
 <211> 12
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 10 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (12)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 568
 gtatccnnnn nn 12

 15 <210> 569
 <211> 12
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 25 <400> 569
 gcannnnnnt cg 12

 <210> 570
 <211> 11
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 35 <222> (9)..(8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 570
 gccnnnnngg c 11

 40 <210> 571
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 45 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (7)..(11)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 571
 50 ggtctcnnnn n 11

 <210> 572
 <211> 11

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 5 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 10 <400> 572
 gacnnnnngt c 11

 <210> 573
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)
 20 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 573
 gacnnnnngt c 11

 <210> 574
 <211> 11
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 30 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 574
 ccannnnntg g 11

 35 <210> 575
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(12)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 45 <400> 575
 ccannnnnnn nntgg 15

 <210> 576
 <211> 13
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (5)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 5 <400> 576
 ggccnnnnng gcc 13
 <210> 577
 <211> 12
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 15 <222> (4)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 577
 ccannnnnnt gg 12
 <210> 578
 20 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 25 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 578
 30 cctnnnnnag g 11
 <210> 579
 <211> 10
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(7)
 40 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 579
 gacnnnngtc 10
 <210> 580
 <211> 15
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 50 <222> (4) .. (12)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 580
 ccannnnnnn nntgg 15

 <210> 581
 <211> 11
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 10 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 581
 gcannnnntg c 11

 15 <210> 582
 <211> 10251
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de nucleótidos de CJRA05

 <220>
 <221> CDS
 <222> (1578)..(1916)

 <220>
 25 <221> CDS
 <222> (2388)..(2843)

 <220>
 <221> CDS
 <222> (2849)..(2893)

 30 <220>
 <221> CDS
 <222> (3189)..(4232)

 <220>
 35 <221> CDS
 <222> (7418)..(8119)

 <220>
 <221> CDS
 <222> (8160)..(9452)

 <400> 582
 aatgctacta ctattagtag aattgatgcc accttttcag ctcgcgcccc aaatgaaaat 60
 atagctaaac aggttattga ccatttgcca aatgtatcta atggtaaac taaatctact 120
 40 cgttcgcaga attgggaatc aactgttata tggaatgaaa cttccagaca ccgtacttta 180

ES 2 375 952 T3

```

gttgcatatt taaaacatgt tgagctacag cattatatcc agcaattaag ctctaagcca 240
tccgcaaaaa tgacctctta tcaaaaggag caattaaagg tactctctaa tcctgacctg 300
ttggagtttg cttccggctt gggttcgctt gaagctcgaa ttaaaacgcg atatttgaag 360
tctttcgggc ttcctcttaa tctttttgat gcaatccgct ttgcttctga ctataatagt 420
cagggtaaag acctgatttt tgatttatgg tcattctcgt tttctgaact gtttaaagca 480
tttgaggggg attcaatgaa tatttatgac gattccgcag tattggacgc tatccagtct 540
aaacatttta ctattacccc ctctggcaaa acttcttttg caaaagcctc tcgctatttt 600
ggtttttatc gtcgtctggg aaacgagggt tatgatagtg ttgctcttac tatgcctcgt 660
aattcctttt ggcgttatgt atctgcatta gttgaatgtg gtattcctaa atctcaactg 720
atgaatcttt ctacctgtaa taatgttggt ccgttagttc gttttattaa cgtagatttt 780
tcttcccaac gtcctgactg gtataatgag ccagttctta aaatcgcata aggtaattca 840
caatgattaa agttgaaatt aaaccatctc aagcccaatt tactactcgt tctgggtgtt 900
ctcgtcaggg caagccttat tcaactgaatg agcagctttg ttacgttgat ttgggtaatg 960
aatatccggg tcttgtcaag attactcttg atgaagggtc gccagcctat gcgcctgggc 1020
tgtacaccgt tcatctgtcc tctttcaaag ttggtcagtt cggttccctt atgattgacc 1080
gtctggcct cgttccggct aagtaacatg gagcaggtcg cggatttcga cacaatttat 1140
caggcgatga tacaaatctc cgttgtactt tgtttcgcgc ttggtataat cgctgggggt 1200
caaagatgag tgtttttagt tattcttttg cctctttcgt tttaggttg tgccttcgta 1260
gtggcattac gtattttacc cgtttaatgg aaacttcctc atgaaaaagt ctttagtcct 1320
caaagcctct gtagccgttg ctaccctcgt tccgatgctg tctttcgtg ctgaggggtga 1380
cgatcccgca aaagcggcct ttaactccct gcaagcctca gcgaccgaat atatcggtta 1440
tgcgtgggcg atggttggtg tcattgtcgg cgcaactatc ggtatcaagc tgtttaagaa 1500
attcacctcg aaagcaagct gataaaccga tacaattaaa ggctcctttt ggagcctttt 1560
ttttggagat tttcaac gtg aaa aaa tta tta ttc gca att cct tta gtt 1610
Met Lys Lys Leu Leu Phe Ala Ile Pro Leu Val
1 5 10

gtt cct ttc tat tct ggc gcg gcc gaa tca cat cta gac ggc gcc gct 1658
Val Pro Phe Tyr Ser Gly Ala Ala Glu Ser His Leu Asp Gly Ala Ala
15 20 25

gaa act gtt gaa agt tgt tta gca aaa tcc cat aca gaa aat tca ttt 1706
Glu Thr Val Glu Ser Cys Leu Ala Lys Ser His Thr Glu Asn Ser Phe
30 35 40

```

ES 2 375 952 T3

```

act aac gtc tgg aaa gac gac aaa act tta gat cgt tac gct aac tat 1754
Thr Asn Val Trp Lys Asp Asp Lys Thr Leu Asp Arg Tyr Ala Asn Tyr
45 50 55

gag ggc tgt ctg tgg aat gct aca ggc gtt gta gtt tgt act ggt gac 1802
Glu Gly Cys Leu Trp Asn Ala Thr Gly Val Val Val Cys Thr Gly Asp
60 65 70 75

gaa act cag tgt tac ggt aca tgg gtt cct att ggg ctt gct atc cct 1850
Glu Thr Gln Cys Tyr Gly Thr Trp Val Pro Ile Gly Leu Ala Ile Pro
80 85 90

gaa aat gag ggt ggt ggc tct gag ggt ggc ggt tct gag ggt ggc ggt 1898
Glu Asn Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly
95 100 105

tct gag ggt ggc ggt act aaacctcctg agtacgggtga tacacctatt 1946
Ser Glu Gly Gly Thr
110

ccgggctata cttatatcaa ccctctcgac ggcaacttatc cgcctgggtac tgagcaaaac 2006

cccgcctaacc ctaatccttc tcttgaggag tctcagcctc ttaatacttt catgtttcag 2066

aataataggt tccgaaatag gcagggggca ttaactgttt atacggggcac tgttactcaa 2126

ggcactgacc ccgttaaaac ttattaccag tacactcctg tatcatcaaa agccatgtat 2186

gacgcttact ggaacggtaa attcagagac tgcgctttcc attctggctt taatgaggat 2246

ttatgtgttt gtgaatatca aggccaatcg tctgacctgc ctcaacctcc tgtcaatgct 2306

ggcggcggtc ctggtggtgg ttctggtggc ggctctgagg gtggtggctc tgagggaggc 2366

ggttcgggtg gtggctctgg t tcc ggt gat ttt gat tat gaa aag atg gca 2417
Ser Gly Asp Phe Asp Tyr Glu Lys Met Ala
115 120

aac gct aat aag ggg gct atg acc gaa aat gcc gat gaa aac gcg cta 2465
Asn Ala Asn Lys Gly Ala Met Thr Glu Asn Ala Asp Glu Asn Ala Leu
125 130 135

cag tct gac gct aaa ggc aaa ctt gat tct gtc gct act gat tac ggt 2513
Gln Ser Asp Ala Lys Gly Lys Leu Asp Ser Val Ala Thr Asp Tyr Gly
140 145 150 155

gct gct atc gat ggt ttc att ggt gac gtt tcc ggc ctt gct aat ggt 2561
Ala Ala Ile Asp Gly Phe Ile Gly Asp Val Ser Gly Leu Ala Asn Gly
160 165 170

aat ggt gct act ggt gat ttt gct ggc tct aat tcc caa atg gct caa 2609
Asn Gly Ala Thr Gly Asp Phe Ala Gly Ser Asn Ser Gln Met Ala Gln
175 180 185

gtc ggt gac ggt gat aat tca cct tta atg aat aat ttc cgt caa tat 2657
Val Gly Asp Gly Asp Asn Ser Pro Leu Met Asn Asn Phe Arg Gln Tyr
190 195 200

```


ES 2 375 952 T3

tta cct tcc ctc cct caa tcg gtt gaa tgt cgc cct ttt gtc ttt ggc	2705
Leu Pro Ser Leu Pro Gln Ser Val Glu Cys Arg Pro Phe Val Phe Gly	
205 210 215	
gct ggt aaa cca tat gaa ttt tct att gat tgt gac aaa ata aac tta	2753
Ala Gly Lys Pro Tyr Glu Phe Ser Ile Asp Cys Asp Lys Ile Asn Leu	
220 225 230 235	
ttc cgt ggt gtc ttt gcg ttt ctt tta tat gtt gcc acc ttt atg tat	2801
Phe Arg Gly Val Phe Ala Phe Leu Leu Tyr Val Ala Thr Phe Met Tyr	
240 245 250	
gta ttt tct acg ttt gct aac ata ctg cgt aat aag gag tct taatc atg	2851
Val Phe Ser Thr Phe Ala Asn Ile Leu Arg Asn Lys Glu Ser Met	
255 260 265	
cca gtt ctt ttg ggt att ccg tta tta ttg cgt ttc ctc ggt	2893
Pro Val Leu Leu Gly Ile Pro Leu Leu Leu Arg Phe Leu Gly	
270 275 280	
ttccttcttg taactttgtt cggtatctg cttacttttc ttaaaaaggg cttcggttaag	2953
atagctattg ctatttcatt gtttcttgct cttattattg ggcttaactc aattcttggtg	3013
ggttatctct ctgatattag cgctcaatta ccctctgact ttgttcaggg tggtcagtta	3073
attctcccgct ctaatgcgct tccctgtttt tatgttattc tctctgtaaa ggctgctatt	3133
ttcatttttg acgttaaaca aaaaatcggt tcttatttgg attgggataa ataat atg	3191
Met	
gct gtt tat ttt gta act ggc aaa tta ggc tct gga aag acg ctc gtt	3239
Ala Val Tyr Phe Val Thr Gly Lys Leu Gly Ser Gly Lys Thr Leu Val	
285 290 295	
agc gtt ggt aag att cag gat aaa att gta gct ggg tgc aaa ata gca	3287
Ser Val Gly Lys Ile Gln Asp Lys Ile Val Ala Gly Cys Lys Ile Ala	
300 305 310	
act aat ctt gat tta agg ctt caa aac ctc ccg caa gtc ggg agg ttc	3335
Thr Asn Leu Asp Leu Arg Leu Gln Asn Leu Pro Gln Val Gly Arg Phe	
315 320 325	
gct aaa acg cct cgc gtt ctt aga ata ccg gat aag cct tct ata tct	3383
Ala Lys Thr Pro Arg Val Leu Arg Ile Pro Asp Lys Pro Ser Ile Ser	
330 335 340 345	
gat ttg ctt gct att ggg cgc ggt aat gat tcc tac gat gaa aat aaa	3431
Asp Leu Leu Ala Ile Gly Arg Gly Asn Asp Ser Tyr Asp Glu Asn Lys	
350 355 360	
aac ggc ttg ctt gtt ctc gat gag tgc ggt act tgg ttt aat acc cgt	3479
Asn Gly Leu Leu Val Leu Asp Glu Cys Gly Thr Trp Phe Asn Thr Arg	
365 370 375	
tct tgg aat gat aag gaa aga cag ccg att att gat tgg ttt cta cat	3527
Ser Trp Asn Asp Lys Glu Arg Gln Pro Ile Ile Asp Trp Phe Leu His	
380 385 390	

gct cgt aaa tta gga tgg gat att att ttt ctt gtt cag gac tta tct	3575
Ala Arg Lys Leu Gly Trp Asp Ile Ile Phe Leu Val Gln Asp Leu Ser	
395 400 405	
att gtt gat aaa cag gcg cgt tct gca tta gct gaa cat gtt gtt tat	3623
Ile Val Asp Lys Gln Ala Arg Ser Ala Leu Ala Glu His Val Val Tyr	
410 415 420 425	
tgt cgt cgt ctg gac aga att act tta cct ttt gtc ggt act tta tat	3671
Cys Arg Arg Leu Asp Arg Ile Thr Leu Pro Phe Val Gly Thr Leu Tyr	
430 435 440	
tct ctt att act ggc tcg aaa atg cct ctg cct aaa tta cat gtt ggc	3719
Ser Leu Ile Thr Gly Ser Lys Met Pro Leu Pro Lys Leu His Val Gly	
445 450 455	
gtt gtt aaa tat ggc gat tct caa tta agc cct act gtt gag cgt tgg	3767
Val Val Lys Tyr Gly Asp Ser Gln Leu Ser Pro Thr Val Glu Arg Trp	
460 465 470	
ctt tat act ggt aag aat ttg tat aac gca tat gat act aaa cag gct	3815
Leu Tyr Thr Gly Lys Asn Leu Tyr Asn Ala Tyr Asp Thr Lys Gln Ala	
475 480 485	
ttt tct agt aat tat gat tcc ggt gtt tat tct tat tta acg cct tat	3863
Phe Ser Ser Asn Tyr Asp Ser Gly Val Tyr Ser Tyr Leu Thr Pro Tyr	
490 495 500 505	
tta tca cac ggt cgg tat ttc aaa cca tta aat tta ggt cag aag atg	3911
Leu Ser His Gly Arg Tyr Phe Lys Pro Leu Asn Leu Gly Gln Lys Met	
510 515 520	
aaa tta act aaa ata tat ttg aaa aag ttt tct cgc gtt ctt tgt ctt	3959
Lys Leu Thr Lys Ile Tyr Leu Lys Lys Phe Ser Arg Val Leu Cys Leu	
525 530 535	
gcg att gga ttt gca tca gca ttt aca tat agt tat ata acc caa cct	4007
Ala Ile Gly Phe Ala Ser Ala Phe Thr Tyr Ser Tyr Ile Thr Gln Pro	
540 545 550	
aag ccg gag gtt aaa aag gta gtc tct cag acc tat gat ttt gat aaa	4055
Lys Pro Glu Val Lys Lys Val Val Ser Gln Thr Tyr Asp Phe Asp Lys	
555 560 565	
ttc act att gac tct tct cag cgt ctt aat cta agc tat cgc tat gtt	4103
Phe Thr Ile Asp Ser Ser Gln Arg Leu Asn Leu Ser Tyr Arg Tyr Val	
570 575 580 585	
ttc aag gat tct aag gga aaa tta att aat agc gac gat tta cag aag	4151
Phe Lys Asp Ser Lys Gly Lys Leu Ile Asn Ser Asp Asp Leu Gln Lys	
590 595 600	
caa ggt tat tca ctc aca tat att gat tta tgt act gtt tcc att aaa	4199
Gln Gly Tyr Ser Leu Thr Tyr Ile Asp Leu Cys Thr Val Ser Ile Lys	
605 610 615	
aaa ggt aat tca aat gaa att gtt aaa tgt aat taattttgtt ttcttgatgt	4252

Lys Gly Asn Ser Asn Glu Ile Val Lys Cys Asn
620 625

ttgttttcac atcttctttt gctcaggtaa ttgaaatgaa taattcgcct ctgcgcgatt 4312
ttgtaacttg gtattcaaag caatcaggcg aatccggtat tgtttctccc gatgtaaaag 4372
gtactgttac tgtatattca tctgacgtta aacctgaaaa tctacgcaat ttctttattt 4432
ctgtttttacg tgcaaataat tttgatatgg taggttctaa cccttcatt attcagaagt 4492
ataatccaaa caatcaggat tatattgatg aattgccatc atctgataat caggaatatg 4552
atgataattc cgctccttct ggtggtttct ttgttccgca aaatgataat gttactcaaa 4612
cttttaaaat taataacgtt cgggcaaagg atttaatacg agttgtcgaa ttgtttgtaa 4672
agtctaatac ttctaaatcc tcaaagtat tatctattga cggctctaatt ctattagttg 4732
ttagtgctcc taaagatatt ttagataacc ttctcaatt cctttcaact gttgatttgc 4792
caactgacca gatattgatt gagggtttga tatttgaggt tcagcaagggt gatgctttag 4852
atttttcatt tgctgctggc tctcagcgtg gcactgttgc aggcggtgtt aatactgacc 4912
gcctcacctc tgttttatct tctgctggtg gttcgttcgg tatttttaatt ggcgatgttt 4972
tagggctatc agttcgcgca ttaaagacta atagccattc aaaaatattg tctgtgccac 5032
gtattcttac gctttcaggt cagaagggtt ctatctctgt tggccagaat gtccctttta 5092
ttactggctg tgtgactggt gaatctgcc aatgtaataa tccatttcag acgattgagc 5152
gtcaaaatgt aggtatttcc atgagcgttt ttctgttgc aatggctggc ggtaatatgt 5212
ttctggatat taccagcaag gccgatagtt tgagttcttc tactcaggca agtgatgtta 5272
ttactaatca aagaagtatt gctacaacgg ttaatttgcg tgatggacag actcttttac 5332
tcggtggcct cactgattat aaaaacactt ctcaggattc tggcgtaccg ttctgtctta 5392
aaatcccttt aatcggcctc ctgttttagct cccgctctga ttctaacgag gaaagcacgt 5452
tatacgtgct cgtcaaagca accatagtac gcgccctgta gcggcgcat aagcgcggcg 5512
ggtgtggtgg ttacgcgcag cgtgaccgct acacttgcca gcgccctagc gcccgctcct 5572
ttcgctttct tcccttcctt tctcgccacg ttcgcccgtt tccccgtca agctctaaat 5632
cgggggctcc ctttaggggt ccgatttagt gctttacggc acctcgaccc caaaaaactt 5692
gatttggttg atggttcacg tagtgggcca tcgccctgat agacggtttt tcgccctttg 5752
acgttgaggt ccacgttctt taatagtgga ctcttgttcc aaactggaac aacactcaac 5812
cctatctcgg gctattcttt tgatttataa gggattttgc cgatttcgga accaccatca 5872
aacaggattt tcgcctgctg gggcaaacca gcgtggaccg cttgctgcaa ctctctcagg 5932

ES 2 375 952 T3

```

gccagggcgt gaagggcaat cagctgttgc ccgtctcact ggtgaaaaga aaaaccaccc 5992
tggatccaag cttgcaggtg gcacttttcg gggaaatgtg cgcggaaccc ctatttgttt 6052
atttttctaa atacattcaa atatgtatcc gctcatgaga caataaccct gataaatgct 6112
tcaataatat tgaaaaagga agagtatgag tattcaacat ttccgtgtcg cccttattcc 6172
cttttttgcg gcattttgcc ttctctgttt tgctcaccca gaaacgctgg tgaaagtaaa 6232
agatgctgaa gatcagtttg gcgcactagt gggttacatc gaactggatc tcaacagcgg 6292
taagatcctt gagagttttc gccccgaaga acgtttttcca atgatgagca cttttaaagt 6352
tctgctatgt ggcgcggtat tatcccgat tgacgccggg caagagcaac tcggtcgccg 6412
catacactat tctcagaatg acttggttga gtactcacca gtcacagaaa agcatcttac 6472
ggatggcatg acagtaagag aattatgcag tgctgccata accatgagtg ataacactgc 6532
ggccaactta cttctgacaa cgatcggagg accgaaggag ctaaccgctt ttttgacaa 6592
catgggggat catgtaactc gccttgatcg ttgggaaccg gagctgaatg aagccatacc 6652
aaacgacgag cgtgacacca cgatgcctgt agcaatggca acaacgttgc gcaaactatt 6712
aactggcgaa ctacttactc tagcttcccg gcaacaatta atagactgga tggaggcgga 6772
taaagttgca ggaccacttc tgcgctcggc ccttccggct ggctggttta ttgctgataa 6832
atctggagcc ggtgagcgtg ggtctcgcgg tatcattgca gcactggggc cagatggtaa 6892
gccctcccgat atcgtagtta tctacacgac ggggagtcag gcaactatgg atgaacgaaa 6952
tagacagatc gctgagatag gtgcctcact gattaagcat tggtaactgt cagaccaagt 7012
ttactcatat atactttaga ttgatttaaa acttcatttt taatttaaaa ggatctaggt 7072
gaagatcctt tttgataatc tcatgaccaa aatcccttaa cgtgagtttt cgttcactg 7132
tacgtaagac cccaagctt gtcgactgaa tggcgaatgg cgctttgcct ggtttccggc 7192
accagaagcg gtgccgaaa gctggctgga gtgcgatctt cctgacgctc gagcgcaacg 7252
caattaatgt gagttagctc actcattagg caccacaggc ttacacttt atgcttccgg 7312
ctcgtatgtt gtgtggaatt gtgagcggat aacaatttca cacaggaaac agctatgacc 7372
atgattacgc caagcttttg agcctttttt ttggagattt tcaac gtg aaa aaa tta 7429
                                Met Lys Lys Leu
                                630

tta ttc gca att cct tta gtt gtt cct ttc tat tct cac agt gca caa 7477
Leu Phe Ala Ile Pro Leu Val Val Pro Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln
        635                      640                      645

gac atc cag atg acc cag tct cca gcc acc ctg tct ttg tct cca ggg 7525

```

ES 2 375 952 T3

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	
650						655					660					
gaa	aga	gcc	acc	ctc	tcc	tgc	agg	gcc	agt	cag	ggg	gtt	agc	agc	tac	7573
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Val	Ser	Ser	Tyr	
665					670					675					680	
tta	gcc	tgg	tac	cag	cag	aaa	cct	ggc	cag	gct	ccc	agg	ctc	ctc	atc	7621
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	
				685				690						695		
tat	gat	gca	tcc	aac	agg	gcc	act	ggc	atc	cca	gcc	agg	ttc	agt	ggc	7669
Tyr	Asp	Ala	Ser	Asn	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	
			700					705					710			
agt	ggg	cct	ggg	aca	gac	ttc	act	ctc	acc	atc	agc	agc	cta	gag	cct	7717
Ser	Gly	Pro	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Glu	Pro	
		715					720					725				
gaa	gat	ttt	gca	gtt	tat	tac	tgt	cag	cag	cgt	aac	tgg	cat	ccg	tgg	7765
Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Arg	Asn	Trp	His	Pro	Trp	
	730					735					740					
acg	ttc	ggc	caa	ggg	acc	aag	gtg	gaa	atc	aaa	cga	act	gtg	gct	gca	7813
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	
	745				750					755					760	
cca	tct	gtc	ttc	atc	ttc	ccg	cca	tct	gat	gag	cag	ttg	aaa	tct	gga	7861
Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	
			765						770					775		
act	gcc	tct	gtt	gtg	tgc	ctg	ctg	aat	aac	ttc	tat	ccc	aga	gag	gcc	7909
Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	
			780					785					790			
aaa	gta	cag	tgg	aag	gtg	gat	aac	gcc	ctc	caa	tcg	ggg	aac	tcc	cag	7957
Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	
		795					800					805				
gag	agt	gtc	aca	gag	cgg	gac	agc	aag	gac	agc	acc	tac	agc	ctc	agc	8005
Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Arg	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	
	810					815					820					
agc	acc	ctg	acg	ctg	agc	aaa	gca	gac	tac	gag	aaa	cac	aaa	gtc	tac	8053
Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	
	825				830					835					840	
gcc	tgc	gaa	gtc	acc	cat	cag	ggc	ctg	agc	tcg	ccc	gtc	aca	aag	agc	8101
Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	
			845					850						855		
ttc	aac	agg	gga	gag	tgt	taataaggcg	cgccaattct	atttcaagga								8149
Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys											
			860													
gacagtcata	atg	aaa	tac	cta	ttg	cct	acg	gca	gcc	gct	gga	ttg	tta			8198
	Met	Lys	Tyr	Leu	Leu	Pro	Thr	Ala	Ala	Ala	Gly	Leu	Leu			
			865					870					875			

ES 2 375 952 T3

tta ctc gcg gcc cag ccg gcc atg gcc gaa gtt caa ttg tta gag tct	8246
Leu Leu Ala Ala Gln Pro Ala Met Ala Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser	
880 885 890	
ggt ggc ggt ctt gtt cag cct ggt ggt tct tta cgt ctt tct tgc gct	8294
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala	
895 900 905	
gct tcc gga ttc act ttc tct act tac gag atg cgt tgg gtt cgc caa	8342
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Glu Met Arg Trp Val Arg Gln	
910 915 920	
gct cct ggt aaa ggt ttg gag tgg gtt tct tat atc gct cct tct ggt	8390
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ala Pro Ser Gly	
925 930 935	
ggc gat act gct tat gct gac tcc gtt aaa ggt cgc ttc act atc tct	8438
Gly Asp Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser	
940 945 950 955	
aga gac aac tct aag aat act ctc tac ttg cag atg aac agc tta agg	8486
Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg	
960 965 970	
gct gag gac act gca gtc tac tat tgt gcg agg agg ctc gat ggc tat	8534
Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Leu Asp Gly Tyr	
975 980 985	
att tcc tac tac tac ggt atg gac gtc tgg ggc caa ggg acc acg gtc	8582
Ile Ser Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val	
990 995 1000	
acc gtc tca agc gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca	8630
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala	
1005 1010 1015	
ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg	8678
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu	
1020 1025 1030 1035	
gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc	8726
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly	
1040 1045 1050	
gcc ctg acc agc ggc gtc cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca	8774
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser	
1055 1060 1065	
gga ctc tac tcc ctc agc agc gta gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg	8822
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu	
1070 1075 1080	
ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc	8870
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr	
1085 1090 1095	
aag gtg gac aag aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gcg gcc gca cat cat	8918

ES 2 375 952 T3

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Ala Ala Ala His His	
1100 1105 1110 1115	
cat cac cat cac ggg gcc gca gaa caa aaa ctc atc tca gaa gag gat	8966
His His His His Gly Ala Ala Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp	
1120 1125 1130	
ctg aat ggg gcc gca tag gct agc tct gct wsy ggy gay tty gay tay	9014
Leu Asn Gly Ala Ala Gln Ala Ser Ser Ala Ser Gly Asp Phe Asp Tyr	
1135 1140 1145	
gar aar atg gct aaw gcy aay aar ggs gcy atg acy gar aay gcy gay	9062
Glu Lys Met Ala Asn Ala Asn Lys Gly Ala Met Thr Glu Asn Ala Asp	
1150 1155 1160	
gar aay gck ytr car wsy gay gcy aar ggy aar ytw gay wsy gtc gck	9110
Glu Asn Ala Leu Gln Ser Asp Ala Lys Gly Lys Leu Asp Ser Val Ala	
1165 1170 1175	
acy gay tay ggy gcy gcc atc gay ggy tty aty ggy gay gtc wsy ggy	9158
Thr Asp Tyr Gly Ala Ala Ile Asp Gly Phe Ile Gly Asp Val Ser Gly	
1180 1185 1190 1195	
ytk gcy aay ggy aay ggy gcy acy ggy gay tty gcw ggy tck aat tcy	9206
Leu Ala Asn Gly Asn Gly Ala Thr Gly Asp Phe Ala Gly Ser Asn Ser	
1200 1205 1210	
car atg gcy car gty ggy gay gck gay aay wsw cck ytw atg aay aay	9254
Gln Met Ala Gln Val Gly Asp Gly Asp Asn Ser Pro Leu Met Asn Asn	
1215 1220 1225	
tty mgw car tay ytw cck tcy cty cck car wsk gty gar tgy cgy ccw	9302
Phe Arg Gln Tyr Leu Pro Ser Leu Pro Gln Ser Val Glu Cys Arg Pro	
1230 1235 1240	
tty gty tty wsy gcy ggy aar ccw tay gar tty wsy aty gay tgy gay	9350
Phe Val Phe Ser Ala Gly Lys Pro Tyr Glu Phe Ser Ile Asp Cys Asp	
1245 1250 1255	
aar atm aay ytw tty cgy ggy gty tty gck tty ytk yta tay gty gcy	9398
Lys Ile Asn Leu Phe Arg Gly Val Phe Ala Phe Leu Leu Tyr Val Ala	
1260 1265 1270 1275	
acy tty atg tay gtw tty wsy ack tty gcy aay atw ytr cgy aay aar	9446
Thr Phe Met Tyr Val Phe Ser Thr Phe Ala Asn Ile Leu Arg Asn Lys	
1280 1285 1290	
gar wsy tagtgatctc ctaggaagcc cgcctaataga gcgggctttt tttttctggt	9502
Glu Ser	
atgcacacctg aggccgatac tgtcgtcgtc ccctcaaact ggcagatgca cggttacgat	9562
gcgcccattct acaccaacgt gacctatccc attacggtea atccgccgtt tgttcccacg	9622
gagaatccga cgggttggtta ctcgctcaca tttaatgttg atgaaagctg gctacaggaa	9682
ggccagacgc gaattatattt tgatggcggtt cctattggtt aaaaaatgag ctgatttaac	9742

aaaaaatttaa tgcgaatttt aacaaaatat taacgtttac aatttaaata ttgcttata 9802
 caatcttcct gtttttgggg cttttctgat tatcaaccgg ggtacatatg attgacatgc 9862
 tagttttacg attaccgttc atcgattctc ttgtttgctc cagactctca ggcaatgacc 9922
 tgatagcctt tgtagatctc tcaaaaatag ctaccctctc cggcattaat ttatcagcta 9982
 gaacggttga atatcatatt gatggtgatt tgactgtctc cggcctttct cacccttttg 10042
 aatctttacc tacacattac tcaggcattg catttaaaat atatgagggt tctaaaaatt 10102
 tttatccttg cgttgaaata aaggcttctc ccgcaaaagt attacagggt cataatgttt 10162
 ttggtacaac cgatttagct ttatgctctg aggctttatt gcttaatttt gctaattctt 10222
 tgccttgctt gtatgattta ttggatgtt 10251

<210> 583

<211> 113

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de proteína de CJRA05

<400> 583

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

10 <210> 584

<211> 152

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de proteína de CJRA05

<400> 584

```

Ser Gly Asp Phe Asp Tyr Glu Lys Met Ala Asn Ala Asn Lys Gly Ala
 1          5          10          15

Met Thr Glu Asn Ala Asp Glu Asn Ala Leu Gln Ser Asp Ala Lys Gly
          20          25          30

Lys Leu Asp Ser Val Ala Thr Asp Tyr Gly Ala Ala Ile Asp Gly Phe
          35          40          45

Ile Gly Asp Val Ser Gly Leu Ala Asn Gly Asn Gly Ala Thr Gly Asp
          50          55          60

Phe Ala Gly Ser Asn Ser Gln Met Ala Gln Val Gly Asp Gly Asp Asn
 65          70          75          80

Ser Pro Leu Met Asn Asn Phe Arg Gln Tyr Leu Pro Ser Leu Pro Gln
          85          90          95

Ser Val Glu Cys Arg Pro Phe Val Phe Gly Ala Gly Lys Pro Tyr Glu
          100          105          110

Phe Ser Ile Asp Cys Asp Lys Ile Asn Leu Phe Arg Gly Val Phe Ala
          115          120          125

Phe Leu Leu Tyr Val Ala Thr Phe Met Tyr Val Phe Ser Thr Phe Ala
          130          135          140

Asn Ile Leu Arg Asn Lys Glu Ser
          145          150

```

<210> 585

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia peptídica de CJRA05

<400> 585

```

Met Pro Val Leu Leu Gly Ile Pro Leu Leu Leu Arg Phe Leu Gly
 1          5          10          15

```

<210> 586

<211> 348

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de proteína de CJRA05

ES 2 375 952 T3

<400> 586

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

ES 2 375 952 T3

290 295 300
Val Phe Lys Asp Ser Lys Gly Lys Leu Ile Asn Ser Asp Asp Leu Gln
305 310 315 320
Lys Gln Gly Tyr Ser Leu Thr Tyr Ile Asp Leu Cys Thr Val Ser Ile
325 330 335
Lys Lys Gly Asn Ser Asn Glu Ile Val Lys Cys Asn
340 345

<210> 587

<211> 234

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de proteína de CJRA05

<400> 587

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

<210> 588
 <211> 431
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de proteína de CJRA05

<400> 588

```

Met Lys Tyr Leu Leu Pro Thr Ala Ala Ala Gly Leu Leu Leu Leu Ala
 1           5           10           15

Ala Gln Pro Ala Met Ala Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly
      20           25           30

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
      35           40           45

Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Glu Met Arg Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
      50           55           60

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ala Pro Ser Gly Gly Asp Thr
      65           70           75           80

Ala Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
      85           90           95

Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
      100          105          110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Leu Asp Gly Tyr Ile Ser Tyr
      115          120          125

Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
      130          135          140

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
      145          150          155          160

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
      165          170          175

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
      180          185          190

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
      195          200          205

```

ES 2 375 952 T3

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
210 215 220

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
225 230 235 240

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Ala Ala Ala His His His His His
245 250 255

His Gly Ala Ala Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn Gly
260 265 270

Ala Ala Gln Ala Ser Ser Ala Ser Gly Asp Phe Asp Tyr Glu Lys Met
275 280 285

Ala Asn Ala Asn Lys Gly Ala Met Thr Glu Asn Ala Asp Glu Asn Ala
290 295 300

Leu Gln Ser Asp Ala Lys Gly Lys Leu Asp Ser Val Ala Thr Asp Tyr
305 310 315 320

Gly Ala Ala Ile Asp Gly Phe Ile Gly Asp Val Ser Gly Leu Ala Asn
325 330 335

Gly Asn Gly Ala Thr Gly Asp Phe Ala Gly Ser Asn Ser Gln Met Ala
340 345 350

Gln Val Gly Asp Gly Asp Asn Ser Pro Leu Met Asn Asn Phe Arg Gln
355 360 365

Tyr Leu Pro Ser Leu Pro Gln Ser Val Glu Cys Arg Pro Phe Val Phe
370 375 380

Ser Ala Gly Lys Pro Tyr Glu Phe Ser Ile Asp Cys Asp Lys Ile Asn
385 390 395 400

Leu Phe Arg Gly Val Phe Ala Phe Leu Leu Tyr Val Ala Thr Phe Met
405 410 415

Tyr Val Phe Ser Thr Phe Ala Asn Ile Leu Arg Asn Lys Glu Ser
420 425 430

<210> 589

<211> 5

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido ilustrativo

<400> 589

Glu Gly Gly Gly Ser
1 5

10 <210> 590

<211> 1275

<212> ADN

<213> Organismo Desconocido

<220>

15 <221> CDS

<222> (1) .. (1272)

<220>

<223> Descripción de Organismo Desconocido: Secuencia de nucleótidos de M13

ES 2 375 952 T3

<400> 590

gtg aaa aaa tta tta ttc gca att cct tta gtt gtt cct ttc tat tct	48
Met Lys Lys Leu Leu Phe Ala Ile Pro Leu Val Val Pro Phe Tyr Ser	
1 5 10 15	
cac tcc gct gaa act gtt gaa agt tgt tta gca aaa ccc cat aca gaa	96
His Ser Ala Glu Thr Val Glu Ser Cys Leu Ala Lys Pro His Thr Glu	
20 25 30	
aat tca ttt act aac gtc tgg aaa gac gac aaa act tta gat cgt tac	144
Asn Ser Phe Thr Asn Val Trp Lys Asp Asp Lys Thr Leu Asp Arg Tyr	
35 40 45	
gct aac tat gag ggt tgt ctg tgg aat gct aca ggc gtt gta gtt tgt	192
Ala Asn Tyr Glu Gly Cys Leu Trp Asn Ala Thr Gly Val Val Val Cys	
50 55 60	
act ggt gac gaa act cag tgt tac ggt aca tgg gtt cct att ggg ctt	240
Thr Gly Asp Glu Thr Gln Cys Tyr Gly Thr Trp Val Pro Ile Gly Leu	
65 70 75 80	
gct atc cct gaa aat gag ggt ggt ggc tct gag ggt ggc ggt tct gag	288
Ala Ile Pro Glu Asn Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu	
85 90 95	
ggt ggc ggt tct gag ggt ggc ggt act aaa cct cct gag tac ggt gat	336
Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Thr Lys Pro Pro Glu Tyr Gly Asp	
100 105 110	
aca cct att ccg ggc tat act tat atc aac cct ctc gac ggc act tat	384
Thr Pro Ile Pro Gly Tyr Thr Tyr Ile Asn Pro Leu Asp Gly Thr Tyr	
115 120 125	
ccg cct ggt act gag caa aac ccc gct aat cct aat cct tct ctt gag	432
Pro Pro Gly Thr Glu Gln Asn Pro Ala Asn Pro Asn Pro Ser Leu Glu	
130 135 140	
gag tct cag cct ctt aat act ttc atg ttt cag aat aat agg ttc cga	480
Glu Ser Gln Pro Leu Asn Thr Phe Met Phe Gln Asn Asn Arg Phe Arg	
145 150 155 160	
aat agg cag ggg gca tta act gtt tat acg ggc act gtt act caa ggc	528
Asn Arg Gln Gly Ala Leu Thr Val Tyr Thr Gly Thr Val Thr Gln Gly	
165 170 175	

act gac ccc gtt aaa act tat tac cag tac act cct gta tca tca aaa	576
Thr Asp Pro Val Lys Thr Tyr Tyr Gln Tyr Thr Pro Val Ser Ser Lys	
180 185 190	
gcc atg tat gac gct tac tgg aac ggt aaa ttc aga gac tgc gct ttc	624
Ala Met Tyr Asp Ala Tyr Trp Asn Gly Lys Phe Arg Asp Cys Ala Phe	
195 200 205	
cat tct ggc ttt aat gag gat cca ttc gtt tgt gaa tat caa ggc caa	672
His Ser Gly Phe Asn Glu Asp Pro Phe Val Cys Glu Tyr Gln Gly Gln	
210 215 220	
tcg tct gac ctg cct caa cct cct gtc aat gct ggc ggc ggc tct ggt	720
Ser Ser Asp Leu Pro Gln Pro Pro Val Asn Ala Gly Gly Gly Ser Gly	
225 230 235 240	
ggt ggt tct ggt ggc ggc tct gag ggt ggt ggc tct gag ggt ggc ggt	768
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly	
245 250 255	
tct gag ggt ggc ggc tct gag gga ggc ggt tcc ggt ggt ggc tct ggt	816
Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly	
260 265 270	
tcc ggt gat ttt gat tat gaa aag atg gca aac gct aat aag ggg gct	864
Ser Gly Asp Phe Asp Tyr Glu Lys Met Ala Asn Ala Asn Lys Gly Ala	
275 280 285	
atg acc gaa aat gcc gat gaa aac gcg cta cag tct gac gct aaa ggc	912
Met Thr Glu Asn Ala Asp Glu Asn Ala Leu Gln Ser Asp Ala Lys Gly	
290 295 300	
aaa ctt gat tct gtc gct act gat tac ggt gct gct atc gat ggt ttc	960
Lys Leu Asp Ser Val Ala Thr Asp Tyr Gly Ala Ala Ile Asp Gly Phe	
305 310 315 320	
att ggt gac gtt tcc ggc ctt gct aat ggt aat ggt gct act ggt gat	1008
Ile Gly Asp Val Ser Gly Leu Ala Asn Gly Asn Gly Ala Thr Gly Asp	
325 330 335	
ttt gct ggc tct aat tcc caa atg gct caa gtc ggt gac ggt gat aat	1056
Phe Ala Gly Ser Asn Ser Gln Met Ala Gln Val Gly Asp Gly Asp Asn	
340 345 350	
tca cct tta atg aat aat ttc cgt caa tat tta cct tcc ctc cct caa	1104
Ser Pro Leu Met Asn Asn Phe Arg Gln Tyr Leu Pro Ser Leu Pro Gln	
355 360 365	
tcg gtt gaa tgt cgc cct ttt gtc ttt agc gct ggt aaa cca tat gaa	1152
Ser Val Glu Cys Arg Pro Phe Val Phe Ser Ala Gly Lys Pro Tyr Glu	
370 375 380	
ttt tct att gat tgt gac aaa ata aac tta ttc cgt ggt gtc ttt gcg	1200
Phe Ser Ile Asp Cys Asp Lys Ile Asn Leu Phe Arg Gly Val Phe Ala	
385 390 395 400	
ttt ctt tta tat gtt gcc acc ttt atg tat gta ttt tct acg ttt gct	1248
Phe Leu Leu Tyr Val Ala Thr Phe Met Tyr Val Phe Ser Thr Phe Ala	
405 410 415	
aac ata ctg cgt aat aag gag tct taa	1275
Asn Ile Leu Arg Asn Lys Glu Ser	
420	

<210> 591

<211> 424

<212> PRT

<213> Organismo Desconocido

5

<220>

<223> Descripción de Organismo Desconocido: Secuencia de proteína de M13

<400> 591

```

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

His  Ser  Ala  Glu  Thr  Val  Glu  Ser  Cys  Leu  Ala  Lys  Pro  His  Thr  Glu
          20          25          30

Asn  Ser  Phe  Thr  Asn  Val  Trp  Lys  Asp  Asp  Lys  Thr  Leu  Asp  Arg  Tyr
          35          40          45

Ala  Asn  Tyr  Glu  Gly  Cys  Leu  Trp  Asn  Ala  Thr  Gly  Val  Val  Val  Cys
          50          55          60

Thr  Gly  Asp  Glu  Thr  Gln  Cys  Tyr  Gly  Thr  Trp  Val  Pro  Ile  Gly  Leu
          65          70          75          80

Ala  Ile  Pro  Glu  Asn  Glu  Gly  Gly  Gly  Ser  Glu  Gly  Gly  Gly  Ser  Glu
          85          90          95

Gly  Gly  Gly  Ser  Glu  Gly  Gly  Gly  Thr  Lys  Pro  Pro  Glu  Tyr  Gly  Asp
          100          105          110

Thr  Pro  Ile  Pro  Gly  Tyr  Thr  Tyr  Ile  Asn  Pro  Leu  Asp  Gly  Thr  Tyr
          115          120          125

Pro  Pro  Gly  Thr  Glu  Gln  Asn  Pro  Ala  Asn  Pro  Asn  Pro  Ser  Leu  Glu
          130          135          140

Glu  Ser  Gln  Pro  Leu  Asn  Thr  Phe  Met  Phe  Gln  Asn  Asn  Arg  Phe  Arg
145          150          155          160

Asn  Arg  Gln  Gly  Ala  Leu  Thr  Val  Tyr  Thr  Gly  Thr  Val  Thr  Gln  Gly
          165          170          175

Thr  Asp  Pro  Val  Lys  Thr  Tyr  Tyr  Gln  Tyr  Thr  Pro  Val  Ser  Ser  Lys
          180          185          190

Ala  Met  Tyr  Asp  Ala  Tyr  Trp  Asn  Gly  Lys  Phe  Arg  Asp  Cys  Ala  Phe
          195          200          205

His  Ser  Gly  Phe  Asn  Glu  Asp  Pro  Phe  Val  Cys  Glu  Tyr  Gln  Gly  Gln
210          215          220

```


Ser Ser Asp Leu Pro Gln Pro Pro Val Asn Ala Gly Gly Gly Ser Gly
225 230 235 240

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly
245 250 255

Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
260 265 270

Ser Gly Asp Phe Asp Tyr Glu Lys Met Ala Asn Ala Asn Lys Gly Ala
275 280 285

Met Thr Glu Asn Ala Asp Glu Asn Ala Leu Gln Ser Asp Ala Lys Gly
290 295 300

Lys Leu Asp Ser Val Ala Thr Asp Tyr Gly Ala Ala Ile Asp Gly Phe
305 310 315 320

Ile Gly Asp Val Ser Gly Leu Ala Asn Gly Asn Gly Ala Thr Gly Asp
325 330 335

Phe Ala Gly Ser Asn Ser Gln Met Ala Gln Val Gly Asp Gly Asp Asn
340 345 350

Ser Pro Leu Met Asn Asn Phe Arg Gln Tyr Leu Pro Ser Leu Pro Gln
355 360 365

Ser Val Glu Cys Arg Pro Phe Val Phe Ser Ala Gly Lys Pro Tyr Glu
370 375 380

Phe Ser Ile Asp Cys Asp Lys Ile Asn Leu Phe Arg Gly Val Phe Ala
385 390 395 400

Phe Leu Leu Tyr Val Ala Thr Phe Met Tyr Val Phe Ser Thr Phe Ala
405 410 415

Asn Ile Leu Arg Asn Lys Glu Ser
420

<210> 592

<211> 35

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 592

caacgatgat cgtatggcgc atgctgccga gacag 35

10 <210> 593

<211> 1355

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de nucleótidos de M13-III

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (1305)

ES 2 375 952 T3

<400> 593

gcg gcc gca cat cat cat cac cat cac ggg gcc gca gaa caa aaa ctc	48
Ala Ala Ala His His His His His His Gly Ala Ala Glu Gln Lys Leu	
1 5 10 15	
atc tca gaa gag gat ctg aat ggg gcc gca tag gct agc gat atc aac	96
Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn Gly Ala Ala Ala Ser Asp Ile Asn	
20 25 30	
gat gat cgt atg gct tct act gcy gar acw gty gaa wsy tgy ytr gcm	144
Asp Asp Arg Met Ala Ser Thr Ala Glu Thr Val Glu Ser Cys Leu Ala	
35 40 45	
aar ccy cay acw gar aat wsw tty acw aay gts tgg aar gay gay aar	192
Lys Pro His Thr Glu Asn Ser Phe Thr Asn Val Trp Lys Asp Asp Lys	
50 55 60	
acy ytw gat cgw tay gcy aay tay gar ggy tgy ytr tgg aat gcy acm	240
Thr Leu Asp Arg Tyr Ala Asn Tyr Glu Gly Cys Leu Trp Asn Ala Thr	
65 70 75	
ggc gty gtw gty tgy ack ggy gay gar acw car tgy tay ggy acr tgg	288
Gly Val Val Val Cys Thr Gly Asp Glu Thr Gln Cys Tyr Gly Thr Trp	
80 85 90 95	
gtk cck atw ggs ytw gcy atm cck gar aay gar ggy ggy ggy wsy gar	336
Val Pro Ile Gly Leu Ala Ile Pro Glu Asn Glu Gly Gly Gly Ser Glu	
100 105 110	
ggy ggy ggy wsy gar ggy ggy ggy tcy gar ggy ggy ggy acy aar cck	384
Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Thr Lys Pro	
115 120 125	
cck gar tay ggy gay acw cck atw cck ggy tay acy tay aty aay cck	432
Pro Glu Tyr Gly Asp Thr Pro Ile Pro Gly Tyr Thr Tyr Ile Asn Pro	
130 135 140	
ytm gay ggm acy tay cck cck ggy acy gar car aay ccy gcy aay cck	480
Leu Asp Gly Thr Tyr Pro Pro Gly Thr Glu Gln Asn Pro Ala Asn Pro	
145 150 155	
aay ccw wsy ytw gar gar wsy car cck ytw aay acy tty atg tty car	528
Asn Pro Ser Leu Glu Glu Ser Gln Pro Leu Asn Thr Phe Met Phe Gln	
160 165 170 175	
aay aay mgk tty mgr aay mgk car ggk gcw ytw acy gtk tay ack ggm	576
Asn Asn Arg Phe Arg Asn Arg Gln Gly Ala Leu Thr Val Tyr Thr Gly	
180 185 190	

ES 2 375 952 T3

```

acy gty acy car ggy acy gay ccy gty aar acy tay tay car tay acy 624
Thr Val Thr Gln Gly Thr Asp Pro Val Lys Thr Tyr Tyr Gln Tyr Thr
195 200 205

cck gtm tcr wsw aar gcy atg tay gay gcy tay tgg aay ggy aar tty 672
Pro Val Ser Ser Lys Ala Met Tyr Asp Ala Tyr Trp Asn Gly Lys Phe
210 215 220

mgw gay tgy gcy tty cay wsy ggy tty aay gar gay ccw tty gty tgy 720
Arg Asp Cys Ala Phe His Ser Gly Phe Asn Glu Asp Pro Phe Val Cys
225 230 235

gar tay car ggy car wsk wsy gay ytr cck car ccw cck gty aay gck 768
Glu Tyr Gln Gly Gln Ser Ser Asp Leu Pro Gln Pro Pro Val Asn Ala
240 245 250 255

ggy ggy ggy wsy ggy ggy ggy wsy ggy ggy ggy wsy gar ggy ggy ggy 816
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly
260 265 270

wsy gar ggy ggy ggy wsy ggy ggy ggy wsy ggy wsy ggy gay tty gay 864
Ser Glu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Asp Phe Asp
275 280 285

tay gar aar atg gcw aay gcy aay aar ggs gcy atg acy gar aay gcy 912
Tyr Glu Lys Met Ala Asn Ala Asn Lys Gly Ala Met Thr Glu Asn Ala
290 295 300

gay gar aay gcr ctr car wst gay gcy aar ggy aar ytw gay wsy gtc 960
Asp Glu Asn Ala Leu Gln Ser Asp Ala Lys Gly Lys Leu Asp Ser Val
305 310 315

gcy acw gay tay ggt gct gcy atc gay ggy tty aty ggy gay gty wsy 1008
Ala Thr Asp Tyr Gly Ala Ala Ile Asp Gly Phe Ile Gly Asp Val Ser
320 325 330 335

ggy ctk gct aay ggy aay ggy gcy acy ggy gay tty gcw ggy tck aat 1056
Gly Leu Ala Asn Gly Asn Gly Ala Thr Gly Asp Phe Ala Gly Ser Asn
340 345 350

tcy car atg gcy car gty ggy gay ggy gay aay wsw cck ytw atg aay 1104
Ser Gln Met Ala Gln Val Gly Asp Gly Asp Asn Ser Pro Leu Met Asn
355 360 365

aay tty mgw car tay ytw cck tcy cty cck car wsk gty gar tgy cgy 1152
Asn Phe Arg Gln Tyr Leu Pro Ser Leu Pro Gln Ser Val Glu Cys Arg
370 375 380

ccw tty gty tty wsy gcy ggy aar ccw tay gar tty wsy aty gay tgy 1200
Pro Phe Val Phe Ser Ala Gly Lys Pro Tyr Glu Phe Ser Ile Asp Cys
385 390 395

gay aar atm aay ytw ttc cgy ggy gty tty gck tty ytk yta tay gty 1248
Asp Lys Ile Asn Leu Phe Arg Gly Val Phe Ala Phe Leu Leu Tyr Val
400 405 410 415

gcy acy tty atg tay gtw tty wsy ack tty gcy aay atw ytr cgy aay 1296
Ala Thr Phe Met Tyr Val Phe Ser Thr Phe Ala Asn Ile Leu Arg Asn

```

420

425

430

```

aar gar wsy tagtgatctc cttaggaagcc cgcctaata ggcgggctttt 1345
Lys Glu Ser

```

```

tttttctggt 1355

```

<210> 594

<211> 434

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de proteína de M13-III

<400> 594

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

Val Ser Ser Lys Ala Met Tyr Asp Ala Tyr Trp Asn Gly Lys Phe Arg
 210 215 220
 Asp Cys Ala Phe His Ser Gly Phe Asn Glu Asp Pro Phe Val Cys Glu
 225 230 235 240
 Tyr Gln Gly Gln Ser Ser Asp Leu Pro Gln Pro Pro Val Asn Ala Gly
 245 250 255
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser
 260 265 270
 Glu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Asp Phe Asp Tyr
 275 280 285
 Glu Lys Met Ala Asn Ala Asn Lys Gly Ala Met Thr Glu Asn Ala Asp
 290 295 300
 Glu Asn Ala Leu Gln Ser Asp Ala Lys Gly Lys Leu Asp Ser Val Ala
 305 310 315 320
 Thr Asp Tyr Gly Ala Ala Ile Asp Gly Phe Ile Gly Asp Val Ser Gly
 325 330 335
 Leu Ala Asn Gly Asn Gly Ala Thr Gly Asp Phe Ala Gly Ser Asn Ser
 340 345 350
 Gln Met Ala Gln Val Gly Asp Gly Asp Asn Ser Pro Leu Met Asn Asn
 355 360 365
 Phe Arg Gln Tyr Leu Pro Ser Leu Pro Gln Ser Val Glu Cys Arg Pro
 370 375 380
 Phe Val Phe Ser Ala Gly Lys Pro Tyr Glu Phe Ser Ile Asp Cys Asp
 385 390 395 400
 Lys Ile Asn Leu Phe Arg Gly Val Phe Ala Phe Leu Leu Tyr Val Ala
 405 410 415
 Thr Phe Met Tyr Val Phe Ser Thr Phe Ala Asn Ile Leu Arg Asn Lys
 420 425 430

Glu Ser

<210> 595

<211> 22

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 595

cggtgatatc gctagcctat gc 22

10 <210> 596

<211> 30

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 596

gataggctta gctagcccggaagaacgaagg 30

<210> 597

<211> 37

20 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 597
 ctttcacagc ggtttcgcta gcgacccttt tgtctgc 37

5 <210> 598
 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 598
 ctttcacagc ggtttcgcta gcgacccttt tgcagcgag taccagggtc 50

10 <210> 599
 <211> 37
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 599
 gactgtctcg gcagcatgcg ccatacgatc atcgttg 37

20 <210> 600
 <211> 37
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> CDS
 <222> (2)..(25)

25 <400> 600
 c aac gat gat cgt atg gcg cat gct gccgagacag tc 37
 Asn Asp Asp Arg Met Ala His Ala
 1 5

<210> 601
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 601
 Asn Asp Asp Arg Met Ala His Ala
 1 5

<210> 602
 <211> 37
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

45

<400> 602
 ctttcacagc ggtttgcatg cagacccttt tgtctgc 37

 <210> 603
 <211> 50
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 603
 10 ctttcacagc ggtttgcatg cagacccttt tgtcagcgag taccagggtc 50

 <210> 604
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido ilustrativo

 <400> 604
 Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 1 5

 <210> 605
 20 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador

 25 <400> 605
 cctcgacagc gaagtcaca g 21

 <210> 606
 <211> 38
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 606
 ggctgagtca agacgctctg tgcacttcgc tgtcgagg 38

 35 <210> 607
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido ilustrativo <400> 607
 Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro
 1 5

 <210> 608
 <211> 22
 <212> ADN
 45 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador

 <400> 608
 cctctgtcac agtcacaag ac 22

<210> 609
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 609
 cctctgtcac agtgcacaag acatccagat gacccagtct cc 42

10 <210> 610
 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

15 <400> 610
 gggaggatgg agactgggtc gtctggatgt ctgtgcact gtgacagagg 50

<210> 611
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido ilustrativo

<400> 611
 Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 1 5 10

25 <210> 612
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador

<400> 612
 gactgggtgt agtgatctag 20

<210> 613
 <211> 28
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 613
 ggtgtagtga tcttctagtg acaactct 28

<210> 614
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 614
 Val Ser Ser Arg Asp Asn
 1 5

<210> 615
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(15)

10 <400> 615
tac tat tgt gcg aaa 15
Tyr Tyr Cys Ala Lys
 1 5

<210> 616
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 616
Tyr Tyr Cys Ala Lys
 1 5

20 <210> 617
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

25 <400> 617
 ggtgccgata ggcttgcag caccggagaa cgaagg 36

<210> 618
 <211> 95
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 618
cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct acttgcagat gaacagctta 60
agggctgagg acactgcagt ctactattgt acgag 95

35 <210> 619
 <211> 10
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (4) .. (7)

45 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 619
 gatnnnnatc 10

 <210> 620
 <211> 10
 5 <212> PRT
 <213> Organismo Desconocido

 <220>
 <223> Descripción de Organismo Desconocido: Péptido derivado de MALIA3

 <400> 620
 Met Lys Leu Leu Asn Val Ile Asn Phe Val
 1 5 10
 10
 <210> 621
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido derivado de CJRA05

 <400> 621
 Met Ser Val Leu Val Tyr Ser Phe Ala Ser Phe Val Leu Gly Trp Cys
 1 5 10 15
 Leu Arg Ser Gly Ile Thr Tyr Phe Thr Arg Leu Met Glu
 20 25

 20 <210> 622
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de nucleótidos ilustrativa

 25 <400> 622
 tttttttt ttttt 15

 <210> 623
 <211> 87
 <212> PRT
 30 <213> Organismo Desconocido

 <220>
 <223> Descripción de Organismo Desconocido: Péptido derivado de MALIA3

 <400> 623
 Met Ile Lys Val Glu Ile Lys Pro Ser Gln Ala Gln Phe Thr Thr Arg
 1 5 10 15
 Ser Gly Val Ser Arg Gln Gly Lys Pro Tyr Ser Leu Asn Glu Gln Leu
 20 25 30
 Cys Tyr Val Asp Leu Gly Asn Glu Tyr Pro Val Leu Val Lys Ile Thr
 35 40 45
 Leu Asp Glu Gly Gln Pro Ala Tyr Ala Pro Gly Leu Tyr Thr Val His
 50 55 60
 Leu Ser Ser Phe Lys Val Gly Gln Phe Gly Ser Leu Met Ile Asp Arg
 65 70 75 80
 Leu Arg Leu Val Pro Ala Lys
 85
 35 <210> 624
 <211> 29

<212> PRT
 <213> Organismo Desconocido
 <220>
 <223> Descripción de Organismo Desconocido: Péptido derivado de MALIA3
 5 <400> 624
 Met Ser Val Leu Val Tyr Ser Phe Ala Ser Phe Val Leu Gly Trp Cys
 1 5 10 15
 Leu Arg Ser Gly Ile Thr Tyr Phe Thr Arg Leu Met Glu
 20 25
 <210> 625
 <211> 10
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 15 <222> (7)..(10)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 625
 ctcttcnnnn 10
 <210> 626
 20 <211> 87
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido derivado de CJRA05
 25 <400> 626
 Met Ile Lys Val Glu Ile Lys Pro Ser Gln Ala Gln Phe Thr Thr Arg
 1 5 10 15
 Ser Gly Val Ser Arg Gln Gly Lys Pro Tyr Ser Leu Asn Glu Gln Leu
 20 25 30
 Cys Tyr Val Asp Leu Gly Asn Glu Tyr Pro Val Leu Val Lys Ile Thr
 35 40 45
 Leu Asp Glu Gly Gln Pro Ala Tyr Ala Pro Gly Leu Tyr Thr Val His
 50 55 60
 Leu Ser Ser Phe Lys Val Gly Gln Phe Gly Ser Leu Met Ile Asp Arg
 65 70 75 80
 Leu Arg Leu Val Pro Ala Lys
 85
 <210> 627
 <211> 10
 30 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido derivado de CJRA05
 <400> 627
 Met Lys Leu Leu Asn Val Ile Asn Phe Val
 1 5 10
 35

<210> 628
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 5 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 628
 gaccagctct ccatcctcc 1 9
 10 <210> 629
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 15 <400> 629
 gactcagctct ccactctcc 1 9
 <210> 630
 <211> 19
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 630
 gacgcagctct ccaggcacc 19
 25 <210> 631
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 30 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 631
 gacgcagctct ccaggcacc 19
 <210> 632
 <211> 19
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 632
 40 gtctcctgga cagtcgatc 19
 <210> 633
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 45 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 633
 ggcttggga cagacagtc 1 9
 50 <210> 634
 <211> 19

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 5 <400> 634
 gtctcctgga cagtcagtc 19

 <210> 635
 <211> 19
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 635
 ggccccaggg cagagggtc 19

 15

REIVINDICACIONES

1. Un método para producir una población o biblioteca de genes de inmunoglobulina que comprende las etapas de:
 - (i) introducir diversidad sintética en al menos uno de VH CDR1 o VH CDR2 de estos genes; y
 - (ii) combinar la diversidad de la etapa (i) con diversidad en VH CDR3 capturada de células B.
- 5 2. El método según la reivindicación 1, en el que la diversidad sintética se introduce tanto en VH CDR1 como en VH CDR2.
3. El método según la reivindicación 2, en el que la diversidad sintética comprende:
 - (a) una VH CDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos según la fórmula -X1-Y-X2-M-X3-, en la que X1, X2, y X3 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en A, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W, e Y; y
 - 10 (b) una VH CDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos según la fórmula X4-I-X5-X6-S-G-G-X7-T-X8-Y-A-D-S-V-K-G-, en la que X4 y X5 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en Y, R, W, V, G, y S, X6 se selecciona del grupo que consiste en P y S, y X7 y X8 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en A, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W, e Y.
- 15 4. Una biblioteca que comprende una colección de paquetes genéticos que presentan un miembro de una familia diversa de péptidos, polipéptidos o proteínas y que presentan colectivamente al menos una parte de la familia, estando codificados los péptidos, polipéptidos o proteínas presentados por secuencias de ADN que comprenden secuencias que codifican
 - (a) una VH CDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos según la fórmula -X1-Y-X2-M-X3-, en la que X1, X2, y X3 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en A, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W, e Y;
 - 20 (b) una VH CDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos según la fórmula X4-I-X5-X6-S-G-G-X7-T-X8-Y-A-D-S-V-K-G-, en la que X4 y X5 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en Y, R, W, V, G, y S, X6 se selecciona del grupo que consiste en P y S, y X7 y X8 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en A, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W, e Y; y
 - (c) una secuencia que codifica una VH CDR3, en la que dicha VH CDR3 es una VH CDR3 capturada de la región VH CDR3 de un gen de inmunoglobulina de una célula B.
- 25 5. La biblioteca según la reivindicación 4, en la que dichas secuencias de ADN comprenden además una secuencia que codifica una cadena ligera de inmunoglobulina.
6. La biblioteca según la reivindicación 5, en la que dicha secuencia que codifica una cadena ligera de inmunoglobulina se captura de una célula B.
- 30 7. La biblioteca según la reivindicación 6, en la que dicha célula B se aísla de una muestra de sangre de un paciente autoinmune.
8. La biblioteca según la reivindicación 7, en la que el paciente autoinmune está diagnosticado con un trastorno no seleccionado del grupo que consiste en lupus eritematoso sistémico, esclerosis sistémica, artritis reumatoide, síndrome antifosfolípido y vasculitis.
- 35 9. La biblioteca según cualquiera de las reivindicaciones 4 ó 5 a 8, en la que dichas secuencias de ADN comprenden además secuencias que codifican regiones marco VH 3-23.
10. La biblioteca según cualquiera de las reivindicaciones 4 ó 5 a 8, en la que dichos paquetes genéticos son fagos M13.
11. La biblioteca según la reivindicación 10, en la que dichas secuencias de ADN están en un vector fago.
- 40 12. La biblioteca según la reivindicación 10 u 11, en la que dicho fago comprende un gen iii de tipo salvaje y un gen iii truncado para la presentación de péptidos, polipéptidos o proteínas.
13. La biblioteca según cualquiera de las reivindicaciones 4 ó 5 a 8, en la que dichas secuencias de ADN están en un vector fagémido.
- 45 14. La biblioteca según cualquiera de las reivindicaciones 10 a 13, en la que dichos péptidos, polipéptidos o proteínas presentados se presentan mediante un conector corto a la parte final del gen III de M13.

AMPLIFICAR GENES VH SIN
USAR SECUENCIAS VH

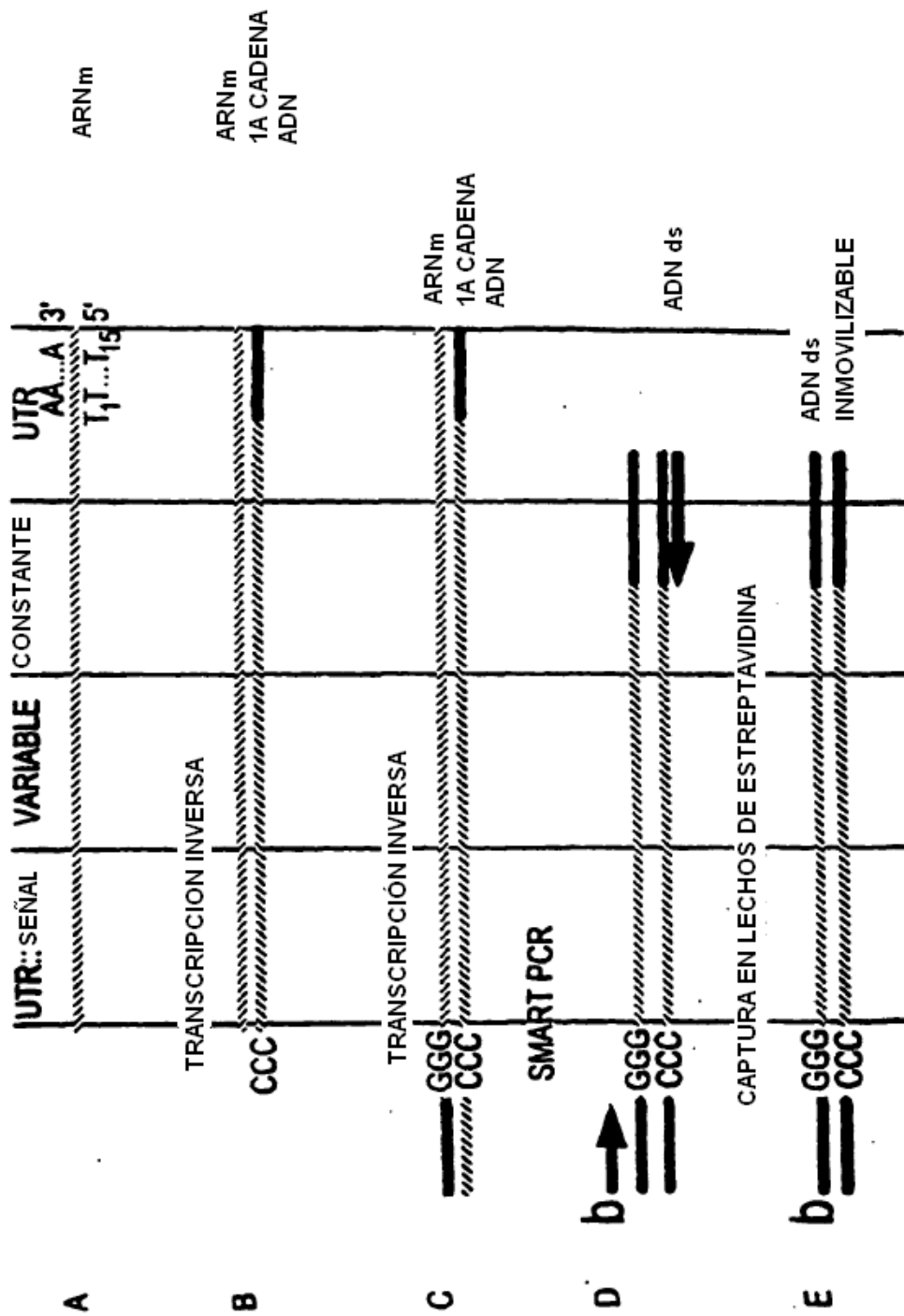


FIG. 1

AMPLIFICAR GENES VL SIN
USAR SECUENCIAS VL

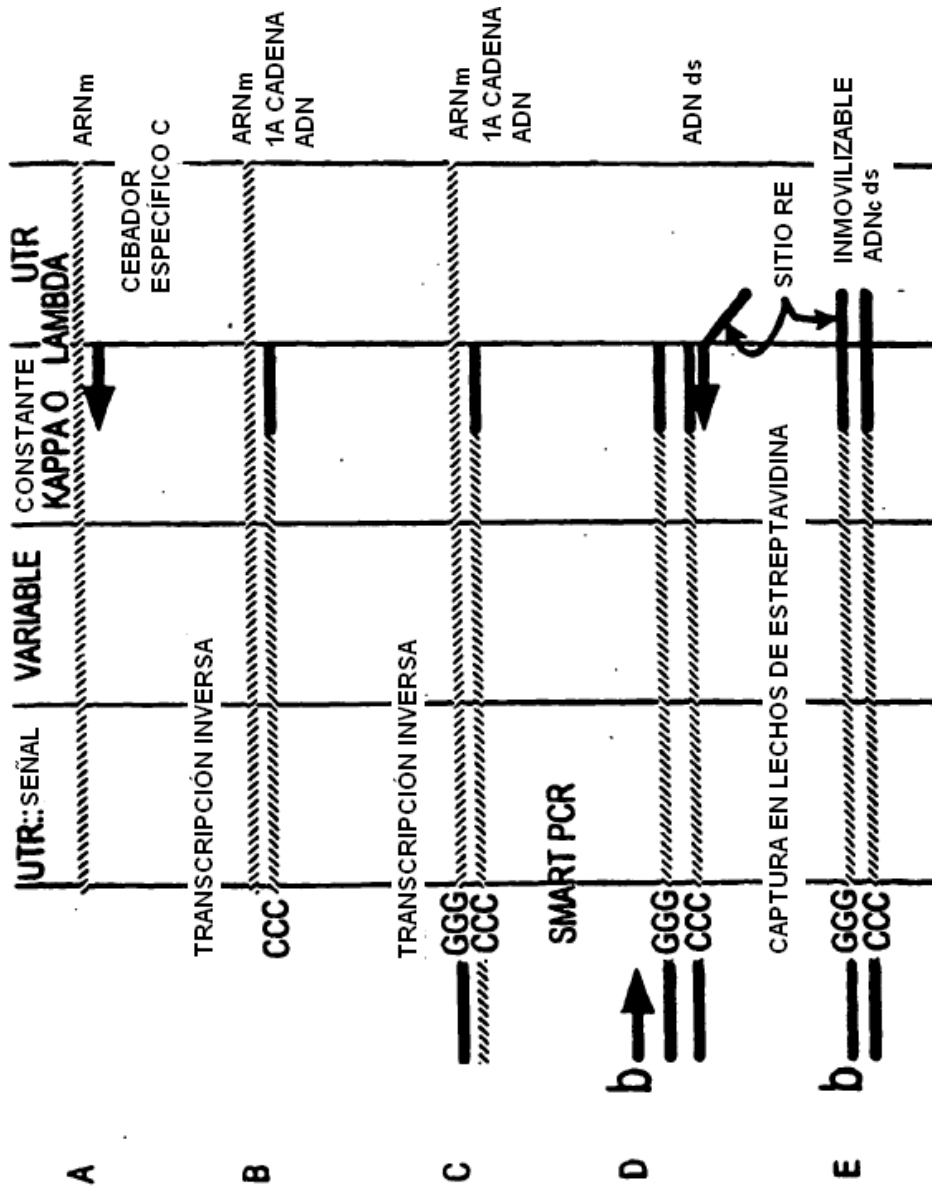


FIG. 2

Amplificación RACE de gen V de anticuerpo no sesgada

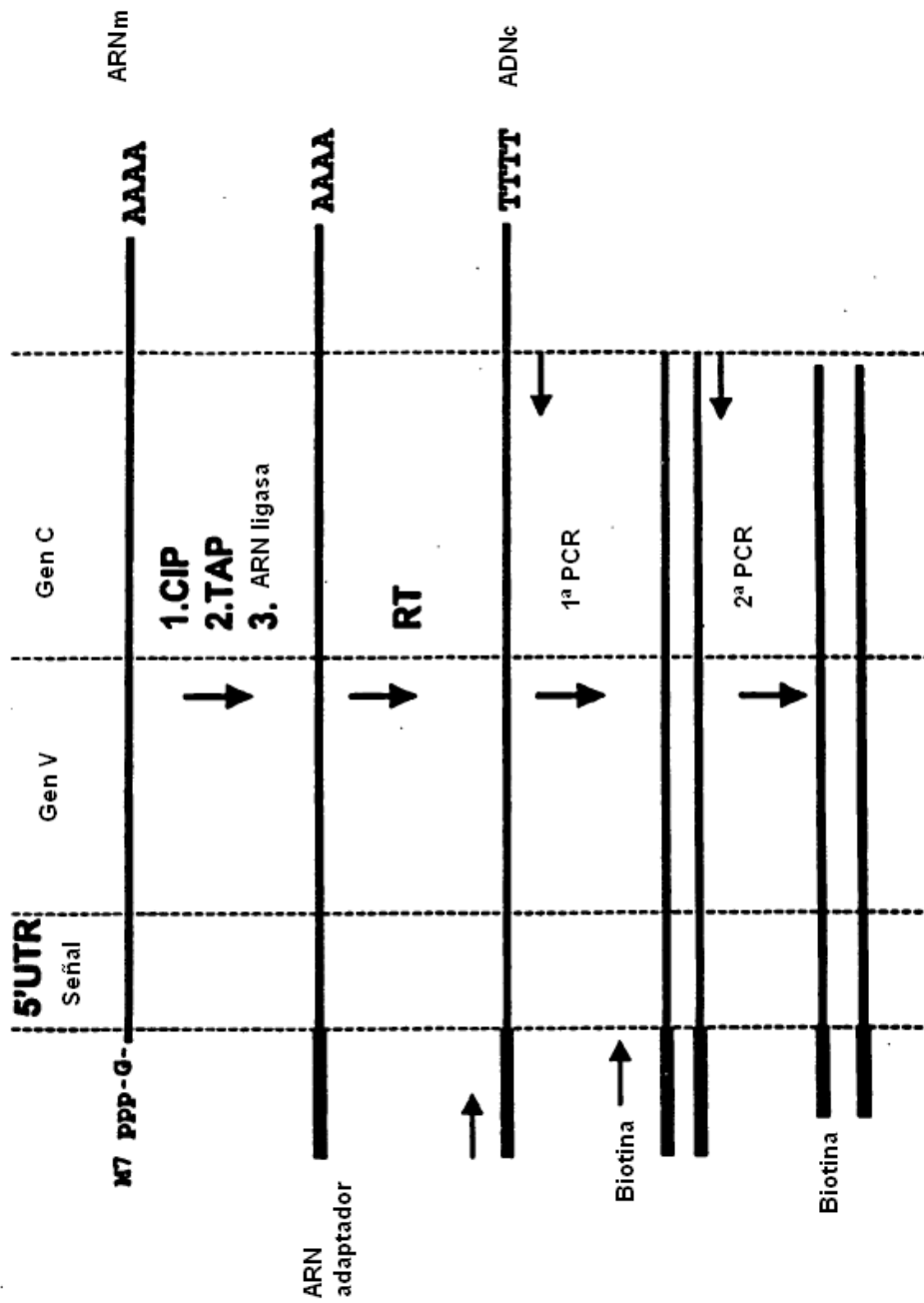


FIG. 3

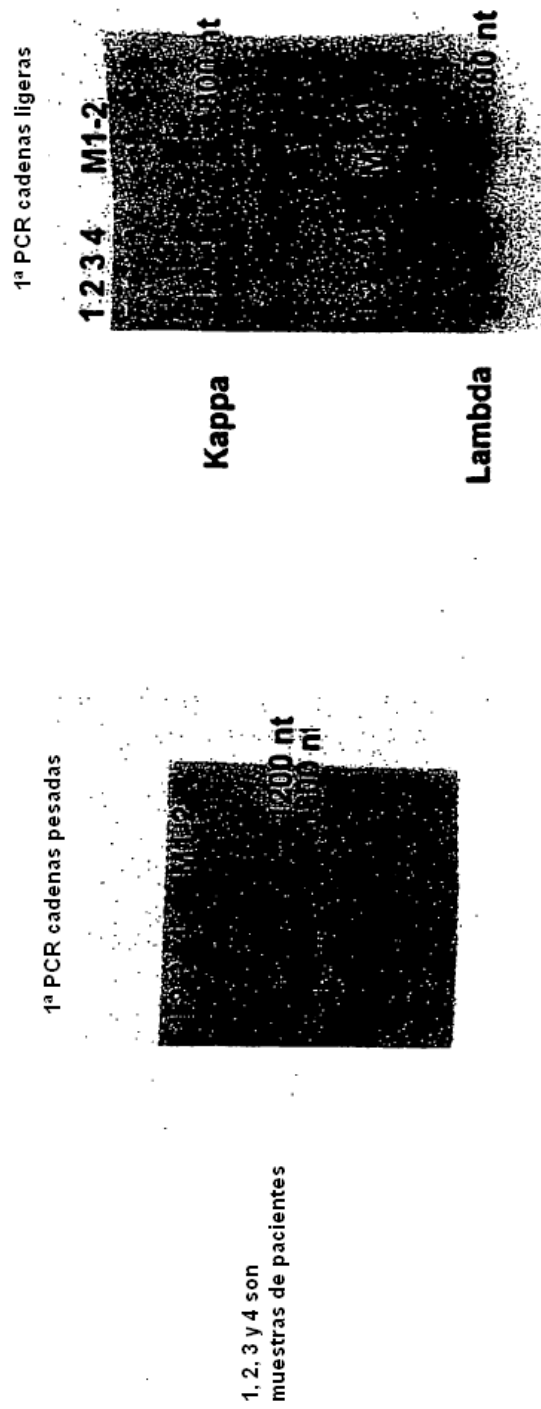


FIG. 4

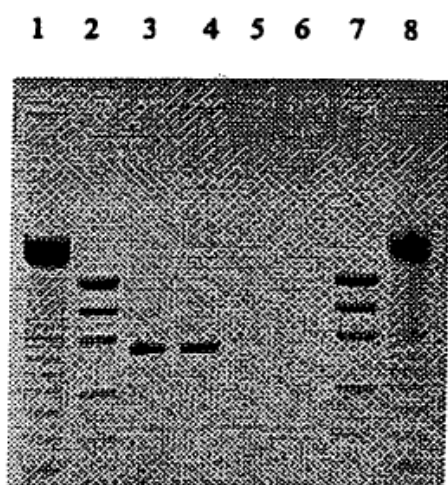


Figura 5. Análisis por gel del producto de PCR de la amplificación extensor-kappa
Aprox. 75ng/5μl → 15ng/μl

- 1- 100pb
- 2-LDM
- 3- 50ng de molde
- 4- 10ng de molde
- 5-ADNss no ligado
- 6- control negativo
- 7- LDM
- 8- 100pb

FIG. 5

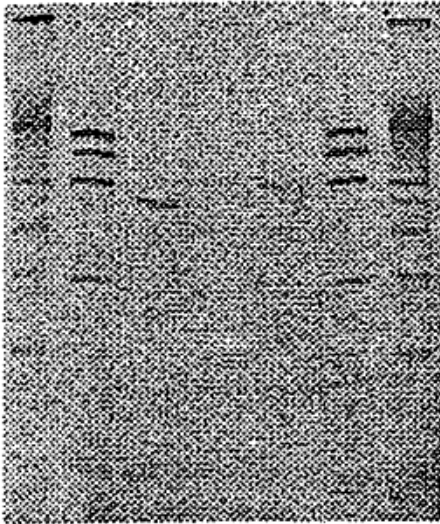


Producto de PCR purificado por gel de la amplificación del extensor-kappa
Concentración.: $\pm 35\text{ng}/\mu\text{l}$

1 - LDM
2 - 1µl purif.

FIG. 6

1 2 3 4 5 6 7



Análisis por gel de ADNss-K digerido

1 μ l de ADNss digerido $\approx$ 8ng de ADNss

Volumen total de 50 μ l = 400ng de ADNss

→ 400ng ssDNA de ADNss disponibles para ligación de los puentes-extensores

1 - 100pb

2 - LDM

3 - 1 μ l de ADNss puro

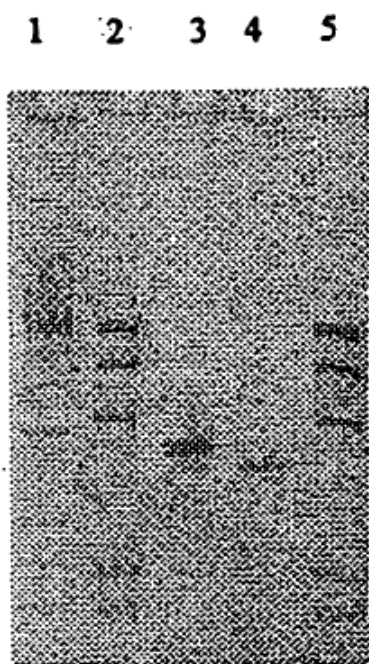
4 - 4 μ l de lechos después de dig.

5 - 8 μ l de lechos después de dig.

6 - LDM

7 - 100pb

FIG. 7



Análisis por gel de la ligación extensor-kappa escindida
20ng/5 μ l de material eluido $\rightarrow$ 4ng/ μ l

- 1- 100pb
- 2 - LDM
- 3 - Mezcla de ligación, 4 μ l
- 4 - ADNss no ligado
- 5 - LDM

FIG. 8

Escisión y ligación de cadenas ligeras Kappa

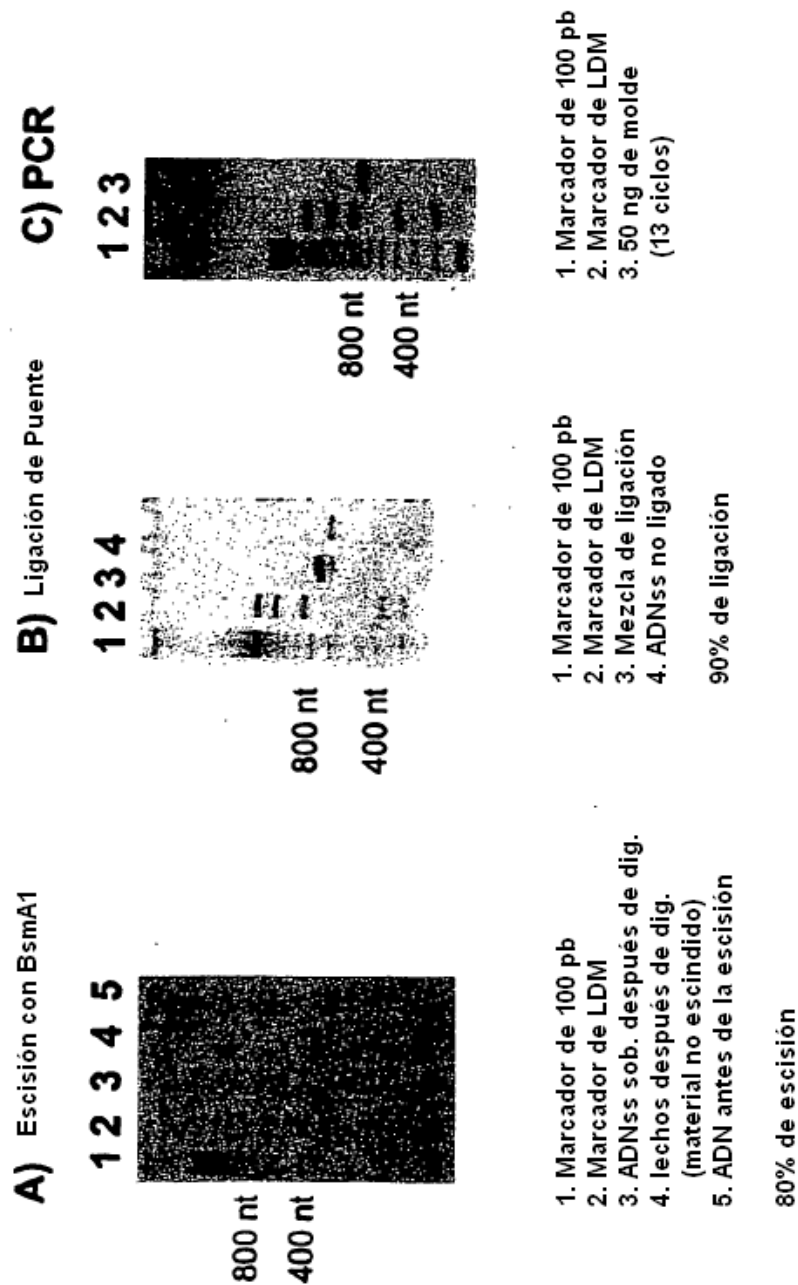


FIG. 9

VH-CDR2	
2	I 2 3 S G G 1 T 1 YADSVKG

VH-CDR1	
1	Y 1 M 1

FIG. 10

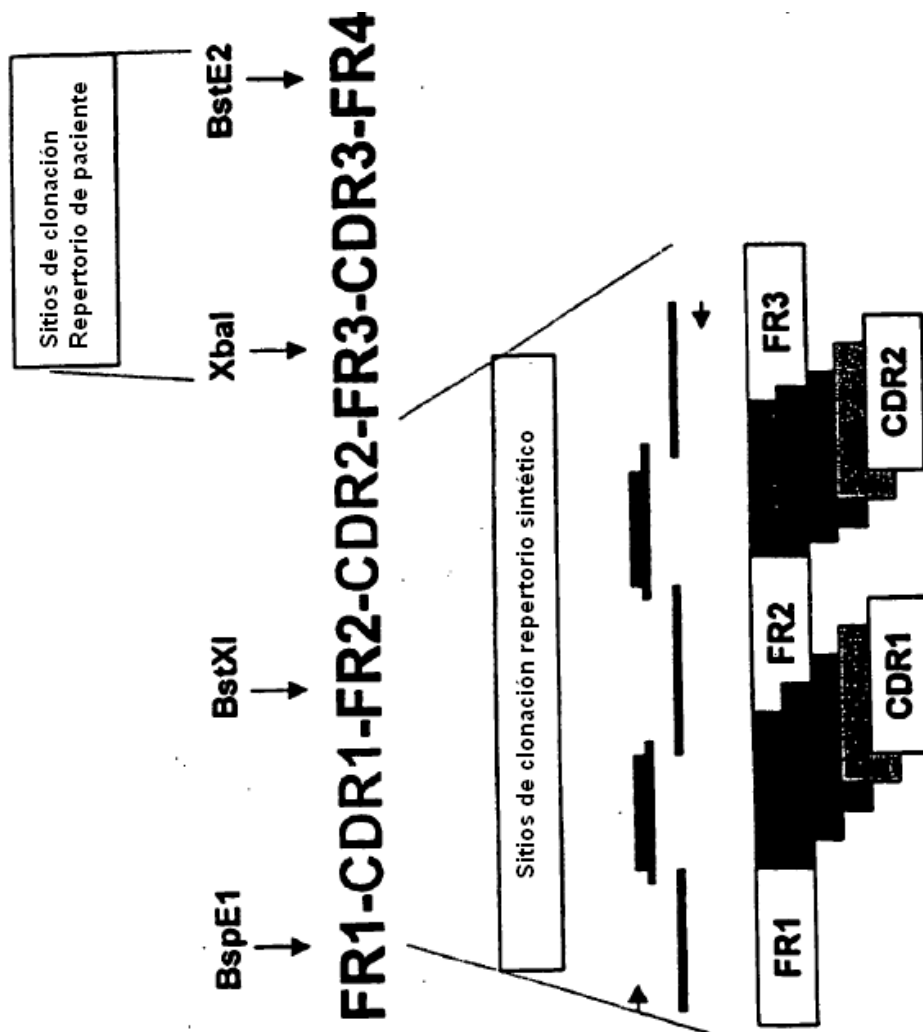


FIG. 11

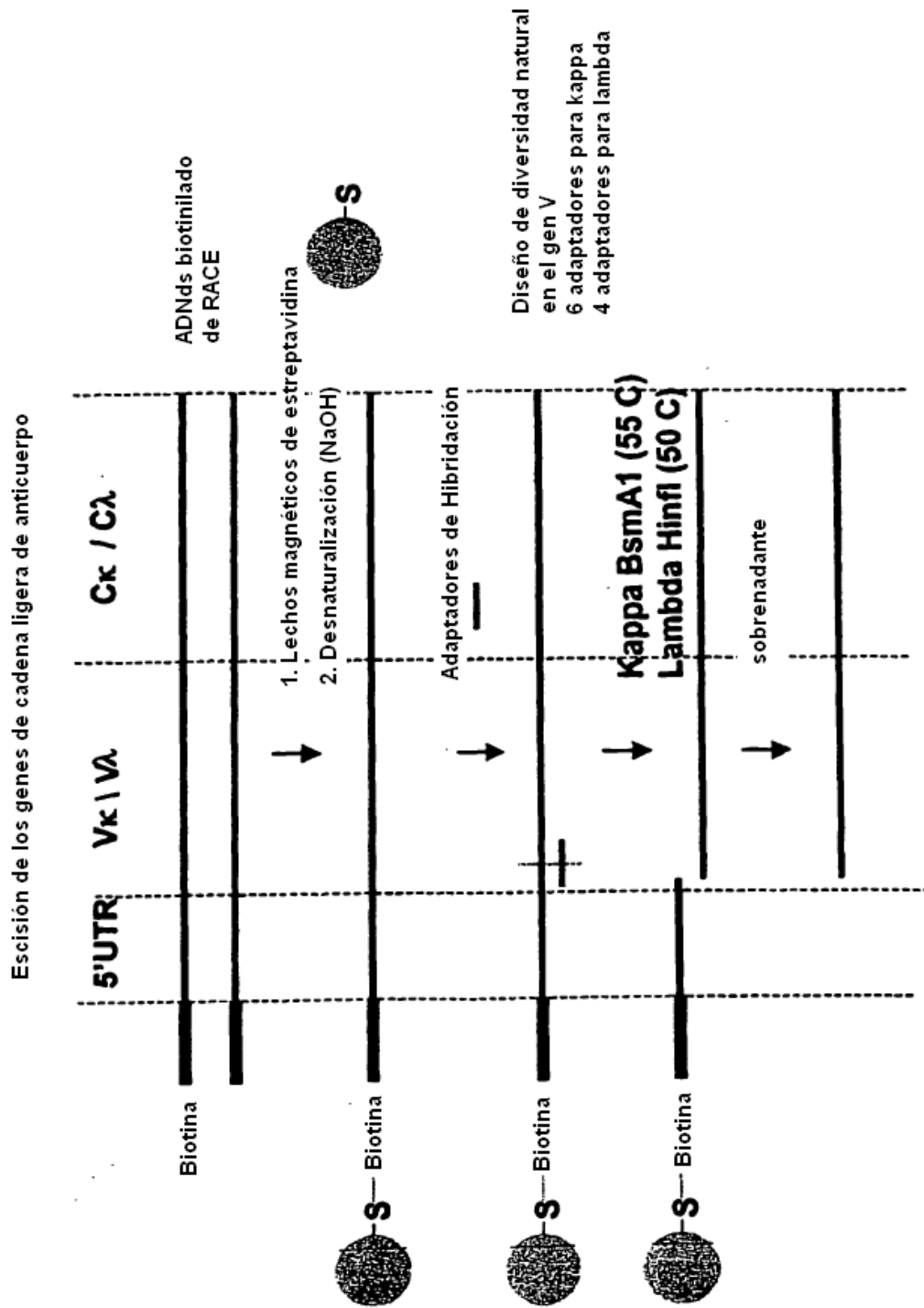


FIG. 12A

Ligación de cadenas ligeras escindidas

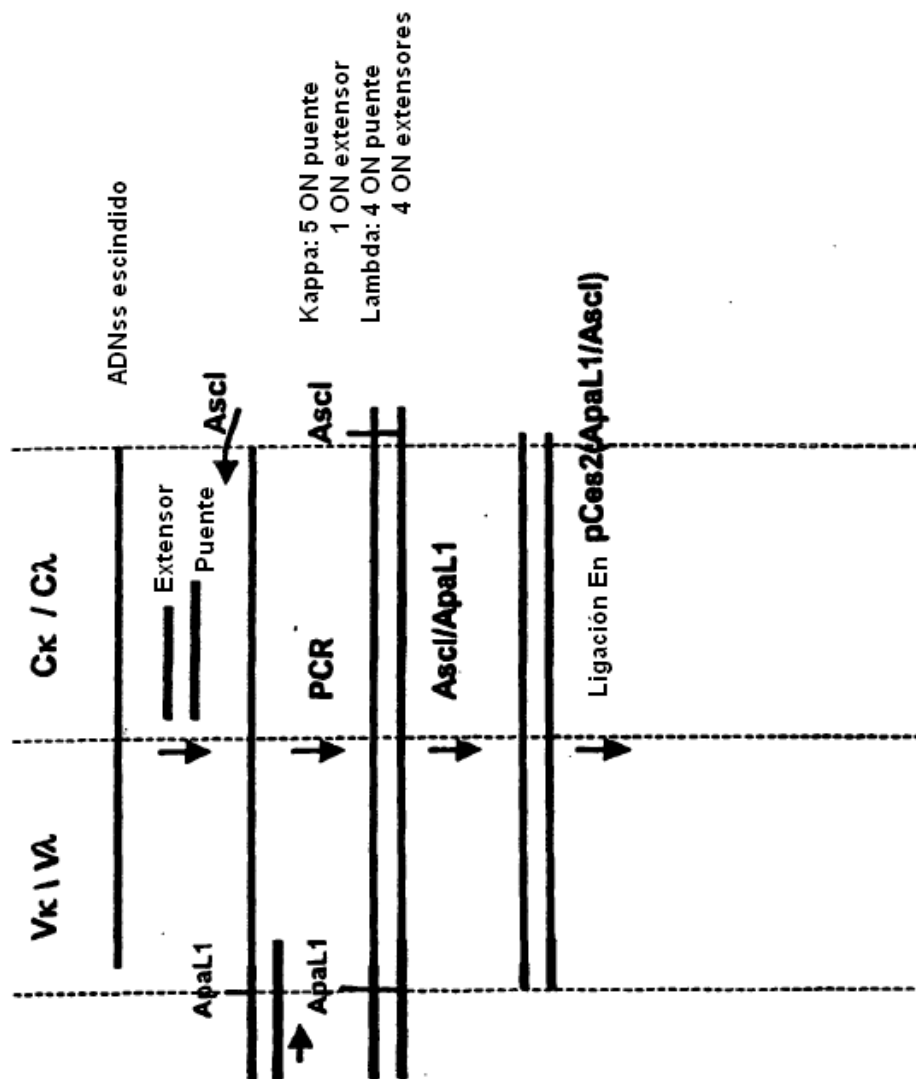


FIG. 12B

Figura 3: Escisión y ligación de cadenas ligeras lambda

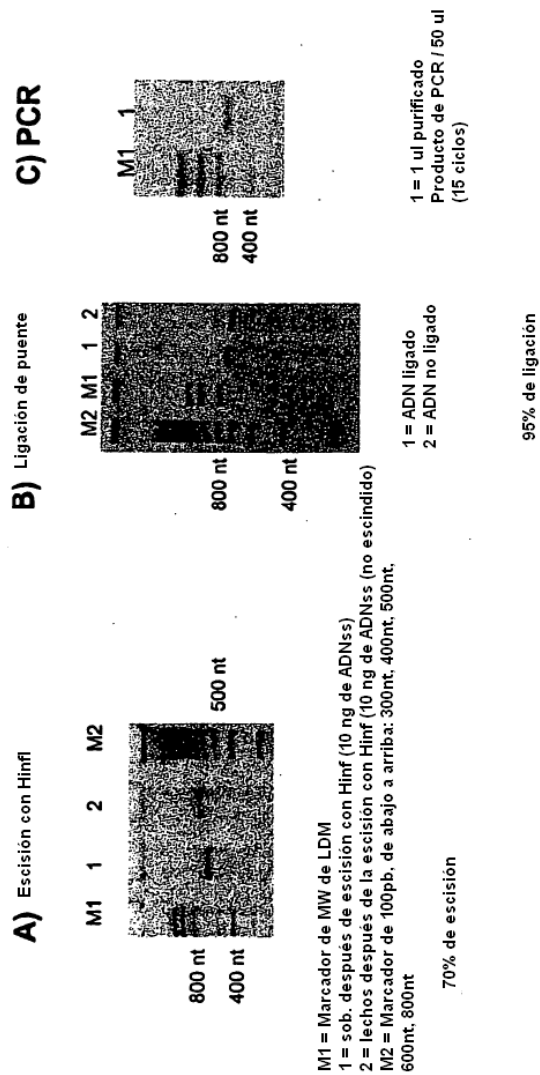


FIG. 13

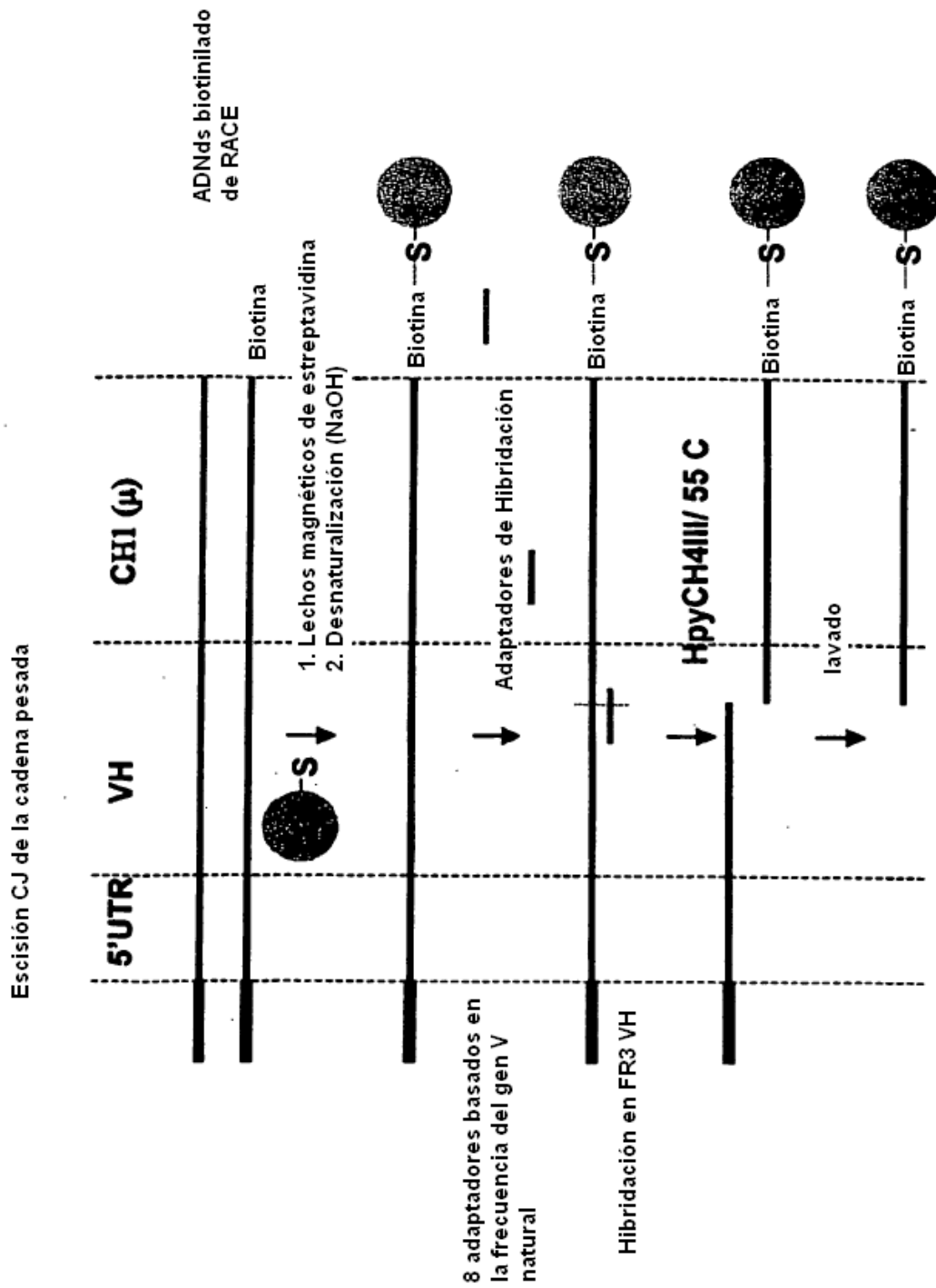


FIG.14A

Ligación de la diversidad CD3 de cadena pesada

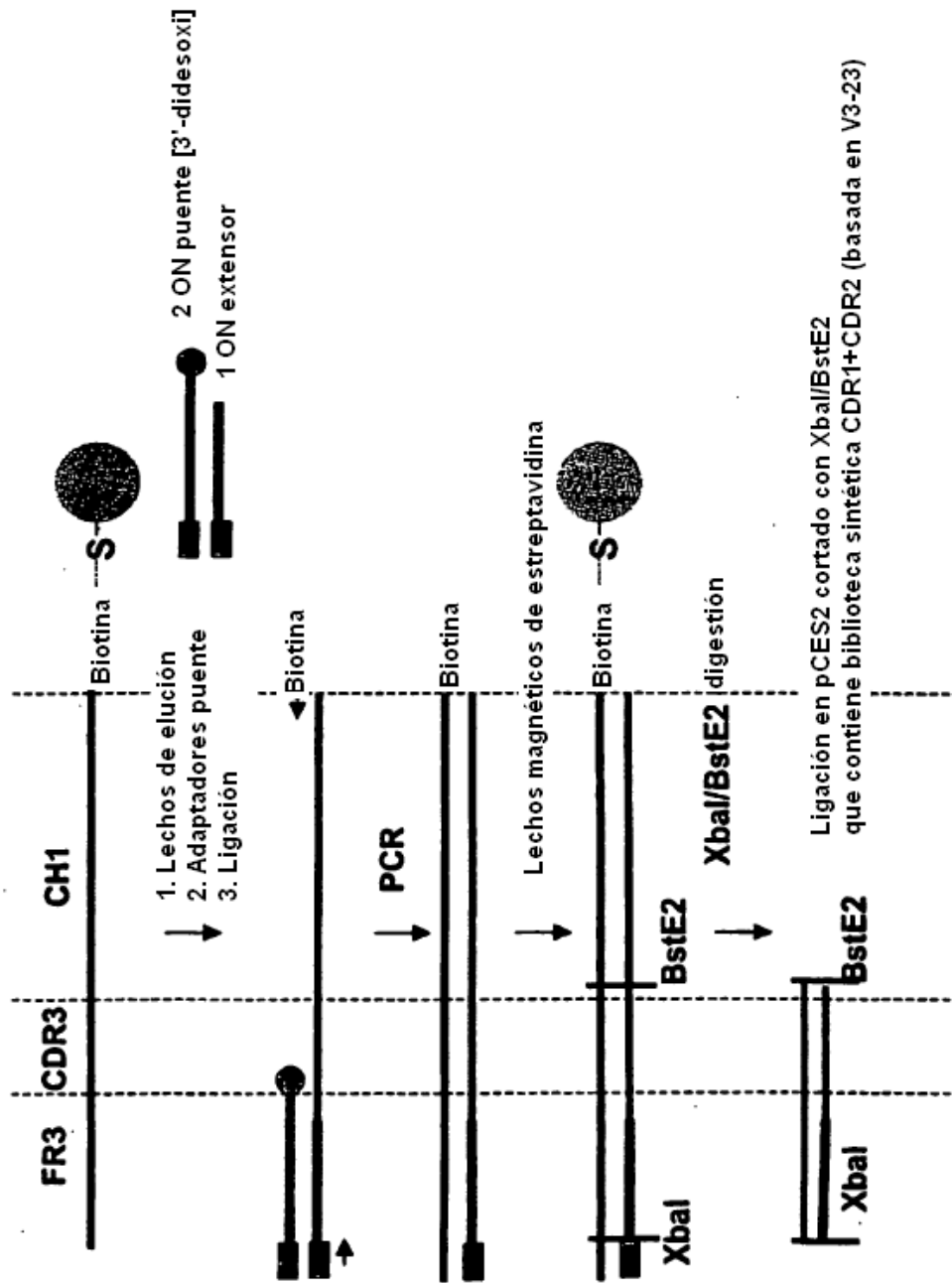


FIG. 14B

Escisión y ligación de Cadena Pesada

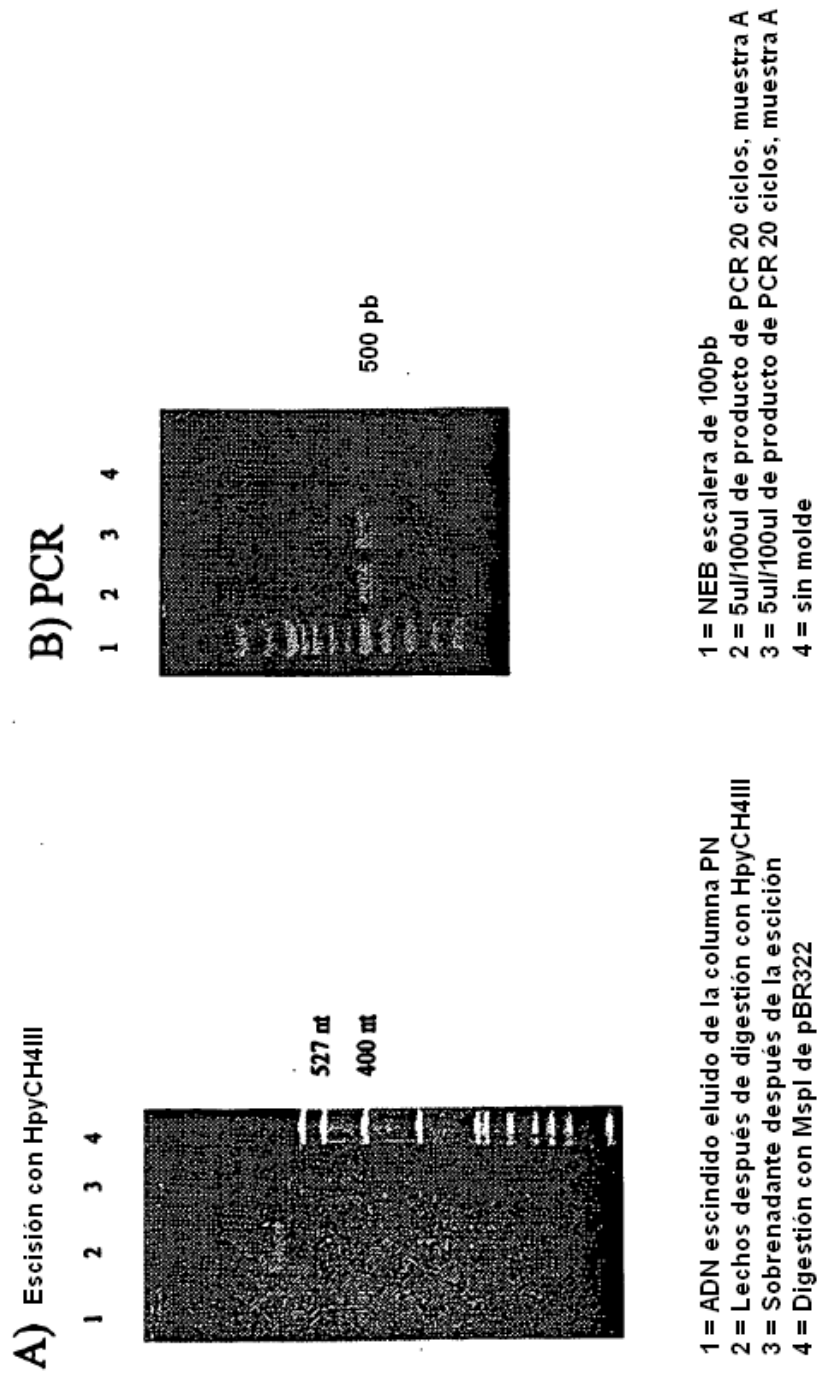


FIG. 15

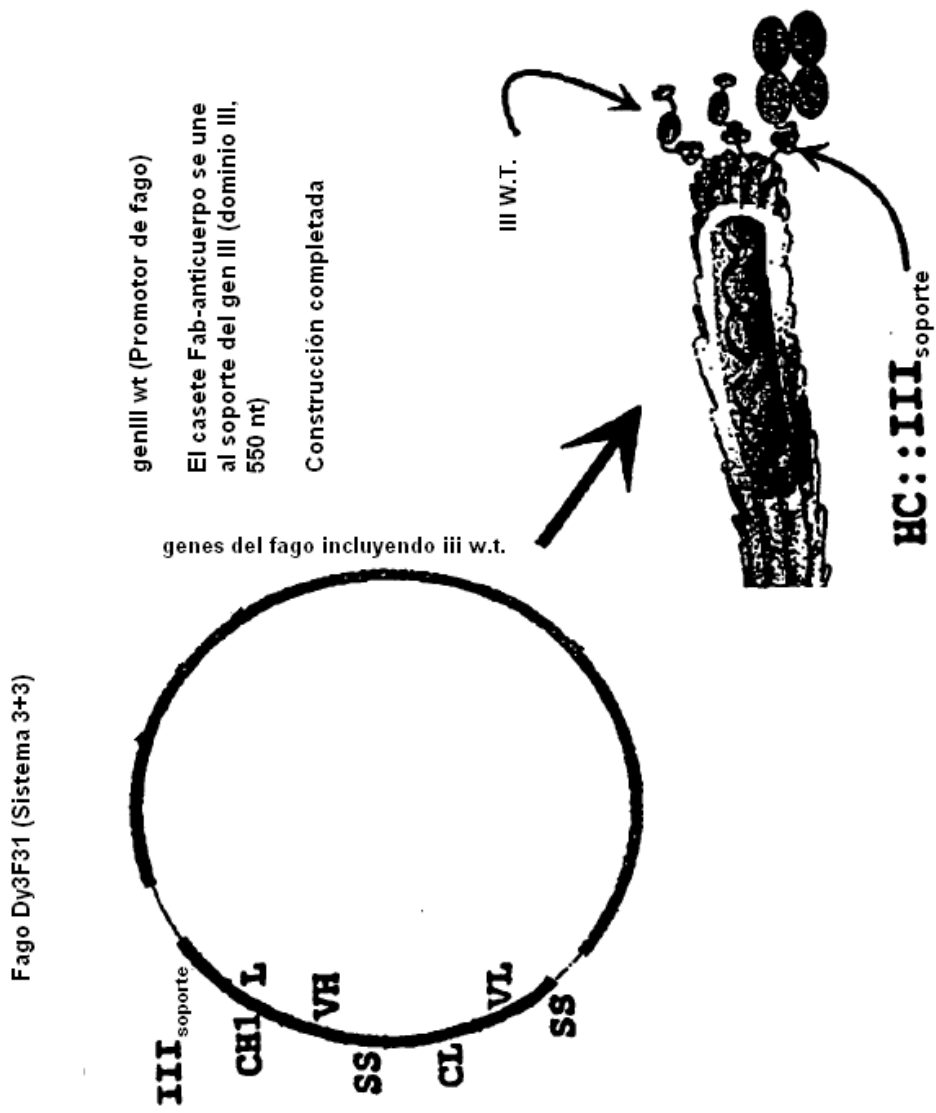


FIG. 16

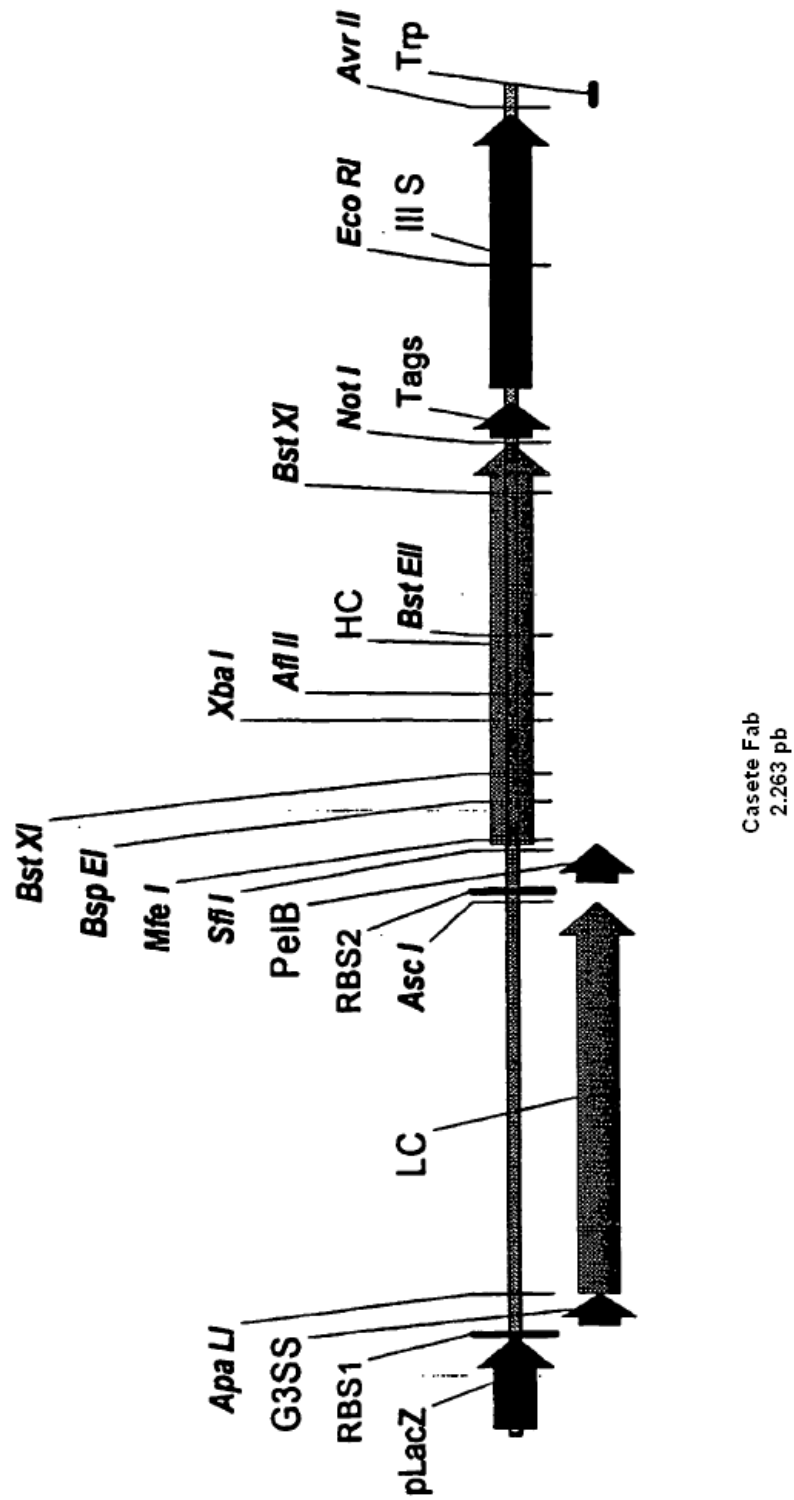


FIG. 17

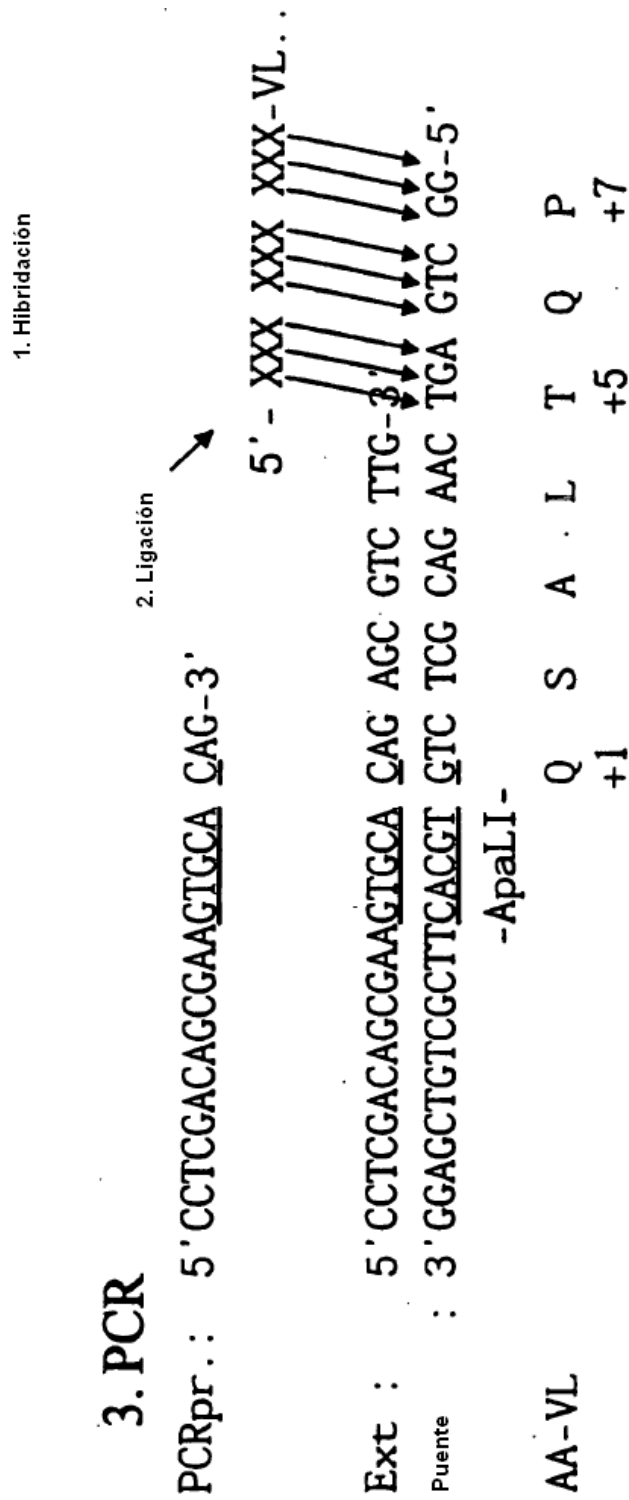


FIG. 18

3. PCR

PCR_{pr.}: 5'-CCTCTGTCACA GTGCA CAA GAC-3'

1. Hibridación

5'-XXX-XXX X-VL..

2. Ligación

Ext : 5'-CCTCTGTCACA GTGCA CAA GAC ATC CAG ATG ACC CAG TCT CC
Pte : 3'-GG
AA-VL
-ApalI-
Q D I Q M T Q S P S S
+1 +8 +9 +10

FIG. 19

3. PCR

PCRpr.:

5' -GAC TGG GTG TAG TGA TCT AG-3'

+70

(FR3)

1. Hibridacion

C A K

Y.

5

N

5

✿

(FF)

Puente : 5' -G CTC TAG TGA TCT AGT GAC AAC TCT ... TAC TAT TGT GCG AAA-3'

Ext : 3'-C CAC ATC ACT AGA TCT CTG TTG AGA ... ATG ATA-5'

-XbaI-

2 Ligación

3'-XXX XXX XXX-VH

FIG. 20