

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 531 551**

51 Int. Cl.:

C12N 15/10 (2006.01)

C12N 15/66 (2006.01)

C40B 40/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.04.2001** **E 10179786 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.11.2014** **EP 2308982**

54 Título: **Métodos para construir bibliotecas de presentación de paquetes genéticos para miembros de una familia diversa de péptido**

30 Prioridad:

17.04.2000 US 198069 P

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

17.03.2015

73 Titular/es:

DYAX CORP. (100.0%)
55 Network Drive
Burlington, MA 01803, US

72 Inventor/es:

LADNER, ROBERT C.;
COHEN, EDWARD HIRSCH;
NASTRI, HORACIO GABRIEL;
ROOKEY, KRISTIN L. y
HOET, RENE

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 531 551 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Métodos para construir bibliotecas de presentación de paquetes genéticos para miembros de una familia diversa de péptidos

5 La presente invención se refiere a métodos, como se definen en las reivindicaciones, para construir bibliotecas de paquetes genéticos que presentan un miembro de una familia diversa de péptidos, polipéptidos o proteínas, y presentan colectivamente al menos una porción de la diversidad de la familia. En una realización preferida, los polipéptidos presentados son Fab humanos.

10 Más específicamente, los métodos de la invención comprenden escindir ácidos nucleicos monocatenarios en localizaciones seleccionadas, codificando los ácidos nucleicos escindidos, al menos en parte, los péptidos, polipéptidos o proteínas presentados en los paquetes genéticos de las bibliotecas de la invención. En una realización preferida, los paquetes genéticos son fagos o fagómidos filamentosos.

La presente memoria descriptiva describe métodos para identificar las bibliotecas de paquetes genéticos que presentan péptidos, polipéptidos y proteínas útiles, y a los péptidos, polipéptidos y proteínas identificados por dicha identificación.

15 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Es ahora práctica habitual en la técnica preparar bibliotecas de paquetes genéticos que presentan un miembro de una familia diversa de péptidos, polipéptidos o proteínas y presentan colectivamente al menos una porción de la diversidad de la familia. En muchas bibliotecas comunes, los péptidos, polipéptidos o proteínas presentados están relacionados con anticuerpos. Con frecuencia, son Fabs o anticuerpos monocatenarios.

20 En general, los ADN que codifican miembros de las familias a presentar deben amplificarse antes de que se clonen y se usen para presentar el miembro deseado en la superficie de un paquete genético. Dicha amplificación típicamente hace uso de cebadores directos e inversos.

25 Tales cebadores pueden ser complementarios de secuencias nativas del ADN a amplificar, o complementarios de oligonucleótidos unidos en los extremos 5' o 3' de ese ADN. Los cebadores que son complementarios de secuencias nativas del ADN a amplificar tienen la desventaja de que dan preferencia a los miembros de las familias a presentar. Se amplificarán solamente los miembros que contengan una secuencia en el ADN nativo que sea sustancialmente complementaria del cebador. Los que no, estarán ausentes de la familia. Para los miembros que se amplifican, se suprimirá cualquier diversidad dentro de la región del cebador.

30 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. Se hibrida con una región de secuencia en el ADN nativo que se afirma que está "suficientemente bien conservada" dentro de una única especie. Tal cebador tendrá preferencia por los miembros amplificados frente a los que tengan esta región "conservada". Se extingue cualquier diversidad dentro de esta región.

35 Se acepta generalmente que los genes de anticuerpos humanos surgen a través de un proceso que implica una selección combinatoria de V y J, o V, D y J, seguido de mutaciones somáticas. Aunque la mayor diversidad se produce en las regiones determinantes de complementariedad (CDRs), también se produce diversidad en las regiones del marco (FR) más conservadas y al menos parte de esta diversidad confiere o potencia la unión específica a antígenos (Ag). Como consecuencia, las bibliotecas deberían contener tanta diversidad de CDR y FR como sea posible.

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

Zhu D., Analytical Biochemistry, Vol. 177(1), 1989, páginas 120-124, describe la escisión dirigida por oligodesoxinucleótidos y la reparación de un vector monocatenario: un método de mutagénesis específica del sitio.

50 Thielking V et al., Biochemistry, Vol. 29(19), 1990, páginas 4682-4691, describen la exactitud de la endonucleasa de restricción ECO-RI en estudios de unión y escisión con sustratos oligodesoxinucleotídicos que contienen secuencias de reconocimiento degeneradas.

Alves Juergen et al., Biochemistry, Vol. 34(35), 1995, páginas 11191-11197, describen la exactitud de la endonucleasa de restricción EcoRV en estudios de unión y escisión con sustratos oligodesoxinucleotídicos que contienen secuencias de reconocimiento degeneradas.

Kim S.C. et al., Science, Vol. 240, No. 4851, 1988, páginas 504-506, describen la escisión de ADN en cualquier sitio predeterminado con cebadores adaptadores y enzimas de restricción clase IIS.

Podhajski A.J. y Szybalski W., Gene, Vol. 40(2-3), 1985, páginas 175-182, describen la conversión de la endonucleasa FOK-I en una enzima de restricción universal que escinde ADN fágico M-13-MP-7 en sitios predeterminados.

El documento WO 97/20923 describe la preparación de una biblioteca multicombinatoria de vectores de expresión de genes de anticuerpos.

El documento WO 97/49809 describe polipéptidos capaces de formar estructuras de unión a antígeno con especificidad por los antígenos Rhesus D, el ADN que los codifica, y el procedimiento para su preparación y uso.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

Es un objeto de la invención proporcionar nuevos métodos para construir bibliotecas de paquetes genéticos que presentan un miembro de una familia diversa de péptidos, polipéptidos o proteínas y presentan de forma colectiva al menos una porción de la diversidad de esta familia. Estos métodos no tienen preferencia por ADN que contienen secuencias nativas que son complementarias de los cebadores usados para amplificación. También permiten que cualquier secuencia que pueda ser perjudicial para la expresión se elimine del ADN amplificado antes de la clonación y presentación.

La memoria descriptiva describe un método para escindir secuencias de ácidos nucleicos monocatenarias en una localización deseada, comprendiendo el método las etapas de:

(i) poner en contacto el ácido nucleico con un oligonucleótido monocatenario, siendo el oligonucleótido funcionalmente complementario del ácido nucleico en la región en la que se desea escisión e incluyendo una secuencia que con su complemento en el ácido nucleico forma un sitio de reconocimiento de endonucleasas de restricción que, en la restricción, da como resultado 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 puesta en contacto y escisión a una temperatura suficiente para mantener el ácido nucleico en forma sustancialmente monocatenaria, siendo el oligonucleótido funcionalmente complementario del ácido nucleico a lo largo de una región suficientemente grande para permitir que las dos hebras se asocien de modo que pueda producirse la escisión a la temperatura escogida y en la localización deseada, y llevándose a cabo la escisión usando una endonucleasa de restricción que es activa a la temperatura escogida.

La memoria descriptiva describe un método alternativo para escindir secuencias de ácido nucleico monocatenarias en una localización deseada, comprendiendo el método las etapas de:

(i) poner en contacto el ácido nucleico con un oligonucleótido parcialmente bicatenario, siendo la región monocatenaria del oligonucleótido funcionalmente complementaria del 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 de Tipo II-S, cuyo sitio de escisión se localiza a una distancia conocida del sitio de reconocimiento; 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;

realizándose las etapas de puesta en contacto y escisión a una temperatura suficiente para mantener el ácido nucleico en forma sustancialmente monocatenaria, siendo el oligonucleótido funcionalmente complementario del ácido nucleico a lo largo de una región suficientemente grande para permitir que las dos hebras se asocien de modo que pueda producirse escisión a la temperatura escogida y en la localización deseada, y llevándose a cabo la escisión usando una endonucleasa de restricción que es activa a la temperatura escogida.

La memoria descriptiva describe un método para capturar moléculas de ADN que comprenden un miembro de una familia diversa de ADN y comprenden colectivamente al menos una porción de la diversidad de la familia. Estas moléculas de ADN en forma monocatenaria se han escindido mediante uno de los métodos de esta invención. Este método implica ligar los miembros de ADN monocatenarios individuales de la familia con un complejo de ADN parcialmente bicatenario. El método comprende las etapas de:

(i) poner en contacto una secuencia de ácido nucleico monocatenaria que se ha escindido con una endonucleasa de restricción con un oligonucleótido parcialmente bicatenario, siendo la región monocatenaria del oligonucleótido funcionalmente complementaria del ácido nucleico en la región que permanece después de la escisión, incluyendo la región bicatenaria del oligonucleótido cualquier secuencia necesaria para devolver las secuencias que permanecen después de la escisión al marco de lectura apropiado para expresión, y conteniendo un sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción 5' de esas secuencias; y

(ii) escindir la secuencia oligonucleotídica parcialmente bicatenaria solamente en el sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción contenido dentro de la región bicatenaria del oligonucleótido parcialmente bicatenario.

5 Es otro objeto de esta invención preparar bibliotecas, que presentan una familia diversa de péptidos, polipéptidos o proteínas, y presentan colectivamente al menos porción de la diversidad de la familia, usando los métodos y ADN descritos anteriormente.

Es un objeto identificar esas bibliotecas para identificar péptidos, polipéptidos y proteínas útiles, y usar esas sustancias en terapia humana.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

- 10 La FIG. 1 es un esquema de diversos métodos que pueden emplearse para amplificar genes VH sin usar cebadores específicos para secuencias VH.
- La FIG. 2 es un esquema de diversos métodos que pueden emplearse para amplificar genes VL sin usar secuencias VL.
- La FIG. 3 representa análisis en gel de ADN kappa escindido del Ejemplo 2.
- 15 La FIG. 4 representa análisis en gel de ADN kappa escindido del Ejemplo 2.
- La FIG. 5 representa análisis en gel de ADN kappa amplificado del Ejemplo 2.
- La FIG. 6 representa ADN kappa amplificado purificado en gel del Ejemplo 2.

TÉRMINOS

En esta solicitud, se usan los siguientes términos y abreviaturas:

- | | | |
|----|-------------------------------|---|
| 20 | Hebra sentido | La hebra superior de ADN bc como se escribe habitualmente. En la hebra sentido, 5'-ATG-3' codifica Met. |
| | Hebra antisentido | La hebra inferior de ADN bc como se escribe habitualmente. En la hebra antisentido, 3'-TAC-5' correspondería con un codón de Met en la hebra sentido. |
| 25 | Cebador directo: | Un cebador "directo" es complementario de una parte de la hebra sentido y actúa como cebador para la síntesis de una nueva molécula de hebra antisentido. "Cebador directo" y "cebador de hebra inferior" son equivalentes. |
| | Cebador inverso: | Un cebador "inverso" es complementario de una parte de la hebra antisentido y actúa como cebador para la síntesis de una nueva molécula de hebra sentido. "Cebador inverso" y "cebador de hebra superior" son equivalentes. |
| 30 | Bases: | Las bases se especifican por su posición en un vector o gen como su posición dentro de 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 |
| | Ap | Ampicilina |
| 35 | ap ^R | Un gen que confiere resistencia a ampicilina. |
| | ER | Endonucleasa de restricción |
| | ERU | Endonucleasa de restricción universal |
| | Funcionalmente complementario | Dos secuencias son suficientemente complementarias para que se hibriden en las condiciones seleccionadas. |
| 40 | SRER | Sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción |
| | AA | Aminoácido |
| | PCR | Reacción en cadena de polimerización |
| | GLG | Genes de línea germinal |

	Ab	Anticuerpo: una inmunoglobulina. El término también abarca cualquier proteína que tenga un dominio de unión que es homólogo a un dominio de unión de inmunoglobulina. Unos pocos ejemplos de anticuerpos dentro de esta definición son, entre otros, isotipos de inmunoglobulina y los fragmentos Fab, F(ab ¹) ₂ , scFv, Fv, dAb y Fd.
5	Fab	Molécula de dos cadenas que comprende una cadena ligera de Ab y parte de una cadena pesada.
	scFv	Un Ab monocatenario que comprende VH::enlazador::VL o VL::enlazador::VH
	w.t.	Tipo salvaje
	HC	Cadena pesada
10	LC	Cadena 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.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES PREFERIDAS

15 Las secuencias de ácido nucleico que son útiles en los métodos de esta invención, es decir, las que codifican al menos en parte los péptidos, polipéptidos y proteínas individuales presentados en los paquetes genéticos de esta invención, pueden ser de origen natural, sintéticos o una combinación de los mismos. Pueden ser ARNm, ADN o ADNc. En la realización preferida, los ácidos nucleicos codifican anticuerpos. Más preferiblemente, codifican Fabs.

20 Los ácidos nucleicos útiles en esta invención pueden ser naturalmente diversos, la diversidad sintética puede introducirse en los miembros naturalmente diversos, o la diversidad puede ser completamente sintética. Por ejemplo, la diversidad sintética puede introducirse en una o más CDRs de genes de anticuerpos.

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

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

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 de ARNm. Más preferiblemente, los ARNm se obtienen de células de sangre periférica, células de médula ósea, células del bazo o células de 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 preferible, los ARNm se obtienen de pacientes que padecen al menos un trastorno autoinmune o cáncer. Preferiblemente, se usan ARNm que contienen una alta diversidad de enfermedades autoinmunes, tales como lupus eritematoso sistémico, esclerosis sistémica, artritis reumatoide, síndrome antifosfolipídico y vasculitis.

En una realización preferida de esta invención, los ADNc se producen a partir de los ARNm usando transcripción inversa. En esta realización preferida, los ARNm se separan de la célula y se degradan usando métodos convencionales, de modo que solamente permanezcan los ARNm de longitud completa (es decir, encaperuzados). La caperuza se retira después, y se usa la transcripción inversa para producir los ADNc.

La transcripción inversa de la primera hebra (antisentido) puede realizarse de cualquier manera con cualquier cebador adecuado. Véase, por ejemplo, HJ de Haard et al., Journal of Biological Chemistry. 274 (26):18218-30 (1999). En la realización preferida de esta invención en la que los ARNm codifican anticuerpos, pueden usarse cebadores que son complementarios de las regiones constantes de genes de anticuerpos. Esos cebadores son útiles debido a que no generan preferencia por subclases de anticuerpos. En otra realización, pueden usarse cebadores poli-dT (y pueden preferirse para los genes de cadena pesada). Como alternativa, pueden unirse secuencias complementarias del cebador a los extremos de la hebra antisentido.

En una realización preferida de esta invención, el cebador de transcriptasa inversa puede estar biotinilado, permitiendo de este modo que el producto de ADNc se inmovilice en perlas de estreptavidina (Sv). La inmovilización también puede efectuarse usando un cebador marcado en el extremo 5' con uno de a) grupo de amina libre, b) tiol, c) ácido carboxílico, o d) otro grupo no hallado en ADN que puede reaccionar para formar un enlace fuerte con un compañero conocido en un medio insoluble. Si, por ejemplo, se proporciona una amina libre (preferiblemente amina primaria) en el extremo 5' de un cebador de ADN, esta amina puede hacerse reaccionar con grupos ácido carboxílico en una perla polimérica usando química formadora de amida convencional. Si dicha inmovilización preferida se usa durante la transcripción inversa, el ARN de hebra superior se degrada usando enzimas bien conocidas, tal como una combinación de RNasaH y RNasaA, antes o después de la inmovilización.

Las secuencias de ácido nucleico útiles en los métodos de esta invención se amplifican generalmente antes de usarse para presentar los péptidos, polipéptidos o proteínas que codifican. Antes de la amplificación, los ADN monocatenarios pueden escindirse usando uno de los métodos descritos anteriormente. Como alternativa, los ADN monocatenarios pueden amplificarse y después escindirse usando uno de esos métodos.

Para dicha amplificación puede usarse cualquiera de los métodos bien conocidos para amplificar secuencias de ácido nucleico. Se prefieren métodos que maximicen, y no tengan preferencia por, la diversidad. En una realización preferida de esta invención en la que las secuencias de ácido nucleico derivan de genes de anticuerpo, la presente descripción utiliza preferiblemente cebadores en las regiones constantes de los genes de cadena pesada y ligera y cebadores de una secuencia sintética que se unen al extremo 5' de la hebra sentido. El uso de cebadores en dicha secuencia sintética evita el uso de secuencias dentro de las regiones variables de los genes de anticuerpos. Esos sitios de cebado de la región variable generan preferencia frente a genes V que son de subclases poco comunes o que se han mutado en los sitios de cebado. Esta preferencia se debe parcialmente a la supresión de la diversidad dentro de la región del cebador y parcialmente debido a la falta de cebado cuando están presentes muchas mutaciones en la región complementaria del cebador. Los métodos descritos en esta invención tienen la ventaja de no dar preferencia a la población de genes de anticuerpos amplificados para tipos de genes V particulares.

Las secuencias sintéticas pueden unirse al extremo 5' de la cadena de ADN por diversos métodos bien conocidos para ligar secuencias de ADN entre sí. Un método preferido es RT CapExtension.

En RT CapExtension (derivada de Smart PCR^(TM)), se usa un solapamiento corto (5'-... GGG-3' en el cebador de hebra superior (USP-GGG) complementa 3'-CCC... 5' en la hebra inferior) y transcriptasas inversas de modo que el complemento inverso del cebador de la hebra superior se una a la hebra inferior.

En una realización preferida de esta invención, el cebador de hebra superior o hebra inferior también puede estar biotinilado o marcado en el extremo 5' con uno de a) grupo amino libre, b) tiol, c) ácido carboxílico y d) otro grupo no hallado en ADN que pueda reaccionar para formar un enlace fuerte con un compañero conocido como un medio insoluble. Estos pueden usarse después para inmovilizar la cadena marcada después de amplificación. El ADN inmovilizado puede ser mono- o bicatenario.

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 3' UTR que ceba la síntesis de la primera hebra inferior. También son adecuados cebadores que se unen en la región constante. El panel B muestra la hebra inferior extendida en su extremo 3' por tres Cs que no son complementarias del ARNm. El panel C muestra el resultado de hibridar un cebador de hebra superior sintético que termina en tres GGG que se hibrida a los CCCs 3' terminales, y de extender la transcripción inversa que extiende la hebra inferior por el complemento inverso de la secuencia del cebador sintético. El panel D muestra el resultado de la amplificación por PCR usando un cebador de hebra superior sintético biotinilado en 5' que replica el extremo 5' del cebador sintético de panel C, y un cebador de hebra inferior complementario de parte del dominio constante. El panel E muestra ADNc bicatenario (bc) inmovilizado obtenido usando un cebador de hebra 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' que ceba la síntesis de la primera hebra inferior. También son adecuados cebadores que se unen en la región poli-dT. El panel B muestra la hebra inferior extendida en su extremo 3' por tres Cs que no son complementarias del ARNm. El panel C muestra el resultado de hibridar un cebador de hebra superior sintético que termina en tres GGGs que se hibridan con las CCCs 3' terminales, y de extender la transcripción inversa que extiende la hebra inferior por el complemento inverso de la secuencia del cebador sintético. El panel D muestra el resultado de la amplificación por PCR usando un cebador de hebra superior sintético biotinilado en 5' que replica el extremo 5' del cebador sintético del panel C y un cebador de hebra inferior complementario de parte del dominio constante. El cebador de hebra inferior también contiene un sitio de endonucleasa de restricción útil, tal como Ascl. El panel E muestra ADNc bc inmovilizado, obtenido usando un cebador de hebra superior biotinilado en 5'.

En las FIG. 1 y 2, cada gen V consiste en una región 5' no traducida (UTR) y una señal de secreción, seguido de la región variable, seguido de una región constante, seguido de una región 3' no traducida (que típicamente termina en poli-A). Un cebador inicial para la transcripción inversa puede ser complementario de la región constante o del segmento poli A de la 3'-UTR. Para genes de cadena pesada humana, se prefiere un cebador de 15 T. Las

transcriptasas inversas unen varios restos C al extremo 3' del ADN recientemente sintetizado. RT CapExtension aprovecha esta característica. La reacción de transcripción inversa se ejecuta en primer lugar solamente con un cebador de hebra inferior. Después de alrededor de 1 hora, se añade un cebador que acaba en GGG (USP-GGG) y más RTasa. Esto provoca que el ADNc de hebra inferior se extienda por el complemento inverso del USP-GGG hasta el GGG final. Usando un cebador idéntico a parte de la secuencia sintética unida y un segundo cebador complementario de una región de secuencia conocida en el extremo 3' de la hebra sentido, todos los genes V se amplifican independientemente de su subclase del gen V.

Después de amplificación, los ADN de esta invención se hacen monocatenarios. Por ejemplo, las hebras pueden separarse usando un cebador biotinilado, capturando el producto biotinilado en perlas de estreptavidina, desnaturizando el ADN y eliminando por lavado la hebra complementaria. Dependiendo de qué extremo del ADN capturado se desee, se puede elegir movilizar la hebra superior (sentido) o la hebra inferior (antisentido).

Para preparar los ADN amplificados monocatenarios para clonación en paquetes genéticos para efectuar la presentación de los péptidos, polipéptidos o proteínas codificados, al menos en parte, por esos ADN, se deben manipular para proporcionar extremos adecuados para clonación y expresión. En particular, debe eliminarse cualquier región no traducida en 5' y secuencias señal de mamíferos, y deben reemplazarse, en el armazón, por una secuencia señal adecuada que actúe en el hospedante de presentación. Adicionalmente, pueden eliminarse partes de los dominios variables (en genes de anticuerpos) y reemplazarse por segmentos sintéticos que contienen diversidad sintética. La diversidad de otras familias génicas puede expandirse de modo similar con diversidad sintética.

De acuerdo con los métodos de esta invención, hay dos formas de manipular los ADN amplificados monocatenarios para clonación, como se define en las reivindicaciones. El primer método comprende las etapas de:

(i) poner en contacto el ácido nucleico monocatenario con un oligonucleótido monocatenario, siendo el oligonucleótido complementario del ácido nucleico monocatenario en la región en la que se desea la escisión, y que incluye una secuencia que con su complemento en el ácido nucleico forma un sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción que, en la restricción, da como resultado 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;

llevándose a cabo las etapas de puesta en contacto y escisión a una temperatura suficiente para mantener el ácido nucleico en forma sustancialmente monocatenaria, siendo el oligonucleótido funcionalmente complementario del ácido nucleico sobre una región suficientemente grande para permitir que las dos hebras se asocien de modo que pueda producirse la escisión a la temperatura seleccionada y en la localización deseada, y llevándose a cabo la escisión usando una endonucleasa de restricción que es activa a la temperatura seleccionada.

En este primer método, se hibridan oligonucleótidos cortos al ADN monocatenario, de modo que puedan escindirse sitios de reconocimiento de endonucleasas de restricción formados dentro de las regiones ahora localmente bicatenarias del ADN. En particular, un sitio de reconocimiento que aparece en la misma posición en una fracción sustancial de los ADN monocatenarios es idéntico.

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

Por ejemplo, la Tabla 195 representa las secuencias de ADN de las regiones FR3 de los 51 genes de línea germinal VH humanos conocidos. En esta región, los genes contienen sitios de reconocimiento de endonucleasas de restricción mostrados en la Tabla 200. Se prefieren endonucleasas de restricción que escinden una gran fracción de genes de línea germinal en el mismo sitio frente a endonucleasas que cortan en una variedad de sitios. Además, se prefiere que haya solamente un solo sitio para las endonucleasas de restricción en la región a la que se une el oligonucleótido corto en el ADN monocatenario, por ejemplo alrededor de 10 bases en cada lado del sitio de reconocimiento de endonucleasas de restricción.

Una enzima que escinde en dirección 3' en FR3 también es también más preferible debido a que captura menos mutaciones en el armazón. Esto puede ser ventajoso en algunos casos. Sin embargo, se sabe bien que existen mutaciones del armazón, y confieren y potencian la unión de anticuerpos. La presente invención, por elección del sitio de restricción apropiado, permite que se capture toda o parte de la diversidad de FR3. Por lo tanto, el método también permite que se capture diversidad extensiva.

Finalmente, en los métodos de esta invención se usan endonucleasas de restricción que son activas entre alrededor de 45° y alrededor de 75°C. Preferiblemente, se usan enzimas que son activas por encima de 50°C, y más

preferiblemente activas a alrededor de 55°C. Tales temperaturas mantienen la secuencia de ácido nucleico a escindir en forma sustancialmente monocatenaria.

Las enzimas mostradas en la Tabla 200 que cortan muchos de los genes de línea germinal de FR3 de cadena pesada en una única posición incluyen: *MaeIII* (24 en 4), *Tsp45I* (21 en 4), *HphI* (44 en 5), *BsaI* (23 en 65), *AluI* (23 en 47), *BlnI* (21 en 48), *DdeI* (29 en 58), *BglII* (10 en 61), *MslI* (44 en 72), *BsiEI* (23 en 74), *EaeI* (23 en 74), *EagI* (23 en 74), *HaeIII* (25 en 75), *Bst4CI* (51 en 86), *HpyCH4III* (51 en 86), *HinfI* (38 en 2), *MlyI* (18 en 2), *PleI* (18 en 2), *MnlI* (31 en 67), *HpyCH4V* (21 en 44), *BsmAI* (16 en 11), *BpmI* (19 en 12), *XmnI* (12 en 30), and *SacI* (11 en 51). (La notación usada significa, por ejemplo, que *BsmAI* corta 16 de los genes de línea germinal de FR3, comenzando un sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción en la base 11 de FR3).

Para la escisión de cadenas pesadas humanas en FR3, las endonucleasas de restricción preferidas son: *Bst4CI* (o *Taal* o *HpyCH4III*), *BlnI*, *HpyCH4V* y *MslI*. Debido a que 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 línea germinal de FR3 humanos, una de esas enzimas es la más preferida para capturar la diversidad de CDR3 de cadena pesada. *BlnI* y *HpyCH4V* son complementarios. *BlnI* corta la mayoría de los miembros de las familias VH1 y VH4, mientras que *HpyCH4V* corta la mayoría de los miembros de las familias VH3, VH5, VH6 y VH7. Ninguna enzima corta VH2s, pero esta es una familia muy pequeña, que contiene solamente tres miembros. De este modo, 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 ADN de hebra superior después de n, y ADN de hebra inferior antes de la base complementaria a n. Este es el sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción más preferido para este método en cadenas pesadas humanas debido a que se encuentra en todos los genes de línea germinal. Además, la región de reconocimiento de endonucleasa de restricción (ACnGT) coincide con la segunda y tercera bases de un codón de tirosina (tay) y el siguiente codón de cisteína (tgy) como se muestra en la Tabla 206. Estos codones están altamente conservados, especialmente la cisteína en genes de anticuerpos maduros.

La Tabla 250 E muestra los distintos oligonucleótidos de 22 bases de longitud (excepto el último, que es de 20 bases de longitud). La Tabla 255 C muestra el análisis de 1617 genes de anticuerpo de cadena pesada reales. De estos, 1511 tienen el sitio y coinciden con uno de los oligonucleótidos candidatos con hasta 4 emparejamientos erróneos. Ocho oligonucleótidos representan la mayoría de las coincidencias, y se proporcionan en la Tabla 250 F.1. Los 8 oligonucleótidos son muy similares, de modo que es probable que se conseguirá escisión satisfactoria con solamente un oligonucleótido (tal como H43.77.97.1-02#1) ajustando la temperatura, pH, salinidad, y similares. Uno o dos oligonucleótidos pueden ser suficientes igualmente siempre que las secuencias génicas de línea germinal difieran muy poco y especialmente si difieren muy poco cerca de la región de reconocimiento de endonucleasa de restricción a escindir. La Tabla 255 D muestra un análisis de repetición de 1617 genes de anticuerpo de cadena pesada reales usando solamente los 8 oligonucleótidos seleccionados. Esto muestra que 1463 de las secuencias coinciden con al menos uno de los oligonucleótidos con hasta 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 la selección de un sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción apropiado implica la escisión en FR1 de cadenas pesadas humanas. La escisión en FR1 permite la captura de toda la diversidad de CDR de la cadena pesada.

Los genes de línea germinal para FR1 de cadena pesada humana se muestran en la Tabla 217. La Tabla 220 muestra los sitios de reconocimiento de endonucleasas de restricción hallados en FR1s de genes de línea germinal humana. Los sitios preferidos son *BsgI* (GTGCAG; 39 en 4), *BsoFI* (GCngc; 43 en 6, 11 en 9, 2 en 3, 1 en 12), *TseI* (Gcwg; 43 en 6, 11 en 9, 2 en 3, 1 en 12), *MspA1I* (CMGckg; 46 en 7, 2 en 1), *PvuII* (CAGctg; 46 en 7, 2 en 1), *AluI* (AGct; 48 en 8, 2 en 2), *DdeI* (Ctnag; 22 en 52, 9 en 48), *HphI* (tcacc; 22 en 80), *BssKI* (Ncngg; 35 en 39, 2 en 40), *BsaI* (Ccnngg; 32 en 40, 2 en 41), *BstNI* (CCwgg; 33 en 40), *ScrFI* (CCngg; 35 en 40, 2 en 41), *EcoO109I* (RGgnccy; 22 en 46, 11 en 43), *Sau96I* (Ggncc; 23 en 47, 11 en 44), *Avall* (Ggwcc; 23 en 47, 4 en 44), *PpuMI* (RGgwccy; 22 en 46, 4 en 43), *BsmFI* (gtccc; 20 en 48), *HinfI* (Gantc; 34 en 16, 21 en 56, 21 en 77), *TfiI* (21 en 77), *MlyI* (GAGTC; 34 en 16), *MlyI* (gactc; 21 en 56), y *AlwNI* (CAGnnnctg; 22 en 68). Los sitios más preferidos son *MspAI* y *PvuII*. *MspAI* y *PvuII* tienen 46 sitios en 7-12 y 2 en 1-6. Para evitar escisión en ambos sitios, se usan oligonucleótidos que no abarcan completamente el sitio en 1-6. De este modo, el ADN no se escindirá en ese sitio. Se ha mostrado que el ADN que se extiende 3, 4 ó 5 bases más allá de un sitio de *PvuII* puede escindirse eficazmente.

Otra ilustración de la selección de un sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción apropiado implica escisión en FR1 de cadenas ligeras kappa humanas. La Tabla 300 muestra los genes de línea germinal de FR1 kappa humana, y la Tabla 302 muestra sitios de reconocimiento de endonucleasas de restricción que se encuentran en un número sustancial de genes de línea germinal FR1 kappa humana en localizaciones consistentes. De los sitios de reconocimiento de endonucleasas de restricción enumerados, *BsmAI* y *PfiFI* son las enzimas más preferidas. Se encuentran sitios *BsmAI* en la base 18 en 35 de 40 genes de línea germinal. Se encuentran sitios *PfiFI* en 35 de 40 genes de línea germinal en la base 12.

Otro ejemplo de selección de un sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción apropiado implica escisión en FR1 de la cadena ligera lambda humana. La Tabla 400 muestra las 31 secuencias de genes de línea germinal de FR1 lambda humana conocidas. La Tabla 405 muestra sitios de reconocimiento de endonucleasa de restricción hallados en genes de la línea germinal de FR1 lambda humana. *HinfI* y *DdeI* son las endonucleasas de restricción más preferidas para cortar cadenas lambda humanas en FR1.

Después de que se seleccione el sitio o los sitios apropiados para escisión, se preparan uno o más oligonucleótidos cortos para complementar funcionalmente, solos o en combinación, el sitio de reconocimiento seleccionado. Los oligonucleótidos también incluyen secuencias que flanquean el sitio de reconocimiento en la mayoría de los genes amplificados. Esta región flanqueante permite que la secuencia se hibride con el ADN monocatenario suficientemente para permitir la escisión por la endonucleasa de restricción específica del sitio escogido.

La longitud y secuencia reales del oligonucleótido depende del sitio de reconocimiento y las condiciones que se usen para la puesta en contacto y la escisión. La longitud debe ser suficiente para que el oligonucleótido sea funcionalmente complementario del ADN monocatenario a lo largo de una región suficientemente grande para permitir que las dos hebras se asocien, de modo que se produzca escisión a la temperatura escogida y solamente en la localización deseada.

Típicamente, los oligonucleótidos de este método preferido de la invención tienen alrededor de 17 a alrededor de 30 nucleótidos de longitud. Por debajo de alrededor de 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.

Los oligonucleótidos de esta longitud no necesitan ser complementos idénticos de los genes de línea germinal. En su lugar, pueden tolerarse unos pocos emparejamientos erróneos tomados. Preferiblemente, sin embargo, no se permiten más de 1-3 emparejamientos erróneos. Algunos emparejamientos erróneos no afectan de forma adversa a la hibridación del oligonucleótido con el ADN monocatenario. Por lo tanto, se dice que los dos ADN son funcionalmente complementarios.

El segundo método para manipular los ADN monocatenarios amplificados de esta invención para clonación comprende las etapas de:

(i) poner en contacto el ácido nucleico monocatenario con un oligonucleótido parcialmente bicatenario, siendo la región monocatenaria del oligonucleótido complementaria del ácido nucleico monocatenario en la región en la que se desea escisión, y teniendo la región bicatenaria del oligonucleótido un sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción Tipo II-S, cuyo sitio de escisión se localiza a una distancia conocida del sitio de reconocimiento; 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;

realizándose las etapas de puesta en contacto y escisión a una temperatura suficiente para mantener el ácido nucleico en forma sustancialmente monocatenaria, siendo el oligonucleótido funcionalmente complementario del ácido nucleico a lo largo de una región suficientemente grande para permitir que las dos hebras se asocien de modo que pueda producirse escisión a la temperatura escogida y en la localización deseada, y llevándose a cabo la escisión usando una endonucleasa de restricción que es activa a la temperatura seleccionada.

Este segundo método emplea endonucleasas de restricción universales ("ERU"). Las ERU son oligonucleótidos parcialmente bicatenarios. La porción monocatenaria o solapamiento de las ERU consiste en un adaptador de ADN que es funcionalmente complementario de la secuencia a escindir en el ADN monocatenario. La porción bicatenaria consiste en un sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción de tipo II-S.

El método de ERU 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 de esa región. Además, las condiciones en las que se usa la ERU pueden ajustarse, de modo que la mayoría de los genes que se amplifiquen puedan cortarse, reduciendo la preferencia en la biblioteca producida a partir de esos genes.

La secuencia del adaptador de ADN monocatenario o porción solapante de la ERU típicamente consiste en alrededor de 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 la temperatura usada para poner en contacto la ERU y el ADN monocatenario a la temperatura usada para escindir el ADN con la enzima de tipo II-S. El adaptador debe ser funcionalmente complementario del ADN monocatenario a lo largo de una región suficientemente grande para permitir que las dos hebras se asocien de modo que pueda producirse escisión a la temperatura seleccionada y en la localización deseada. Se prefieren porciones monocatenarias o solapantes de 14-17 bases de longitud, y más preferiblemente 18-20 bases de longitud.

El sitio seleccionado para escisión usando la ERU es preferiblemente uno que se conserva sustancialmente en la familia de ADN amplificados. En comparación con el primer método de escisión de esta invención, estos sitios no necesitan ser sitios de reconocimiento de endonucleasa. Sin embargo, al igual que el primer método, los sitios

escogidos pueden ser sintéticos en lugar de existir en el ADN nativo. Tales sitios pueden escogerse por referencias a las secuencias de anticuerpos conocidos u otras familias de genes. Por ejemplo, las secuencias de muchos genes de línea germinal se presentan en <http://www.mrc-cpe.cam.ac.uk/mt-doc/restricted/ok.html>. Por ejemplo, un sitio preferido aparece cerca del extremo de FR3, codón 89 hasta la segunda base del codón 93. La CDR3 comienza en el codón 95.

Las secuencias de 79 genes de cadena pesada humana también están disponibles en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entre2/nucleotide.html>. Este sitio puede usarse para identificar secuencias apropiadas para escisión con ERU de acuerdo con los métodos de esta invención. Véase, por ejemplo, la Tabla 8B.

Más preferiblemente, se identifican una o más secuencias usando estos sitios u otra información de secuencia disponible. Estas secuencias juntas se presentan en una fracción sustancial de los ADN amplificados. Por ejemplo, podrían usarse múltiples secuencias para permitir diversidad conocida en genes de línea germinal o para mutaciones somáticas frecuentes. También podrían usarse secuencias degeneradas sintéticas. Preferiblemente, se escoge una secuencia o secuencias que aparecen en al menos 65% de genes examinados con no más de 2-3 emparejamientos erróneos.

Se hace después que los adaptadores o solapamientos monocatenarios de ERU sean complementarios con las regiones escogidas.

Las condiciones para usar las ERU se determinan de forma empírica. Estas condiciones deberían permitir escisión de ADN que contiene las secuencias funcionalmente complementarias con no más de 2 ó 3 emparejamientos erróneos pero que no permitirían la escisión de ADN que carece de tales secuencias.

Como se ha descrito anteriormente, la porción bicatenaria de la ERU incluye un sitio de reconocimiento de endonucleasa tipo II-S. Puede usarse cualquier enzima de tipo II-S que sea activa a una temperatura necesaria para mantener el ADN monocatenario sustancialmente en esa forma y para permitir que la porción adaptadora de ADN monocatenario de la ERU se hibride durante suficiente tiempo con el ADN monocatenario para permitir escisión en el sitio deseado.

Las enzimas de tipo II-S preferidas para uso en los métodos de ERU de esta invención proporcionan escisión asimétrica del ADN monocatenario. Entre estas están las enzimas enumeradas en la Tabla 800. La enzima tipo II-S más preferida es FokI.

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

1) Debería estar presente exceso de la ERU frente a ADN diana para activar la enzima. ERU presente solamente en cantidades equimolares con el ADN diana produciría escasa escisión de ADNmc debido a que la cantidad de enzima activa disponible sería limitante.

2) Puede usarse un activador para activar parte de la enzima FokI para dimerizar sin provocar escisión. Se muestran ejemplos de activadores apropiados en la Tabla 510.

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

Las ERU usadas en la técnica anterior contenían un segmento monocatenario de 14 bases, un tallo de 10 bases (que contenían un sitio de FokI), seguido del palíndromo del tallo de 10 bases. Aunque pueden usarse tales ERU en los métodos de esta invención, las ERU preferidas de esta invención también incluyen un segmento de tres a ocho bases (un bucle) entre los segmentos que contienen sitios de reconocimiento de endonucleasa de restricción FokI. En la realización preferida, el tallo (que contiene el sitio FokI) y sus palíndromos también son de más de 10 bases de longitud. Preferiblemente, son de 10-14 bases de longitud. Se muestran ejemplos de estos adaptadores de ERU de tipo "piruleta" en la Tabla 5.

Un ejemplo de uso de una ERU para escindir un ADN monocatenario implica la región FR3 de cadena pesada humana. La Tabla 508 muestra un análisis de 840 cadenas pesadas humanas maduras de longitud completa con las secuencias de reconocimiento de ERU mostradas. La amplia mayoría ($718/840 = 0,85$) se reconocerán con 2 o menos emparejamientos erróneos usando cinco ERU (VHS881-1.1, VHS881-1.2, VHS881-2.1, VHS881-4.1, y VHS881-9.1). Cada una tiene una secuencia adaptadora de 20 bases para complementar el gen de línea germinal, un segmento de tallo de diez bases que contiene un sitio FokI, un bucle de cinco bases, y el complemento inverso del primer segmento de tallo. La hibridación de esos adaptadores, solos o en combinación, con ADN de cadena pesada antisentido monocatenario y el tratamiento con FokI en presencia de, por ejemplo, el activador FOKIact, conducirán a escisión de la hebra antisentido en la posición indicada.

Otro ejemplo de uso de una o varias ERU para escindir un ADN monocatenario implica la región FR1 de las cadenas ligeras kappa humanas. La Tabla 512 muestra un análisis de 182 cadenas kappa humanas de longitud completa con respecto a emparejamiento por las cuatro secuencias sonda de 19 bases mostradas. Noventa y seis por ciento de

las secuencias coinciden con una de las sondas con 2 o menos emparejamientos erróneos. Los adaptadores de ERU mostrados en la Tabla 512 son para escisión de la hebra sentido de cadenas kappa. De este modo, las secuencias adaptadoras son el complemento inverso de las secuencias de genes de línea germinal. La ERU 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 modo que se favorezca la formación de un monómero de tipo piruleta frente a dimerización. La Tabla 512 también muestra dónde se escinde la hebra sentido.

Otro ejemplo de uso de una ERU para escindir un ADN monocatenario implica la cadena ligera lambda humana. La Tabla 515 muestra análisis de 128 cadenas ligeras lambda humanas con respecto a coincidencia con las cuatro sondas de 19 bases mostradas. Con tres o menos emparejamientos erróneos, 88 de 128 (69%) de las cadenas coinciden con una de las sondas. La Tabla 515 también muestra adaptadores de ERU correspondientes a estas sondas. La hibridación de estos adaptadores con ADNmc de hebra superior de cadenas lambda y el tratamiento con *FokI* en presencia de FOKlact a una temperatura de o por encima de 45°C conducirá a escisión específica y precisa de las cadenas.

Las condiciones en las que las secuencias oligonucleotídicas cortas del primer método y las ERU 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 pueden interferir con su asociación con la secuencia oligonucleotídica o la ERU o que puedan en sí mismas proporcionar sitios para escisión por la endonucleasa de restricción escogida.

La eficacia y especificidad de oligonucleótidos cortos (primer método) y ERU (segundo método) pueden ajustarse controlando las concentraciones de los oligonucleótidos/adaptadores de ERU y el ADN de 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 momento de la digestión. Estas condiciones pueden optimizarse con oligonucleótidos sintéticos que tienen: 1) secuencias génicas de línea germinal diana, 2) secuencias génicas diana mutadas o 3) secuencias no diana algo relacionadas. El objetivo es escindir la mayoría de las secuencias diana y cantidades mínimas de no dianas.

En esta invención, el ADN monocatenario se mantiene sustancialmente en esa forma usando una temperatura entre 45°C y 75°C. Más preferiblemente, se usa una temperatura entre 50°C y 60°C, lo más preferible entre 55°C y 60°C. Estas temperaturas se emplean tanto cuando se pone en contacto el ADN con el oligonucleótido o ERU como 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 que los miembros individuales de la familia de ADN monocatenarios se escindan solamente en un sitio de reconocimiento de endonucleasa sustancialmente conservado. El método tampoco requiere que se construya un sitio de reconocimiento de endonucleasa en los cebadores de amplificación o transcripción inversa. Puede usarse cualquier sitio nativo o sintético en la familia.

El segundo método tiene ambas de estas ventajas. Además, el método de ERU permite que los ADN monocatenarios se escindan en posiciones en las que ningún sitio de reconocimiento de endonucleasas aparece de forma natural o se ha construido de forma sintética.

Resulta más importante que ambos métodos de escisión permiten el uso de cebadores 5' y 3' para maximizar la diversidad y después escisión para eliminar secuencias no deseadas o perjudiciales antes de clonación y presentación.

Después de escindir los ADN amplificados usando uno de los métodos de esta invención, el ADN se prepara para clonación. Esto se realiza usando un adaptador de ADN sintético parcialmente bicatenario, 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 modo que cuando se liga con el ADN monocatenario escindido, permite que el ADN se exprese en el marco de lectura correcto para presentar el péptido, polipéptido o proteína deseado en la superficie del paquete genético. Preferiblemente, la porción 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 cadenas pesadas humanas, se usan preferiblemente los aminoácidos del armazón 3-23 para proporcionar las secuencias requeridas para expresión del ADN escindido.

Preferiblemente, la porción bicatenaria del adaptador tiene alrededor de 12 a 100 bases de longitud. Más preferiblemente, se usan alrededor de 20 a 100 bases. La región bicatenaria del adaptador también contiene preferiblemente al menos un sitio de reconocimiento de endonucleasas útil para la clonación del ADN en un vector de presentación adecuado (o un vector receptor usado para lograr la diversidad). Este sitio de restricción de endonucleasas puede ser nativo de las secuencias génicas de línea germinal usadas para extender la secuencia de ADN. También puede construirse usando secuencias degeneradas de las secuencias génicas de línea germinal nativas. O puede ser completamente sintético.

La porción monocatenaria del adaptador es complementaria de la región de la escisión en el ADN monocatenario. El solapamiento puede ser de alrededor de 2 bases a alrededor de 15 bases. Cuanto más largo sea el solapamiento, más eficaz será probablemente la ligación. Una longitud preferida para el solapamiento es 7 a 10. Esto permite algunos emparejamientos erróneos en la región, de modo que pueda capturarse diversidad en esta región.

- 5 La región monocatenaria o solapamiento del adaptador parcialmente bicatenario es ventajosa debido a que permite que se capture ADN escindido en el sitio seleccionado, pero no otros fragmentos. Tales fragmentos contaminarían la biblioteca con genes que codifican secuencias que no se plegarán en anticuerpos apropiados y probablemente son adhesivos de forma no específica.

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

- 15 La Tabla 250 F.2 muestra la hebra inferior de la porción bicatenaria del adaptador para ligación con el ADN de hebra inferior escindido. Puesto que el sitio de HpyCH4III está tan lejos a la derecha (como se muestra en la Tabla 206), puede añadirse una secuencia que incluya el sitio *Afl*I así como el *Xba*I. Esta porción de hebra inferior del adaptador parcialmente bicatenario, H43.XAExt, incorpora sitios tanto *Xba*I como *Afl*I. La hebra superior de la porción bicatenaria del adaptador no tiene sitio (debido a emparejamientos erróneos planeados en los segmentos opuestos a los sitios *Xba*I y *Afl*I de H43.XAExt), pero se hibridará de forma muy estrecha con H43.XAExt. H43AExt contiene solamente el sitio *Afl*I y se va a usar con las hebras superiores H43.ABr1 y H43.ABr2 (que tienen alteraciones intencionadas para destruir el sitio *Afl*I).

- 20 Después de la ligación, el ADN capturado deseado puede amplificarse de nuevo por PCR, si se desea, usando en la realización preferida un cebador para la región constante en dirección 3' del gen de anticuerpo, y un cebador para parte de la región bicatenaria del adaptador. Los cebadores también pueden portar sitios de endonucleasas de restricción para su uso en la clonación del ADN amplificado.

- 25 Después de ligación, y quizás de la amplificación, del adaptador parcialmente bicatenario con el ADN amplificado monocatenario, el ADN compuesto se escinde en sitios de reconocimiento de endonucleasas 5' y 3' seleccionados.

- 30 Los sitios de escisión útiles para la clonación dependen del fago o fagómido en el que el casete se insertará, y los sitios disponibles en los genes de anticuerpo. La Tabla 1 proporciona datos de endonucleasas de restricción para 75 cadenas ligeras humanas. La Tabla 2 muestra datos correspondientes para 79 cadenas pesadas humanas. En cada Tabla, las endonucleasas se ordenan por frecuencia creciente de corte. En estas Tablas, Nch es el número de cadenas cortadas por la enzima, y Ns es el número de sitios (algunas cadenas tienen más de un sitio).

A partir de este análisis, son muy adecuados *Sfi*I, *Not*I, *Afl*I, *Apa*LI, y *Asc*I. *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.

- 35 Aparecen sitios *Bst*EII en 97% de genes JH de línea germinal. En genes V reordenados, solo 54/79 (68%) de los genes de cadena pesada contienen un sitio *Bst*EII, y 7/61 de éstos contienen dos sitios. De este modo, 47/79 (59%) contienen un único sitio *Bst*EII. Una alternativa al uso de *Bst*EII es escindir mediante ERU el final de JH y ligarlo a un oligonucleótido sintético que codifica parte de CH1.

- 40 Un ejemplo de preparación de una familia de secuencias de ADN usando los métodos de esta invención implica capturar diversidad de CDR 3 humana. Como se ha descrito anteriormente, los ARNm de diversos pacientes autoinmunes se transcriben de forma inversa en ADNc de hebra inferior. Después de que se degrada el ARN de hebra superior, la hebra inferior se inmoviliza y se usa un oligonucleótido corto para escindir el ADNc en dirección 5' de CDR 3. Después se hibrida un adaptador de ADN sintético parcialmente bicatenario 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 después usando *Bst*EII (en FR4) y una endonucleasa de restricción apropiada para el adaptador parcialmente bicatenario (por ejemplo *Xba*I y *Afl*III (en FR3)). El ADN se liga después en un esqueleto de VH sintético tal como 3-23.

- 50 Un ejemplo de preparación de un ADN monocatenario que se escindió usando el método de ERU implica la cadena kappa humana. El sitio de escisión en la hebra sentido de esta cadena se representa en la Tabla 512. El oligonucleótido kapextURE se hibrida con los oligonucleótidos (kaBR01UR, kaBR02UR, kaBR03UR y kaBR04UR) para formar un ADN parcialmente bicatenario. Este ADN se liga después con las cadenas kappa solubles escindidas. El producto de ligación se amplifica después usando cebadores kapextUREPCR y CKForeAsc (que inserta un sitio *Asc*I después del extremo de C kappa). Este producto se escinde después con *Apa*LI y *Asc*I y se liga con vector receptor cortado de forma similar.

- 55 Otro ejemplo implica la escisión ilustrada en la Tabla 515. Después de la escisión, se hibridan un alargador (ON_LamEx133) y cuatro oligonucleótidos puente (ON_LamB1-133, ON_LamB2-133, ON_LamB3-133 y ON_LamB4-133) para formar un ADN parcialmente bicatenario. Ese ADN se liga con las hebras sentido de 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 cadenas pesadas humanas, se pueden escindir casi todos los genes en FR4 (en dirección 3', es decir, hacia el extremo 3' de la hebra sentido, de CDR3) en un sitio *BstEII* que aparece en una posición constante en una fracción muy grande de genes V de cadena pesada humana. Se necesita después un sitio en FR3, si solamente se va a capturar diversidad de CDR3; en FR2, si se quiere diversidad de CDR2 y CDR3; o en FR1, si se quiere diversidad en todas las CDR. Estos sitios se insertan preferiblemente como parte del adaptador parcialmente bicatenario.

El procedimiento preferido de esta invención es proporcionar vectores receptores que tengan sitios que permitan clonar cadenas pesadas o ligeras. Tales vectores son bien conocidos, y se usan ampliamente en la técnica. Un vector de presentación de fagos preferido de acuerdo con esta invención es el fago MALIA3. Este se presenta en el gen III. La secuencia del fago MALIA3 se muestra en la Tabla 120A (anotada) y Tabla 120B (condensada).

El ADN que codifica las regiones seleccionadas de las cadenas ligeras o pesadas puede transferirse a los vectores usando endonucleasas que cortan cadenas ligeras o pesadas solamente de forma muy rara. Por ejemplo, pueden capturarse cadenas ligeras con *ApaLI* y *Ascl*. Se clonan preferiblemente genes de cadena pesada en un vector receptor que tenga sitios *SfiI*, *NcoI*, *XbaI*, *AflII*, *BstEII*, *Apal*, y *NotI*. Las cadenas ligeras se mueven preferiblemente a la biblioteca como fragmentos *ApaLI*-*Ascl*. Las cadenas pesadas se mueven preferiblemente a la biblioteca como fragmentos *SfiI*-*NotI*.

Lo más preferible, la presentación se realiza en la superficie de un derivado del fago M13. El vector más preferido contiene todos los genes de M13, un gen de resistencia a antibióticos, y el casete de presentación. El vector preferido se proporciona con sitios de restricción que permiten la introducción y escisión de miembros de la familia diversa de genes, como casetes. El vector preferido es estable frente a reordenamiento en las condiciones de crecimiento usadas para amplificar fagos.

En otra realización de esta invención, la diversidad capturada por los métodos de la presente invención puede presentarse en un vector fagómico (por ejemplo, pCES1) que presenta el péptido, polipéptido o proteína en la proteína III. Tales vectores también pueden usarse para almacenar la diversidad para la presentación posterior usando otros vectores o fagos.

En otra realización, el modo de presentación puede ser a través de un enlazador corto con tres posibles dominios de anclaje, siendo un dominio de anclaje la porción final de M13 III ("IIIstump"), siendo un segundo anclaje la proteína madura de longitud completa III, y siendo el tercero la proteína madura M13 VIII.

El fragmento IIIstump contiene suficiente M13 III para ensamblarse en un fago pero no los dominios implicados en mediar la infecciosidad. Debido a que están presentes las proteínas III y VIII de tipo salvaje (w.t.), el fago probablemente no suprima los genes de anticuerpo, y el fago que sí suprime estos segmentos recibe solamente una ventaja de crecimiento muy pequeña. Para cada uno de los dominios de anclaje, el ADN codifica la secuencia de aminoácidos de w.t., pero difiere de la secuencia de ADN de w.t. en un grado muy alto. Esto reducirá en gran medida el potencial de recombinación homóloga entre el anclaje de presentación y el gen de w.t. que también está presente.

Lo más preferible, la presente invención usa un fago completo que porta un gen de resistencia a antibióticos (tal como un gen de resistencia a ampicilina) y el casete de presentación. Debido a que están presentes los genes III y VIII de w.t., también están presentes las proteínas de w.t. El casete de presentación se transcribe a partir de un promotor regulable (por ejemplo, P_{lacZ}). El uso de un promotor regulable permite el control de la relación del gen de presentación de fusión con respecto a la proteína de recubrimiento de w.t. correspondiente. Esta relación determina el número promedio de copias de la fusión de presentación por partícula de fago (o fagómico).

La memoria descriptiva describe un método de presentación de péptidos, polipéptidos o proteínas (y particularmente Fabs) en fago filamentoso. En la realización más preferida, este método presenta FABs, y comprende:

a) obtener un casete que captura una diversidad de segmentos de ADN que codifican los elementos:

$P_{reg}::RBS1::SS1::VL::CL::parada::RBS2::SS2::VH::CH1::enlazador::anclaje::parada::$

en el que P_{reg} es un promotor regulable, RBS1 es un primer sitio de unión a ribosoma, SS1 es una secuencia señal operable en la cepa hospedante, VL es un miembro de un conjunto diverso de regiones variables de cadena ligera, CL es una región constante de cadena ligera, parada es uno o más codones de parada, RBS2 es un segundo sitio de unión a ribosoma, SS2 es una segunda secuencia señal operable en la cepa hospedante, VH es un miembro de un conjunto diverso de regiones variables de cadena pesada, CH1 es un primer dominio constante de cadena pesada de anticuerpo, enlazador es una secuencia de aminoácidos de uno a alrededor de 50 restos, anclaje es una proteína que se ensamblará en la partícula de fago filamentoso, y parada es un segundo ejemplo de uno o más codones de parada; y

b) posicionar ese casete dentro del genoma del fago para maximizar la viabilidad del fago y minimizar el potencial de supresión del casete o partes del mismo.

El ADN que codifica la proteína de anclaje en el casete preferido anterior debería diseñarse para codificar la misma secuencia de aminoácidos (o una estrechamente relacionada) como se encuentra en una de las proteínas de recubrimiento del fago, pero con una secuencia de ADN distinta. Esto es para evitar recombinación homóloga no deseada con el gen de w.t. Además, el casete debería situarse en la región intergénica. El posicionamiento y orientación del casete de presentación pueden influir en el comportamiento del fago.

Puede situarse un terminador de la transcripción después de la segunda parada del casete de presentación anterior (por ejemplo, Trp). Esto reducirá la interacción entre el casete de presentación y otros genes en el vector de presentación de anticuerpos en fagos (PADV).

En otra realización, el fago o fagómido puede presentar proteínas distintas de Fab, reemplazando las porciones de Fab indicadas anteriormente, con otros genes de proteínas.

Pueden usarse diversos hospedantes para el crecimiento del fago o fagómidos de presentación. Tales hospedantes son bien conocidos en la técnica. En la realización preferida, en la que se presentan Fabs, el hospedante preferido debería crecer a 30°C y ser RecA⁻ (para reducir recombinación genética no deseada) y EndA⁻ (para hacer la recuperación de ADN RF más fácil). También debería preferirse que la cepa hospedante se transforme fácilmente por electroporación.

XLI-Blue MRF⁺ satisface la mayoría de estas preferencias, pero no crece bien a 30°C. XLI-Blue MRF⁺ crece lentamente a 38°C y de este modo es un hospedante aceptable. TG-1 es también un hospedante aceptable aunque es RecA⁺ y EndA⁺. XLI-Blue MRF⁺ se prefiere más para el hospedante intermedio usado para acumular diversidad antes de la construcción final de la biblioteca.

Después de la presentación, las bibliotecas de esta invención pueden explorarse usando técnicas bien conocidas y usadas convencionalmente. Los péptidos, polipéptidos o proteínas seleccionados pueden usarse después para tratar enfermedad. Generalmente, los péptidos, polipéptidos o proteínas para su uso 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. Ese ADN se usa en métodos convencionales para producir el péptido, polipéptidos o proteína que codifica en células hospedantes apropiadas, preferiblemente células hospedantes de mamífero, por ejemplo células CHO. Después del aislamiento, el péptido, polipéptido o proteína se usa solo o con composiciones farmacéuticamente aceptables en terapia para tratar enfermedad.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Captura de cadenas kappa con BsmAI:

Se preparó un repertorio de ARNm de cadena kappa humana tratando ARN total o poli(A⁺) aislado de una colección de pacientes que tienen diversas enfermedades autoinmunes con fosfatasa intestinal de ternero para eliminar el fosfato en 5' de todas las moléculas que los tengan, tales como ARN ribosómico, ARNm fragmentado, ARNt y ADN genómico. El ARNm de longitud completa (que contiene una estructura de caperuza de 7-metil protectora) no se ve afectado. El ARN se trata después con pirofosfatasa ácida de tabaco para eliminar la estructura de caperuza de los ARNm de longitud completa, dejando un grupo monofosfato en 5'.

Los ARNm de longitud completa se modificaron con un adaptador en el extremo 5' y después se transcribieron de forma inversa y se amplificaron usando el método y kit GeneRACE™ (Invitrogen). Se usó un cebador biotinilado de 5' complementario del adaptador y un cebador de 3' complementario de una porción de la región del constructo.

Se inmovilizaron aproximadamente 2 microgramos (ug) de material RACE de gen de cadena kappa humana (Igkappa) con biotina unida en el extremo 5' de la cadena superior en 200 microlitros (μl) de perlas magnéticas Seradyn. La hebra inferior se eliminó lavando el ADN con 2 alícuotas de 200 μl de NaOH 0,1 M (pH 13) durante 3 minutos para la primera alícuota, seguido de 30 segundos para la segunda alícuota. Las perlas se neutralizaron con 200 μl de Tris 10 mM (pH 7,5) NaCl 100 mM. Los oligonucleótidos cortos mostrados en la Tabla 525 se añadieron en un exceso molar de 40 veces en 100 μl de tampón NEB 2 (NaCl 50 mM, Tris-HCl 10 mM, MgCl₂ 10 mM, ditiotritol 1 mM pH 7,9) a las perlas secas. La mezcla se incubó a 95°C durante 5 minutos y después se enfrió hasta 55°C durante 30 minutos. Se eliminó por lavado el exceso de oligonucleótido con 2 lavados de tampón NEB 3 (NaCl 100 mM, Tris-HCl 50 mM, MgCl₂ 10 mM, ditiotritol 1 mM pH 7,9). Se añadieron diez unidades de BsmAI (NEB) en tampón NEB 3 y se incubaron durante 1 hora a 55°C. El ADN escindido en dirección 3' se recogió y purificó sobre una columna de purificación de PCR Qiagen (FIGURAS 3 y 4).

Se preparó un adaptador parcialmente bicatenario usando el oligonucleótido mostrado en la Tabla 525. El adaptador se añadió al ADN monocatenario en exceso molar de 100 veces junto con 1000 unidades de ADN ligasa T4 (NEB) y se incubó durante toda la noche a 16°C. El oligonucleótido en exceso se eliminó con una columna de purificación de PCR Qiagen. El material ligado se amplificó mediante PCR usando los cebadores kapPCRt1 y kapfor mostrados en la Tabla 525 durante 10 ciclos con el programa mostrado en la Tabla 530.

El producto de PCR soluble se procesó en un gel y mostró una banda de aproximadamente 700 n, como se esperaba (FIGURAS 5 y 6). El ADN se escindió con enzimas *Apa*LI y *As*cl, se purificó en gel y se ligó con vector pCES1 escindido de forma similar. La presencia del inserto de tamaño correcto se comprobó mediante PCR en varios clones como se muestra en la FIGURA 15.

- 5 La Tabla 500 muestra la secuencia de ADN de una cadena ligera kappa capturada por este procedimiento. La Tabla 501 muestra una segunda secuencia capturada por este procedimiento. La secuencia puente más cercana fue complementaria de la secuencia 5'-agccacc-3', pero la secuencia capturada es 5'-Tgccacc-3', lo que muestra que se tolera cierto emparejamiento erróneo en la región solapada.

Ejemplo 2: Construcción de Diversidad de CDR1 y CDR2 sintética en almacén V-3-23 VH

- 10 Se construyó una diversidad de Región Determinante de Complementariedad (CDR) 1 y 2 sintética en el almacén VH 3-23 en un procedimiento de dos etapas: en primer lugar, se construyó un vector que contenía el almacén VH 3-23, y después, se ensambló una CDR 1 y 2 sintética y se clonó en este vector.

Para la construcción del almacén V3-23, se diseñaron 8 oligonucleótidos y dos cebadores de PCR (oligonucleótidos largos: TOPFR1A, BOTFR1B, BOTFR2, BOTFR3, F06, BOTFR4, ON-vgC1, y ON-vgC2 y cebadores: SFPRMET y BOTPCRPRIM, mostrados en la Tabla 600) que solapan, basándose en la secuencia de Genbank de VH V323. El diseño incorporó al menos un sitio de restricción útil en cada región del almacén, como se muestra en la Tabla 600. En la Tabla 600, los segmentos que se sintetizaron se muestran en negrita, las regiones solapantes están subrayadas, y las regiones de cebado de PCR en cada extremo están subrayadas. Se combinó una mezcla de estos 8 oligonucleótidos a una concentración final de 2,5 uM en una Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) de 20 ul. La mezcla de PCR contenía dNTP 200 uM, MgCl₂ 2,5 mM, ADN Polimerasa *Pfu Turbo*TM 0,02 U, ADN Polimerasa Taq HotStart Qiagen 1U y tampón de PCR Qiagen 1X. El programa de PCR consistía en 10 ciclos de 94°C durante 30 segundos, 55°C durante 30 segundos y 72°C durante 30 segundos. La secuencia de ADN ensamblada V3-23 se amplificó después, usando 2,5 ul de una dilución 10 veces de la PCR inicial en reacción de PCR de 100 ul. La reacción de PCR contenía dNTP 200 uM, MgCl₂ 2,5 mM, ADN Polimerasa *Pfu Turbo*TM 0,02 U, ADN Polimerasa Taq HotStart Qiagen 1U, tampón de PCR Qiagen 1X, y 2 cebadores externos (SFPRMET y BOTPCRPRIM) a una concentración de 1 uM. El programa de PCR consistió en 23 ciclos a 94°C durante 30 segundos, 55°C durante 30 segundos y 72°C durante 60 segundos. La secuencia de ADN de VH V3-23 se digirió y se clonó en pCES1 (vector fagómico) usando los sitios de endonucleasas de restricción *Sfi*I y *Bst*EII (Todas las enzimas de restricción mencionadas en la presente memoria fueron proporcionadas por New England BioLabs, Beverly, MA, y se usaron según las instrucciones del fabricante).

Se introdujeron secuencias de relleno (mostradas en la Tabla 610 y Tabla 620) en pCES1 para reemplazar secuencias de CDR1/CDR2 (900 bases entre sitios de ER *Bsp*EI y *Xba*I) y secuencias de CDR3 (358 bases entre *Afl*II y *Bst*EII), antes de clonar la diversidad de CDR1/CDR2. El nuevo vector es pCES5, y su secuencia se da en la Tabla 620. Tener rellenos en lugar de las CDRs evita el riesgo de que una secuencia parental esté sobrerrepresentada en la biblioteca. El relleno de CDR1-2 contiene 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 dentro del vector pCES5. El relleno que reemplaza CDR3 contiene el sitio de endonucleasa de restricción único *Rsr*II. Las secuencias de relleno son fragmentos del gen de penicilasa de *E. coli*.

Para la construcción de la diversidad de CDR1 y CDR2, se diseñaron 4 oligonucleótidos solapantes (ON-vgC1, ON_Br12, ON_CD2Xba y ON-vgC2, mostrados en la Tabla 600 y Tabla 630) que codifican CDR1/2, más regiones flanqueantes. Se combinó una mezcla de esos 4 oligonucleótidos a una concentración final de 2,5 uM en una reacción de PCR de 40 ul. Dos de los 4 oligonucleótidos contenían secuencias variegadas posicionadas en la CDR1 y la CDR2. La mezcla de PCR contenía dNTP 200 uM, ADN Polimerasa Pwo 2,5 U (Roche) y tampón de PCR Pwo 1X con MgSO₄ 2 mM. El programa de PCR consistió en 10 ciclos a 94°C durante 30 segundos, 60°C durante 30 segundos, y 72°C durante 60 segundos. Esta secuencia de ADN de CDR1/2 ensamblada se amplificó, usando 2,5 ul de la mezcla en reacción de PCR de 100 ul. La reacción de PCR contenía dNTP 200 uM, ADN Polimerasa Pwo 2,5 U, tampón de PCR Pwo 1X con MgSO₄ 2 mM, y 2 cebadores externos a una concentración de 1 uM. El programa de PCR consistía en 10 ciclos a 94°C durante 30 segundos, 60°C durante 30 segundos, y 72°C durante 60 segundos. Estas secuencias variegadas se digirieron y clonaron en el almacén de V3-23 en lugar del relleno de CDR1/2.

- 50 Se obtuvieron aproximadamente 7×10^7 transformantes independientes. En esta diversidad, se pueden clonar diversidad de CDR3 a partir de poblaciones donantes o de ADN sintético.

Además, la presente solicitud describe los siguientes apartados:

1. Un método para escindir secuencias de ácido nucleico monocatenarias en una localización deseada, comprendiendo el método las etapas de:

- (i) poner en contacto el ácido nucleico con un oligonucleótido monocatenario, siendo el oligonucleótido monocatenario funcionalmente complementario del 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 con la restricción da como resultado 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;

5 realizándose las etapas de puesta en contacto y escisión a una temperatura suficiente para mantener el ácido nucleico en forma sustancialmente monocatenaria, siendo el oligonucleótido funcionalmente complementario del ácido nucleico a lo largo de una región suficientemente grande para permitir que las dos hebras se asocien de modo que pueda producirse la escisión a la temperatura escogida y en la localización deseada, y llevándose a cabo la escisión usando una endonucleasa de restricción que está activa a la temperatura escogida.

10 2. Un método para escindir secuencias de ácido nucleico monocatenarias en una localización deseada, comprendiendo el método las etapas de:

15 (i) poner en contacto el ácido nucleico con un oligonucleótido parcialmente bicatenario, siendo la región monocatenaria del oligonucleótido funcionalmente complementaria del 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 de Tipo II-S, cuyo sitio de escisión se localiza a una distancia conocida del sitio de reconocimiento; y

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

20 realizándose las etapas de puesta en contacto y escisión a una temperatura suficiente para mantener el ácido nucleico en forma sustancialmente monocatenaria, siendo el oligonucleótido funcionalmente complementario del ácido nucleico a lo largo de una región suficientemente grande para permitir que las dos hebras se asocien de modo que pueda producirse la escisión a la temperatura escogida y en la localización deseada, y llevándose a cabo la escisión usando una endonucleasa de restricción que está activa a la temperatura escogida.

25 3. En un método para presentar un miembro de una familia diversa de péptidos, polipéptidos o proteínas en la superficie de un paquete genético y presentar colectivamente al menos una parte de la diversidad de la familia, caracterizándose la mejora porque la al menos una parte de péptido, polipéptido o proteína presentada está codificada al menos en parte por un ácido nucleico que se ha escindido en una localización deseada por un método que comprende las etapas de:

30 (i) poner en contacto el ácido nucleico con un oligonucleótido monocatenario, siendo el oligonucleótido funcionalmente complementario del 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 con la restricción da como resultado escisión del ácido nucleico en la localización deseada; y

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

40 realizándose las etapas de puesta en contacto y escisión a una temperatura suficiente para mantener el ácido nucleico en forma sustancialmente monocatenaria, siendo el oligonucleótido funcionalmente complementario del ácido nucleico a lo largo de una región suficientemente grande para permitir que las dos hebras se asocien de modo que pueda producirse la escisión a la temperatura escogida y en la localización deseada, y llevándose a cabo la escisión usando una endonucleasa de restricción que está activa a la temperatura escogida.

4. En un método para presentar un miembro de una familia diversa de péptidos, polipéptidos o proteínas en la superficie de un paquete genético y presentar colectivamente al menos una parte de la diversidad de la familia, caracterizándose la mejora porque el péptido, polipéptido o proteína presentado está codificado por una secuencia de ADN que comprende un ácido nucleico que se ha escindido en una localización deseada

45 (i) poniendo en contacto el ácido nucleico con un oligonucleótido parcialmente bicatenario, siendo la región monocatenaria del oligonucleótido funcionalmente complementaria del 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 de Tipo II-S, cuyo sitio de escisión se localiza a una distancia conocida del sitio de reconocimiento; y

50 (ii) escindiendo el ácido nucleico solamente en el sitio de escisión de Tipo II-S formado por la complementación del ácido nucleico y la región monocatenaria del oligonucleótido;

realizándose las etapas de puesta en contacto y escisión a una temperatura suficiente para mantener el ácido nucleico en forma sustancialmente monocatenaria, siendo el oligonucleótido funcionalmente complementario del ácido nucleico a lo largo de una región suficientemente grande para permitir que las dos hebras se asocien de

modo que pueda producirse la escisión a la temperatura escogida y en la localización deseada, y llevándose a cabo la escisión usando una endonucleasa de restricción que está activa a la temperatura escogida.

5. Un método para presentar un miembro de una familia diversa de péptidos, polipéptidos o proteínas en la superficie de un paquete genético y presentar colectivamente al menos una parte de la diversidad de la familia, comprendiendo el método las etapas de:

(i) preparar una colección de ácidos nucleicos que codifican al menos en parte miembros de la familia diversa,

(ii) hacer monocatenarios a los ácidos nucleicos;

(iii) escindir los ácidos nucleicos monocatenarios en una localización deseada mediante un método que comprende las etapas de:

(a) poner en contacto el ácido nucleico con un oligonucleótido monocatenario, siendo el oligonucleótido funcionalmente complementario del 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 con la restricción da como resultado escisión del ácido nucleico en la localización deseada, y

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

realizándose las etapas de puesta en contacto y escisión a una temperatura suficiente para mantener el ácido nucleico en forma sustancialmente monocatenaria, siendo el oligonucleótido funcionalmente complementario del ácido nucleico a lo largo de una región suficientemente grande para permitir que las dos hebras se asocien de modo que pueda producirse la escisión a la temperatura escogida y en la localización deseada, y llevándose a cabo la escisión usando una endonucleasa de restricción que está activa a la temperatura escogida; y

(iv) presentar un miembro de la familia de péptidos, polipéptidos o proteínas codificados, al menos en parte, por los ácidos nucleicos escindidos en la superficie del paquete genético y presentar colectivamente al menos una porción de la diversidad de la familia.

6. Un método para presentar un miembro de una familia diversa de péptidos, polipéptidos o proteínas en la superficie de un paquete genético y presentar colectivamente al menos una porción de la diversidad de la familia, comprendiendo el método las etapas de:

(i) preparar una colección de ácidos nucleicos que codifican al menos en parte, miembros de la familia diversa,

(ii) hacer monocatenarios a los ácidos nucleicos;

(iii) escindir los ácidos nucleicos monocatenarios en una localización deseada mediante un método que comprende las etapas de:

(a) poner en contacto el ácido nucleico con un oligonucleótido monocatenario, siendo la región monocatenaria del oligonucleótido funcionalmente complementaria del 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 de Tipo II-S, cuyo sitio de escisión se localiza a una distancia conocida del sitio de reconocimiento; y

(b) escindir el ácido nucleico solamente en el sitio de escisión de Tipo II-S formado por la complementación del ácido nucleico y la región monocatenaria del oligonucleótido;

realizándose las etapas de puesta en contacto y escisión a una temperatura suficiente para mantener el ácido nucleico en forma sustancialmente monocatenaria, siendo el oligonucleótido funcionalmente complementario del ácido nucleico a lo largo de una región suficientemente grande para permitir que las dos hebras se asocien de modo que pueda producirse la escisión a la temperatura escogida y en la localización deseada, y llevándose a cabo la escisión usando una endonucleasa de restricción que está activa a la temperatura escogida; y

(iv) presentar un miembro de la familia de péptidos, polipéptidos o proteínas codificados, al menos en parte, por los ácidos nucleicos escindidos en la superficie del paquete genético y presentar colectivamente al menos una porción de la diversidad de la familia.

7. Una biblioteca que comprende una colección de paquetes genéticos que presenta un miembro de una familia diversa de péptidos, polipéptidos o proteínas y presenta de forma colectiva al menos una porción de la diversidad de la familia, produciéndose la biblioteca usando los métodos de los apartados 3, 4, 5 ó 6.

8. Una biblioteca que comprende una colección de paquetes genéticos que presenta un miembro de una familia diversa de péptidos, polipéptidos o proteínas y que presenta de forma colectiva al menos una porción de la familia, siendo codificados los péptidos, polipéptidos o proteínas presentados por secuencias de ADN que comprenden al menos en parte secuencias producidas escindiendo secuencias de ácido nucleico monocatenarias en una localización deseada mediante un método que comprende las etapas de:

(i) poner en contacto el ácido nucleico con un oligonucleótido monocatenario, siendo el oligonucleótido funcionalmente complementario del 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 con la restricción da como resultado 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 puesta en contacto y escisión a una temperatura suficiente para mantener el ácido nucleico en forma sustancialmente monocatenaria, siendo el oligonucleótido funcionalmente complementario del ácido nucleico a lo largo de una región suficientemente grande para permitir que las dos hebras se asocien de modo que pueda producirse la escisión a la temperatura escogida y en la localización deseada, y llevándose a cabo la escisión usando una endonucleasa de restricción que está activa a la temperatura escogida.

9. Una biblioteca que comprende una colección de paquetes genéticos que presenta un miembro de una familia diversa de péptidos, polipéptidos o proteínas y que presenta de forma colectiva al menos una porción de la diversidad de la familia de los péptidos, polipéptidos o proteínas presentados que es codificada por secuencias de ADN que comprenden al menos en parte secuencias producidas escindiendo secuencias de ácido nucleico monocatenarias en una localización deseada mediante un método que comprende las etapas de:

(i) poner en contacto el ácido nucleico con un oligonucleótido parcialmente bicatenario, siendo la región monocatenaria del oligonucleótido funcionalmente complementaria del 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 de Tipo II-S, cuyo sitio de escisión se localiza a una distancia conocida del sitio de reconocimiento en el que se desea la escisión del ácido nucleico; y

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

realizándose las etapas de puesta en contacto y escisión a una temperatura suficiente para mantener el ácido nucleico en forma sustancialmente monocatenaria, siendo el oligonucleótido funcionalmente complementario del ácido nucleico a lo largo de una región suficientemente grande para permitir que las dos hebras se asocien de modo que pueda producirse la escisión a la temperatura escogida y en la localización deseada, y llevándose a cabo la escisión usando una endonucleasa de restricción que está activa a la temperatura escogida.

10. Los métodos de acuerdo con uno cualquiera de los apartados 1 a 9, en los que los ácidos nucleicos codifican al menos una porción de una inmunoglobulina.

11. Los métodos de acuerdo con el apartado 10, en los que la inmunoglobulina comprende un Fab o Fv monocatenario.

12. Los métodos de acuerdo con el apartado 10 u 11, en los que la inmunoglobulina comprende al menos una porción de una cadena pesada.

13. Los métodos de acuerdo con el apartado 12, en los que al menos una porción de la cadena pesada es humana.

14. Los métodos de acuerdo con el apartado 10 u 11, en los que la inmunoglobulina comprende al menos una porción de FR1.

15. Los métodos de acuerdo con el apartado 14, en el que al menos una porción de la FR1 es humana.

16. Los métodos de acuerdo con el apartado 10 u 11, en los que la inmunoglobulina comprende al menos una porción de una cadena ligera.

17. Los métodos de acuerdo con el apartado 16, en los que al menos una porción de la cadena ligera es humana.

18. Los métodos de acuerdo con uno cualquiera de los apartados 1 a 9, en los que las secuencias de ácido nucleico derivan al menos en parte de pacientes que padecen al menos una enfermedad autoinmune y/o cáncer.

19. Los métodos de acuerdo con el apartado 18, en los que la enfermedad autoinmune se selecciona del grupo que comprende lupus eritematoso, esclerosis sistémica, artritis reumatoide, síndrome antifosfolípido o vasculitis.
- 5 20. Los métodos de acuerdo con el apartado 18, en los que los ácidos nucleicos se aíslan al menos en parte del grupo que comprende células de sangre periférica, células de médula ósea, células del bazo o células de ganglios linfáticos.
21. Los métodos de acuerdo con el apartado 5 ó 6, que comprenden además una etapa de amplificación de ácido nucleico entre las etapas (i) y (ii), entre las etapas (ii) y (iii) o entre las etapas (iii) y (iv).
22. Los métodos de acuerdo con el apartado 21, en los que la etapa de amplificación usa geneRACE™.
- 10 23. Los métodos de acuerdo con uno cualquiera de los apartados 1 a 9, en los que la temperatura está entre 45°C y 75°C.
24. Los métodos de acuerdo con el apartado 23, en los que la temperatura está entre 50°C y 60°C.
25. Los métodos de acuerdo con el apartado 24, en los que la temperatura está entre 55°C y 60°C.
- 15 26. Los métodos de acuerdo con el apartado 1, 3, 5 u 8, en los que la longitud del oligonucleótido monocatenario está entre 17 y 30 bases.
27. Los métodos de acuerdo con el apartado 26, en los que la longitud del oligonucleótido monocatenario está entre 18 y 24 bases.
- 20 28. Los métodos de acuerdo con el apartado 1, 3, 5 u 8, en los que la endonucleasa de restricción se selecciona del grupo que comprende: *MaellI*, *Tsp45I*, *HphI*, *BsaJI*, *AluI*, *BplI*, *DdeI*, *BglII*, *MslI*, *BsiEI*, *EaeI*, *EagI*, *HaeIII*, *Bst4CI*, *HpyCH4III*, *Hinfl*, *MlyI*, *PleI*, *MnlI*, *HpyCH4V*, *BsmAI*, *Bpml*, *XmnI*, o *SacI*.
29. Los métodos de acuerdo con el apartado 28, en los que la endonucleasa de restricción se selecciona del grupo que comprende *Bst4CI*, *TaaI*, *HpyCH4III*, *BplI*, *HpyCH4V* o *MslI*.
30. Los métodos de acuerdo con el apartado 2, 4, 6 ó 9, en los que la longitud de la región monocatenaria del oligonucleótido parcialmente bicatenario está entre 14 y 22 bases.
- 25 31. Los métodos de acuerdo con el apartado 30, en los que la longitud de la región monocatenaria del oligonucleótido parcialmente bicatenario está entre 14 y 17 bases.
32. Los métodos de acuerdo con el apartado 31, en los que la longitud de la región monocatenaria del oligonucleótido está entre 18 y 20 bases.
- 30 33. Los métodos de acuerdo con el apartado 2, 4, 6 ó 9, en los que la longitud de la región bicatenaria del oligonucleótido parcialmente bicatenario está entre 10 y 14 pares de bases formada por un tallo y su palíndromo.
34. Los métodos de acuerdo con el apartado 33, en los que el oligonucleótido parcialmente bicatenario comprende un bucle de 3 a 8 bases entre el tallo y el palíndromo.
- 35 35. Los métodos de acuerdo con los apartados 2, 4, 6 ó 9, en los que la endonucleasa de restricción de Tipo II-S se selecciona del grupo que comprende *AarI/CAC*, *AceIII*, *Ebr7I*, *BbvI*, *BbvII*, *Bce83I*, *BceAI*, *Bcefl*, *BciVI*, *Bfil*, *BinI*, *BscAI*, *BseRI*, *BsmFI*, *BspMI*, *Ecil*, *Eco57I*, *FauI*, *FokI*, *GsuI*, *HgaI*, *HphI*, *MbolI*, *MlyI*, *MmeI*, *MnlI*, *PleI*, *RleAI*, *SfaNI*, *SspD5I*, *Sth132I*, *StsI*, *TaqII*, *Tth111II*, or *UbaPI*.
36. Los métodos de acuerdo con el apartado 35, en los que la endonucleasa de restricción de Tipo II-S es *FokI*.
37. Un método para preparar ácidos nucleicos monocatenarios para clonar en un vector, comprendiendo el método las etapas de:
 - 40 (i) poner en contacto una secuencia de ácido nucleico monocatenario que se ha escindido con una endonucleasa de restricción con un oligonucleótido parcialmente bicatenario, siendo la región monocatenaria del oligonucleótido funcionalmente complementaria del ácido nucleico en la región que permanece después de la escisión, incluyendo la región bicatenaria del oligonucleótido cualesquiera secuencias necesarias para devolver las secuencias que permanecen después de la escisión al marco de lectura apropiado y original para expresión y conteniendo un sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción de 5' de esas secuencias; y
 - 45 (ii) escindir la secuencia oligonucleotídica parcialmente bicatenaria solamente en el sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción contenido dentro de la región bicatenaria del oligonucleótido parcialmente bicatenario.

38. El método de acuerdo con el apartado 37, en el que la longitud de la porción monocatenaria del oligonucleótido parcialmente bicatenario está entre 2 y 15 bases.

39. El método de acuerdo con el apartado 38, en el que la longitud de la porción monocatenaria del oligonucleótido parcialmente bicatenario está entre 7 y 10 bases.

5 40. El método de acuerdo con el apartado 37, en el que la longitud de la porción bicatenaria del oligonucleótido parcialmente bicatenario está entre 12 y 100 pares de bases.

41. El método de acuerdo con el apartado 40, en el que la longitud de la porción bicatenaria del oligonucleótido parcialmente bicatenario está entre 20 y 100 pares de bases.

LISTADO DE SECUENCIAS

10 <110> DYAX CORPORATION

<120> NUEVOS MÉTODOS PARA CONSTRUIR BIBLIOTECAS DE PAQUETES GENÉTICOS QUE PRESENTAN COLECTIVAMENTE LOS MIEMBROS DE UNA FAMILIA DIVERSA DE PÉPTIDOS, POLIPÉPTIDOS O PROTEÍNAS

<130> DYAX/002

15 <140> PCT/US01/12454

<141> 17-04-2001

<150> 60/198,069

<151> 17-04-2000

<160> 428

20 <170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 17

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 1

catgtgtatt actgtgc 17

<210> 2

30 <211> 44

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

35 <400> 2

cacatccgtg cttctgcac ggatgtggca cagtaataca catg 44

<210> 3

<211> 18

<212> ADN

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 3
 5 gtgtattaga ctgctgcc 18
 <210> 4
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 4
 ggcagcagtc taatacacca catccgtgtt cttcacggat gtc 43
 <210> 5
 15 <211> 47
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 20 <400> 5
 cacatccgtg ttgttacac ggatgtggtg tcttacagtc cattctg 47
 <210> 6
 <211> 20
 <212> ADN
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 6
 cagaatggac tgtaagacac 20
 30 <210> 7
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 7
 atcgagtctc actgagccac atccgtggtt ttccacggat gtc 43

<210> 8
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 8
 gctcagtgag actcgat 17
 <210> 9
 10 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 15 <400> 9
 atgaccgaat tgctacaag 19
 <210> 10
 <211> 46
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 10
 gactcctcag cttcttgctg aggagtcctt gtagcaattc ggtcat 46
 25 <210> 11
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 11
 acctcactgg cttccggatt cactttctct 30
 <210> 12
 <211> 42
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 12
 agaaaccac tccaaacctt taccaggagc ttggcgaacc ca 42
 <210> 13
 5 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 10 <400> 13
 ggaaggcagt gatctagaga tagtgaagcg accttaacg gagtcagcat a 51
 <210> 14
 <211> 23
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 14
 ggaaggcagt gatctagaga tag 23
 20 <210> 15
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base modificada
 <222> (11)..(24)
 <223> a, t, c, g, otro o desconocido
 30 <400> 15
 cacggatgtg nnnnnnnnnn nnnn 24
 <210> 16
 <211> 24
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base modificada
 <222> (1)..(14)
 <223> a, t, c, g, otro o desconocido
 5 <400> 16
 nnnnnnnnnn nnnncacatc cgtg 24
 <210> 17
 <211> 14
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 17
 gtgtattact gtgc 14
 15 <210> 18
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 18
 cacatccgtg cacggatgtg gcacagtaat acac 34
 <210> 19
 <211> 14
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 19
 30 gtgtattaga ctgc 14
 <210> 20
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 20

gcagtcta acaccacatc cgtgcacgga tgg 34

<210> 21

<211> 34

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 21

cacatccgtg cacggatgg gtgtctaca gtcc 34

10 <210> 22

<211> 14

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 22

ggactgtaag acac 14

<210> 23

<211> 34

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 23

25 gactctact gagccacatc cgtgcacgga tgg 34

<210> 24

<211> 14

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

30 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 24

gctcagtgag actc 14

<210> 25

35 <211> 14

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 25
 gtgtattact gtgc 14
 5 <210> 26
 <211> 14
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 10 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 26
 gtatattact gtgc 14
 <210> 27
 <211> 14
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 27
 20 gtgtattact gtaa 14
 <210> 28
 <211> 14
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 28
 gtgtattact gtac 14
 <210> 29
 30 <211> 14
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 35 <400> 29
 ttgtattact gtgc 14
 <210> 30

<211> 14
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 30
 ttgtatcact gtgc 14
 <210> 31
 <211> 14
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 31
 15 acatattact gtgc 14
 <210> 32
 <211> 14
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 32
 acgtattact gtgc 14
 <210> 33
 25 <211> 14
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 30 <400> 33
 atgtattact gtgc 14
 <210> 34
 <211> 24
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador

<400> 34
 tggaagaggc acgttctttt cttt 24
 <210> 35
 <211> 24
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador
 <400> 35
 10 aaagaaaaga acgtgcctct tcca 24
 <210> 36
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 15 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador
 <400> 36
 acactctccc ctgttgaagc tctt 24
 <210> 37
 20 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador
 25 <400> 37
 tgaacattct gtaggggcca ctg 23
 <210> 38
 <211> 23
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador
 <400> 38
 agagcattct gcaggggcca ctg 23
 35 <210> 39
 <211> 51
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador
 <400> 39
 accgcctcca ccgggcgcgc cttattaaca ctctcccctg ttgaagctct t 51

5 <210> 40
 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>

10 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador
 <400> 40
 accgcctcca ccgggcgcgc cttattatga acattctgta ggggccactg 50
 <210> 41
 <211> 50

15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador
 <400> 41

20 accgcctcca ccgggcgcgc cttattaaga gcattctgca ggggccactg 50
 <210> 42
 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homosapiens

25 <400> 42
 agggtcacca tgaccagga cagtcctatc agcacagcct acatggagct gagcaggctg 60
 agatctgacg acacggcgt gtattactgt gcgagaga 98
 <210> 43
 <211> 98
 <212> ADN

30 <213> Homosapiens
 <400> 43
 agagtcacca ttaccagga cacatccgcg agcacagcct acatggagct gagcagcctg 60
 agatctgaag acacggctgt gtattactgt gcgagaga 98
 <210> 44
 <211> 98

35 <212> ADN

<213> Homosapiens
 <400> 44
 agagtcacca tgaccaggaa cacctccata agcacagcct acatggagct gagcagcctg 60
 agatctgagg acacggccgt gtattactgt gcgagagg 98
 <210> 45
 5 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homosapiens
 <400> 45
 agagtcacca tgaccacaga cacatccacg agcacagcct acatggagct gaggagcctg 60
 agatctgacg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98
 10 <210> 46
 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homosapiens
 <400> 46
 15 agagtcacca tgaccgagga cacatctaca gacacagcct acatggagct gagcagcctg 60
 agatctgagg acacggccgt gtattactgt gcaacaga 98
 <210> 47
 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homosapiens
 20 <400> 47
 agagtcacca ttaccagga caggtctatg agcacagcct acatggagct gagcagcctg 60
 agatctgagg acacagccat gtattactgt gcaagata 98
 <210> 48
 <211> 98
 <212> ADN
 25 <213> Homosapiens
 <400> 48
 agagtcacca tgaccagga caggtccacg agcacagtct acatggagct gagcagcctg 60
 agatctgagg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98
 <210> 49
 <211> 98
 30 <212> ADN
 <213> Homosapiens
 <400> 49
 agagtcacca ttaccagga catgtccaca agcacagcct acatggagct gagcagcctg 60
 agatccgagg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98

ES 2 531 551 T3

<210> 50
 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homosapiens
 5 <400> 50
 agagtcacga ttaccgcgga cgaatccacg agcacagcct acatggagct gagcagcctg 60
 agatctgagg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98
 <210> 51
 <211> 98
 <212> ADN
 10 <213> Homosapiens
 <400> 51
 agagtcacga ttaccgcgga caaatccacg agcacagcct acatggagct gagcagcctg 60
 agatctgagg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98
 <210> 52
 <211> 98
 <212> ADN
 15 <213> Homosapiens
 <400> 52
 agagtcacca taaccgcgga cacgtctaca gacacagcct acatggagct gagcagcctg 60
 agatctgagg acacggccgt gtattactgt gcaacaga 98
 <210> 53
 <211> 100
 <212> ADN
 <213> Homosapiens
 <400> 53
 aggctcacca tcaccaagga cacctccaaa aaccaggtgg tccttacaat gaccaacatg 60
 gaccctgtgg acacagccac atattactgt gcacacagac 100
 20 <210> 54
 <211> 100
 <212> ADN
 <213> Homosapiens
 <400> 54
 aggctcacca tctccaagga cacctccaaa agccaggtgg tccttaccat gaccaacatg 60
 30 gaccctgtgg acacagccac atattactgt gcacggatac 100
 <210> 55
 <211> 100
 <212> ADN
 <213> Homosapiens

ES 2 531 551 T3

<400> 55

aggctcacca tctccaagga cacctccaaa aaccagggtgg tccttacaat gaccaacatg 60
gacctgtgg acacagccac gtattactgt gcacggatac 100

<210> 56

<211> 98

5 <212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 56

cgattcacca tctccagaga caacgccaag aactcactgt atctgcaa at gaacagcctg 60
agagccgagg acacggctgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 57

10 <211> 100

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 57

cgattcacca tctccagaga caacgccaag aactccctgt atctgcaa at gaacagtctg 60
agagctgagg acacggcctt gtattactgt gcaaagata 100

15 <210> 58

<211> 98

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 58

20 cgattcacca tctccaggga caacgccaag aactcactgt atctgcaa at gaacagcctg 60
agagccgagg acacggcctt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 59

<211> 98

<212> ADN

<213> Homosapiens

25 <400> 59

cgattcacca tctccagaga aaatgccaag aactccttgt atcttcaa at gaacagcctg 60
agagccgggg acacggctgt gtattactgt gcaagaga 98

<210> 60

<211> 98

<212> ADN

30 <213> Homosapiens

<400> 60

agattcacca tctcaagaga tgattcaaaa aacacgctgt atctgcaa at gaacagcctg 60
aaaaccgagg acacagcctt gtattactgt accacaga 98

<210> 61

ES 2 531 551 T3

<211> 98

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 61

5 cgattcacca tctccagaga caacgccaaag aactccctgt atctgcaa at gaacagctctg 60
agagccgagg acacggcctt gtatcactgt gcgagaga 98

<210> 62

<211> 98

<212> ADN

<213> Homosapiens

10 <400> 62

cgattcacca tctccagaga caacgccaaag aactcactgt atctgcaa at gaacagcctg 60
agagccgagg acacggctgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 63

<211> 98

<212> ADN

15 <213> Homosapiens

<400> 63

cggttcacca tctccagaga caattccaag aacacgctgt atctgcaa at gaacagcctg 60
agagccgagg acacggcctt atattactgt gcgaaaga 98

<210> 64

<211> 98

20 <212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 64

cgattcacca tctccagaga caattccaag aacacgctgt atctgcaa at gaacagcctg 60
agagctgagg acacggctgt gtattactgt gcgaaaga 98

<210> 65

25 <211> 98

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 65

cgattcacca tctccagaga caattccaag aacacgctgt atctgcaa at gaacagcctg 60
agagctgagg acacggctgt gtattactgt gcgagaga 98

30 <210> 66

<211> 98

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 66

ES 2 531 551 T3

cgattcacca tctccagaga caattccaag aacacgctgt atctgcaa at gaacagcctg 60
agagctgagg acacggctgt gtattactgt gcgaaaga 98

<210> 67

<211> 98

<212> ADN

5 <213> Homosapiens

<400> 67

cgattcacca tctccagaga caattccaag aacacgctgt atctgcaa at gaacagcctg 60
agagccgagg acacggctgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 68

<211> 100

10 <212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 68

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

<210> 69

15 <211> 98

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 69

cgattcacca tctccagaga caatgccaag aactcactgt atctgcaa at gaacagcctg 60
agagacgagg acacggctgt gtattactgt gcgagaga 98

20 <210> 70

<211> 98

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 70

25 agattcacca tctcaagaga tggttccaaa agcatcgcct atctgcaa at gaacagcctg 60
aaaaccgagg acacagccgt gtattactgt actagaga 98

<210> 71

<211> 98

<212> ADN

<213> Homosapiens

30 <400> 71

cgattcacca tctccagaga caattccaag aacacgctgt atcttcaa at gaacagcctg 60
agagccgagg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 72

<211> 98

ES 2 531 551 T3

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 72

agattcacca tctccagaga caattccaag aacacgctgt atcttcaa at ggcagcctg 60
agagctgagg acatggctgt gtattactgt gcgagaga 98

5 <210> 73

<211> 98

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 73

10 agattcacca tctccagaga caattccaag aacacgctgt atcttcaa at gaacagcctg 60
agagctgagg acacggctgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 74

<211> 98

<212> ADN

<213> Homosapiens

15 <400> 74

agattcacca tctcaagaga tgattcaa ag aactcactgt atctgcaa at gaacagcctg 60
aaaaccgagg acacggcctgt gtattactgt gctagaga 98

<210> 75

<211> 98

<212> ADN

20 <213> Homosapiens

<400> 75

aggttcacca tctccagaga tgattcaa ag aacacggcgt atctgcaa at gaacagcctg 60
aaaaccgagg acacggcctgt gtattactgt actagaga 98

<210> 76

<211> 98

25 <212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 76

cgattcacca tctccagaga caacgcca ag aacacgctgt atctgcaa at gaacagtctg 60
agagccgagg acacggctgt gtattactgt gcaagaga 98

<210> 77

30 <211> 98

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 77

agattcacca tctccagaga caattcca ag aacacgctgc atcttcaa at gaacagcctg 60
agagctgagg acacggctgt gtattactgt aagaaaga 98

ES 2 531 551 T3

<210> 78

<211> 98

<212> ADN

<213> Homosapiens

5 <400> 78

cgagtcacca tatcagtaga caagtccaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
accgccgcgg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 79

<211> 98

<212> ADN

10 <213> Homosapiens

<400> 79

cgagtcacca tgcagtaga cacgtccaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
accgccgtgg acacggccgt gtattactgt gcgagaaa 98

<210> 80

<211> 98

15 <212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 80

cgagttacca tatcagtaga cacgtccaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
actgccgcgg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 81

20 <211> 98

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 81

cgagtcacca tatcagtaga caggtccaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
accgccgcgg acacggccgt gtattactgt gccagaga 98

25 <210> 82

<211> 98

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 82

cgagttacca tatcagtaga cacgtccaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
actgccgcag acacggccgt gtattactgt gccagaga 98

30

<210> 83

<211> 98

<212> ADN

<213> Homosapiens

ES 2 531 551 T3

<400> 83

cgagttacca tatcagtaga cacgtctaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
actgccgcgg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 84

<211> 98

5 <212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 84

cgagtcacca tatcagtaga cacgtccaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
accgccgcgg acacggctgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 85

10 <211> 98

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 85

cgagtcacca tatccgtaga cacgtccaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
accgccgcag acacggctgt gtattactgt gcgagaga 98

15 <210> 86

<211> 98

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 86

20 cgagtcacca tatcagtaga cacgtccaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
accgctgcgg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 87

<211> 98

<212> ADN

<213> Homosapiens

25 <400> 87

cgagtcacca tatcagtaga cacgtccaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
accgctgcgg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 88

<211> 98

<212> ADN

30 <213> Homosapiens

<400> 88

cgagtcacca tatcagtaga cacgtccaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
accgccgcag acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 89

<211> 98

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 89

5 caggtcacca tctcagccga caagtccatc agcacccgct acctgcagtg gagcagcctg 60
aaggcctcgg acaccgcat gtattactgt gcgagaca 98

<210> 90

<211> 96

<212> ADN

<213> Homosapiens

10 <400> 90

cacgtcacca tctcagctga caagtccatc agcactgcct acctgcagtg gagcagcctg 60
aaggcctcgg acaccgcat gtattactgt gcgagaca 96

<210> 91

<211> 98

<212> ADN

15 <213> Homosapiens

<400> 91

cgaataacca tcaaccaga cacatccaag aaccagttct ccctgcagct gaactctgtg 60
actcccgagg acacggctgt gtattactgt gcaagaga 98

<210> 92

<211> 98

20 <212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 92

cggtttgtct tctccttgga cacctctgtc agcacggcat atctgcagat ctgcagccta 60
aaggctgagg acactgccgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 93

25 <211> 22

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Sonda

30 <400> 93

agttctccct gcagctgaac tc 22

<210> 94

<211> 22

<212> ADN

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 <400> 94
 5 cactgtatct gcaaatgaac ag 22
 <210> 95
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 <400> 95
 ccctgtatct gcaaatgaac ag 22
 <210> 96
 15 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 20 <400> 96
 ccgcctacct gcagtggagc ag 22
 <210> 97
 <211> 22
 <212> ADN
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 <400> 97
 cgctgtatct gcaaatgaac ag 22
 30 <210> 98
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 <400> 98
 cggcatatct gcagatctgc ag 22

<210> 99
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 <400> 99
 cggcgtatct gcaaatgaac ag 22
 <210> 100
 10 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 15 <400> 100
 ctgcctacct gcagtggagc ag 22
 <210> 101
 <211> 22
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 <400> 101
 tcgcctatct gcaaatgaac ag 22
 25 <210> 102
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 102
 agttctccct gcagctgaac tc 22
 <210> 103
 <211> 20
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 103
 ttctccctgc agctgaactc 20
 <210> 104
 5 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 10 <400> 104
 ttctccctgc agctgaac 18
 <210> 105
 <211> 22
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 105
 cgctgtatct gcaaatgaac ag 22
 20 <210> 106
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 106
 ctgtatctgc aaatgaacag 20
 <210> 107
 <211> 18
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 107
 35 ctgtatctgc aaatgaac 18
 <210> 108
 <211> 22

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 5 <400> 108
 cactgtatct gcaaatgaac ag 22
 <210> 109
 <211> 22
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 109
 ccgcctacct gcagtgagc ag 22
 15 <210> 110
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 110
 cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct ac 42
 <210> 111
 <211> 21
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 111
 30 ttgcagatga acagcttaag g 21
 <210> 112
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 112

caagtagaga gtattcttag agttgtctct agacttagtg aagcg 45

<210> 113

<211> 54

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 113

cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct actgcagct gaac 54

10 <210> 114

<211> 54

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 114

cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct actgcaaat gaac 54

<210> 115

<211> 54

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 115

25 cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct actgcagtg gagc 54

<210> 116

<211> 21

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

30 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 116

cgcttcacta agtctagaga c 21

<210> 117

35 <211> 22

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 <400> 117
 acatggagct gagcagcctg ag 22

5 <210> 118
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>

10 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 <400> 118
 acatggagct gagcaggctg ag 22
 <210> 119
 <211> 22

15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 <400> 119

20 acatggagct gaggagcctg ag 22
 <210> 120
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 <400> 120
 acctgcagtg gagcagcctg aa 22
 <210> 121

30 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda

35 <400> 121
 atctgcaaat gaacagcctg aa 22
 <210> 122

<211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 <400> 122
 atctgcaa at gaacagcctg ag 22
 <210> 123
 <211> 22
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 <400> 123
 15 atctgcaa at gaacagtctg ag 22
 <210> 124
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 <400> 124
 atctgcag at ctgcagccta aa 22
 <210> 125
 25 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 30 <400> 125
 atcttcaa at gaacagcctg ag 22
 <210> 126
 <211> 22
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda

<400> 126
 atcttcaa at ggcagcctg ag 22
 <210> 127
 <211> 22
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 <400> 127
 10 ccctgaagct gagctctgtg ac 22
 <210> 128
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 15 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 <400> 128
 ccctgcagct gaactctgtg ac 22
 <210> 129
 20 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 25 <400> 129
 tccttaca at gaccaacatg ga 22
 <210> 130
 <211> 22
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 <400> 130
 tccttacc at gaccaacatg ga 22
 35 <210> 131
 <211> 22
 <212> ADN

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 131
 5 acatggagct gagcagcctg ag 22
 <210> 132
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 132
 ccctgaagct gagctctgtg ac 22
 <210> 133
 15 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 20 <400> 133
 cgcttacta agtctagaga caactctaag aatactctct actgcagat gaac 54
 <210> 134
 <211> 60
 <212> ADN
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 134
 cgcttcactc agtctagaga taacagtaaa aatactttgt actgcagct gagcagcctg 60
 30 <210> 135
 <211> 60
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 135
 cgcttcactc agtctagaga taacagtaaa aatactttgt actgcagct gagctctgtg 60

<210> 136
 <211> 52
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 136
 tcagctgcaa gtacaaagta ttttactgt tatctctaga ctgagtgaag cg 52
 <210> 137
 10 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 15 <400> 137
 cgcttcactc agtctagaga taac 24
 <210> 138
 <211> 22
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 138
 ccgtgtatta ctgtgcgaga ga 22
 25 <210> 139
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 139
 ctgtgtatta ctgtgcgaga ga 22
 <210> 140
 <211> 22
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 140
 ccgtgtatta ctgtgcgaga gg 22
 <210> 141

5 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

10 <400> 141
 ccgtgtatta ctgtgcaaca ga 22
 <210> 142
 <211> 22
 <212> ADN

15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 142
 ccatgtatta ctgtgcaaga ta 22

20 <210> 143
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>

25 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 143
 ccgtgtatta ctgtgcgca ga 22
 <210> 144
 <211> 22

30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 144

35 ccacatatta ctgtgcacac ag 22
 <210> 145
 <211> 22

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 5 <400> 145
 ccacatatta ctgtgcacgg at 22
 <210> 146
 <211> 22
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 146
 ccacgtatta ctgtgcacgg at 22
 15 <210> 147
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 147
 cctgtatta ctgtgcaaaa ga 22
 <210> 148
 <211> 22
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 148
 30 ctgtgtatta ctgtgaaga ga 22
 <210> 149
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 149

ccgtgtatta ctgtaccaca ga 22
 <210> 150
 <211> 22
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 150
 ccttgatca ctgtgcgaga ga 22
 10 <210> 151
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 151
 ccgtatatta ctgtgcgaaa ga 22
 <210> 152
 <211> 22
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 152
 25 ctgtgtatta ctgtgcgaaa ga 22
 <210> 153
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 153
 ccgtgtatta ctgtactaga ga 22
 <210> 154
 35 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 154
 ccgtgtatta ctgtgctaga ga 22

5 <210> 155
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>

10 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 155
 ccgtgtatta ctgtactaga ca 22
 <210> 156
 <211> 22

15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 156

20 ctgtgtatta ctgtaagaaa ga 22
 <210> 157
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 157
 ccgtgtatta ctgtgcgaga aa 22
 <210> 158

30 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

35 <400> 158
 ccgtgtatta ctgtgccaga ga 22
 <210> 159

<211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 159
 ctgtgtatta ctgtgcgaga ca 22
 <210> 160
 <211> 22
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 160
 15 ccatgtatta ctgtgcgaga ca 22
 <210> 161
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 161
 ccatgtatta ctgtgcgaga 20
 <210> 162
 25 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 30 <400> 162
 ccgtgtatta ctgtgcgaga g 21
 <210> 163
 <211> 21
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 163
ctgtgtatta ctgtgcgaga g 21
<210> 164
<211> 21
5 <212> ADN
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
<400> 164
10 ccgtgtatta ctgtgcgaga g 21
<210> 165
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
15 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
<400> 165
ccgtatatta ctgtgcgaaa g 21
<210> 166
20 <211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
25 <400> 166
ctgtgtatta ctgtgcgaaa g 21
<210> 167
<211> 21
<212> ADN
30 <213> Secuencia artificial
<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
<400> 167
ctgtgtatta ctgtgcgaga c 21
35 <210> 168
<211> 21
<212> ADN

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 168

5 ccatgtatta ctgtgcgaga c 21
 <210> 169
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 169
 ccatgtatta ctgtgcgaga 20
 <210> 170

15 <211> 94
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

20 <400> 170
 ggtgtagtga ttagtgaca actctaagaa tactctctac ttgcagatga acagcttag 60
 ggctgaggac actgcagtct actattgtgc gaga 94
 <210> 171
 <211> 94

25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 171

30 ggtgtagtga ttagtgaca actctaagaa tactctctac ttgcagatga acagcttag 60
 ggctgaggac actgcagtct actattgtgc gaaa 94
 <210> 172
 <211> 85
 <212> ADN

35 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 172
 atagtagact gcagtgctc cagcccttaa gctgttcac tgcaagtaga gattattctt 60
 agagttgtct ctatgactac acacc 85
 <210> 173
 5 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 10 <400> 173
 ggtgtagtga tctagagaca ac 22
 <210> 174
 <211> 55
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 174
 ggtgtagtga aacagctta gggctgagga cactgcagtc tactattgtg cgaga 55
 20 <210> 175
 <211> 55
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 175
 ggtgtagtga aacagctta gggctgagga cactgcagtc tactattgtg cgaaa 55
 <210> 176
 <211> 46
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 176
 35 atagtagact gcagtgctc cagcccttaa gctgttcac tacacc 46
 <210> 177
 <211> 26

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

5 <400> 177

ggtgtagtga aacagcttaa gggctg 26

<210> 178

<211> 25

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 178

cacatccgtg ttgtcacgg atgtg 25

15 <210> 179

<211> 88

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 179

aatagtagac tgcagtgtcc tcagccctta agctgttcat ctgcaagtag agagtattct 60

tagagttgtc tctagactta gtgaagcg 88

<210> 180

<211> 95

25 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 180

cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct acttgcagat gaacagctta 60

30 agggctgagg aactgcagt ctactattgt gcgag 95

<210> 181

<211> 95

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

ES 2 531 551 T3

<400> 181

```
cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct acttgcagat gaacagctta 60
agggctgagg acactgcagt ctactattgt acgag 95
```

<210> 182

<211> 24

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 182

10 cgcttcacta agtctagaga caac 24

<210> 183

<211> 419

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

15 <220>

<223> Descripción del organismo desconocido: V3-23

<400> 183

```
ctgtctgaac ggcccagccg gccatggccg aagttcaatt gttagagtct ggtggcggtc 60
ttgttcagcc tgggtggtct ttacgtcttt cttgcgctgc ttccggattc actttctctt 120
cgtacgctat gtcttgggtt cgccaagctc ctggtaaagg tttggagtgg gtttctgcta 180
tctctgggtc tgggtggcagt acttactatg ctgactccgt taaaggctgc ttcactatct 240
ctagagacaa ctctaagaat actctctact tgcagatgaa cagcttaagg gctgaggaca 300
ctgcagtcta ctattgctgt aaagactatg aaggctactg ttatgctttc gacatatggg 360
gtcaagggtac tatgggtcacc gtctctagtg cctccaccaa gggcccatcg gtcttcccc 419
```

<210> 184

20 <211> 136

<212> PRT

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: V3-23

25 <400> 184

```
Ala Gln Pro Ala Met Ala Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly
  1             5             10             15
```

ES 2 531 551 T3

```

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> 185

<211> 20

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 185

ctgtctgaac ggcccagccg 20

10 <210> 186

<211> 83

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 186

```

ctgtctgaac ggcccagccg gccatggccg aagttcaatt gtttagagtct ggtggcggtc 60
ttgttcagcc tgggtggttct tta                                     83

```

<210> 187

<211> 54

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 187

- gaaagtgaat ccggaagcag cgcaagaaag acgtaaagaa ccaccaggct gaac 54
- <210> 188
- <211> 42
- <212> ADN
- 5 <213> Secuencia artificial
- <220>
- <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
- <400> 188
- agaaaccac tccaaacctt taccaggagc ttggcgaacc ca 42
- 10 <210> 189
- <211> 94
- <212> ADN
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 15 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
- <400> 189
- agtgtcctca gcccttaagc tgttcacatcg caagtagaga gtattccttag agttgtctct 60
agagatagtg aagcgacctt taacggagtc agca 94
- <210> 190
- <211> 81
- 20 <212> ADN
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
- <400> 190
- gcttaagggc tgaggacact gcagtctact attgcgctaa agactatgaa ggtactgggt 60
atgctttcga catatggggt c 81
- 25 <210> 191
- <211> 75
- <212> ADN
- <213> Secuencia artificial
- 30 <220>
- <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
- <400> 191
- ggggaagacc gatgggccct tggtaggagc actagagacg gtgaccatag taccttgacc 60
ccatatgtcg aaagc 75
- <210> 192
- 35 <211> 47

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

5 <400> 192

gcttcggat tcactttctc ttacatgtgg gtccgccaag ctctgg 47

<210> 193

<211> 53

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 193

ggttggagt gggttctat ctctgtggc acttatgctg actccgtaa agg 53

15 <210> 194

<211> 9472

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

20 <223> Descripción del organismo desconocido: MALIA3

<400> 194

```

aatgctacta ctattagtag aattgatgcc accttttcag ctcgcgcccc aaatgaaaat 60
atagctaaac aggttattga ccatgtgcga aatgtatcta atgggtcaaac taaatctact 120
cggttcgcaga attgggaatc aactgttaca tggaatgaaa cttccagaca ccgtacttta 180
gttgcatatt taaaacatgt tgagctacag caccagattc agcaattaag ctctaagcca 240
tcgcacaaaa tgacctctta tcaaaaggag caattaaagg tactctctaa tcctgacctg 300
tctttcgggc ttctctctaa tctttttgat gcaatccgct ttgcttctga ctataatagt 360
cagggtaaaag acctgatttt tgatttatgg tcattctcgt tttctgaact gtttaaagca 420
tttgagggggg attcaatgaa tatttatgac gattccgcag tattggacgc tatccagtct 480
aaacatttta ctattacccc ctctggcaaa acttcttttg caaaagcctc tcgctatttt 540
gggtttttatc gtcgtctggt aaacgagggt tatgatatgt ttgctcttac tatgcctcgt 600
aattcctttt ggcggttatgt atctgcatta gttgaatgtg gtattcctaa atctcaactg 660
atgaatcttt ctacctgtaa taatgttggt ccgttagttc gttttattaa cgtagatttt 720
tcttcccaac gtctgactg gtataatgag ccagttctta aaatcgcata aggtaattca 780
caatgattaa agttgaaatt aaaccatctc aagcccaatt tactactcgt tctgggtgtt 840
ctcgtcaggg caagccttat tcaactgaatg agcagctttg ttacgttgat ttgggtaaatg 900
aatatccggt tcttgtcaag attactcttg atgaagggtc gccagcctat gcgcctgggtc 960
tgtacaccgt tcattctgtc tctttcaaag ttggtcagtt cggttccctt atgattgacc 1020
gtctgcgcct cgttcgggct aagtaacatg gagcagggtc cggatttcga cacaatttat 1080

```

ES 2 531 551 T3

caggcgatga	tacaaatctc	cgttggtactt	tgttttcg	ttggtataat	cgctgggggt	1140
caaagatgag	tgttttagtg	tattctttcg	cctctttcgt	tttaggttgg	tgccttcgta	1200
gtggcattac	gtattttacc	cgttttaatgg	aaacttctc	atgaaaaagt	cttttagtcc	1260
caaagcctct	gtagccgttg	ctaccctcgt	tccgatgctg	tcttttcgctg	ctgaggggtga	1320
cgatcccgca	aaagcggcct	ttaactccct	gcaagcctca	gcgaccgaat	atatcggtta	1380
tgcgtggg	atggttggtg	tcattgtcgg	cgcaactatc	ggatatcaagc	tgtttaagaa	1440
attcacctcg	aaagcaagct	gataaaccga	tacaattaaa	ggctcctttt	ggagcctttt	1500
tttttgaga	ttttcaacgt	gaaaaaatta	ttattcgcaa	ttccttttagt	tgttcctttc	1560
tattctcaca	gtgcacagtc	tgctcgtgacg	cagccgccct	cagtgtctg	ggccccagg	1620
cagaggggtca	ccatctcctg	cactgggagc	agctccaaca	tcggggcagg	ttatgatgta	1680
cactgggtacc	agcagcttcc	aggaacagcc	cccaaactcc	tcactctatgg	taacagcaat	1740
cgccctcag	gggtccctga	ccgattctct	ggctccaagt	ctggcacctc	agcctccctg	1800
gccatcactg	ggctccaggc	tgaggatgag	gctgattatt	actgccagtc	ctatgacagc	1860
agcctgagtg	gccttttatgt	cttcggaaact	gggaccaagg	tcaccgtcct	aggtcagccc	1920
aaggccaacc	ccactgtcac	tctgttcccg	ccctcctctg	aggagctcca	agccaacaag	1980
gccactatga	tgtgtctgat	cagtgaactc	taccggggag	ctgtgacagt	ggcctggaag	2040
gcagatagca	gccccgtcaa	ggcgggagtg	gagaccacca	caccctccaa	acaaagcaac	2100
aacaagtacg	cggccagcag	ctatctgagc	ctgacgctg	agcagtggaa	gtccacaga	2160
agctacagct	gccagggtcac	gcatgaagg	agcaccgtgg	agaagacagt	ggccctaca	2220
gaatgttcat	aataaaaccg	ctccaccggg	cgcgccaatt	ctatttcaag	gagacagtca	2280
taatgaata	cctattgcct	acggcagccg	ctggattgtt	attactcgcg	gcccagccgg	2340
ccatggccga	agtccaattg	ttagagtctg	gtggcggtct	tgttcagcct	ggtggttctt	2400
tacgtctttc	ttgcgctgct	tccggattca	ctttctcttc	gtacgctatg	tcttgggttc	2460
gccaagctcc	tgttaaagg	ttggagtggg	tttctgctat	ctctgggtct	ggtggcagta	2520
cttactatgc	tgactccgtt	aaaggctcgt	tcactatctc	tagagacaac	tctaagaata	2580
ctctctactt	gcagatgaac	agcttaagg	ctgaggacac	tgcagtctac	tattgcgcta	2640
aagactatga	aggtactggt	tatgctttcg	acatatgggg	tcaaggtaact	atggctaccg	2700
tctctagtgc	ctccaccaag	ggcccatcgg	tcttccccct	ggcaccctcc	tccaagagca	2760
cctctggggg	cacagcggcc	ctgggctgcc	tggcaagga	ctacttcccc	gaaccggtga	2820
cgggtgctg	gaactcaggc	gccctgacca	gcggcggtcca	caccttcccc	gctgtcctac	2880
agtctagcgg	actctactcc	ctcagcagcg	tagtgaccgt	gccctcttct	agcttgggca	2940
cccagacctc	catctgcaac	gtgaatcaca	agccagcaa	caccaagggtg	gacaagaaag	3000
ttgagcccaa	atcttgtg	gcccgtcatc	accaccatca	tcactctgct	gaacaaaaac	3060
tcactctcaga	agaggatctg	aatggtgccc	cagatatcaa	cgatgatcgt	atggctggcg	3120
ccgctgaaac	tgttgaaagt	tgttttagcaa	aaccctatac	agaaaattca	tttactaacg	3180
tctggaaaga	cgacaaaact	ttagatcggt	acgctaacta	tgagggttgt	ctgtggaatg	3240
ctacaggcgt	tgtagtttgt	actggtgacg	aaactcagt	ttacgggtaca	tgggttccta	3300
ttgggcttgc	tatccctgaa	aatgagggtg	tggtgctctga	gggtggcggt	tctgagggtg	3360
gcggttctga	gggtggcggt	actaaacctc	ctgagtaagg	tgatacacct	attccgggct	3420
atacttatat	caaccctctc	gacggcactt	atccgcctgg	tactgagcaa	aaccctcgta	3480
atccataatcc	ttctcttgag	gagtctcagc	ctcttaatac	tttcatgttt	cagaataata	3540
ggttccgaaa	taggcagggg	gcattaactg	tttatacggg	cactgttact	caaggcactg	3600
accocgttaa	aacttattac	cagtacactc	ctgtatcatc	aaaagccatg	tatgacgctt	3660
actggaacgg	taaattcaga	gactgcgctt	tccattctgg	ctttaatgaa	gatccattcg	3720
tttgtgaata	tcaaggccaa	tcgtctgacc	tgcctcaacc	tcctgtcaat	gctggcgggc	3780
gctctggtgg	tggttctggt	ggcggtctg	agggtggtgg	ctctgagggt	ggcggttctg	3840
agggtggcgg	ctctgaggga	ggcggttccg	gtggtggctc	tggttccggt	gattttgatt	3900
atgaaaagat	ggcaaacgct	aataaggggg	ctatgaccga	aaatgccgat	gaaaacgcgc	3960
tacagtctga	cgctaaaggc	aaacttgatt	ctgtcgctac	tgattacggt	gctgctatcg	4020
atggtttcat	tgggtgacgtt	tccggccttg	ctaattggtaa	tgggtgctact	ggtgattttg	4080
ctggctctaa	ttcccaaagt	gctcaagtcg	gtgacgggtga	taattcacct	ttaatgaata	4140
atttccgtca	atatttacct	tccctccctc	aatcggttga	atgtcgcct	tttgtcttta	4200
gcgctggtaa	accatatgaa	ttttctattg	attgtgacaa	aataaaactta	ttccgtgggtg	4260
tctttgcgtt	tcttttatat	gttgccacct	ttatgtatgt	attttctacg	tttgctaaca	4320
tactgcgtaa	taaggagctc	taatcatgcc	agttcttttg	ggtattccgt	tattattg	4380
tttccctcgt	ttccttctg	taactttgtt	cggctatctg	cttacttttc	ttaaaaagg	4440
cttcggttaag	atagctattg	ctatttcatt	gtttcttgct	cttattattg	ggcttaactc	4500
aattcttgtg	ggttatctct	ctgatattag	cgctcaatta	ccctctgact	ttgttcagg	4560

tggttcagtta	attctcccgt	ctaattgcgct	tccctgtttt	tatgtttatcc	tctctgtaaa	4620
ggctgctatt	ttcatttttg	acgttaaaca	aaaaatcggt	tcttatttgg	attgggataa	4680
ataatatggc	tggtttat	gtaactggca	aattaggctc	tggaaagacg	ctcgttagcg	4740
ttggtaagat	tcaggataaa	attgtagctg	ggcgcaaaat	agcaactaat	cttgatttaa	4800
ggcttcaaaa	cctcccgcga	gtcgggaggt	tcgctaaaac	gcctcgcggt	cttagaatac	4860
cggataagcc	ttctatatct	gatttgcttg	ctattgggcg	cggtaatgat	tcctacgatg	4920
aaaataaaaa	cggcttgctt	gttctcgatg	agtgcggtac	ttggtttaat	acccgttctt	4980
ggaatgataa	ggaaagacag	ccgattattg	attggtttct	acatgctcgt	aaattaggat	5040
gggatattat	ttttcttggt	caggacttat	ctattgttga	taaacaggcg	cgttctgcat	5100
tagctgaaca	tggtgtttat	tgctgcgctc	tggacagaat	tactttacct	tttgtcggtg	5160
ctttatattc	tcttattact	ggctcgaaaa	tgcctctgcc	taaattacat	gttggcggtg	5220
ttaaatatgg	cgattctcaa	ttaagcccta	ctgttgagcg	ttggctttat	actggtaaga	5280
atltgtataa	cgcataatgat	actaaacagg	ctttttctag	taattatgat	tccggtgttt	5340
attcttattt	aacgccttat	ttatcacacg	gtcggtat	caaaccatta	aatttaggtc	5400
agaagatgaa	attaactaaa	atatatttga	aaaagttttc	tcgcgttctt	tgtcttgcca	5460
ttggatttgc	aatcaggctt	acatatagtt	atataaccca	acctaagccg	gaggttaaaa	5520
aggtagtctc	tcagacctat	gatttttgata	aattcactat	tgactcttct	cagcgcttta	5580
atctaagcta	tcgctatggt	ttcaaggatt	ctaagggaaa	attaattaat	agcgacgatt	5640
tacagaagca	aggttattca	ctcacatata	ttgattttatg	tactgtttcc	attaaaaaag	5700
gtaattcaaa	tgaattgtt	aaatgtaatt	aattttgttt	tcttgatggt	tgtttcatca	5760
tcttcttttg	ctcaggtaatt	tgaatgaat	aattcgcttc	tgccgcat	tgttaacttg	5820
tattcaaaagc	aatcaggcga	atccgttatt	gtttctcccg	atgtaaaagg	tactgttact	5880
gtatattcat	ctgacgttaa	acctgaaaat	ctacgcaatt	tctttatttc	tgttttacgt	5940
gctaataatt	ttgatatggt	tggttcaatt	ccttcataaa	ttcagaagta	taatccaaac	6000
aatcaggatt	atattgatga	attgccatca	tctgataatc	aggaatatga	tgataattcc	6060
gctccttctg	tggttttctt	tggtccgcaa	aatgataatg	ttactcaaac	ttttaaaatt	6120
aataacgttc	gggcaaaagga	tttaatacga	gttgtcgaat	tgtttgtaaa	gtctaatact	6180
tctaaatcct	caaagtatt	atctattgac	ggctctaata	tattagttgt	ttctgcacct	6240
aaagatat	tagataacct	tcctcaattc	ctttctactg	ttgatttgcc	aactgaccag	6300
atattgattg	agggtttgat	atlttgaggt	cagcaagggtg	atgctttaga	tttttcattt	6360
gctgctggct	ctcagcggtg	cactgttgca	ggcggtgtta	atactgaccg	cctcacctct	6420
gttttctctt	ctgctgggtg	ttcggttcggt	atltttaatg	gcgatgtttt	agggtctatca	6480
gttcgcgcat	taaaactaaa	tagccattca	aaaatattgt	ctgtgccacg	tattcttacg	6540
ctttcaggctc	agaagggttc	tatctctgtt	ggccagaatg	tcccttttat	tactggctcg	6600
gtgactgggtg	aatctgccaa	tgtaaataat	ccatttcaga	cgattgagcg	tcaaaatgta	6660
ggatattcca	tgagcggttt	tcctgttgca	atggctggcg	gtaatatgtt	tctggatatt	6720
accagcaagg	ccgatagttt	gagttcttct	actcaggcaa	gtgatgttat	tactaatcaa	6780
agaagtattg	ctacaacggt	taatttgctg	gatggacaga	ctcttttact	cgggtggcctc	6840
actgattata	aaaacacttc	tcaagattct	ggcgtaaccgt	tcctgtctaa	aatcccttta	6900
atcggcctcc	tgtttagctc	ccgctctgat	tccaacgagg	aaagcacgtt	atacgtgctc	6960
gtcaaaagcaa	ccatagtagc	cgccctgtag	cggcgcat	agcgcgcg	gtgtggtggg	7020
tacgcgcagc	gtgaccgcta	cacttgccag	cgccttagcg	cccgtctcct	tcgctttctt	7080
cccttctctt	ctgcccacgt	tcgcccgtt	tccccgtcaa	gctctaaatc	gggggctccc	7140
tttaggggttc	cgatttagtg	ctttacggca	cctcgacccc	aaaaaacttg	atltgggtga	7200
tggttcacgt	agtgggccat	cgccttgata	gacggttttt	cgccctttga	cggttgagtc	7260
cacgttcttt	aatagtgga	tcttggtcca	aactggaaca	acactcaacc	ctatctcggg	7320
ctattctttt	gatttataag	ggattttgcc	gatttcggaa	ccaccatcaa	acaggatttt	7380
cgcctgctgg	ggcaaaccag	cgtggaccgc	ttgctgcaac	tctctcaggg	ccaggcggtg	7440
aagggcaatc	agctgttgcc	cgtctcactg	gtgaaaagaa	aaaccaccct	ggatccaagc	7500
ttgcagggtg	cacttttcgg	ggaaatgtgc	gcggaacccc	tatttgttta	tttttctaaa	7560
tacattcaaaa	tatgtatccg	ctcatgagac	aataacccctg	ataaatgctt	caataatatt	7620
gaaaaaggaa	gagtatgagt	attcaacatt	tcggtgtcgc	ccttattccc	ttttttgcgg	7680
cattttgcct	tcctgttttt	gctcaccag	aaacgctggg	gaaagtaaaa	gatgctgaag	7740
atcagttggg	cgcacgagtg	ggttacatcg	aactggatct	caacagcggt	aagatccttg	7800
agagttttcg	ccccgaagaa	cgttttccaa	tgatgagcac	ttttaaagtt	ctgctatgtc	7860
atacactatt	atcccgtatt	gacgcggggc	aagagcaact	cggctcgccg	gcgcggtatt	7920
ctcagaatga	cttggttgag	tactaccag	tcacagaaaa	gcattcttac	gatggcatga	7980
cagtaagaga	attatgcagt	gctgccataa	ccatgagtg	taacactgcg	gccaacttac	8040

```

ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc taaccgcttt tttgcacaac atgggggatc 8100
atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg agctgaatga agccatacca aacgacgagc 8160
gtgacaccac gatgcctgta gcaatgccaa caacgttgcg caaactatta actggcgaac 8220
tacttactct agcttcccgg caacaattaa tagactggat ggaggcggat aaagttagcag 8280
gaccacttct gcgctcggcc cttccggctg gctggtttat tctgataaaa tctggagccg 8340
gtgagcgtgg gtctcgcggt atcattgcag cactggggcc agatggtaag ccctcccgtg 8400
tcgtagttat ctacacgacg gggagtcagg caactatgga tgaacgaaat agacagatcg 8460
ctgagatagg tgctcactg attaaagcatt ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata 8520
tactttagat tgatttaaaa cttcattttt aatttaaaa gatctaggtg aagatccttt 8580
ttgataatct catgacccaa atcccttaac gtgagttttc gttccactgt acgtaagacc 8640
cccaagcctg tcgactgaat ggcgaaatggc gctttgcctg gtttccggca ccagaagcgg 8700
tgccggaaaag ctggctggag tgcgatcttc ctgaggccga tactgtcgtc gtcccctcaa 8760
actggcagat gcacggttac gatgcgccca tctacaccaa cgtaacctat cccattacgg 8820
tcaatcgcgc gtttggtccc acggagaatc cgacgggttg ttactcgctc acatttaatg 8880
ttgatgaaaag ctggctacag gaaggccaga cgcgaaattat ttttgatggc gttcctattg 8940
gttaaaaaat gagctgattt aacaaaaatt taacgcgaat ttttaacaaa tattaacgtt 9000
tacaatttaa atatttgctt atacaatctt cctgtttttg gggcttttct gattatcaac 9060
cggggtacat atgattgaca tgctagtttt acgattaccg ttcacgatt ctcttgttg 9120
ctccagactc tcaggcaatg acctgatagc cttttagat ctctcaaaaa tagctaccct 9180
ctccggcatg aatttatcag ctagaacggg tgaatatcat attgatggtg atttgactgt 9240
ctccggcctt tctcacctt ttgaatcttt acctacacat tactcaggca ttgcatttaa 9300
aatatatgag ggttctaaaa atttttatcc ttgcgttgaa ataaaggctt ctcccgaac 9360
agtattacag ggtcataatg tttttgttac aaccgattta gctttatgct ctgaggcttt 9420
attgcttaat tttgctaatt ctttgccttg cctgtatgat ttattggatg tt 9472

```

<210> 195

<211> 20

<212> PRT

5 <213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: MALIA3

<400> 195

```

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

```

10 <210> 196

<211> 368

<212> PRT

<213> Organismo desconocido

<220>

15 <223> Descripción del organismo desconocido: MALIA3

<400> 196

```

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

```

ES 2 531 551 T3

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
 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
 225 230 235 240
 Glu Pro Lys Ser Cys Ala Ala Ala His 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 Ser Gly Ala Ala Glu Thr Val Glu Ser Cys
 275 280 285
 Leu Ala Lys Pro His Thr Glu Ile Ser Phe Thr Asn Val Trp Lys Asp
 290 295 300
 Asp Lys Thr Leu Asp Arg Tyr Ala Asn Tyr Glu Gly Cys Leu Trp Asn
 305 310 315 320
 Ala Thr Gly Val Val Val Cys Thr Gly Asp Glu Thr Gln Cys Tyr Gly
 325 330 335
 Thr Trp Val Pro Ile Gly Leu Ala Ile Pro Glu Asn Glu Gly Gly Gly
 340 345 350
 Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Thr
 355 360 365

<210> 197

<211> 152

5 <212> PRT

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: MALIA3

<400> 197

```

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 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

```

5 <210> 198

<211> 15

<212> PRT

<213> Organismo desconocido

<220>

10 <223> Descripción del organismo desconocido: MALIA3

<400> 198

```

Met Pro Val Leu Leu Gly Ile Pro Leu Leu Leu Arg Phe Leu Gly
 1           5           10           15

```

<210> 199

<211> 335

15 <212> PRT

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: MALIA3

<400> 199

ES 2 531 551 T3

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

<210> 200

<211> 10

5 <212> PRT

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: MALIA3

<400> 200

Met Lys Leu Leu Asn Val Ile Asn Phe Val
1 5 10

5 <210> 201

<211> 90

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 201

actatctcta gagacaactc taagaatact ctctacttgc agatgaacag ctttaagggt 60
10 gaggacactg cagtctacta ttgcgctaaa 90

<210> 202

<211> 30

<212> PRT

<213> Homosapiens

15 <400> 202

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

<210> 203

<211> 90

<212> ADN

20 <213> Secuencia de consenso

<220>

<221> base modificada

<222> (3)

<223> a, t, c, g, otra o desconocida

25 <220>

<221> base modificada

<222> (9)

<223> a, t, c, g, otra o desconocida

<220>

30 <221> base modificada

<222> (12)

<223> a, t, c, g, otra o desconocida

<220>

<221> base modificada

<222> (21)
 <223> a, t, c, g, otra o desconocida
 <220>
 <221> base modificada

5 <222> (30)
 <223> a, t, c, g, otra o desconocida
 <220>
 <221> base modificada
 <222> (51)

10 <223> a, t, c, g, otra o desconocida
 <220>
 <221> base modificada
 <222> (57)
 <223> a, t, c, g, otra o desconocida

15 <220>
 <221> base modificada
 <222> (60)
 <223> a, t, c, g, otra o desconocida
 <220>

20 <221> base modificada
 <222> (69)
 <223> a, t, c, g, otra o desconocida
 <220>
 <221> base modificada

25 <222> (72)
 <223> a, t, c, g, otra o desconocida
 <220>
 <221> base modificada
 <222> (75)

30 <223> a, t, c, g, otra o desconocida
 <220>
 <221> base modificada
 <222> (87)
 <223> a, t, c, g, otra o desconocida

35 <400> 203
 acnathhtcnc gngayaaytc naaraayacn ttrtaytttc aratgaaytc nttrecngcn 60
 gargayacng cngtntayta ytgycnaar 90

ES 2 531 551 T3

<210> 204
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homosapiens
 5 <400> 204
 caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggata caccttcacc 90
 <210> 205
 <211> 90
 <212> ADN
 10 <213> Homosapiens
 <400> 205
 caggtccagc ttgtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60
 tcctgcaagg cttctggata caccttcact 90
 <210> 206
 <211> 90
 15 <212> ADN
 <213> Homosapiens
 <400> 206
 caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggata caccttcacc 90
 <210> 207
 20 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homosapiens
 <400> 207
 caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggata caccttcact 90
 25 <210> 208
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homosapiens
 <400> 208
 caggtccagc tgggtacagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 30 tcctgcaagg ttcccgata caccctcact 90
 <210> 209
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homosapiens

ES 2 531 551 T3

<400> 209

cagatgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaaga ctgggtcctc agtgaagggtt 60
tcctgcaagg cttccggata caccttcacc 90

<210> 210

<211> 90

5 <212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 210

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggtt 60
tcctgcaagg catctggata caccttcacc 90

<210> 211

10 <211> 90

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 211

caaatgcagc tgggtgcagtc tgggcctgag gtgaagaagc ctggggacctc agtgaagggtc 60
tcctgcaagg cttctggatt cacctttact 90

15 <210> 212

<211> 90

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 212

20 cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaagggtc 60
tcctgcaagg cttctggagg caccttcacc 90

<210> 213

<211> 90

<212> ADN

<213> Homosapiens

25 <400> 213

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaagggtc 60
tcctgcaagg cttctggagg caccttcacc 90

<210> 214

<211> 90

<212> ADN

30 <213> Homosapiens

<400> 214

gagggtccagc tgggtacagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggctac agtgaaaatc 60
tcctgcaagg tttctggata caccttcacc 90

<210> 215

<211> 90

ES 2 531 551 T3

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 215

cagatcacct tgaaggagtc tggtcctacg ctggtgaaac ccacacagac cctcacgctg 60
acctgcacct tctctggggt ctcactcagc 90

5 <210> 216

<211> 90

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 216

caggtcacct tgaaggagtc tggtcctgtg ctggtgaaac ccacagagac cctcacgctg 60
10 acctgcaccg tctctggggt ctcactcagc 90

<210> 217

<211> 90

<212> ADN

<213> Homosapiens

15 <400> 217

caggtcacct tgaaggagtc tggtcctgcg ctggtgaaac ccacacagac cctcacactg 60
acctgcacct tctctggggt ctcactcagc 90

<210> 218

<211> 90

<212> ADN

20 <213> Homosapiens

<400> 218

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt 90

<210> 219

<211> 90

25 <212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 219

gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat 90

<210> 220

30 <211> 90

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 220

cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtcaagc ctggagggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 221
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homosapiens

5 <400> 221
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 222
 <211> 90
 <212> ADN

10 <213> Homosapiens
 <400> 222
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtaaagc ctgggggggtc ccttagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt 90

<210> 223
 <211> 90

15 <212> ADN
 <213> Homosapiens
 <400> 223
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggt gtggtacggc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat 90

<210> 224

20 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homosapiens
 <400> 224
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ctggtcaagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 225
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homosapiens
 <400> 225
 gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc 90

30 <210> 226
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homosapiens

ES 2 531 551 T3

<400> 226

cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 227

<211> 90

5 <212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 227

cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 228

10 <211> 90

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 228

cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

15 <210> 229

<211> 90

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 229

20 cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt 90

<210> 230

<211> 90

<212> ADN

<213> Homosapiens

25 <400> 230

gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggagtc gtggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat 90

<210> 231

<211> 90

<212> ADN

30 <213> Homosapiens

<400> 231

gagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 232

<211> 90

ES 2 531 551 T3

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 232

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc cagggcggtc cctgagactc 60
tcctgtacag cttctggatt cacctttggt 90

5 <210> 233

<211> 90

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 233

10 gaggtgcagc tgggtggagac tggaggaggc ttgatccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctgggtt caccgtcagt 90

<210> 234

<211> 90

<212> ADN

<213> Homosapiens

15 <400> 234

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccctcagt 90

<210> 235

<211> 90

<212> ADN

20 <213> Homosapiens

<400> 235

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt 90

<210> 236

<211> 90

25 <212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 236

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggagggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 237

30 <211> 90

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 237

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgaaactc 60
tcctgtgcag cctctgggtt caccttcagt 90

<210> 238
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homosapiens

5 <400> 238
 gaggtgcagc tggaggagtc cgggggaggc ttagttcagc ctgggggggc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 239
 <211> 90
 <212> ADN

10 <213> Homosapiens
 <400> 239
 gaggtgcagc tggaggagtc tcggggagtc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt 90

<210> 240
 <211> 90

15 <212> ADN
 <213> Homosapiens
 <400> 240
 cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggggac cctgtccctc 60
 acctgcgctg tctctggtgg ctccatcagc 90

<210> 241

20 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homosapiens
 <400> 241
 cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggacac cctgtccctc 60
 acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc 90

25 <210> 242
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homosapiens
 <400> 242
 cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc 90

30 <210> 243
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homosapiens

ES 2 531 551 T3

<400> 243

cagctgcagc tgcaggagtc cggtcagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
acctgcgctg tctctggtgg ctccatcagc 90

<210> 244

<211> 90

5 <212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 244

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc 90

<210> 245

10 <211> 90

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 245

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc 90

15 <210> 246

<211> 90

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 246

caggtgcagc tacagcagtg gggcgcagga ctgttgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
20 acctgcgctg tctatggtgg gtccttcagt 90

<210> 247

<211> 90

<212> ADN

<213> Homosapiens

25 <400> 247

cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc 90

<210> 248

<211> 90

<212> ADN

30 <213> Homosapiens

<400> 248

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt 90

<210> 249

<211> 90

ES 2 531 551 T3

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 249

cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccgtcagc 90

5 <210> 250

<211> 90

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 250

cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
10 acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc 90

<210> 251

<211> 90

<212> ADN

<213> Homosapiens

15 <400> 251

gagggtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc 60
tcctgtaagg gttctggata cagctttacc 90

<210> 252

<211> 90

<212> ADN

20 <213> Homosapiens

<400> 252

gaagtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaggatc 60
tcctgtaagg gttctggata cagctttacc 90

<210> 253

<211> 90

25 <212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 253

cagggtacagc tgcagcagtc aggtccagga ctggtgaagc cctcgcagac cctctcactc 60
acctgtgcca tctcgggga cagtgtctct 90

<210> 254

30 <211> 90

<212> ADN

<213> Homosapiens

<400> 254

cagggtgcagc tgggtgcaatc tgggtctgag ttgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt 60
tcctgcaagg cttctggata caccttcact 90

<210> 255
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 <400> 255
 agttctccct gcagctgaac tc 22
 <210> 256
 10 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 15 <400> 256
 cactgtatct gcaaatgaac ag 22
 <210> 257
 <211> 22
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 <400> 257
 ccctgtatct gcaaatgaac ag 22
 25 <210> 258
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 <400> 258
 ccgcctacct gcagtgagc ag 22
 <210> 259
 <211> 22
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 <400> 259
 cgctgtatct gcaaatgaac ag 22
 <210> 260
 5 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 10 <400> 260
 cgccatatct gcagatctgc ag 22
 <210> 261
 <211> 22
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 <400> 261
 cggcgtatct gcaaatgaac ag 22
 20 <210> 262
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 <400> 262
 ctgcctacct gcagtggagc ag 22
 <210> 263
 <211> 22
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Sonda
 <400> 263
 35 tcgcctatct gcaaatgaac ag 22
 <210> 264
 <211> 22

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

5 <400> 264

acatggagct gacgagcctg ag 22

<210> 265

<211> 22

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 265

acatggagct gacgaggctg ag 22

15 <210> 266

<211> 22

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 266

acatggagct gaggagcctg ag 22

<210> 267

<211> 22

25 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 267

30 acctgcagtg gacgagcctg aa 22

<210> 268

<211> 22

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 268

atctgcaaat gaacagcctg aa 22
 <210> 269
 <211> 22
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 269
 atctgcaaat gaacagcctg ag 22
 10 <210> 270
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 270
 atctgcaaat gaacagtctg ag 22
 <210> 271
 <211> 22
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 271
 25 atctgcagat ctgcagccta aa 22
 <210> 272
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 272
 atcttcaaat gaacagcctg ag 22
 <210> 273
 35 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 273
 atcttcaaat gggcagcctg ag 22

5 <210> 274
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>

10 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 274
 ccctgaagct gagctctgtg ac 22
 <210> 275
 <211> 22

15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 275

20 ccctgcagct gaactctgtg ac 22
 <210> 276
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 276
 tccttacaat gaccaacatg ga 22
 <210> 277

30 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

35 <400> 277
 tccttaccat gaccaacatg ga 22
 <210> 278

<211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 278
 ccgtgtatta ctgtgcgaga ga 22
 <210> 279
 <211> 22
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 279
 15 ctgtgtatta ctgtgcgaga ga 22
 <210> 280
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 280
 ccgtgtatta ctgtgcgaga gg 22
 <210> 281
 25 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 30 <400> 281
 ccgtgtatta ctgtgcaaca ga 22
 <210> 282
 <211> 22
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 282
ccatgtatta ctgtgcaaga ta 22
<210> 283
<211> 22
5 <212> ADN
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
<400> 283
10 ccgtgtatta ctgtgcggca ga 22
<210> 284
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
15 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
<400> 284
ccacatatta ctgtgcacac ag 22
<210> 285
20 <211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
25 <400> 285
ccacatatta ctgtgcacgg at 22
<210> 286
<211> 22
<212> ADN
30 <213> Secuencia artificial
<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
<400> 286
ccacgtatta ctgtgcacgg at 22
35 <210> 287
<211> 22
<212> ADN

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 287
 5 ccttgattta ctgtgcaaaa ga 22
 <210> 288
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 288
 ctgtgtatta ctgtgcaaga ga 22
 <210> 289
 15 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 20 <400> 289
 ccgtgtatta ctgtaccaca ga 22
 <210> 290
 <211> 22
 <212> ADN
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 290
 ccttgatca ctgtgcgaga ga 22
 30 <210> 291
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 291
 ccgtatatta ctgtgcgaaa ga 22

<210> 292
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 292
 ctgtgtatta ctgtgcgaaa ga 22
 <210> 293
 10 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 15 <400> 293
 ccgtgtatta ctgtactaga ga 22
 <210> 294
 <211> 22
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 294
 ccgtgtatta ctgtgctaga ga 22
 25 <210> 295
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 295
 ccgtgtatta ctgtactaga ca 22
 <210> 296
 <211> 22
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 296
 ctgtgtatta ctgtaagaaa ga 22
 <210> 297

5 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

10 <400> 297
 ccgtgtatta ctgtgcgaga aa 22
 <210> 298
 <211> 22
 <212> ADN

15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 298
 ccgtgtatta ctgtgccaga ga 22

20 <210> 299
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>

25 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 299
 ctgtgtatta ctgtgcgaga ca 22
 <210> 300
 <211> 22

30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 300

35 ccatgtatta ctgtgcgaga ca 22
 <210> 301
 <211> 22

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

5 <400> 301

ccatgtatta ctgtcgaga aa 22

<210> 302

<211> 69

<212> ADN

10 <213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 302

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgc 69

15 <210> 303

<211> 66

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

20 <223> Descripción del organismo desconocido: secuencia de GLG de FR1 Lambda

<400> 303

cagtctgtgc tgactcagcc accctcggtg tctgaagccc ccaggcagag ggtcaccatc 60
tcctgt 66

<210> 304

<211> 668

25 <212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: h3401-h2

<400> 304

agtgcacaag acatccagat gacccagtct ccagccaccc tgtctgtgtc tccaggggaa 60
agggccaccc tctcctgcag ggccagtcag agtggttagta acaacttagc ctggtaccag 120
cagaaacctg gccagggttc caggctcctc atctatggtg catccaccag ggccactgat 180
atcccagcca ggttcagtg cagtgggtct gggacagact tcaactctcac catcagcaga 240
ctggagcctg aagattttgc agtgtattac tgtcagcggg atggtagctc accgggggtg 300
acgttcggcc aagggaacaa ggtggaaatc aaacgaactg tggctgcacc atctgtcttc 360
atcttcccg cactctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg 420
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg 480
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 540
agcacctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 600
acccatcagg gcctgagctc gcctgtcaca aagagcttca acaaaggaga gtgtaagggc 660
gaattcgc 668

30

<210> 305

<211> 223

<212> PRT

<213> Organismo desconocido

5 <220>

<223> Descripción del organismo desconocido: h3401-h2

<400> 305

```

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

```

10 <210> 306

<211> 700

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

15 <223> Descripción del organismo desconocido: h3401-d8 KAPPA

<400> 306

ES 2 531 551 T3

```

agtgcacaag acatccagat gacccagtct cctgccaccc tgtctgtgtc tccaggtgaa 60
agagccaccc tctcctgcag ggccagtcag gtgtctccag gggaaagagc caccctctcc 120
tgcaatcttc tcagcaactt agcctggtac cagcagaaac ctggccaggc tcccaggctc 180
ctcatctatg gtgcttccac cggggccatt ggtatcccag ccagggttcag tggcagtggg 240
tctgggacag agttcactct caccatcagc agcctgcagt ctgaagattt tgcagtgtat 300
ttctgtcagc agtatggtac ctcaccgccc actttcggcg gagggaccaa ggtggagatc 360
aaacgaactg tggctgcacc atctgtcttc atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa 420
tctggaactg cctctgttgt gtgcccgtg aataacttct atcccagaga ggccaaagta 480
cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag 540
gacaacaagg acagcaccta cagcctcagc agcaccctga cgctgagcaa agtagactac 600
gagaaacacg aagtctacgc ctgcgaagtc acccatcagg gccttagctc gcccgtcacg 660
aagagcttca acaggggaga gtgtaagaaa gaattcgttt 700

```

<210> 307

<211> 222

<212> PRT

5 <213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: h3401-d8 KAPPA

<400> 307

```

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 Asn Leu
           20           25           30

Leu Ser Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg
 35           40           45

Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Gly Ala Ile Gly Ile Pro Ala Arg
 50           55           60

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser
 65           70           75           80

Leu Gln Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Gly Thr
           85           90           95

Ser Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
 100           105           110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
 115           120           125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Pro Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
 130           135           140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
 145           150           155           160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Asn Lys Asp Ser Thr Tyr
 165           170           175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Val Asp Tyr Glu Lys His
 180           185           190

Glu Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
 195           200           205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Lys Lys Glu Phe Val
 210           215           220

```

<210> 308

<211> 45
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 308
 gctgtgtatt actgtgcgag cacatccgtg ttgtcacgg atgtg 45
 <210> 309
 <211> 45
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 309
 15 gccgtgtatt actgtgcgag cacatccgtg ttgtcacgg atgtg 45
 <210> 310
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 310
 gccgtatatt actgtgcgag cacatccgtg ttgtcacgg atgtg 45
 <210> 311
 25 <211> 45
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 30 <400> 311
 gccgtgtatt actgtacgag cacatccgtg ttgtcacgg atgtg 45
 <210> 312
 <211> 45
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 312
gccatgtatt actgtgag cacaaccgtg ttgtcacgg atgtg 45

<210> 313
<211> 88

5 <212> ADN
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 313
10 aatagtagac tgcagtgtcc tcagccctta agctgttcat ctgcaagtag agagtattct 60
tagagttgtc tctagactta gtgaagcg 88

<210> 314
<211> 95
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 314
cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct acttgcagat gaacagctta 60
agggtgagg acactgcagt ctactattgt gcgag 95

<210> 315

20 <211> 95
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

25 <400> 315
cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct acttgcagat gaacagctta 60
agggtgagg acactgcagt ctactattgt acgag 95

<210> 316
<211> 24
<212> ADN

30 <213> Secuencia artificial
<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 316
cgcttcacta agtctagaga caac 24

35 <210> 317

- <211> 44
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
- 5 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 317
 cacatccgtg ttgtcacgg atgtgggagg atggagactg ggtc 44
 <210> 318
 <211> 44
- 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 318
- 15 cacatccgtg ttgtcacgg atgtgggaga gtggagactg agtc 44
 <210> 319
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
- 20 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 319
 cacatccgtg ttgtcacgg atgtgggtgc ctggagactg cgtc 44
 <210> 320
- 25 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
- 30 <400> 320
 cacatccgtg ttgtcacgg atgtgggtgg ctggagactg cgtc 44
 <210> 321
 <211> 34
 <212> ADN
- 35 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 321
cctctactct tgtcacagtg cacaagacat ccag 34
<210> 322
<211> 20
5 <212> ADN
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
<400> 322
10 cctctactct tgtcacagtg 20
<210> 323
<211> 44
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
15 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
<400> 323
ggaggatgga ctggatgtct tgtgcactgt gacaagagta gagg 44
<210> 324
20 <211> 44
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
25 <400> 324
ggagagtgga ctggatgtct tgtgcactgt gacaagagta gagg 44
<210> 325
<211> 44
<212> ADN
30 <213> Secuencia artificial
<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
<400> 325
ggcgctgga ctggatgtct tgtgcactgt gacaagagta gagg 44
35 <210> 326
<211> 44
<212> ADN

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 326
 5 ggtggctgga ctggatgtct tgtgcactgt gacaagagta gagg 44
 <210> 327
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 327
 cacatccgtg ttgttcacgg atgtggatcg actgtccagg agac 44
 <210> 328
 15 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 20 <400> 328
 cacatccgtg ttgttcacgg atgtggactg tctgtccaa ggcc 44
 <210> 329
 <211> 44
 <212> ADN
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 329
 cacatccgtg ttgttcacgg atgtggactg actgtccagg agac 44
 30 <210> 330
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 330
 cacatccgtg ttgttcacgg atgtggaccc tctgccctgg ggcc 44

<210> 331
 <211> 59
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 331
 cctctgactg agtgcacaga gtgctttaac ccaaccggct agtgtagcg gttccccgg 59
 <210> 332

10 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

15 <400> 332
 cctctgactg agtgcacaga gtgctttaac ccaaccggct agtgtagcg gttccccggg 60
 acagtcgat 69
 <210> 333
 <211> 69
 <212> ADN

20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 333
 cctctgactg agtgcacaga gtgctttaac ccaaccggct agtgtagcg gttccccggg 60
 acagacagt 69

25 <210> 334
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>

30 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 334
 cctctgactg agtgcacaga gtgctttaac ccaaccggct agtgtagcg gttccccggg 60
 acagtcagt 69
 <210> 335
 <211> 70

35 <212> ADN

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 335
 cctctgactg agtgcacaga gtgctttaac ccaaccggct agtgtagcg gtstccccgg 60
 5 ggagaggggt 70
 <210> 336
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 336
 cctctgactg agtgcacaga gtgc 24
 <210> 337
 15 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 20 <400> 337
 gggaggatgg agactgggtc 20
 <210> 338
 <211> 20
 <212> ADN
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 338
 gggaagatgg agactgggtc 20
 30 <210> 339
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 339

gggagagtgg agactgagtc 20
 <210> 340
 <211> 20
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 340
 gggcgcctgg agactgcgtc 20
 10 <210> 341
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 341
 gggcgcctgg agactgcgtc 20
 <210> 342
 <211> 20
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 342
 25 gggagtctgg agactgggtc 20
 <210> 343
 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 343
 gggaggtatgg agactgggtc atctggatgt cttgtgcact gtgacagagg 50
 <210> 344
 35 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 344
 gggaagatgg agactgggtc atctggatgt cttgtgcact gtgacagagg 50

5 <210> 345
 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>

10 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 345
 gggagagtgg agactgggtc atctggatgt cttgtgcact gtgacagagg 50
 <210> 346
 <211> 50

15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 346

20 ggggtcctgg agactgggtc atctggatgt cttgtgcact gtgacagagg 50
 <210> 347
 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 347
 ggggtgctgg agactgggtc atctggatgt cttgtgcact gtgacagagg 50
 <210> 348

30 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético

35 <400> 348
 gggagtctgg agactgggtc atctggatgt cttgtgcact gtgacagagg 50
 <210> 349

<211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 349
 cctctgtcac agtcacaaag acatccagat gacccagtct cc 42
 <210> 350
 <211> 22
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 350
 15 cctctgtcac agtcacaaag ac 22
 <210> 351
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 351
 acactctccc ctgttgaagc tctt 24
 <210> 352
 25 <211> 912
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Oligonucleótido sintético
 30 <400> 352

ES 2 531 551 T3

```
tccggagctt cagatctggt tgcctttttg tgggggtggt cagatcgcgt tacggagatc 60
gaccgactgc ttgagcaaaa gccacgctta actgctgata aggcattgga tgttattcgc 120
caaaccagtc gtcaggatct taacctgagg cttttttttac ctactctgca agcagcgaca 180
tctggtttga cacagagcga tccgcgtcgt cagttggtag aaacattaac acggtgggat 240
ggcatcaatt tgcttaatga tgatggtaaa acctggcagc agccaggctc tgccatcctg 300
aacgtttggc tgaccagtat gttgaagcgt accgtagtgg ctgccgtacc tatgccattt 360
gataagtggg acagcgccag tggctacgaa acaaccagc acggcccaac tggttcgcctg 420
aatataagtg ttggagcaaa aattttgtat gaggcggtag agggagacaa atcaccaatc 480
ccacagggcg ttgatctggt tgctgggaaa ccacagcagg aggttggtgt ggctgcgcctg 540
gaagatacct gggagactct ttccaaacgc tatggcaata atgtgagtaa ctggaaaaaca 600
cctgcaatgg ccttaacggt ccgggcaaat aatttctttg gtgtaccgca ggccgcagcg 660
gaagaaacgc gtcattcaggc ggagtatcaa aaccgtggaa cagaaaacga tatgattggt 720
ttctcaccaa cgacaagcga tcgtcctgtg cttgcctggg atgtgggtcg acccggtcag 780
agtgggttta ttgctcccga tggaacagtt gataagcact atgaagatca gctgaaaatg 840

tacgaaaatt ttggccgtaa gtgcgtctgg ttaacgaagc aggatgtgga ggcgcataag 900
gagtcgtcta ga 912
```

<210> 353

<211> 6680

5 <212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: pCES5

<400> 353

ES 2 531 551 T3

gacgaaaggg	cctcgtgata	cgccatatttt	tataggttaa	tgatcatgata	ataatggttt	60
cttagacgtc	aggtggcact	tttcggggaa	atgtgcgcgg	aacccttatt	tgtttatattt	120
tctaaataca	ttcaaatatg	tatccgctca	tgagacaata	accctgataa	atgcttcaat	180
aatattgaaa	aaggaagagt	atgagtatcc	aacattttccg	tgctgccttt	attccctttt	240
ttgcggcatt	ttgccttcct	gtttttgctc	acccagaaac	gctggtgaaa	gtaaaagatg	300
ctgaagatca	gttgggtgcc	cgagtgggtt	acatcgaaact	ggatctcaac	agcggtaaga	360
tccttgagag	ttttcgcccc	gaagaacgtt	ttccaatgat	gagcactttt	aaagtctctgc	420
tatgtggcgc	ggtattatcc	cgtattgacg	ccgggcaaga	gcaactcggg	cgccgcatac	480
actattctca	gaatgacttg	gttgagtact	caccagtcc	agaaaagcat	cttacggatg	540
gcatgacagt	aagagaatta	tgacgtgctg	ccataaccat	gagtataaac	actgcggcca	600
acttacttct	gacaacgac	ggaggaccga	aggagctaac	cgcttttttg	cacaacatgg	660
gggatcatgt	aactcgcctt	gatcgttggg	aaccggagct	gaatgaagcc	ataccaaacg	720
acgagcgtga	caccacgatg	cctgtagcaa	tggaacaac	gttgcgcaaa	ctattaactg	780
gcgaactact	tactctagct	tcccggcaac	aattaataga	ctggatggag	gcggataaag	840
ttgcaggacc	acttctgcgc	tcggcccttc	cggtcggtcg	gtttattgct	gataaatctg	900
gagccgggtg	gcgtgggtct	cgcggtatca	ttgcagcact	ggggccagat	ggtaagccct	960
cccgtatcgt	agtctatctac	acgacgggga	gtcaggcaac	tatggatgaa	cgaaatagac	1020
agatcgctga	gataggtgcc	tcactgatta	agcattggta	actgtcagac	caagtcttact	1080
catatatact	ttagattgat	ttaaaacttc	atttttaatt	taaaaggatc	taggtgaaga	1140
tcctttttga	taatctcatg	acccaaatcc	cttaacgtga	gttttcgttc	cactgagcgt	1200
cagaccccg	agaaaagatc	aaaggatctt	cttgagatcc	tttttttctg	cgcgtaatct	1260
gctgcttgca	aacaaaaaaa	ccaccgctac	cagcggtggg	ttgtttgccc	gatcaagagc	1320
taccaactct	ttttccgaag	gtaactggct	tcagcagagc	gcagatacca	aatactgtcc	1380
ttctagtgtg	gccgtagtta	ggccaccact	tcaagaactc	tgtagcaccg	cctacatacc	1440
tcgctctgct	aatcctgtta	ccagtggctg	ctgccagtgg	cgataagtcg	tgtcttaccg	1500
ggttggaactc	aagacgatag	ttaccggata	aggcgcagcg	gtcgggctga	acgggggggt	1560
cgtgcataca	gccagctctg	gagcgaaacga	cctacaccga	actgagatac	ctacagcgtg	1620
agcattgaga	aagcgccacg	cttcccgaag	ggagaaaggc	ggacaggtat	ccggtaagcg	1680
gcagggtcgg	aacaggagag	cgcacgaggg	agcttccagg	gggaaacgcc	tggtatcttt	1740
atagtctctg	cgggtttcgc	cacctctgac	ttgagcgtcg	atttttgtga	tgctcgtcag	1800
gggggcggag	cctatggaaa	aacgccagca	acgcggcctt	tttacggttc	ctggcctttt	1860
gctggccttt	tgctcacatg	ttcttttctg	cgttatcccc	tgattctgtg	gataaccgta	1920
ttaccgcctt	tgagttagct	gataccgctc	gccgcagccg	aacgaccgag	cgagcgaggt	1980
cagttagcga	ggaagcggaa	gagcgcccaa	tacgcaaac	gcctctcccc	gcgcgttggc	2040
cgattcatta	atgcagctgg	cacgacaggt	ttcccactg	gaaagcgggc	agttagcgca	2100
acgcaattaa	tgtgagttag	ctcactcatt	aggcacccca	ggctttacac	tttatgcttc	2160
cggctcgtat	gttgtgtgga	attgtgagcg	gataacaatt	tcacacagga	aacagctatg	2220
accatgatta	cgccaagctt	tggagccttt	tttttgagga	ttttcaacgt	gaaaaaatta	2280
ttattcgcaa	ttcctttagt	tggttccttc	tattctcaca	gtgcacaggt	ccaactgcag	2340
gtcgacctcg	agatcaaacg	tggaaactgtg	gctgcacat	ctgtcttcat	cttcccgcca	2400
tctgatgagc	agttgaaatc	tggaaactgcc	tctgttgtgt	gcctgctgaa	taacttctat	2460
cccagagagg	ccaaagtaca	gtggaaggtg	gataacgccc	tccaatcggg	taactcccag	2520
gagagtgtca	cagagcagga	cagcaaggac	agcacctaca	gcctcagcag	caccctgacg	2580
ctgagcaaa	cagactacga	gaaacacaaa	gtctacgcct	gcgaagtcac	ccatcagggc	2640
ctgagttcac	cggtgacaaa	gagcttcaac	aggggagagt	gttaataagg	cgcgccaatt	2700

ctatttcaag	gagacagtca	taatgaaata	cctattgcct	acggcagccg	ctggattggt	2760
attactcgcg	gcccagccgg	ccatggccga	agttcaattg	ttagagtctg	gtggcggtct	2820
tgttcagcct	ggtgggtcct	tacgtccttc	ttgcgctgct	tccggagcct	cagatctggt	2880
tgcctttttg	tgggggtggt	cagatcgcg	tacggagatc	gaccgactgc	ttgagcaaaa	2940
gccacgctta	actgctgac	aggcatggga	tggtattcgc	caaaccagtc	gtcaggatct	3000
taacctgagg	ctttttttac	ctactctgca	agcagcgaca	tctggtttga	cacagagcga	3060
tccgcgctgt	cagttggtag	aaacattaac	acgttgggat	ggcatcaatt	tgcttaata	3120
tgatggtaaa	acctggcagc	agccaggctc	tgccatcctg	aacgtttggc	tgaccagtat	3180
gttgaagcgt	accgtagtgg	ctgccgtacc	tatgccatth	gataagtgg	acagcgccag	3240
tggctacgaa	acaacccagg	acggcccaac	tggttcgctg	aatataagt	ttggagcaaa	3300
aattttgtat	gaggcggtgc	agggagacaa	atcaccaatc	ccacaggcgg	ttgatctggt	3360
tgctgggaaa	ccacagcagg	agggtgtggt	ggctgcgctg	gaagatacct	gggagactct	3420
ttccaaacgc	tatggcaata	atgtgagtaa	ctggaaaaca	cctgcaatgg	ccttaacgtt	3480
ccgggcaaat	aatttctttg	gtgtaccgca	ggccgcagcg	gaagaaacgc	gtcatcaggc	3540
ggagtatcaa	aaccgtggaa	cagaaaacga	tatgattggt	ttctcaccaa	cgacaagcga	3600
tcgtcctgtg	cttgcttggg	atgtggctgc	accgggtcag	agtgggttta	ttgctccga	3660
tggaacagtt	gataagcact	atgaagatca	gctgaaaatg	tacgaaaatt	ttggccgtaa	3720
gtcgctctgg	ttaacgaagc	aggatgtgga	ggcgcataag	gagtcgtcta	gagacaactc	3780
taagaatact	ctctacttgc	agatgaacag	cttaagtctg	agcattcggg	ccgggcaaca	3840
ttctccaaac	tgaccagacg	acacaaacgg	cttacgctaa	atcccgcgca	tgggatggta	3900
aagaggtggc	gtcttttgc	gcctggactc	atcagatgaa	ggccaaaaat	tggcaggagt	3960
ggacacagca	ggcagcgaaa	caagcactga	ccatcaactg	gtactatgct	gatgtaaacg	4020
gcaatattgg	ttatgttcat	actggtgctt	atccagatcg	tcaatcaggc	catgatccgc	4080
gattaccgtg	tcctgggtacg	ggaaaatggg	actggaaagg	gctattgcct	tttgaatatga	4140
accctaagg	gtataacccc	cagaagctag	cctgcggctt	cggtcacctg	ctcaagcgcc	4200
tccaccaagg	gcccacgggt	cttccccctg	gcacctcct	ccaagagcac	ctctgggggc	4260
acagcgggcc	tgggtcgct	gggtcaaggac	tacttcccc	aacgggtgac	gggtgctggt	4320
aactcaggcg	cctgaccag	cggtcgccac	accttcccc	ctgtcctaca	gtcctcagga	4380
ctctactccc	tcagcagcgt	agtgaccgtg	ccctccagca	gcttgggcac	ccagacctac	4440
atctgcaacg	tgaatcacaa	gcccagcaac	accaaggtgg	acaagaaagt	tgagcccaaa	4500
tcttgtgcgg	ccgcacatca	tcatcaccat	cacggggccg	cagaacaaaa	actcatctca	4560
gaagaggatc	tgaattggggc	cgcatagact	gttgaaagt	gtttagcaaa	acctcatata	4620
gaaaattcat	ttactaacgt	ctggaaaagc	gacaaaactt	tagatcggtta	cgctaactat	4680
gagggctgtc	tgtggaatgc	tacaggcggt	gtggtttga	ctggtgacga	aactcagtgt	4740
tacgttacat	gggttcctat	tgggcttgct	atccctgaaa	atgaggggtg	tggctctgag	4800
gggtggcggt	ctgaggggtg	cggttctgag	gggtggcggt	ctaaacctcc	tgagtacggt	4860
gatacaccta	ttccgggcta	tacttatatc	aacctctctg	acggcactta	tccgcctggt	4920
actgagcaaa	accccgctaa	tcctaatact	tctcttgagg	agtctcagcc	tcttaatact	4980
ttcatgtttc	agaataatag	gttccgaaat	aggcagggtg	cattaactgt	ttatacgggc	5040
actgttactc	aaggcactga	ccccgttaaa	acttattacc	agtacactcc	tgtatcatca	5100
aaagccatgt	atgacgctta	ctggaacggt	aaattcagag	actgcgcttt	ccattctggc	5160
tttaatgagg	atccattcgt	ttgtgaatat	caaggccaat	cgtctgacct	gcctcaacct	5220
cctgtcaatg	ctggcgcgcg	ctctggtggt	gggtctggtg	gcggctctga	gggtggcgcg	5280
tctgaggggt	gcggttctga	gggtggcgcg	tctgaggggt	gcggttccgg	tggcggtccc	5340
gggtcccggt	attttgatta	tgaaaaaatg	gcaaacgcta	ataagggggc	tatgaccgaa	5400
aatgcccgat	aaaacgcgct	acagtcctgac	gctaaaggca	aacttgattc	tgtcgctact	5460
gattacgggt	ctgctatcga	tggtttcatt	ggtagcgttt	ccggccttgc	taatggtaat	5520
gggtgctact	gtgattttgc	tggctctaata	tcccaaatgg	ctcaagtcgg	tgacggtgat	5580
aattcacctt	taatgaataa	tttccgtcaa	tatttacctt	ctttgcctca	gtcggttgaa	5640
tgtcgccctt	atgtcttttg	cgttggtaaa	ccatatgaat	tttctattga	ttgtgacaaa	5700
ataaaacttat	tcctgtggtg	ctttgcgttt	cttttatatg	ttgccacctt	tatgtatgta	5760
ttttcgacgt	ttgctaacat	actgcgtaat	aaggagctct	aataagaatt	cactggccgt	5820
cgttttacaa	cgtcgtgact	gggaaaaccc	tggcggtacc	caacttaatc	gccttgacgc	5880
acatccccct	ttcgccagct	ggcgtaatag	cgaagaggcc	cgacccgatc	gcccttccca	5940
acagttgcgc	agcctgaatg	gcgaatggcg	cctgatgcgg	tattttctcc	ttacgcatct	6000
gtgcggtatt	tcacaccgca	tataaattgt	aaacgttaat	attttggtta	aattcgcggt	6060
aaatttttgt	taaatcagct	cattttttta	ccaataggcc	gaaatcggca	aaatccctta	6120
taaatcaaaa	gaatagcccc	agataggggt	gagtgttggt	ccagtttgga	acaagagtcc	6180
actattaaag	aacgtggact	ccaacgtcaa	agggcgaaaa	accgtctatc	agggcgatgg	6240
cccactacgt	gaaccatcac	ccaaatcaag	ttttttgggg	tcgaggtgcc	gtaaagcact	6300
aaatcggaac	cctaaaggga	gcccctcgatt	tagagcttga	cggggaaagc	cggcgaaacgt	6360
ggcgagaaa	gaagggaaga	aagcgaaaag	agcggcgctg	agggcgctgg	caagtgtagc	6420
ggtcacgctg	cgcgttaacca	ccacaccgcg	cgcgcttaac	gcgcgcgtac	agggcgcgta	6480
ctatggttgc	tttgacgggt	gcagtcctcag	tacaatctgc	tctgatgcgg	catagttaag	6540
ccagccccga	caccgcgcaa	caccgcgtga	cgcgcctga	cgggcttgtc	tgctcccggc	6600
atccgcttac	agacaagctg	tgaccgtctc	cgggagctgc	atgtgtcaga	ggttttcacc	6660
gtcatcaccg	aaacgcgcga					6680

<211> 286

<212> PRT

<213> Organismo desconocido

<220>

5 <223> Descripción del organismo desconocido: pCES5

<400> 354

```

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

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> 355

10 <211> 138

<212> PRT

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: pCES5

5 <400> 355

```

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> 356

<211> 48

<212> PRT

10 <213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: pCES5

<400> 356

```

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

```

15 <210> 357

<211> 28

<212> PRT

<213> Organismo desconocido

<220>

20 <223> Descripción del organismo desconocido: pCES5

<400> 357

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 Thr
20 25

<210> 358

<211> 129

5 <212> PRT

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: pCES5

<400> 358

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

10 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 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

<210> 359

<211> 404

<212> PRT

15 <213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: pCES5

<400> 359

ES 2 531 551 T3

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

ES 2 531 551 T3

Pro Gln Pro Pro Val Asn Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
 210 215 220

Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Ser Glu Gly Gly
 225 230 235 240

Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Asp Phe
 245 250 255

Asp Tyr Glu Lys Met Ala Asn Ala Asn Lys Gly Ala Met Thr Glu Asn
 260 265 270

Ala Asp Glu Asn Ala Leu Gln Ser Asp Ala Lys Gly Lys Leu Asp Ser
 275 280 285

Val Ala Thr Asp Tyr Gly Ala Ala Ile Asp Gly Phe Ile Gly Asp Val
 290 295 300

Ser Gly Leu Ala Asn Gly Asn Gly Ala Thr Gly Asp Phe Ala Gly Ser
 305 310 315 320

Asn Ser Gln Met Ala Gln Val Gly Asp Gly Asp Asn Ser Pro Leu Met
 325 330 335

Asn Asn Phe Arg Gln Tyr Leu Pro Ser Leu Pro Gln Ser Val Glu Cys
 340 345 350

Arg Pro Tyr Val Phe Gly Ala Gly Lys Pro Tyr Glu Phe Ser Ile Asp
 355 360 365

Cys Asp Lys Ile Asn Leu Phe Arg Gly Val Phe Ala Phe Leu Leu Tyr
 370 375 380

Val Ala Thr Phe Met Tyr Val Phe Ser Thr Phe Ala Asn Ile Leu Arg
 385 390 395 400

Asn Lys Glu Ser

<210> 360

<211> 69

<212> ADN

5 <213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 360

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

10 <210> 361

<211> 69

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

15 <223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 361

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgc 69

<210> 362

<211> 69

<212> ADN

5 <213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 362

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgc 69

10 <210> 363

<211> 69

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

15 <223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 363

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgc 69

<210> 364

<211> 69

20 <212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 364

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgc 69

25 <210> 365

<211> 69

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

30 <220>

<223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 365

aacatccaga tgacccagtc tccatctgcc atgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgt 69

<210> 366
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Organismo desconocido

5 <220>
 <223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa
 <400> 366
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgt 69

<210> 367

10 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Organismo desconocido
 <220>
 <223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

15 <400> 367
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgt 69

<210> 368
 <211> 69
 <212> ADN

20 <213> Organismo desconocido
 <220>
 <223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa
 <400> 368
 gccatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

25 <210> 369
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Organismo desconocido
 <220>

30 <223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa
 <400> 369
 gccatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

<210> 370
 <211> 69

35 <212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 370

5 gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgt 69

<210> 371

<211> 69

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

10 <220>

<223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 371

gacatccaga tgacccagtc tccatcttct gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgt 69

<210> 372

15 <211> 69

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

20 <400> 372

gacatccagt tgacccagtc tccatcttcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgc 69

<210> 373

<211> 69

<212> ADN

25 <213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 373

gccatccgga tgacccagtc tccattctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgc 69

30 <210> 374

<211> 69

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

35 <223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 374
gccatccgga tgacccagtc tccatcctca ttctctgcat ctacaggaga cagagtcacc 60
atcacttgt 69

<210> 375
<211> 69

5 <212> ADN
<213> Organismo desconocido
<220>
<223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 375
gtcatctgga tgacccagtc tccatcctta ctctctgcat ctacaggaga cagagtcacc 60
atcagttgt 69

10 <210> 376
<211> 69
<212> ADN
<213> Organismo desconocido

15 <220>
<223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 376
gccatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgc 69

<210> 377

20 <211> 69
<212> ADN
<213> Organismo desconocido
<220>
<223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

25 <400> 377
gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgc 69

<210> 378
<211> 69
<212> ADN

30 <213> Organismo desconocido
<220>
<223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 378
gatattgtga tgacccagac tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgc 69

<210> 379
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Organismo desconocido
 5 <220>
 <223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa
 <400> 379
 gatattgtga tgaccagac tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
 atctcctgc 69
 <210> 380
 10 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Organismo desconocido
 <220>
 <223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa
 15 <400> 380
 gatgttgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccttggaca gccggcctcc 60
 atctcctgc 69
 <210> 381
 <211> 69
 <212> ADN
 20 <213> Organismo desconocido
 <220>
 <223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa
 <400> 381
 gatgttgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccttggaca gccggcctcc 60
 atctcctgc 69
 25 <210> 382
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Organismo desconocido
 <220>
 30 <223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa
 <400> 382
 gatattgtga tgaccagac tccactctct ctgtccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
 atctcctgc 69
 <210> 383
 <211> 69

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

5 <400> 383

gatattgtga tgacccagac tccactctct ctgtccgtca cccctggaca gccggcctcc 60
atctcctgc 69

<210> 384

<211> 69

<212> ADN

10 <213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 384

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgc 69

15 <210> 385

<211> 69

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

20 <223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 385

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgc 69

<210> 386

<211> 69

25 <212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 386

gatattgtga tgacccagac tccactctcc tcacctgtca cccttggaca gccggcctcc 60
atctcctgc 69

30 <210> 387

<211> 69

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 387

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgc 69

5 <210> 388

<211> 69

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

10 <223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 388

gaaattgtgt tgacgcagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgc 69

<210> 389

<211> 69

15 <212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 389

20 gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgc 69

<210> 390

<211> 69

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

25 <220>

<223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 390

gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgc 69

<210> 391

30 <211> 69

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

35 <400> 391

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgc 69

<210> 392

<211> 69

<212> ADN

5 <213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 392

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgc 69

10 <210> 393

<211> 69

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

15 <223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 393

gaaattgtaa tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgc 69

<210> 394

<211> 69

20 <212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 394

gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
atcaactgc 69

25 <210> 395

<211> 69

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

30 <220>

<223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa

<400> 395

gaaacgacac tcacgcagtc tccagcattc atgtcagcga ctccaggaga caaagtcaac 60
atctcctgc 69

<210> 396

<211> 69
 <212> ADN
 <213> Organismo desconocido
 <220>
 5 <223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa
 <400> 396
 gaaattgtgc tgactcagtc tccagacttt cagtctgtga ctccaaagga gaaagtcacc 60
 atcacctgc 69
 <210> 397
 <211> 69
 10 <212> ADN
 <213> Organismo desconocido
 <220>
 <223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa
 <400> 397
 gaaattgtgc tgactcagtc tccagacttt cagtctgtga ctccaaagga gaaagtcacc 60
 15 atcacctgc 69
 <210> 398
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Organismo desconocido
 20 <220>
 <223> Descripción del organismo desconocido: GLGs de FR1 Kappa
 <400> 398
 gatgttgtga tgacacagtc tccagctttc ctctctgtga ctccagggga gaaagtcacc 60
 atcacctgc 69
 <210> 399
 25 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Organismo desconocido
 <220>
 <223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda
 30 <400> 399
 cagtctgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
 tctctgc 66
 <210> 400
 <211> 66
 <212> ADN
 35 <213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda

<400> 400

cagtctgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc 60
tcttgt 66

5 <210> 401

<211> 66

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

10 <223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda

<400> 401

cagtctgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc 60
tcttgt 66

<210> 402

<211> 66

15 <212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda

<400> 402

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tcctgc 66

20 <210> 403

<211> 66

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

25 <220>

<223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda

<400> 403

cagtctgccc tgactcagcc tcctcccgcg tccgggtctc ctggacagtc agtcaccatc 60
tcctgc 66

<210> 404

30 <211> 66

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda

35 <400> 404

cagtctgccc tgactcagcc tcgctcagtg tccgggtctc ctggacagtc agtcaccatc 60
tcctgc 66

<210> 405

<211> 66

<212> ADN

5 <213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda

<400> 405

cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgc 66

10 <210> 406

<211> 66

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

15 <223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda

<400> 406

cagtctgccc tgactcagcc tccctccgtg tccgggtctc ctggacagtc agtcaccatc 60
tcctgc 66

<210> 407

<211> 66

20 <212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda

<400> 407

cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgc 66

25 <210> 408

<211> 66

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

30 <220>

<223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda

<400> 408

tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc 60
acctgc 66

<210> 409

<211> 66
 <212> ADN
 <213> Organismo desconocido
 <220>
 5 <223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda
 <400> 409
 tcctatgagc tgactcagcc actctcagtgc tcagtggccc tgggacagac ggccaggatt 60
 acctgt 66
 <210> 410
 <211> 66
 10 <212> ADN
 <213> Organismo desconocido
 <220>
 <223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda
 <400> 410
 tcctatgagc tgacacagcc accctcggtg tcagtgtccc caggacaaac ggccaggatc 60
 acctgc 66
 15 <210> 411
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Organismo desconocido
 20 <220>
 <223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda
 <400> 411
 tcctatgagc tgacacagcc accctcggtg tcagtgtccc taggacagat ggccaggatc 60
 acctgc 66
 <210> 412
 25 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Organismo desconocido
 <220>
 <223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda
 30 <400> 412
 tcttctgagc tgactcagga cctgtgtgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc 60
 acatgc 66
 <210> 413
 <211> 66
 <212> ADN
 35 <213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda

<400> 413

tcctatgtgc tgactcagcc accctcagtg tcagtggccc caggaaagac ggccaggatt 60
acctgt 66

5 <210> 414

<211> 66

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

10 <223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda

<400> 414

tcctatgagc tgacacagct accctcggtg tcagtgtccc caggacagac agccaggatc 60
acctgc 66

<210> 415

<211> 66

15 <212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda

<400> 415

tcctatgagc tgatgcagcc accctcggtg tcagtgtccc caggacagac ggccaggatc 60
acctgc 66

20 <210> 416

<211> 66

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

25 <220>

<223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda

<400> 416

tcctatgagc tgacacagcc atcctcagtg tcagtgtctc cgggacagac agccaggatc 60
acctgc 66

<210> 417

30 <211> 66

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda

35 <400> 417

ctgcctgtgc tgactcagcc cccgtctgca tctgccttgc tgggagcctc gatcaagctc 60
acctgc 66

<210> 418

<211> 66

<212> ADN

5 <213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda

<400> 418

cagcctgtgc tgactcaatc atcctctgcc tctgcttccc tgggagcctc ggtcaagctc 60
acctgc 66

10 <210> 419

<211> 66

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

15 <223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda

<400> 419

cagcctgtgc tgactcaatc gccctctgcc tctgcctccc tgggagcctc ggtcaagctc 60
acctgc 66

<210> 420

<211> 66

20 <212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda

<400> 420

cagcctgtgc tgactcagcc accttccctc tccgcatctc ctggagaatc cgccagactc 60
acctgc 66

25 <210> 421

<211> 66

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

30 <220>

<223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda

<400> 421

caggctgtgc tgactcagcc ggcttccctc tctgcatctc ctggagcatc agccagtctc 60
acctgc 66

<210> 422

<211> 66
 <212> ADN
 <213> Organismo desconocido
 <220>
 5 <223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda
 <400> 422
 cagcctgtgc tgactcagcc atcttcccat tctgcatctt ctggagcatc agtcagactc 60
 acctgc 66
 <210> 423
 <211> 66
 10 <212> ADN
 <213> Organismo desconocido
 <220>
 <223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda
 <400> 423
 aattttatgc tgactcagcc ccactctgtg tctggagtctc cggggaagac ggtaaccatc 60
 15 tctctgc 66
 <210> 424
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Organismo desconocido
 20 <220>
 <223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda
 <400> 424
 cagactgtgg tgactcagga gccctcactg actgtgtccc caggagggac agtcactctc 60
 acctgt 66
 <210> 425
 25 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Organismo desconocido
 <220>
 <223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda
 30 <400> 425
 caggctgtgg tgactcagga gccctcactg actgtgtccc caggagggac agtcactctc 60
 acctgt 66
 <210> 426
 <211> 66
 <212> ADN
 35 <213> Organismo desconocido

ES 2 531 551 T3

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda

<400> 426

cagactgtgg tgacccagga gccatcggtc tcagtgtccc ctggaggagac agtcacactc 60
acttgt 66

5 <210> 427

<211> 66

<212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

10 <223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda

<400> 427

cagcctgtgc tgactcagcc accttctgca tcagcctccc tgggagcctc ggtcacactc 60
acctgc 66

<210> 428

<211> 66

15 <212> ADN

<213> Organismo desconocido

<220>

<223> Descripción del organismo desconocido: Secuencia de GLG de FR1 Lambda

<400> 428

caggcagggc tgactcagcc acctcgggtg tccaagggct tgagacagac cgccacactc 60
acctgc 66

20

REIVINDICACIONES

1. Un método para obtener una biblioteca que presenta una familia diversa de péptidos, polipéptidos o proteínas en la superficie de un paquete genético, comprendiendo el método las etapas de:

(i) escindir un ácido nucleico en una localización deseada mediante un método que comprende las etapas de:

5 (a) poner en contacto un ácido nucleico monocatenario con un oligonucleótido monocatenario, siendo el oligonucleótido monocatenario complementario del ácido nucleico monocatenario en la región en la que se desea la escisión; en el que el ácido nucleico monocatenario y el oligonucleótido monocatenario se asocian para formar una región localmente bicatenaria del ácido nucleico monocatenario, en el que la región localmente bicatenaria comprende un sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción; y

10 (b) escindir el ácido nucleico en el sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción, en el que la escisión comprende poner en contacto una endonucleasa de restricción con la región localmente bicatenaria, en el que la endonucleasa de restricción es específica del sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción;

15 realizándose las etapas de puesta en contacto y escisión a una temperatura entre 45°C y 75°C, en la que el ácido nucleico monocatenario y el oligonucleótido monocatenario se asocian para formar una región localmente bicatenaria del ácido nucleico monocatenario, en la que el resto del ácido nucleico monocatenario es monocatenario, y en la que la endonucleasa de restricción está activa a la temperatura; y

20 (ii) presentar un miembro de la familia de péptidos, polipéptidos o proteínas codificada por el ácido nucleico escindido en la superficie de un paquete genético y presentar colectivamente al menos una porción de la diversidad de la familia.

2. Un método para obtener una biblioteca que presenta una familia diversa de péptidos, polipéptidos o proteínas en la superficie de un paquete genético, comprendiendo el método las etapas de:

(i) escindir un ácido nucleico en una localización deseada mediante un método que comprende las etapas de:

25 (a) poner en contacto un ácido nucleico monocatenario con un oligonucleótido parcialmente bicatenario, siendo la región monocatenaria del oligonucleótido complementaria del ácido nucleico monocatenario 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 de Tipo II-S; en el que el ácido nucleico monocatenario y la región monocatenaria del oligonucleótido se asocian para formar una región localmente bicatenaria del ácido nucleico monocatenario, en el que la región localmente bicatenaria comprende un sitio de escisión de Tipo II-S; y

30 (b) escindir el ácido nucleico en el sitio de escisión de Tipo II-S, en el que la escisión comprende poner en contacto una endonucleasa de restricción de Tipo II-S con la región localmente bicatenaria del ácido nucleico monocatenario, en el que la endonucleasa de restricción de Tipo II-S es específica del sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción de Tipo II-S;

35 realizándose las etapas de puesta en contacto y escisión a una temperatura entre 45°C y 75°C, en la que el ácido nucleico monocatenario y la región monocatenaria del oligonucleótido se asocian para formar una región localmente bicatenaria del ácido nucleico monocatenario, en la que el resto del ácido nucleico monocatenario es monocatenario, y en la que la endonucleasa de Tipo II-S está activa a la temperatura; y

40 (ii) presentar un miembro de la familia de péptidos, polipéptidos o proteínas codificada por el ácido nucleico escindido en la superficie del paquete genético y presentar colectivamente al menos una porción de la diversidad de la familia.

3. El método de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en el que los ácidos nucleicos codifican al menos una porción de una inmunoglobulina.

45 4. El método de acuerdo con la reivindicación 3, en el que la inmunoglobulina comprende un Fab o Fv monocatenario.

5. El método de acuerdo con la reivindicación 3 ó 4, en el que la inmunoglobulina comprende al menos una porción de una cadena pesada, o al menos una porción de la cadena ligera.

6. El método de acuerdo con la reivindicación 1 a 5, en el que las secuencias de ácido nucleico derivan al menos en parte de pacientes que padecen al menos una enfermedad autoinmune y/o cáncer.

50 7. Los métodos de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, que comprenden además una etapa de amplificación de ácido nucleico antes de la etapa (i), o entre las etapas (i) y (ii).

8. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la endonucleasa de restricción se selecciona del grupo que comprende *MaeIII*, *Tsp45I*, *HphI*, *BsaJI*, *AluI*, *BlpI*, *DdeI*, *BglII*, *MslI*, *BstE1*, *EaeI*, *EagI*, *HaeIII*, *Bst4CI*, *HpyCH4III*, *HinfI*, *MlyI*, *PleI*, *MnII*, *HpyCH4V*, *BsmAI*, *BpmI*, *XmnI*, y *SacI*.
9. El método de acuerdo con la reivindicación 5, en el que al menos una porción de la cadena pesada y/o cadena ligera es humana.
10. El método de acuerdo con la reivindicación 3 ó 4, en el que la inmunoglobulina comprende al menos una porción de la FR1.
11. El método de acuerdo con la reivindicación 10, en el que al menos una porción de la FR1 es humana.
12. El método de acuerdo con la reivindicación 6, en el que la enfermedad autoinmune se selecciona del grupo que comprende lupus eritematoso, esclerosis sistémica, artritis reumatoide, síndrome antifosfolípido y vasculitis.
13. El método de acuerdo con la reivindicación 12, en el que los ácidos nucleicos se aíslan al menos en parte del grupo que comprende células de sangre periférica, células de médula ósea, células del bazo y células de ganglios linfáticos.
14. El método de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, que comprende ligar un adaptador de ADN sintético parcialmente bicatenario al ácido nucleico monocatenario escindido, y clonar el ácido nucleico a un vector.
15. El método de acuerdo con la reivindicación 14, en el que el adaptador de ADN sintético parcialmente bicatenario comprende una región bicatenaria de 12-100 nucleótidos.
16. El método de acuerdo con la reivindicación 14, en el que el adaptador de ADN sintético parcialmente bicatenario comprende un sitio de endonucleasa de restricción.
17. El método de acuerdo con la reivindicación 14, en el que el adaptador de ADN sintético parcialmente bicatenario comprende una región bicatenaria de 2-15 bases.
18. El método de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, que comprende además preparar una colección de ácidos nucleicos que codifican al menos en parte miembros de la familia diversa.
19. El método de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, que comprende además hacer monocatenario al ácido nucleico.
20. El método de acuerdo con la reivindicación 2, en el que la endonucleasa de restricción de Tipo II-S se selecciona del grupo que comprende *AarICAC*, *AceIII*, *Bbr7I*, *BbvI*, *BbvII*, *Bce83I*, *BceAI*, *Bcefl*, *BcVI*, *BfiI*, *BinI*, *BscAI*, *BseRI*, *BsmFI*, *BspMI*, *EcI*, *Eco57I*, *RauI*, *FokI*, *GsuI*, *HgaI*, *HphI*, *MboII*, *MlyI*, *MmeI*, *MnI*, *PleI*, *RleAI*, *SfaNI*, *SspD5I*, *Sth132I*, *StsI*, *TaqII*, *Tth111II*, o *UbaPI*.

AMPLIFICAR GENES VH
SIN USAR SECUENCIAS VH

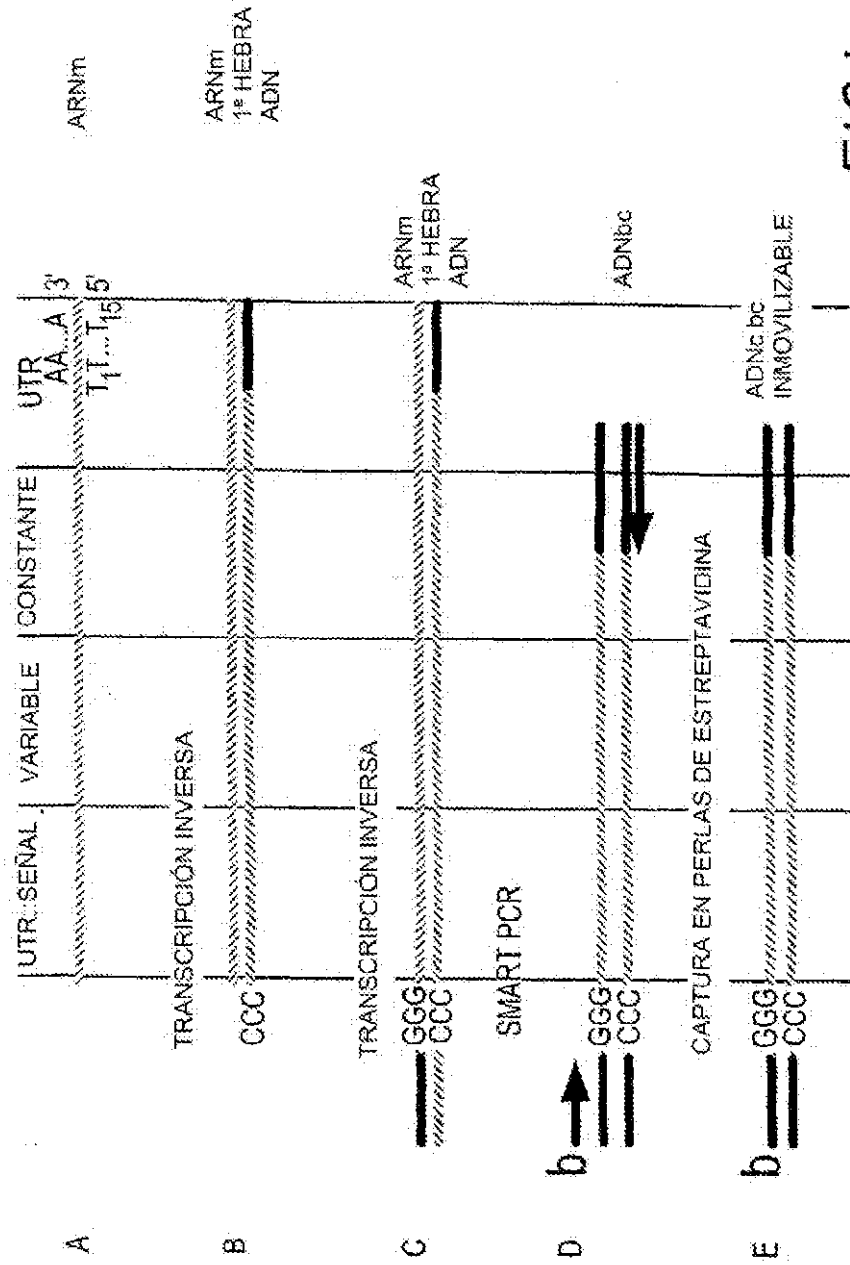


FIG.1

AMPLIFICAR GENES VL
SIN USAR SECUENCIAS VL

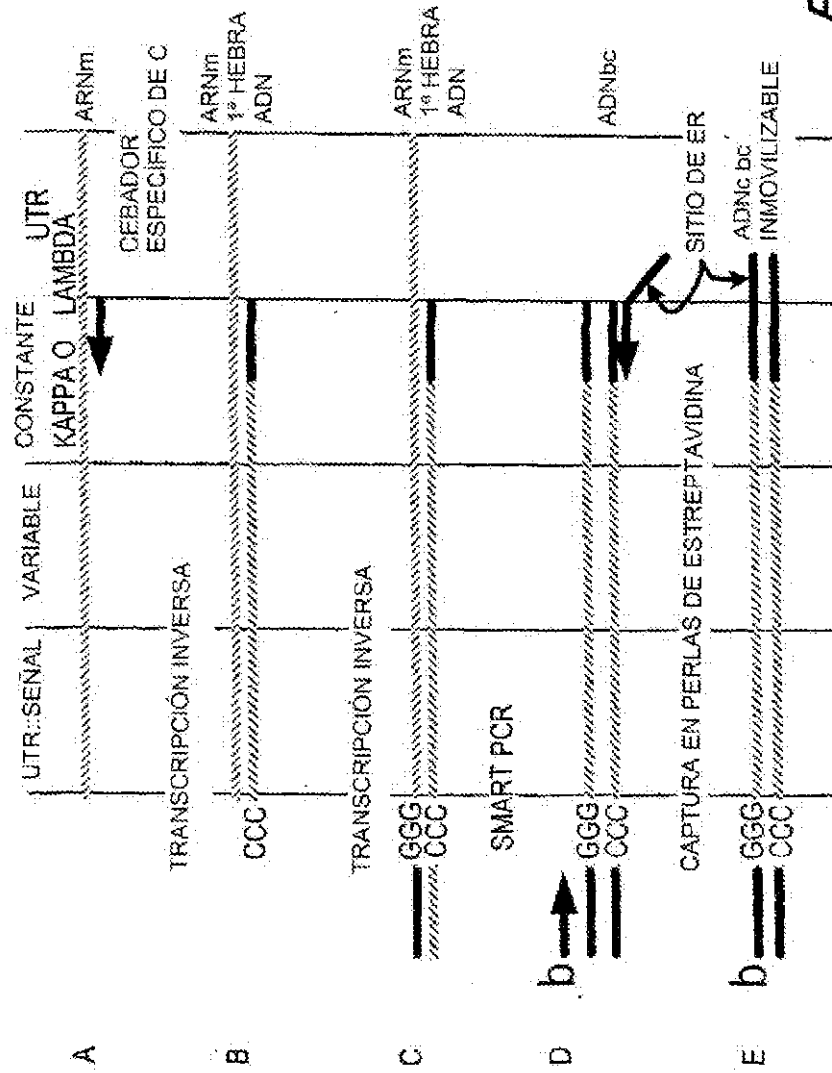


FIG. 2

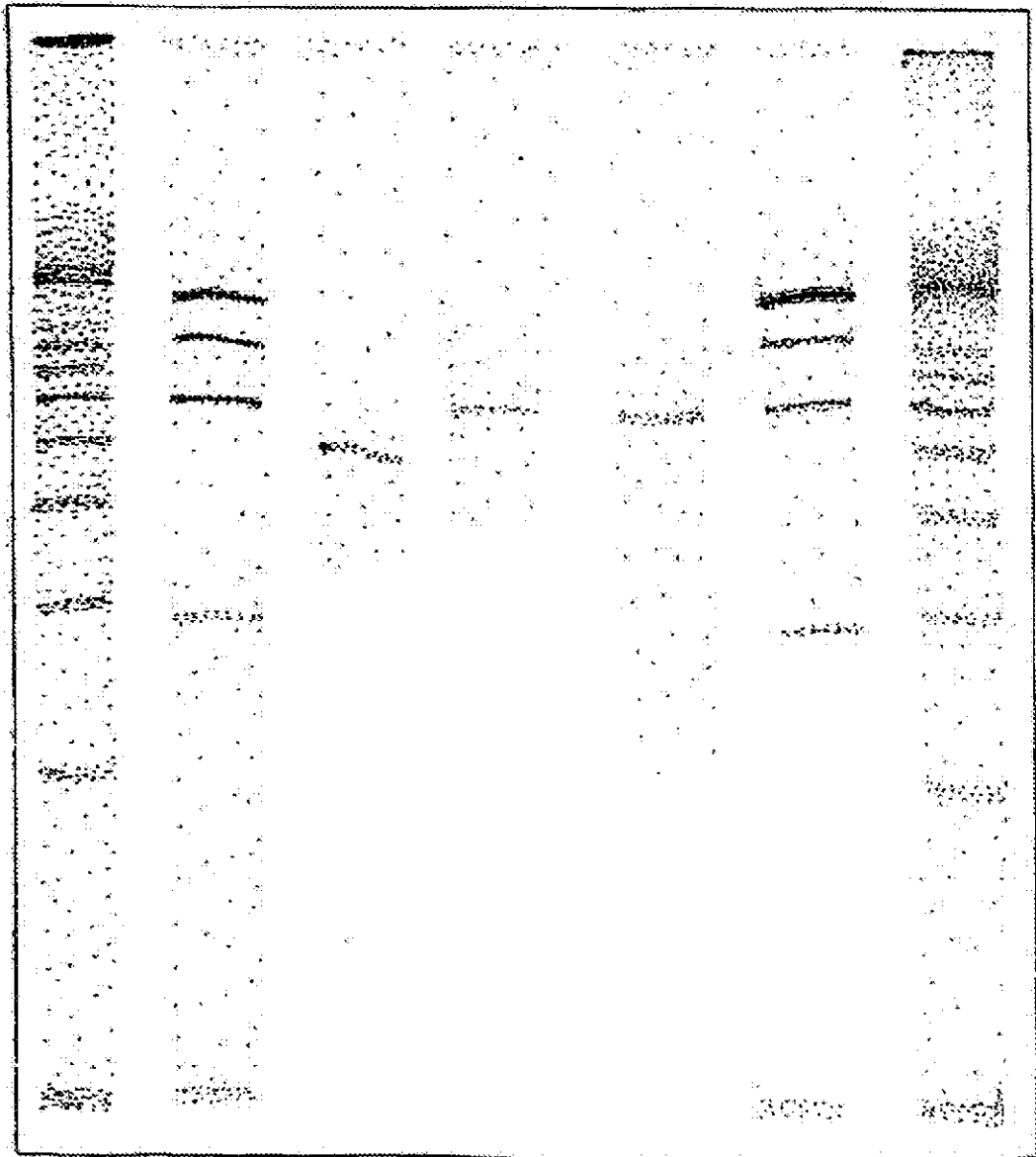


FIG. 3

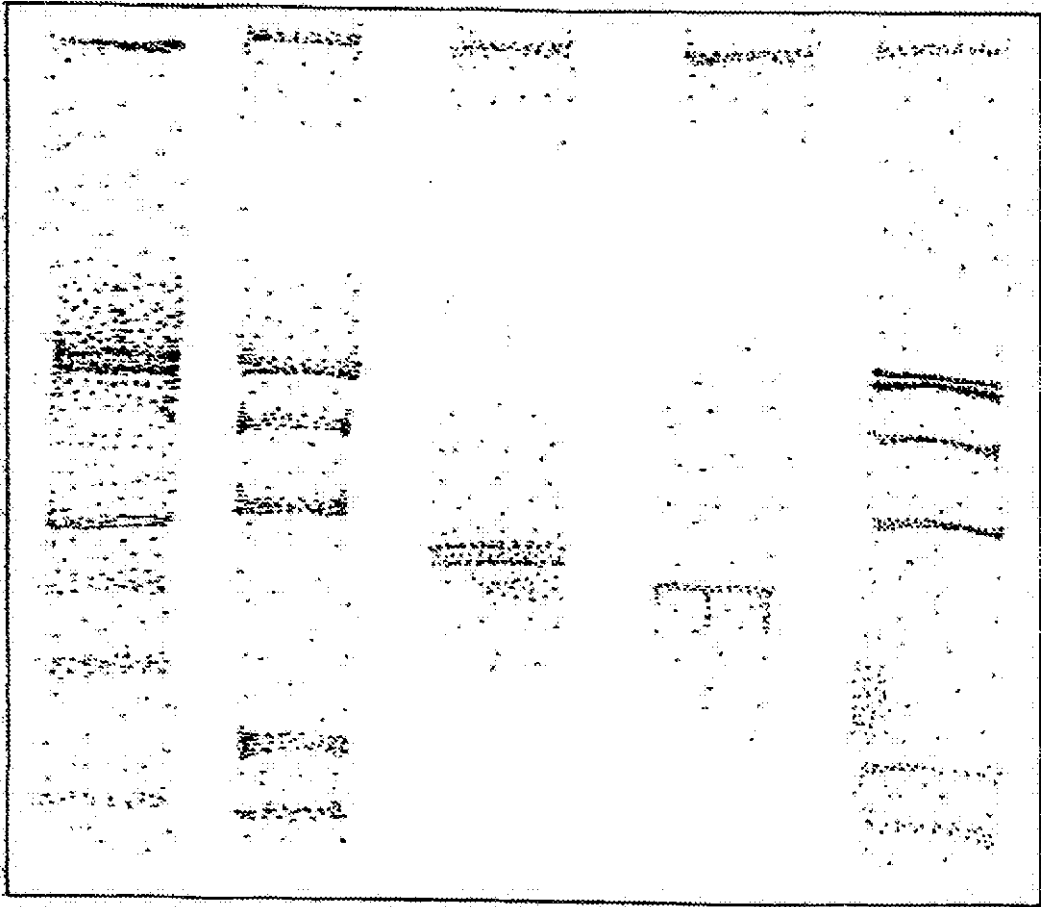


FIG. 4

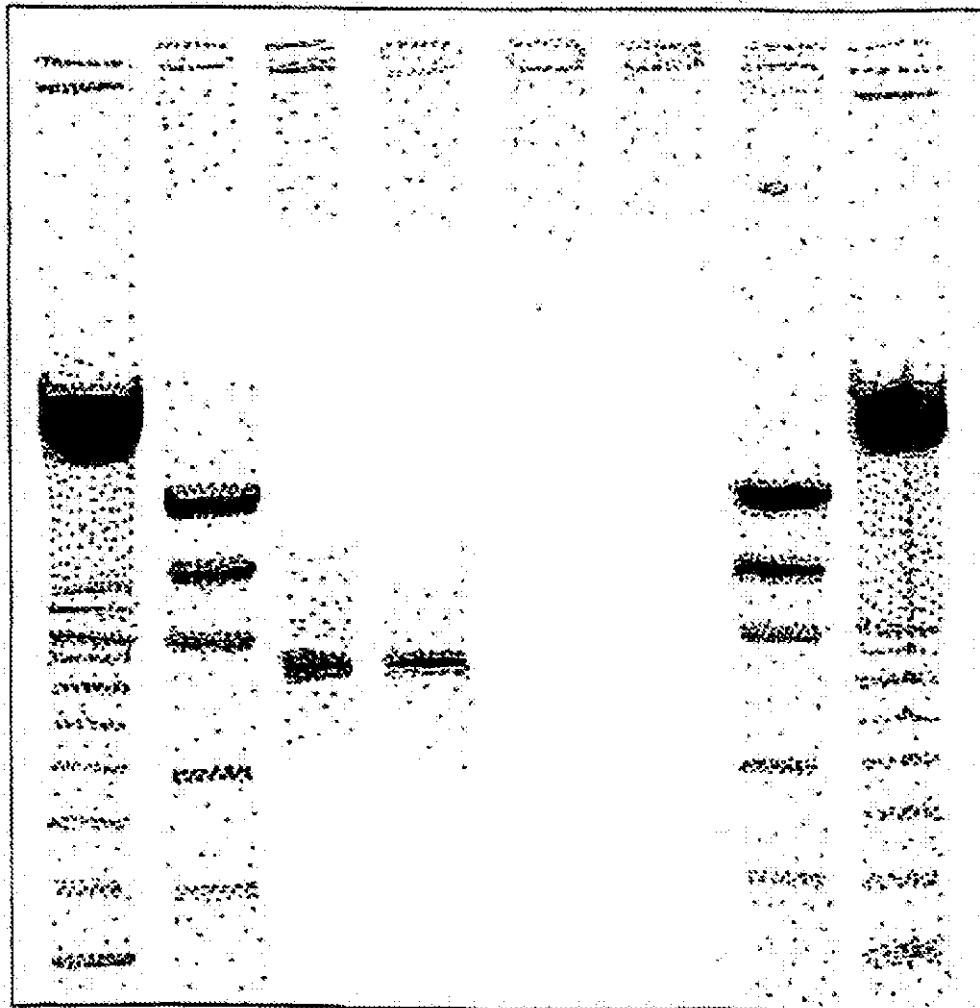


FIG. 5

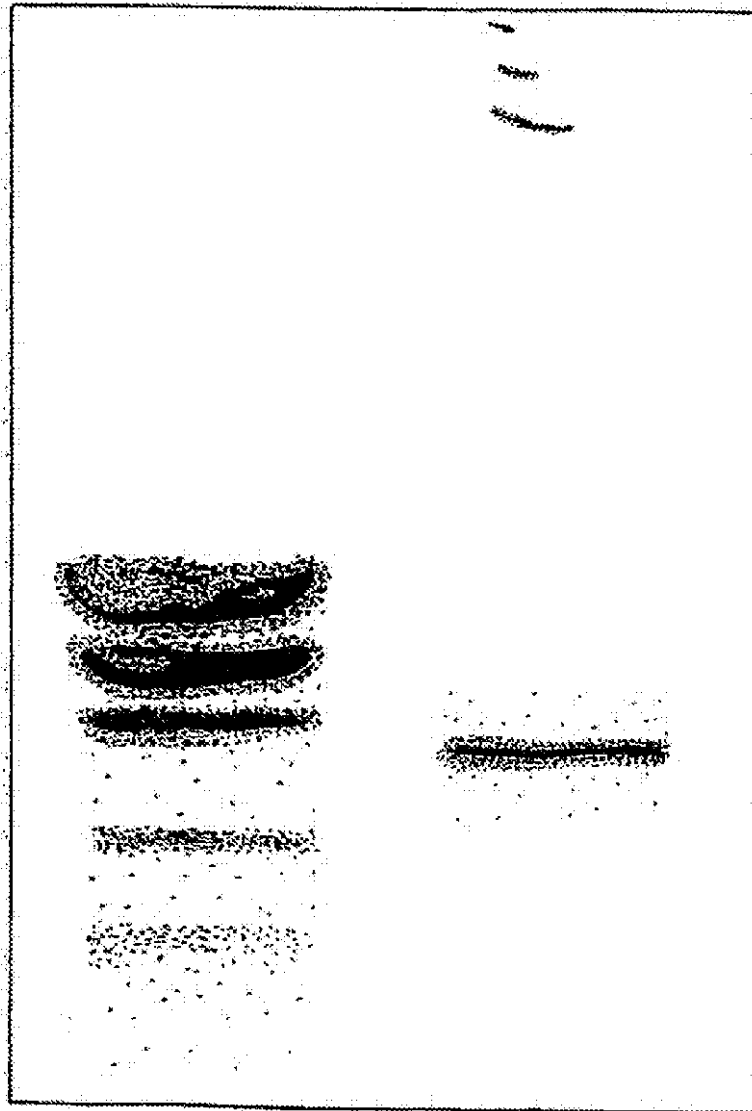


FIG. 6

Tabla 1: 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	GGGcgccc	0	0	Después de LC
BglII	Agatct	0	0	
BsiWI	Cgtacg	0	0	
BspDI	ATcgat	0	0	
BssHII	Gcgccg	0	0	
BstBI	TTcgaa	0	0	
DraIII	CACNNNgtg	0	0	
EagI	Cggccg	0	0	
EseI	GGCCGGcc	0	0	
EspI	TGCgca	0	0	
HpaI	GTTaac	0	0	
MfeI	Caattg	0	0	HC FR1
MluI	Acgagt	0	0	
NcoI	Caatgg	0	0	0 Señal de cadena pesada
NheI	Gctagc	0	0	0 Enlazador de anclaje/Hc
NotI	GCgcccgc	0	0	0 Enlazador después de HC
NruI	TGCgca	0	0	
PacI	TTAATtaa	0	0	
PmeI	GTTTaaac	0	0	
PmlI	CACgtg	0	0	
PvuI	CGATcg	0	0	
SacII	CCGCgg	0	0	
SalI	Gtcgac	0	0	
SfiI	GGCCNNNNngccc	0	0	0 Señal de cadena pesada
SgfI	GCGATcgc	0	0	
SnaBI	TACgta	0	0	
StuI	AGGcct	0	0	
XbaI	Tctaga	0	0	HC FR3
AatII	GACGtc	1	1	
AclI	AAcgtt	1	1	
AseI	ATtaat	1	1	
BsmI	GAATGCN	1	1	
BspEI	Tccgga	1	1	HC FR1
BstXI	CCANNNNNntgg	1	1	HC FR2
DrdI	GACNNNNNngtc	1	1	
HindIII	Aagctt	1	1	
PciI	Acattg	1	1	
SapI	gaagagc	1	1	
ScaI	AGTact	1	1	
SexAI	Accwgtt	1	1	
SpeI	Actagt	1	1	
TliI	Ctcgag	1	1	
XhoI	Ctcgag	1	1	
BcgI	cgannnnnnntgc	2	2	
BlpI	GCtnagc	2	2	
BssSI	Ctcgtg	2	2	
BstAPI	GCANNNNntgc	2	2	
EspI	GCtnagc	2	2	
KasI	Ggccc	2	2	
PflMI	CCANNNNntgg	2	2	
XmnI	GAANNnttc	2	2	

ApalI	Gtgcac	3	3	sec señal LC
NaeI	GCCggc	3	3	
NgdMI	Gccggc	3	3	
PvuII	CAGctg	3	3	
RsrII	CGgwcg	3	3	
BsrBI	GAGcgg	4	4	
BsrDI	GCAATGNNn	4	4	
BstZ17I	GTAtac	4	4	
EcoRI	Gaattc	4	4	
SphI	GCATGc	4	4	
SspI	AATatt	4	4	
AclI	CTmkac	5	5	
EclI	Tgatca	5	5	
BrmBI	Nnnnnngagacg	5	5	
BstGI	Tgraca	5	5	
DraI	TTTaaa	6	6	
NdeI	CATatg	6	6	HC FR4
SwaI	ATTTaaat	6	6	
BamHI	Ggatcc	7	7	
SacI	GAGCTc	7	7	
BclVI	GTATCCNNNNNN	8	8	
EsaBI	GATNNnnatc	8	8	
NsiI	ATGCAt	8	8	
Bsp120I	Gggccc	9	9	CHI
Apal	GGGCCc	9	9	CHI
PspOoMI	Gggccc	9	9	
BspHI	Tcatga	9	11	
EcoRV	GATatc	9	9	
AhdI	GACNNNngtc	11	11	
EbsI	GAAGAC	11	14	
PsiI	TTATAa	12	12	
BsaI	GGTCTCnnnnn	13	15	
XmaI	Cccggg	13	14	
AvaI	Cycgrg	14	16	
EglI	GCCNNNNnggc	14	17	
AlwNI	CAGNNNetg	16	16	
BspMI	ACCTGC	17	19	
XcmI	CCANNNNNnnntgg	17	26	
BstEII	Ggtnacc	19	22	HC FR4
Sse8387I	CCTGCagg	20	20	
AvrII	Cctagg	22	22	
HincII	GTYrac	22	22	
BsgI	GTGCAG	27	29	
MscI	TGGcca	30	34	
BseRI	NNnnnnnnnnctcctc	32	35	
Bsu36I	CCtnagg	35	37	
PstI	CTGCAG	35	40	
EciI	nnnnnnnnntccggc	38	40	
PpuMI	RGgwccy	41	50	
StyI	Ccwwgg	44	73	
EcoO109I	RGgnccy	46	70	
Acc65I	Ggtacc	50	51	
KpnI	GGTACc	50	51	
BpmI	ctccag	53	82	
AvaII	Ggwcc	71	124	

* La escisión se produce en la hebra superior después de la última base en mayúsculas. Para ER que cortan secuencias palindrómicas, la hebra inferior se corta en el sitio simétrico.

Tabla 2: Escisión de 79 cadenas pesadas humanas

Enzima	Reconocimiento	Nch	Ns	Localización planeada del sitio
AfeI	AGCgct	0	0	
ArlII	Cttaag	0	0	HC FR3
AscI	GGGgagac	0	0	Después de LC
BsiWI	Cgtacg	0	0	
BspDI	ATcgat	0	0	
BssHII	Gcgcgc	0	0	
FseI	GGCCGGcc	0	0	
HpaI	GTTaac	0	0	
NheI	Gctagc	0	0	Enlazador HC
NotI	GCggccgc	0	0	En enlazador, HC/clonaje
NruI	TCGcga	0	0	
NsiI	ATGCAt	0	0	
PacI	TTAAltaa	0	0	
PciI	Acatgt	0	0	
PmeI	GTTTaaac	0	0	
PvuI	CGATcg	0	0	
RsrII	CGgcccgc	0	0	
SapI	gaagagc	0	0	
SfiI	GGCCNNNngggc	0	0	Sec señal HC
SgfI	GCGATccc	0	0	
SwaI	ATTTaaat	0	0	
AclI	AACggt	1	1	
AgeI	ACcggt	1	1	
AseI	ATtaat	1	1	
AvrII	Cctagg	1	1	
BsmI	GAATGCN	1	1	
BerBI	GAGcgg	1	1	
BsrDI	GCAATGNNn	1	1	
DraI	TTTaaa	1	1	
FapI	TGCgca	1	1	
HindIII	Aagctt	1	1	
MfeI	Caattg	1	1	HC FR1
NaeI	GCCggc	1	1	
NgoMI	Gccggc	1	1	
SpeI	Actagt	1	1	
Ace65I	Ggtacc	2	2	
BstBI	TTcgaa	2	2	
KpnI	GGTACc	2	2	
MluI	Acgcgc	2	2	
NcoI	Ccatgg	2	2	En sec señal HC
NdeI	CATatg	2	2	HC FR4
PmlI	CACgtg	2	2	
XcmI	CCANNNNNnnntgg	2	2	
BcgI	cgannnnntgc	3	3	
BclI	Tgatca	3	3	
BglI	GCCNNNNnggc	3	3	
BsaBI	GATNNnnatc	3	3	
BsrGI	Tgtaca	3	3	
SnaBI	TACgta	3	3	
Sse8387I	CCTGCagg	3	3	

ApaII	Gtgcac	4	4	Señal LC/FR1
BspHI	Tcatga	4	4	
BssSI	Ctcgtg	4	4	
PsiI	TTataa	4	5	
SphI	GCATGc	4	4	
AhdI	GACNNNngtc	5	5	
BspEI	Tccgga	5	5	HC FR1
MscI	TGGcca	5	5	
SacI	GAGCTc	5	5	
ScaI	AGTact	5	5	
SexAI	Accwgg	5	6	
SspI	AATatt	5	5	
TliI	Ctcgag	5	5	
XhoI	Ctcgag	5	5	
BbsI	GAAGAC	7	8	
BstAPI	GCANNNNntgc	7	8	
BstZ17I	GTAtac	7	7	
EcoRV	GATatc	7	7	
EcoRI	Gaattc	8	8	
BlpI	GCtnagc	9	9	
Bsu36I	CCtnagg	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
PspOmi	Gggccc	10	11	
BclVI	GTATCCNNNNNN	11	11	
SalI	Gtcgac	11	12	
DrdI	GACNNNNnngtc	12	12	
KasI	Ggcgcc	12	12	
XmaI	Cccggg	12	14	
BglII	Agatct	14	14	
HincII	GTYrac	16	18	
BamHI	Ggatcc	17	17	
PflMI	CCANNNNntgg	17	18	
BsmBI	Nnnnnngagacg	18	21	
BstXI	CCANNNNntgg	18	19	HC FR2
XmnI	GAAMNnttc	18	18	
SacII	CCGCgg	19	19	
PstI	CTGCAG	20	24	
PvuII	CAGctg	20	22	
AvaI	Cycgrg	21	24	
EagI	Cggccg	21	22	
AatII	GACGtc	22	22	
BspMI	ACCTGC	27	33	
AccI	GTmkac	30	43	
StyI	Ccwwgg	36	49	
AlwNI	CAGNNNctg	38	44	
BsaI	GGTCTCNnnnn	38	44	
PpuMI	RGgwccy	43	46	
BsgI	GTGCAG	44	54	
BseRI	NNnnnnnnnnctctc	48	60	
EciI	nnnnnnnnntccgcc	52	57	
BstEII	Ggtnacc	54	61	HC Fr4, 47/79 tienen uno
EcoO109I	RGgnccy	54	86	

BpmI	ctccag	60 121
AvaII	Ggwcc	71 140

Tabla 5: Uso de *FokI* como una "enzima de restricción universal"

FokI - para ADNbc, | representa sitios de escisión

sitios de escisión

5'-cacGGATGg--nnnnnnn|nnnnnn-3' (SEC ID N°: 15)

3'-gtgCCTACac--nnnnnnnnnn|nnn-5' (SEC ID N°: 16)

RECONOCIMIENTO *FokI*
DE

Caso I

5'-...gtg|tatt-actgtgc... sustrato ...-3' (SEC ID N°: 17)

3'-cac-atae|tgacacg-

gtGTAGGcac\

5'- caCATCCgtg/ (SEC ID N°: 18)

Caso II

5'-...gtgtatt|agac-tgc... sustrato ...-3' (SEC ID N°: 19)

-cacataa-tctg|acg-5'

/gtgCCTACac

\cacGGATGtg-3' (SEC ID N°: 20)

Caso III (Caso I rotado 180 grados)

/gtgCCTACac-5'

\cacGGATGtg-

gtgtctt|acag-tcc-3' Adaptador (SEC ID N°: 21)

3'-...cacagaa-tgtc|agg... sustrato ...-5' (SEC ID N°: 22)

Caso IV (Caso II rotado 180 grados)

3'-gtGTAGGcac\ (SEC ID NO: 23)
 5'-gag|tctc-actgagc
 Sustrato 3'-...ctc-agag|tgactcg...-5' (SEC ID NO:24)

Adaptadores de FokI mejorados

FokI - para ADNbc, | representa sitios de escisión

Caso I

Tallo 11, bucle 5, tallo 11, reconocimiento 17

5'-...catgtg|tatt-actgtgc... sustrato-3'
 3'-gtacac-ataa|tgacacg-5'
 TgtGTAGGcacG T
 5'- caCATCCgtgc C
 LTT

Caso II

Tallo 10, bucle 5, tallo 10, reconocimiento 18

5'-...gtgtatt|agac-tgctgcc... sustrato-3'
 Tgtcacataa-tctg|acgacgg-5'
 TgtgCCTACac
 C caoGGATGtg-3'
 LTT

Caso III (caso I rotado 180 grados)

Tallo 11, bucle 5, tallo 11, reconocimiento 20

TgtgtCCTACac-5'
 G AcacGGATGtg-5'
 LTT
 gtgtctt|acag-tccattctg-3' Adaptador
 3'-...cacagaa-tgtc|aggttaagac... sustrato-5'

Caso IV (Caso II rotado 180 grados)

Tallo 11, bucle 4, tallo 11, reconocimiento 17

3'-gtGTAGGcacc T
 5'-atcgag|tctc-actgagc
 Sustrato 3'-...tagctc-agag|tgactcg...-5'

BseRI

5'-cacGAGGAGnnnnnnnnnn|nnnn-3'
 3'-gtgttctcnnnnnnnnnn|nnnnnn-5'

RECONOCIMIENTO DE BseRI

Tallo 11, bucle 5, tallo 11, reconocimiento 19

3'-...gaacat|cg-ttaagccagta...-5'
 Tgtgta-gc|aattcggtcat-3'
 C GCTGAGGAGTC-
 T ggaactcctcag-5' Un adaptador para BseRI para escindir el sustrato anterior.
 LTT

Tabla 8: Coincidencias con adaptadores de FR3 de ERU en 79 HC humanas

A. Lista de genes de cadenas pesadas de los que se han tomado muestras

AF008566	af103343	HSA235676	HSU92452	HS293860
AF035043	AF103367	HSA235675	HSU94412	HS293863
AF103026	AF103368	HSA235674	HSU94415	MCOMFRAA
af103033	AF103369	HSA235673	HSU94416	MCOMFRAA
AF103061	AF103370	HSA240559	HSU94417	S82745
af103072	af103371	HSCB201	HSU94418	S82764
af103078	AF103372	HSIGGVHC	HSU96389	S83240
AF103099	AF158381	HSU44791	HSU96391	SABVH369
AF103102	E05213	HSU44793	HSU96392	SADEIGVH
AF103103	E05886	HSU82771	HSU96395	SAH2IGVH
AF103174	E05887	HSU82949	HS293849	SDA3IGVH
AF103166	HSA235661	HSU82950	HS293850	SIGVHTTD
af103187	HSA235664	HSU82952	HS293851	SUK4IGVH
AF103195	HSA235660	HSU82961	HS293853	
af103277	HSA235659	HSU86522	HS293855	
af103286	HSA235678	HSU86523	HS293857	
AF103309	HSA235677			

Tabla 8B. Ensayo de todos los GLG distintos de bases 89.1 a 93.2 del dominio variable pesado

Id	Nb	0	1	2	3	4		SEC ID N°:
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 ACAtattactgtgc	31
8	2	0	2	0	0	0	Seq8 ACgtattactgtgc	32
9	9	2	2	4	1	0	Seq9 ATgtattactgtgc	33
Grupo		26	26	21	4	2		
Acumulativo		26	52	73	77	79		

Tabla 8C Secuencias de reconocimiento de ERU más importantes en FR3 pesada

1	VHSzy1	GTGtattactgtgc	(ON_SHC103)	(SEC ID N°: 25)
2	VHSzy2	GTAtattactgtgc	(ON_SHC323)	(SEC ID N°: 26)
3	VHSzy4	GTGtattactgtac	(ON_SHC349)	(SEC ID N°: 28)
4	VHSzy9	ATGtattactgtgc	(ON_SHC5a)	(SEC ID N°: 33)

Tabla 8D, ensayo de 79 genes de V HC humanos con cuatro sondas

Número de secuencias79

Número de bases.....29143

Número de emparejamiento erróneos

Id	Mejor	0	1	2	3	4	5	
1	39	15	11	10	1	2	0	Seq1 gtgtattactgtgc (SEC ID N°: 25)
2	22	7	6	5	3	0	1	Seq2 gtAtattactgtgc (SEC ID N°: 26)
3	7	1	5	1	0	0	0	Seq4 gtgtattactgtAc (SEC ID N°: 28)
4	11	2	4	4	1	0	0	Seq9 ATgtattactgtgc (SEC ID N°: 33)
Grupo		25	26	20	5	2		
Acumulativo		25	51	71	76	78		

Una secuencia tiene cinco emparejamientos erróneos con secuencias 2, 4 y 9; se puntuó como mejor para 2.

Id es el número de adaptador.

Mejor es el número de secuencia para el que el adaptador identificado era el mejor disponible.

El resto de la tabla muestra lo bien que las secuencias coinciden con los adaptadores. Por ejemplo, hay 11 secuencias que coinciden con VHSzy1 (Id=1) con 2 emparejamientos erróneos y son peores para todos los demás adaptadores. En esta muestra, 90% quedan a una distancia de dos bases de uno de los cuatro adaptadores.

Tabla 130: Cebadores de PCR para amplificación de genes Ab humanos

(HuIgMPOR) 5'-tgg aag agg cac gtt ctt ttc ttt-3'
 ! (HuIgMFOREtop) 5'-aaa gaa aag aac gtg cct ctt cca-3' = complemento inverso
 (HuCKFOR) 5'-aca ctc tcc cct gtt gaa gct ctt-3'
 (HuCL2FOR) 5'-tga aca ttc tgt agg ggc cac tg-3'
 (HuCL7FOR) 5'-aga gca ttc tgc agg ggc cac tg-3'
 ! Kappa
 (CKForeAsc) 5'-acc gcc tcc acc ggg cgc gcc tta tta aca ctc tcc cct gtt-
 gaa gct ctt-3'
 (CL2ForeAsc) 5'-acc gcc tcc acc ggg cgc gcc tta tta tga aca ttc tgt-
 agg ggc cac tg-3'
 (CL7ForeAsc) 5'-acc gcc tcc acc ggg cgc gcc tta tta aga gca ttc tgc-
 agg ggc cac tg-3'

Tabla 195: Secuencias FR3 GLG 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 ctg 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 ctg 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 ctg 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 gcc 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
gog 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

```

Tabla 250: Adaptadores de ER, prolongadores y puentes usados para escisión y captura de cadenas pesadas humanas en FR3.

A: Sondas de HpyCH4V de genes HC humanos reales

!HpyCH4V en FR3 de HC humana, bases 35-56; solo los que tienes sitio TGca

TGca;10

reconocimiento de ER: tgca

de longitud 4 se espera 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	cgccatatctgcagatctgcag
7	3-73	cggcgtatctgcaaatgaacag
8	5-a	ctgcctacctgcagtgagcag
9	3-49	tcgcctatctgcaaatgaacag

B: HpyCH4V adaptadores de ER, prolongadores y puentes

B.1. Adaptadores de ER

! Corte hebra inferior HC:

! TmKeller para NaCl 100 mM, formamida cero

! Adaptadores 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 de gen 3-23 sintético en el que debe clonarse CDR3 capturada

```

!                               XbaI...
! D323*  cgCttcacTaag tcT aga 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 Prolongador y puentes

! Prolongador (hebra inferior)

!

```

! (ON_HCHpyEx01)  5'-cAAgTAGAgAgTATTcTTAgAgTTgTcTcTAGAcTTAgTgAAgag-3'
! ON_HCHpyEx01 es el complemento inverso de
! 5'-cgCttcacTaag tcT aga gac aaC tcT aag aaT acT ctC taC Ttg -3'
!

```

! Puentes (hebra superior, solapamiento de 9 bases):

```

1
(ON_HCHpy8r016-3) 5'-cgCttcacTaaG tct agG gac aac tct aag-
aag aat ctG taC Ttg CAgtggaac-3' (C 3' terminal está bloqueado)
1
1 3-15 et al. + 3-11
(ON_HCHpy8r023-15) 5'-cgCttcacTaaG tct agG gac aac tct aag-
aag aat ctG taC Ttg CAaatgaac-3' (C 3' terminal está bloqueado)
1
1 5-51
(ON_HCHpy8r045-51) 5'-cgCttcacTaaG tct agG gac aac tct aag-
aag aat ctG taC Ttg CAgtggagc-3' (C 3' terminal está bloqueado)
1
Cebador de PCR (hebra superior)
1
(ON_HCHpyPCR) 5'-cgCttcacTaaG tct agG gac-3'

```

C. Sondas de *BlnI* de GLG HC humanos

1	1-58, 1-03, 1-08, 1-69, 1-24, 1-45, 1-46, 1-f, 1-e	acatggaGCTGAGCagcctgag
2	1-02	acatggaGCTGAGCagcctgag
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	atctgcaaatgaacagctctgag
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: *BlnI* adaptadores de ER, extensores y puentes

D.1. Adaptadores de ER

		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 coincide con 4-30.1, no 6-1.			

D.2 Segmento de gen 3-23 sintético en el que debe clonarse CDR3 capturada

```

!                                     XbaI...                               BlnI
!                                     TCT AGA gac aaC tct aag aaT acT ctC taC Ttg caG atg aac
!
!                                     AflII...
!                                     agC TTA AGG

```

D.3 Prolongador 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 hebra inferior se corta aqui

! Prolongador

```

(BlpF3Ext) 5'-
TcAgcTgcAAGTAcAAAAGTATTTTAcTgTTATcTcTAGAcTgAgTgAAgcg-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 Secuencias GLG distintas que rodean el sitio, bases 77-98

1	102#1, 118#4, 146#7, 169#9, 1e#10, 311#17, 353#30, 404#37, 430#1	ccgtgtattactgtgcgagaga
2	103#2, 307#15, 321#23, 3303#24, 335#26, 348#28, 384#31, 366#32	ctgtgtattactgtgcgagaga
3		108#3 ccgtgtattactgtgcgagagg
4		124#5, 1f#11 ccgtgtattactgtgcgagaga
5		145#6 ccattgtattactgtgcgagata
6		150#8 ccgtgtattactgtgcgagaga
7		205#12 ccacacattactgtgcacacag
8		226#13 ccacacattactgtgcacaggat
9		270#14 ccacgtattactgtgcacggat
10		309#16, 343#27 ccttgtattactgtgcgagaga
11		313#18, 374#35, 61#50 ctgtgtattactgtgcgagaga
12		315#19 ccgtgtattactgtgcgagaga
13		320#20 ccttgtattactgtgcgagaga
14		323#22 ccgtatattactgtgcgagaga
15		330#23, 3305#25 ctgtgtattactgtgcgagaga
16		349#29 ccgtgtattactgtgctagaga
17		372#33 ccgtgtattactgtgctagaga
18		373#34 ccgtgtattactgtgctagaga
19		3d#36 ctgtgtattactgtgagagaga
20		428#38 ccgtgtattactgtgcgagaga
21		4302#40, 4304#41 ccgtgtattactgtgcgagaga
22		439#44 ctgtgtattactgtgcgagaga
23		551#48 ccattgtattactgtgcgagaga

F. HpyCH4III adaptadores de ER, prolongadores y puentes

F. 1. Adaptadores de ER

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

! Para escisión con HpyCH4III, Bst4CI o Taal

! 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 _p ^K
(H43.77.97.1-02#1)	5'-cc	gtg	tat	tAC	TGT	gcg	aga	g-3'	64	62,6
(H43.77.97.1-03#2)	5'-cc	gtg	tat	tAC	TGT	gcg	aga	g-3'	62	60,6
(H43.77.97.108#3)	5'-cc	gtg	tat	tAC	TGT	gcg	aga	g-3'	64	62,6
(H43.77.97.323#22)	5'-cc	gtg	tat	tac	tgt	gcg	aga	g-3'	60	58,7
(H43.77.97.330#23)	5'-cc	gtg	tat	tac	tgt	gcg	aga	g-3'	60	58,7
(H43.77.97.439#44)	5'-cc	gtg	tat	tac	tgt	gcg	aga	g-3'	62	60,6
(H43.77.97.551#48)	5'-cc	gtg	tat	tac	tgt	gcg	aga	g-3'	62	60,6
(H43.77.97.5a#49)	5'-cc	gtg	tat	tAC	TGT	gcg	aga	g-3'	58	58,3

F.2 Prolongador y puentes

! Se añaden sitios XbaI y AflII en puentes

(H43.XABr1) 5'-gggtgtagtga-

|TCT|AGT|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|~

|aac|agC|TTT|AGG|gct|gag|gac|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|gct|gag|gac|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|gct|gag|gac|ACT|GCA|Gtc|tac|tat -3'

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

! Se añaden sitios XbaI y AflII en puentes

(H43.ABr1) 5'-gggtgtagtga-

|aac|agC|TTT|AGG|gct|gag|gac|ACT|GCA|Gtc|tac|tat tgt gcg aga-3'

(H43.ABr2) 5'-gggtgtagtga-

|aac|agC|TTT|AGG|gct|gag|gac|ACT|GCA|Gtc|tac|tat tgt gcg aaa-3'

(H43.AExt) 5'-ATAgTAgAcTgcAgTgTcctcAgcccTTAAgcTgTTTcAcTAcAcc-3'

! (H43.AExt) es el complemento inverso de 5'-gggtgtagtga-
 ! laac|agC|TTA|AGg|gct|gag|gac|act|GCA|Gtc|tac|tat -3'
 (H43.APCR) 5'-gggtgtagtga laac|agC|TTA|AGg|gct|g-3'

Tabla 510

(FOKIact) 5'-cacATccgTg TTgTT cAcgATgTg-3'
 (VHEX881) 5'-AATAGTAGAC TgcAgTgTgc TcAgccCTTA AgcTgTTCAT cTgcAAGTAG-
 AGAgTATTCt TAGAgTgTgc TcTAgACTTA gTgAAGcg-3'
 obsérvese que VHEX881 es el complemento inverso del ON posterior
 [RC] 5'-cgCttcacTaa-
 Scab.....
 3-23 sintético como en la Tabla 206
 |TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|-
 |XbaI...
 |aac|agC|TTA|AGg|gct|gag|gac|act|GCA|Gtc|tac|tat|t-3'
 |AflII...
 (VHEB881) 5'-cgCttcacTaa-
 |TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|-
 |aac|agC|TTA|AGg|gct|gag|gac|act|GCA|Gtc|tac|tac|tgt|gcg|ag-3'
 (VHBB881) 5'-cgCttcacTaa-

(VH881PCR) 5'-cgcttcactaag|TC|T|AGA|gac|aac -3'
TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg| -
|aac|agc|TTA|AGg|gct|gag|gac|act|GCA|ctc|tac|tat|tgt|Acg ag-3'

Tabla 600: Armazón VH V3-23 con codones abigarrados 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|
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|ott|gtt|cag|cct|ggt|ggt|tct|tta|cgt|ctt|tct|tgc|gct|
|cgg|cca|gaa|caa|gtc|gga|cca|cca|aga|aat|gca|gaa|aga|acg|cga|

```

```

Sitos 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
|ggt|tcc|gca|tte|act|tcc|tot|tcc|TAC|Gct|atg|tot|tgg|gtt|cgc| 143
|cga|agg|cct|aag|tga|aag|aga|agc|atg|cga|tac|aga|acc|caa|gcg|
| Bsp21 | | BsiWI | | BstXI.

Sitos 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|ggt|cct|Gct|aaa|ggt|tgc|gag|tgg|gtt|tct|ggt|atc|tot|ggt| 188
|ggt|cga|gga|cca|ttt|cca|aac|ctc|acc|caa|aga|cga|tag|aga|cca|
...BstXI |

*** ***
....CDR3.....|-----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|ggt|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|tot|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg| 278
|tga|tag|aga|tot|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|TIA|AGg|ggt|gag|gac|act|GCA|Gtc|tac|tat|tgc|ggt|aaa| 323
|ttg|tgc|aat|tcc|cga|ctc|ctg|tga|cgt|cag|atg|ata|acc|cga|ttt|
|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|ggt|act|ggt|tat|ggt|ttc|gac|ATA|Tgg|ggt|caa|ggt| 368
|ctg|ata|ctt|cca|tga|cca|ata|cga|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 F S V F P
gcc tcc acc aag GGC CCa tgg GTC TTC ecc-3' 419
cgg agg tgg ttc cag ggt aac cag aag ggg-5'
Bsp120I. BbsI... (2/2)
ApaI....

(SFFRMBT) 5'-ctg tct gaa cG GCC cag ccG-3'
(TOPFRIA) 5'-ctg tct gaa cG GCC cag ccG GCC atg gcc-
gaa|gtt|CAA|TTG|tta|gag|tct|ggt|-
|ggc|ggt|ctt|gtt|cag|cct|ggt|ggt|tct|tta-3'
(BOTFR1B) 3'-caa|gtc|gga|cca|cca|aga|aat|gca|gaa|aga|acg|cga|-
|cga|agg|cct|aag|tga|aag-5' | hebra inferior

```

(BOTFR2) 3'-acc|caa|gcg|-
 |gtt|cga|gga|caa|ttt|cca|aac|ctc|acc|caa|aga|-5' | hebra inferior
 (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|tgg|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|ggt|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|cgg|ggt|agc|cag|aag|ggg-5' | hebra inferior
 (BOTPRCPRI) 3'-gg|ttc|cgg|ggt|agc|cag|aag|ggg-5'

Diversidad de CDR1

(ON-vgC1) 5'-|ggt|TCC|GGA|ttc|act|tct|tet|<1>|TAC|<1>|atg|<1>|-
 CDR1.....5859
 |tgg|gtt|cgc|CAA|gct|cct|GG-3'

<1> significa una mezcla equimolar de {ADEFCHKLMNPQRSTVWY}; no C
 (esta no es una secuencia)

Diversidad de CDR2

(ON-vgC2) 5'-ggg|ttg|gag|tgg|gtt|tct|<2>|atc|<2>|<3>|-
 CDR2.....
 |tct|ggt|ggc|<1>|act|<1>|tat|gct|gac|tcc|gtt|aaa|gg-3'
 CDR2.....

<1> es una mezcla equimolar de {ADEFCHKLMNPQRSTVWY}; no C
 <2> es una mezcla equimolar de {YRWVGS}; no ACDEFCHKLMNPQT
 <3> es una mezcla equimolar de {PS}; no ACDEFCHKLMNPQRSTVWY

Tabla 800 (nueva)

La siguiente lista de enzimas se tomó de

<http://rebase.neb.com/cgi-bin/asymmlist>.

Se han eliminado las enzimas que a) cortan dentro del reconocimiento, b) cortan en ambos lados del reconocimiento o c) tienen menos de 2 bases entre el sitio de reconocimiento y el sitio de corte más cercano.

Enzimas REBASE

13/04/2001

Enzimas de restricción de tipo II con secuencias de reconocimiento asimétricas

Enzimas	Secuencia de reconocimiento	Isoesquizómeros	Proveedores
AarI	CACCTGCNNNN^NNNN	-	Y
AceIII	CAGCTCNNNNNNNN^NNNN	-	-
Bbr7I	GAAGACNNNNNNNN^NNNN	-	-
BbvI	GCAGCNNNNNNNN^NNNN	-	Y
BbvII	GAAGACNN^NNNN	-	-
Bce83I	CTTGAGNNNNNNNNNNNNNN^NN	-	-
BceAI	ACGGCNNNNNNNNNNNN^NN	-	Y
BceFI	ACGGCNNNNNNNNNNNN^N	-	-
BciVI	GTATCCNNNNN^N^	BfuI	Y
BfiI	ACTGGGNNNNN^N^	BmrI	Y
BinI	GCATCNNNN^N	-	-
BscAI	GCATCNNNN^NN	-	-
BseRI	GAGGAGNNNNNNNN^NN	-	Y
BsmFI	GGGACNNNNNNNNNN^NNNN	BspLU11III	Y
BspMI	ACCTGCNNNN^NNNN	Acc36I	Y
EciI	GGCGGANNNNNNNNNN^NN	-	Y
Eco57I	CTGAAGNNNNNNNNNNNNNN^NN	BspKTSI	Y
FauI	CCCGCNNNN^NN	EstFZ438I	Y
FokI	GGATGNNNNNNNNNN^NNNN	BstP2418I	Y
GsuI	CTGGAGNNNNNNNNNNNNNN^NN	-	Y
HgaI	GACGCNNNN^NNNN	-	Y
HphI	GGTGANNNNNNN^N^	AsuHPI	Y
MboII	GAAGANNNNNNN^N^	-	Y
MlyI	GAGTCNNNNN^	SchI	Y
MmeI	TCCRACNNNNNNNNNNNNNNNN^NN	-	-
MnlI	CCTCNNNNNNN^N^	-	Y
PleI	GAGTCNNNN^N	PpsI	Y
RleAI	CCCACANNNNNNNNNN^NNN	-	-
SfaNI	GCATCNNNNNN^NNNN	BspST5I	Y
SspD5I	GGTGANNNNNNNN^	-	-
Sth132I	CCCGNNNN^NNNN	-	-
StsI	GGATGNNNNNNNNNN^NNNN	-	-
TaqII	GACCGANNNNNNNNNN^NN^, CACCCANNNNNNNNNN^NN^	-	-
Tth111II	CAARCANNNNNNNNN^NN^	-	-
UbaPI	CGAACG	-	-

La anotación es ^ significa corte de la hebra superior y _ corte de la hebra inferior. Si la hebra superior e inferior se cortan en el mismo lugar, entonces solamente aparece ^.

Tabla 120: MALIA3, anotada

```

! MALIA3 9532 bases
! -----
!      1 aat gct act act att agt aga att gat gcc acc ttt tca gct cgc gcc
!      gen ii continuado
!      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 tgg cag aat tgg gaa tca act
!     145 gtt acn 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 tgg ttt tot gaa ctg ttt aaa gca
!     481 ttt gag ggg gat tca ATG aat att tat gac gat tcc gca gta ttg gac
!      RBS?..... Inicio del gen x, ii continua
!     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 cgg 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 y 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
!      Inicio gen V
!
!      S17              S20              F25              E30
!     891 tct ggt gtt tct cgt cag gcc aag cct tat tca ctg aat gag cag ctt
!
!      V35              E40              V45
!     939 tgt tac gtt gat ttg ggt aat gaa tat cgg gtt ctt gtc aag att act
!
!      D50              A55              L60
!     987 ctt gat gaa ggt cag cca gcc tat cgg cct ggt cTG TAC Acc gtt cat
!
!      BsrGI...

```

```

!           L65                V70                S75                R80
1035 atg 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 cgg gct aag TAA C
!
1108 ATG gag cag gtc gcg gat ttc gac aca att tat cag gcg atg
!      Inicio del gen VII
!
1150 ata caa atc tcc gtt gta ctt tgt ttc gcg ctt ggt ata att
!
!           VII y IX solapan
!           .... S2 V3 I4 V5                S10
1192 gct ggg ggt caa aga TGA gt gtt tta gtg tat tct ttc gcc tct ttc gtt
!           Final VII
!           Inicio IX
!           L13            W15                G20                T25                E29
1242 tta ggt tgg tgc ctc cgt agt ggc att acg tat ttt acc cgt tta atg gaa
!
1293 act tcc tc
!
!           .... parada de IX, IX y VIII solapan en cuatro bases
1301 ATG aaa aag tct tta gtc ctc aaa gcc tct gta gcc gtt gct acc ctc
!      Inicio de secuencia señal de VIII.
!
1349 gtt cgg atg ctg tct ttc gct gct gag ggt gac gat ccc gca aaa ggg
!           VIII maduro ---->
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 gcc gca act atc ggt atc aag ctg ttt aag
1498 aaa ttc acc tgg aaa gca ! 1515
!           ..... -35 ..
!
1517      ago tga taaacggat acaattaaag gctccttttg
!           ..... -10 ....
!
1552 gagccttttt ttttGGAGAT ttt ! S.D. subrayado
!
!           <----- secuencia señal III ----->

```

```

!           M   K   K   L   L   F   A   I   F   L   V
1575 caac GTG aaa aaa tta tta ttc gca att cct tta gtt ! 1611
!
!           V   P   F   Y   S   B   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 CCG CCC TCA GGG GTC CCT GAC CGA
1825      TTC TCT GGC TCC AAG TCT GGC ACC TCA GCC TCC CTG GCC ATC ACT
1878      GGG CTC CAG GCT GAG GAT GAG GCT GAT TAT
1909      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 GAR GGG AGC ACC GTG GAG AAG ACA GTG GCC CCT ACA GAA TGT TCA
2290      TAA TAA ACCG CCTCCACCG GCGCGCCAAT TCTATTTCAA GGAGACAGTC ATA
!
!                                     AscI.....
!
!           Señal PelB ----->
!           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      atg gcc
!
!           SfiI.....
!
!           NgoMI...(1/2)
!
!           NcoI.....
!

```

```

FR1(DP47/V3-23)-----
23 24 25 26 27 28 29 30
E V Q L L E S G
2499 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|ggg|ctt|ggt|cag|cct|ggg|ggt|tct|tta|cgt|ctt|tat|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|ggg|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|ggg|ggc|agt|act|tac|tat|gct|gac|tcc|ggt|aaa|ggg|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 |
!
! De BstEII en adelante, pV323 es igual que pCES1, excepto como se observa.
! Los sitios BstEII pueden aparecer en cadenas ligeras; probablemente no 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 ggc tcc acc aaG GGC CcA tcc 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 tcc
!                                     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,...) (suprimido)
!
!       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 BpmI.
!
!       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
!       sitios de escisión de rEK ..... NheI... KasI...
!       EcoRV..
!
!       Dominio I -----
!       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 GGT 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
!
! Enlazador L1 -----
!       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 ctc 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 tcc tct gac ctg cct caa cct cct gtc aat gct
!
3834 ggc ggc ggc tct
! inicio 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   F   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 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
!
!   inicio de 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 F2 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
!
!   Inicio 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

4739 aaa TAA t ATG gct gtt tat ttt gta act ggc aaa tta ggc tct gga

	final VI		inicio gen I												
I	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
I	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

1	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73
1	P	D	K	P	S	I	S	D	L	L	A	I	G	R	G

4920 cng 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 etc 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

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
!                                     Inicio IV
!
!   344 345 346 347 348 349
!   i   I   V   K   C   N   Final de I
!   iv   L3 L N5 V I7 N F V10
! 5775 att gtt aaa tgt aat TAA T TTT GTT
!   IV continua .....
! 5800 ttc ttg atg ttt gtt tca tca tct tct ttt gct cag gta att gaa atg
! 5848 aat aat tcc 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 retirado

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 tcc 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 cct 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 cggcgcat

Final IV

7060 aagcgggcg ggtgtggtgg ttaacggcag cgtgacgct acacttgcca gggccctagc
7120 gcccgctcct tgcgttctct tcccttctct tctcgccaag ttcGCCGCTC ttcccgtaa

NgmI_____

7180 agctctaat cgggggctcc ctttaggggt cagatttagt gctttacggc acctcgacc
7240 caaaaaactt gatttggtg atgggtCAGC TAGTGggcca tggccctgat agacggtttt

DraIII_____

7300 tgcgcctttG ACGTTGGAGT Ccagttctt taatagcgga ctcttgctcc aaactggaac

DrdI_____

7360 aacactcaac cctatctcgg gctattcttt tgatttataa gggattttgc cgatttcgga
7420 accaccatca aacaggattt tgcctgctg gggcaaacca gctgggaccg cttgctgcaa
7480 ctctctcagg gccaggcggt gaagggaat CAGCTGgtgc cCGTCTCact ggtgaaaaga

PvuII.

BsmBI.

7540 aaaaccacc cGGATCC AAGCTT

BamHI HindIII (1/2)

Inserto que porta el gen bla

7563 gcagggtg gcactttctg gggaaatgtg cggggaacc
7600 ctatttggtt atttttctaa atacattcaa atatGTATCC gctcatgaga caataaccct

BciVI

```

8790 CCTGAGG
! Bsu36I...
8797 ccgat actgtctgtcg tccctcaca ctggcagatg
8832 caccgttacg atgagcccat ctacaccaac gtaacctatc ccattacggt caatccgcgc
8892 ttgttccca cggagaatcc gacgggttgt tactcgctca catttaatgt tgatgaaagc
8952 tggctacagg aaggccagac gcaattatt ttgatggcg ttctattgg ttaaaaaatg
9012 agctgattta acnaaaattt aacgcgaatt ttaacaaaat attaacgttt acaATTAAAA
! SwaI...
9072 Tatttgctta tacaatcttc ctgtttttgg ggcttttctg attatcaacc GGGGTACat
! RES?
9131 ATG att gac atg cta gtt tta cga tta ccg ttc atc gat tct ctt gtt tgc
! Inicio del gen 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 continua

```

Tabla 120B: Secuencia de MALIA3, condensada

ORIGEN DEL LOCUS	MALIA3	9532	CIRCULAR
1	AATGCTACTA	CTATTAGTAG	AATTGATGCC
61	ATAGCTAAAC	AGGTATTGA	CCATTGCGA
121	CCTTCGCAGA	ATTGGGAATC	AACTGTTACA
181	GTTGCATATT	TAAAACATGT	TGAGCTACAG
241	TCCGCAAAA	TGACCTCTTA	TCAAAAGGAG
301	TGGAGTTTG	CTTCGGTCT	GGTTCGCTTT
361	TCTTTCCGGC	TTCTCTTAA	TCTTTTGTAT
421	CAGGGTAAAG	ACCTGATTTT	TGATTATGG
481	TTTGAGGGGG	ATTCAATGAA	TATTTATGAC
541	AAACATTTTA	CTATTACCCC	CTCTGGCAAA
601	GTTTTTTATC	GTCGTCTGGT	AAACGAGGGT
661	AATTCCTTTT	GGCGTTATGT	ATCTGCATTA
721	ATGAATCTTT	CTACCTGTAA	TAATGTTGTT
781	TCTTCCCAAC	GTCTGAGTGT	GTATAATGAG
841	CAATGATTAA	AGTTGAAATT	AAACCATCTC
901	CTCGTCAGGG	CAAGCCTTAT	TCAGTGAATG
961	AATATCCGGT	TCTTGTCAGG	ATTACTCTTG
1021	TGTACACCGT	TCATCTGTCC	TCTTTCARAG
1081	GTCGTCCGGT	CGTTCGGCT	AAGTAACATG
1141	CAGGCCATGA	TACAAATCTC	CGTTGTACTT
1201	CAAAGATGAG	TSTTTTAGTG	TATTCCTTTC
1261	GTGGCATTAC	GTATTTTACC	CGTTTAATGG
1321	CAAAGCCTCT	GTAGCCGTTG	CTACCCCTGT
1381	CGATCCCAGC	AAAGCGGCTT	TTAATCCCTT
1441	TGCCTGGGGG	ATGGTTGTTG	TCATTGTCCG
1501	ATTCACCTCG	AAAGCAAGCT	GATAAACCGA
1561	TTTTTGAGAG	TTTTCAACGT	GAAAAATTA
1621	TATTCTCACA	GTGCACAGTC	TGTCTGACG
1681	CAGAGGGTCA	CCATCTCCTG	CACGTGGAGC
1741	CACGTGTACC	AGCAGCTTCC	AGGAACAGCC
1801	CGGCCCTCAG	GGTCCCTGTA	CCGATTCTCT
1861	GCCATCACTG	GGCTCCAGGC	TGAGGATGAG
1921	AGCCTGAGTG	GCCTTTATGT	CTTCGGAACT
1981	AAGGCCAACC	CCACTGTCCAC	TCTGTCCCG
2041	GCCACACTAG	TGTGTCTGAT	CAGTGACTTC
2101	GCAGATAGCA	GCCCCGTCAA	GGCGGAGTG

2161 AACAACTACG CGGCCAGCAG CTATCTGAGC CTGACGCTTG AGCACTGGAA GTCCACACAGA
 2221 AGCTACAGCT GCCAGGTCAC GCATGAAGGG AGCACCCTGG AGAAGACAGT GGCCCCTACA
 2281 GAATGTTTAT AATAAACCCG CTCCACCCGG CGCGCCAATT CTATTTCAAG GAGACAGTCA
 2341 TAATGAAATA CCTATTGCCT ACGGCAGCCG CTGGATTGTT ATTACTCGCG GCCCAGCCGG
 2401 CCATGGCCGA AGTTCAATTG TTAGAGTCTG GTGGCGGTCT TGTTCAGCCT GGTGGTCTTT
 2461 TACGTCTTTC TTGCGCTGCT TCCGGATTCA CTTTCTCTTC GTACGCTATG TCTTGGGTTT
 2521 GCCAAGCTCC TGGTAAAGGT TTGGAGTGGG TTTCTGCTAT CTCTGGTTCT GGTGGCACTA
 2581 CTTACTATGC TGACTCCGTT AAAGGTGCTG TCACTATCTC TAGAGACAAC TCTAAGAATA
 2641 CTCTCTACTT GCAGATGAAC AGCTTAAGGG CTGAGGACAC TGCAGTCTAC TATTGGCGTA
 2701 AAGACTATGA AGGTACTGGT TATGCTTTTC ACATATGGGG TCAAGTACT ATGGTCACCG
 2761 TCTCTAGTGC CTCCACCAAG GGCCCATCGG TCTTCCCCCT GGCACCCCTC TCCAAGAGCA
 2821 CCTCTGGGGG CACAGCGGCC CTGGGCTGCC TGGTCAAGGA CTACTTCCCC GAACCGGTGA
 2881 CGGTGTCTTG GAACTCAGGC GGCCTGACCA GCGGCTCCA CACCTTCCCG GCTGTCTTAC
 2941 AGTCTAGCGG ACTCTACTCC CTCAGCAGCG TAGTGACCGT GCGCTCTTCT AGCTTGGGCA
 3001 CCCAGACCTA CATCTGCAAC GTGAATCACA AGCCACAGCA CACCAAGGTG GACAAGAAAG
 3061 TTGAGCCCAA ATCTTGTGCG GCGGCTCATC ACCACCATCA TCACTCTGCT GAACAAAAC
 3121 TCATCTCAGA AGAGGATCTG AATGGTGCCG CAGATATCAA CGATGATCGT ATGGCTGGCG
 3181 CCGCTGAAAC TGTGAAAGT TGTTTAGCAA AACCCCATAC AGAAAATTCA TTTACTAACG
 3241 TCTGGAAAGA CGACAAAAC TTAGATCGTT ACGCTAACTA TGAGGGTTGT CTGTGGAATG
 3301 CTACAGGCCT TGTAGTTTGT ACTGCTGACG AAATCAGTG TTACGGTACA TGGGTCTCTA
 3361 TTGGGCTTGC TATCCCTGAA AATGAGGCTG GTGGCTCTGA GGGTGGCGGT TCTGAGGGTG
 3421 GCGGTTCTGA GGGTGGCGGT ACTAAACCTC CTGAGTACGG TGATACACCT ATTCCGGGCT
 3481 ATACTTATAT CAACCCCTTC GACGGCACTT ATCCGCTCTG TACTGAGCAA AACCCGCTA
 3541 ATCTAATACC TTCTCTTGA GAGTCTCAGC CTCTTAATAC TTTCTGTTT CAGATAATA
 3601 GGTTCCGAAA TAGGCAGGGG GCATTAACTG TTTATACGGG CACTGTACT CAAGGCACTG
 3661 ACCCGGTTAA AACTTATTAC CAGTACACTC CTGTATCATC AAAAGCCATG TATGAGGCTT
 3721 ACTGGAACGG TAAATTGAGA GACTGCGCTT TCCATTCTGG CTTTAATGAA GATCCATTCG
 3781 TTTGTGAATA TCAAGGCCAA TCGTCTGACC TGCCTCAACC TCCTGTCAAT GCTGGCGCGG
 3841 GCTCTGCTGG TGGTCTTGGT GCGGCTCTG AAGGTGCTGG CTCTGAGGGT GCGGCTCTG
 3901 AGGGTGSCGG CTCTGAGGGA GCGGTTCCG GTGGTGCTC TGGTTCGGT GATTTTGATT
 3961 ATGAAAAGAT GGCAACCGCT AATAAGGGGG CTATGACCGA AAATGCCGAT GAAAACGCGC
 4021 TACAGTCTGA CGCTAAAGGC AAATTTGATT CTGTGCTAC TGATTACGGT GCTGCTATCG
 4081 ATGGTTTCAT TGGTGACGTT TCCGGCCTTG CTAATGGTAA TGGTGCTACT GGTGATTTTG
 4141 CTGGCTCTAA TTCCCAAATG GGTCAAGTCG GTGACGGTGA TAATTCACCT TTAATGAATA
 4201 ATTTCCGTC AATTTTACCT TCCCTCCCTC AATCGGTTGA ATGTGCGCT TTTGCTTTA
 4261 GCGCTGGTAA ACCATATGAA TTTCTATTG ATTTGACAA AATAAATTA TTCCGTGGTG
 4321 TCTTTGCGTT TCTTTTATAT GTTGCCACCT TTATGTATGT ATTTTCTACG TTTGCTAACA
 4381 TACTGCGTAA TAAGGAGTCT TAATCATGCC AGTTCTTTTG GGTATTCGGT TATTATTGCG
 4441 TTTCTCGGT TTCTTCTGG TAACTTTGTT CGGCTATCTG CTTACTTTTC TTAATAAGGG

4501 CTTCCGTAAG ATAGCTATTG CTATTTCAAT GTTTCCTGCT CTTATTATTG GGCTTAACCTC
 4561 AATTCTTGTG GGTATCTCT CTGATATTAG CGCTCAATTA CCCTCTGACT TTGTTCAAGG
 4621 TGTTCAAGTA ATTCTCCCGT CTAATGCGCT FCCCTGTTTT TATGTTATTG TCTCTGTAAA
 4681 GGCTGCTATT TTCATTTTGG ACGTTAAACA AAAAATCGTT TCTTATTTGG ATTGGGATAA
 4741 ATAATATGGC TGTTTATTTT GTAAGTGGCA AATTAGGCTC TGGAAAGACG CTCGTTAGCG
 4801 TTGGTAAGAT TCAGGATAAA ATTGTAGCTG GGTGCAAAAT AGCAACTAAT CTTGATTTAA
 4861 GGCTTCAAAA CCTCCCGCAA GTCGGGAGGT TCGCTAAAAC GCCTCGCGTT CTTAGAAATAC
 4921 CGGATAAGCC TTCTATATCT GATTTGCTTG CTATTGGGCG CGGTAATGAT TCCTACGATG
 4981 AAAATAAAAA CGGCTTGCTT GTTCTCGATG AGTGGCGTAC TTGGTTTAAAT ACCCGTTCTT
 5041 GGAATGATAA GGAAGACAG CCGATTATTG ATTGGTTTCT ACATGCTCGT AAATTAGGAT
 5101 GGGATATTAT TTTTCTTGT CAGGACTTAT CTATTGTTGA TAAACAGGCG CGTTCCTGCAT
 5161 TAGCTGAACA TGTTGTTTAT TGTCGTGCTC TGGACAGAAT TACTTTACCT TTTGTGCGTA
 5221 CTTTATATTC TCTTATTACT GGCTCGAAAA TGCTCTGCTC TAAATTACAT GTTGGCGTTG
 5281 TTAAATATGG CGATTCTCAA TTAAGCCCTA CTGTTGAGCG TTGGCTTTAT ACTGGTAAGA
 5341 ATTTGTATAA CGCATATGAT ACTAAACAGG CTTTTTCTAG TAATTATGAT TCCGGTGTTC
 5401 ATTCTTATTT AACGCCCTAT TTATCACACG GTCCGTATTT CAAACCATTA AATTTAGGTC
 5461 AGAAGATGAA ATTAACATAA ATATATTGTA AAAAGTTTTT TCGCGTTCTT TGTCTTGCGA
 5521 TTGGATTTGC ATCAGCATTT ACATATAGTT ATATAACCCA ACCTAAGCCG GAGGTAAAAA
 5581 AGGTAGTCTC TCAGACCTAT GATTTTGATA AATTCATAT TGAATCTCT CAGCGTCTTA
 5641 ATCTAAGCTA TCGCTATGTT TTCAAGGATT CTAAGGGAAA ATTAATTAAT AGCGACGATT
 5701 TACAGAAGCA AGGTTATTC A CTCACATATA TTGATTTATG TACTGTTTCC ATTAAAAAG
 5761 GTAATTCAAA TGAAATTGTT AAATGTAATT AATTTTGTTC TCTTGATGTT TGTTCATCA
 5821 TCTTCTTTTG CTCAGGTAAT TGAAATGAAT AATTCGCCTC TCGCGGATTT TGTAACTGG
 5881 TATTCAAAGC AATCAGGCGA ATCCGTTATT GTTCTCCCG ATGTAAAAGG TACTGTACT
 5941 GTATATTAT CTGACGTTAA ACCTGAAAT CTACGCAATT TCTTATTTT TGTTTTACGT
 6001 GCTAATAATT TTGATATGTT TGGTTCAATT CCTTCCATAA TTCAGAAGTA TAATCCAAAC
 6061 AATCAGGATT ATATTGATGA ATTGCCATCA TCTGATAATC AGGAATATGA TGATAATTCC
 6121 GCTCCTTCTG GTGGTTTCTT TGTTCGCGAA AATGATAATG TTAATCAAAC TTTTAAATTT
 6181 AATAACCTTC GGGCAAGGA TTTAATACGA GTTGTGCAAT TGTTCGTAAA GTCTAATACT
 6241 TCTAAATCCT CAAATGTATT ATCTATTGAC GGCTCTAATC TATTAGTTGT TTCTGCACCT
 6301 AAAGATATTT TAGATAACCT TCCTCAATTC CTTTCTACTG TTGATTTGCC AACTGACCAG
 6361 ATATTGATTG AGGGTTTAT ATTTGAGGTT CAGCAAGGTG ATGCTTTAGA TTTTTCATTT
 6421 GCTGCTGGCT CTCAGCGTGG CACTGTTGCA GCGGGTGTTA ATACTGACCG CCTCACCTCT
 6481 GTTTTATCTT CTGCTGGTGG TTCGTTGCGT ATTTTAAATG GCGATGTTTT AGGGCTATCA
 6541 GTTCGCGCAT TAAAGACTAA TAGCCATTCA AATATATTGT CTGTGCCACG TATTCCTACG
 6601 CTTTCAGGTC AGAAGGGTTC TATCTCTGTT GGCCAGAATG TCCCTTTTAT TACTGGTCGT
 6661 GTGACTGGTG AATCTGCCAA TGTAATAAAT CCATTTTACA CGATTGAGCG TCAAAATGTA
 6721 GGTTATTTCCA TGAGCGTTTT TCCTGTTGCA ATGGCTGGCG GTAATATTGT TCTGGATATT
 6781 ACCAGCAAGG CCGATAGTTT GAGTCTTCT ACTCAGGCAA GTGATCTTAT 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 CGCCCTGTAG CGCGCATTA AGCGCGGCGG GTGTGGTGGT
 7081 TACGCGCAGC GTGACCGCTA CACTTGCCAG CGCCCTAGCG CCGGCTCCTT TCGCTTTCTT
 7141 CCCTTCCTTT CTCGCCACGT TCGCCGCTT TCCCGTCAA GCTCTAAATC GGGGGCTCCC
 7201 TTTAGGGTTC CGATTTAGTG CTTTACGGCA CCTCGACCCC AAAAACTTG ATTTGGGTGA
 7261 TGGTTCACGT AGTGGGCCAT CGCCCTGATA GACGGTTTTT CGCCCTTTGA CGTTGGAGTC
 7321 CACGTTCCTT AATAGTGGAC TCTTGTCCA AACTGGAACA AACTCAACC CTATCTCGGG
 7381 CTATTCTTTT GATTTATAAG GGATTTTGCC GATTTGGGA CCACCATCAA ACAGGATTTT
 7441 CGCCTGCTGG GGCAAACCAG CGTGGACCGC TGCTGCAAC TCTCTACGGG CCAGGCGGTG
 7501 AAGGGCAATC AGCTGTTGCC CGTCTACTG GTGAAAAGAA AAACCACCCT GGATCCAAGC
 7561 TTGCAGGTGG CACTTTTCGG GGAAATGTGC GCGGAACCCC TATTTGTTTA TTTTCTAAA
 7621 TACATTCAAA TATGTATCCG CTCATGAGAC AATAACCCTG ATAAATGCTT CAATAATATT
 7681 GAAAAAGGAA GAGTATGAGT ATTCAACATT TCCGTGTGCG CCTTATCCC TTTTTGCGG
 7741 CATTTTGCCCT TCCTGTTTTT GCTCACCAG AAACGCTGGT GAAAGTAAA GATGCTGAAG
 7801 ATCAGTTGGG CGCAGGAGTG GGTACATCG AACTGGATCT CAACAGCGGT AAGATCCTTG
 7861 AGAGTTTTCG CCGCGAAGAA CGTTTTCAA TGATGAGCAC TTTTAAAGTT CTGCTATGTC
 7921 ATACACTATT ATCCCGTATT GACGCCGGG AAGAGCAACT CGGTGCGCGG GCGCGTATT
 7981 CTCAGAAFGA CTTGGTTGAG TACTCACCAG TCACAGAAA GCATCTTACG GATGGCATGA
 8041 CAGTAAGAGA ATTATGCAGT GCTGCCATAA CCATGAGTGA TAACACTGCG GCCAACTTAC
 8101 TTCTGACRA GATCGGAGGA CCGAAGGAGC TAACCGCTTT TTTGCACAAC ATGGGGGATC
 8161 ATGTAACFCG CCTTGATCGT TGGGAACCGG AGCTGAATGA AGCCATACCA AACGACGAGC
 8221 GTGACACCAC GATGCCTGTA GCAATGCCAA CAACGTTGCG CAACCTATTA ACTGCGGAAC
 8281 TACTTACTCT AGCTTCCCG CAACAATTAA TAGACTGGAT GGAGGCGGAT AAAGTTGCAG
 8341 GACCACTTCT GCGCTCGGCC CTTCGGCTG GCTGGTTTAT TGCTGATAAA TCTGGAGCCG
 8401 GTGAGCGTGG GTCTCGCGGT ATCATTGCAG CACTGGGGCC AGATGGTAAG CCCTCCCGTA
 8461 TCGTAGTTAT CTACACGACG GGGAGTCAGG CAACTATGGA TGAACGAAAT AGACAGATCG
 8521 CTGAGATAGG TGCCCTCACTG ATTAAGCATT GGTAACTGTC AGACCAAGTT TACTCATATA
 8581 TACTTTAGAT TGATTTAAAA CTTCATTTT AATTTAAAAG GATCTAGGTG AAGATCCTTT
 8641 TTGATAATCT CATGACCAA ATCCCTTAAC GTGAGTTTTT GTTCCACTGT ACGTAAGACC
 8701 CCAAGCTTG TCGACTGAAT GCGGAATGGC GCTTTGCCTG GTTCCGGCA CCAGAAGCGG
 8761 TGCCGGAAAG CTGGCTGGAG TGCSATCTC CTGAGGCCGA TACTGTGCTC GTCCCTCAA
 8821 ACTGGCAGAT GCACGGTTAC GATGCGCCCA TCTACACCAA CGTAACCTAT CCATTAACGG
 8881 TCAATCCGCC GTTTGTCCC ACGGAGAATC CGACGGGTTG TTAATCGCTC ACATTTAATG
 8941 TTGATGAAG CTGGCTACAG GAAGGCCAGA CGCGAATTAT TTTTGATGGC GTTCCTATTG
 9001 GTTAAAAAAT GAGCTGATTT AACAAAAATT TAACGCGAAT TTTAACAAA 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 TCTCACCCTT TTGAATCTTT ACCTACACAT TACTCAGGCA TTGCATTTAA
 9361 AATATATGAG GGTTCATAAA ATTTTATCC TTGCGTTGAA ATAAAGGCTT CTCCCGCAA
 9421 AGTATTACAG GGTCAATAAT TTTTGGTAC AACCGATTTA GCTTTATGCT CTGAGGCTTT
 9481 ATTGCTTAAT TTTGCTAATT CTTTGCCTTG CCTGTATGAT TTATTGGATG TT

Tabla 200: Enzimas que cortan 15 o más GLG humanos o tienen reconocimiento de +5 bases en FR3

Entrada típica:

Reconocimiento de nombre de ER

#sitios

GLGid#:base# GLGid#:base# GLGid#:base#.....

BstEII Ggtacc

2

1: 3 48: 3

Hay 2 aciertos en la base nº 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	41: 4	41: 58	42: 4	42: 58	43: 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 nº 4

Tsp45I gtaac

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	47: 58
48: 4	49: 4	50: 58			

Hay 21 aciertos en la base nº 4

HphI tcacc

45

1: 5	2: 5	3: 5	4: 5	5: 5	6: 5
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 nº 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 n° 42

Hay 1 acierto en la base n° 48 podría provocar irregularidad

BsaJI Conngg						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	
38: 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						

Hay 23 aciertos en la base n° 65

Hay 14 aciertos en la base n° 14

AluI AGet						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 n° 47

Hay 11 aciertos en la base n° 52 solamente 5 bases de 47

AlpI 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 n° 48

MwoI GCNNNNNnngc

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

Hay 10 aciertos en la base nº 67

Hay 7 aciertos en la base nº 36

DdeI 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 nº 58

Hay 22 aciertos en la base nº 49 solamente nueve bases de 58Hay 16 aciertos en la base nº 65 solamente siete bases de 58

BglII 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 nº 61

BstYI Rgacgc

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 nº 61

Hpy188I TCNGa 17

1: 64	2: 64	3: 64	4: 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 nº 64

Hay 4 aciertos en la base nº 57

Hay 2 aciertos en la base nº 67 podría ser irregular

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 nº 72

BclXI CGRfag 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 nº 74

BaeI Yggccg 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 nº 74

EagI 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 nº 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 nº 75

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 nº 86 todos los otros sitios están bastante 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

44: 86 45: 86 46: 86 47: 86 48: 86 49: 86
50: 86 51: 0 51: 86

Hay 51 aciertos en la base nº 86

HinfI 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 nº 2

MlyI 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 nº 2

PleI 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 nº 2

AciI 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 nº 62

Hay 8 aciertos en la base nº 65

Hay 3 aciertos en la base nº 14

Hay 3 aciertos en la base nº 74

Hay 1 aciertos en la base nº 26

Hay 1 aciertos en la base nº 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 nº 67

Hay 3 aciertos en la base nº 16

Hay 1 aciertos en la base nº 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 nº 51

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 nº 51

KgiAI 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 nº 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 nº 53

Hay 10 aciertos en la base nº 64

TseI Gcwgc 17
 2: 53 3: 53 5: 53 6: 53 7: 53 8: 53

9: 53 10: 53 11: 53 31: 53 36: 36 45: 64
46: 64 48: 53 49: 53 50: 45 51: 53

There are 13 hits at base# 53

MnlI 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 nº 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 nº 44

Hay 1 aciertos en la base nº 52

AccI GTmkac

13

reconocimiento de 5 bases

7: 37 11: 24 37: 16 38: 16 39: 16 40: 16
41: 16 42: 16 43: 16 44: 16 45: 16 46: 16
47: 16

Hay 11 aciertos en la base nº 16

SacII CCGCgg

8

reconocimiento de 6 bases

9: 14 10: 14 11: 14 37: 65 39: 65 40: 65
42: 65 43: 65

Hay 5 aciertos en la base nº 65

Hay 3 aciertos en la base nº 14

TfiI Gawtc

24

9: 22 35: 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 nº 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 nº 11

BpmI 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
28: 12 30: 12 31: 12 32: 12 34: 12 35: 12
36: 12

Hay 19 aciertos en la base nº 12

XmnI GAANNnttc 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 nº 30

BsrI 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 nº 32

BanII GRGCTc 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 nº 51

Ecl136I 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 nº 51

SacI 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 nº 51

Tabla 206: FR3 3-23 sintética de cadenas pesadas humanas que muestran posiciones de posibles sitios de escisión

! Los sitios introducidos por ingeniería genética en el gen sintético se muestran en ADN en

! mayúsculas con el nombre de la ER entre barras verticales (como en | Xbal |)

! Las RER frecuentemente halladas en GLG se muestran debajo de la secuencia sintética

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

! 24 de los 51 GLG contiene el sitio).

```

ADN permitido

-----FR3-----
88 90 (n° de codon en
R F 3-23 sintético)
|cgc|ttc| 6
|cgn|tty|
|agr|
|ga ntc = HinfI(38)
|ga gtc = PstI(18)
|ga atc = TfiI(20)
|gtt ac = MaelIII(34)
|gtc ac = Tsp45I(21)
|tc acc = HphI(44)

-----FR3-----
81 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105
T X S R D N S K N T L Y L Q M
|act|atc|TCT|AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|cac|ttg|cag|atg| 51
|allowed|acn|ath|tcn|cgn|gay|aay|tcn|aar|aay|acn|ttt|tay|ttt|car|atg|
|agy|agr| |agy| |tcn| |tcn|
|ga|gac = BsaAI(16) |ag at = AluI(23)
|c|tcc|ag = BpmI(19) |g ctn|agc = BlnI(21)
|KhaI| |g aac|aaa|ttc = XmnI(12)
| | |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|Gct|tac|tat|tgc|gct|aaa| 95
|allowed|aay|tcn|ttt|cgn|gcn|gar|gay|acn|gcn|gtt|tay|tay|tgy|gcn|aar|
|agy|ctn|agr|
|cc|nng|g = BsaAI(23) |ac|ngt = Bst4CI(51)
|aga|tct = BglII(10) |ac|ngt = HpyCH4III(51)
|aga|tcY = BstXI(11) |ac|ngt = TaaI(51)
|c|gyn|aaa|ttc = MslI(44)
|cg|ryc|g = BsiEI(23)
|yg|gcc|r = BaeI(23)
|cg|gcc|g = EagI(23)
|lg|gcc = HaeIII(25)
|gay|g = NmlI(31)
|BstI|
|AflIII|

```

Tabla 217: Secuencias FR1 de GLG HC humanas

Exón VH - Alineamientos 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

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 tCG 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 tCG 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 TTC AAG GAG TCT GGT CCT ACG CTG GTG AAA CCC ACA CAG ACC CTC ACG
CTG ACC TGC ACC TTC 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 etc acg
ctg acc tgc acc Gtc tct ggg ttc tca etc agc

2-70 cag Gtc acc ttg aag gag tct ggt cct Gcg ctg gtg aaa ccc aca cag acc etc aca
ctg acc tgc acc ttc tct ggg ttc tca etc 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
etc 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
etc 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
etc 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
etc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acT ttc agt

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
3-53 gag gtg cag ctg gtg gag Act gGA 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 rTA 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 CtC agt
VH4
4-04 CAG GTG CAG CTG CAG GAG TCG GCC CCA CGA CTG GTG AAG CCT TCG GGG ACC CTG TCC
CTC ACC TGC GCT GTC TCT GGT GGC TCC ATC ACC
4-28 cag gtg cag ctg cag gag tcc ggc cca gga ctg gtg aag cct tcc gAC acc ctg tcc
ctc acc tgc gct gtc tct ggt TAc tcc atc agc
4-30.1 cag gtg cag ctg cag gag tcc ggc cca gga ctg gtg aag cct tCA CAg acc ctg tcc
ctc 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
ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc
4-30.4 cag gtg cag ctg cag gag tcc ggc cCA gga ctg gtg aag cct tCA CAg acc ctg tcc
ctc acc tgc Act gtc tct ggt ggc tcc atc agc

4-31 cag gtg cag ctg cag gag tgg ggc cca gga ctg gtg aag cct tca CAg acc ctg tcc
ctc acc tgc Act gtc tct ggt ggc tcc atc agc

4-34 cag gtg cag cta cag tag tgg ggc Gca gga ctg Ttg aag cct tgg gAg acc ctg tcc
ctc acc tgc gct gtc tat ggt ggc tcc Ttc agt

4-35 cag Ctg cag ctg cag gag tgg ggc cca gga ctg gtg aag cct tgg gAg acc ctg tcc
ctc acc tgc Act gtc tct ggt ggc tcc atc agc

4-59 cag gtg cag ctg cag gag tgg ggc cca gga ctg gtg aag cct tgg gAg acc ctg tcc
ctc acc tgc Act gtc tct ggt ggc tcc atc agt

4-61 cag gtg cag ctg cag gag tgg ggc cca gga ctg gtg aag cct tgg gAg acc ctg tcc
ctc acc tgc Act gtc tct ggt ggc tcc Gtc agc

4-b cag gtg cag ctg cag gag tgg ggc cca gga ctg gtg aag cct tgg gAg acc ctg tcc
ctc acc tgc gct gtc tct ggt TAc tcc atc agc

VH5

5-51 GAG CTG CAG CTG CTG CAG TCT GGA GCA GAG GTG AAA AAG CCC GGG SAG TCT CTG AAG
ACC 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 GCA 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 CTG CAG CTG CTG 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

Tabla 220: Sitios SRER en FR1 de GLG HC humanas en las que hay al menos 20 GLG cortados

BsgI	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	34: 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 nº 4

Hay 21 aciertos en la base nº 65

ctgcac	9					
12: 63	13: 63	14: 63	39: 63	41: 63	42: 63	
44: 63	45: 63	46: 63				

BbvI	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
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	38:	6	39:	6	40:	6
41:	6	42:	6	43:	6	44:	6	45:	6	46:	6
47:	6	48:	6	49:	6	50:	12	51:	6		

Hay 43 aciertos en la base nº 6

Sitios en negrita muy cerca de sitios enumerados posteriormente

Hay 21 aciertos en la base nº 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 GCngc		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 nº 6 Estos aparecen con frecuencia juntos

Hay 11 aciertos en la base nº 9

Hay 2 aciertos en la base nº 3

Hay 21 aciertos en la base nº 67

TseI 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 nº 6 Con frecuencia juntos

Hay 11 aciertos en la base nº 9

Hay 2 aciertos en la base 3
 Hay 1 aciertos en la base 12
 Hay 21 aciertos en la base 67

MspAII 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	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	<u>40: 1</u>		
<u>40: 7</u>	41: 7	42: 7	<u>44: 1</u>	<u>44: 7</u>	45: 7		
46: 7	47: 7	48: 7	49: 7	50: 7	51: 7		

Hay 46 aciertos en la base 7

PvuII 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	<u>40: 1</u>		
<u>40: 7</u>	41: 7	42: 7	<u>44: 1</u>	<u>44: 7</u>	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

AluI 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		
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	<u>40: 2</u>	<u>40: 8</u>	41: 8	42: 8		
43: 8	<u>44: 2</u>	<u>44: 8</u>	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

DdeI 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 2 aciertos en la base 26 26 y 24 nunca juntos

HphI trace		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
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
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	<u>48: 40</u>
<u>49: 41</u>	<u>49: 40</u>	<u>49: 41</u>	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 (\$M.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 CCnngg					
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
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

Eco0109I 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 46 y 43 nunca juntos

Hay 11 aciertos en la base 43

NlaIV GGNccc						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	
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 con frecuencia juntos

Hay 17 aciertos en la base 46

Hay 11 aciertos en la base 43

Sau96I 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 Estos no se producen juntos

Hay 11 aciertos en la base 44

Hay 14 aciertos en la base 22. Estos se producen juntos.

Hay 9 aciertos en la base 21

BsmAI 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	
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

AvaII 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
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

gcccc

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

HinfI 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
 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

Tfii 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

MlyI 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

PleI 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
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 255: Análisis de frecuencia de adaptadores de ER coincidentes en genes V reales
A: HpyCH4V en HC en las bases 35-56

Número de emparejamientos erróneos.....													Número			
Id	Ntot	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Corte	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	caatgtatctGCAaatgaacag	
3	58	19	7	17	6	5	1	0	1	0	2	0	54	3-09	ccctgtatctGCAaatgaacag	
4	267	42	33	9	8	8	82	43	22	8	11	1	100	5-51	ccgctaccctGCAGtggagcag	
5	250	111	59	41	24	7	5	1	0	0	2	0	242	3-15	cgtgtatctGCAaatgaacag	
6	7	0	2	0	1	0	0	0	0	0	4	0	3	7-4.1	cggcatatctGCAGatctgcag	
7	7	0	2	2	0	0	2	1	0	0	0	0	4	3-73	cggcgatctGCAaatgaacag	
8	26	10	4	1	3	1	2	1	3	1	0	0	19	5-a	ctgcctaccctGCAGtggagcag	
9	21	8	2	3	1	6	1	0	0	0	0	0	20	3-49	tcgcatatctGCAaatgaacag	
1338		249	162	379	149	103	120	71	47	13	23	12	1052			
		249	411	790	939	1162	1280	1316								1338
		1042		1233	1293											1338

Id	Sonda	Sonda con puntos
6-1	agttctccctGCAGctgaactc	agttctccctGCAGctgaactc
3-11	caatgtatctGCAaatgaacag	caatgtatctGCAaatgaacag
3-09	cccgtatctGCAaatgaacag	cccgtatctGCAaatgaacag
5-51	ccgctaccctGCAGtggagcag	ccgctaccctGCAGtggagcag
3-15	cgtgtatctGCAaatgaacag	cgtgtatctGCAaatgaacag
7-4.1	cggcatatctGCAGatctgcag	cggcatatctGCAGatctgcag
3-73	cggcgatctGCAaatgaacag	cggcgatctGCAaatgaacag
5-a	ctgcctaccctGCAGtggagcag	ctgcctaccctGCAGtggagcag
3-49	tcgcatatctGCAaatgaacag	tcgcatatctGCAaatgaacag

Secuencias con el sitio ER esperado solamente1004
 (Se cuentan solamente casos con 4 o menos emparejamientos erróneos)
 Secuencias con solamente un sitio inesperado0
 Secuencias con tanto esperados como inesperados48
 (Se cuentan solamente casos con 4 o menos emparejamientos erróneos)
 Secuencias sin sitios0

B: B1 en HC

Id	Ntot	0	1	2	3	4	5	6	7	8	Ncor	Nombre
1	133	73	16	11	13	6	9	1	4	0	119	1-58 acatggaGCTgagcagcctgag
2	14	11	1	0	0	0	0	1	0	1	12	1-02 acatggagctgagcagctgag
3	34	17	8	2	6	1	0	0	0	0	0	1-18 acatggagctgagcagcctgag
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	0	74.1 atctgcagatctgcagcctaaa
9	23	18	2	2	1	0	0	0	0	0	0	3-66 atcttcaaatgaacagcctgag
10	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3-64 atcttcaaatgggagcctgag
11	496	249	78	81	38	21	10	4	4	1	467	4301 ccctgaagctgagctctgtgac
12	16	6	3	1	0	1	1	3	1	0	1	6-1 ccctgcagctgaactctgtgac
13	38	15	8	2	2	1	0	0	0	0	0	2-70 tccttacaaatgacccaacatgga
14	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2-26 tccttaccatgacccaacatgga
												601

Nombre	Secuencia completa	modo con puntos
1-58	acatggacctcagcagcctgag	acatggacctcagcagcctgag
1-02	acatggagctgagcagcctgag	g....
1-18	acatggagctgagcagcctgag	g....
5-51	acctgcagctggagcagcctgaa	..c..c..tg.....a
3-15	atctgcacatgaacagcctgaa	tc..c.aa...a.....a
3-30,3	atctgcacatgaacagcctgag	tc..c.aa...a.....
3-20	atctgcacatgaacagcctgag	tc..c.aa...a...t....
7-4,1	atctgcagctctgcagcctaaa	tc..c..a.ct.....a,a
3-66	atctgcacatgaacagcctgag	tc..tc.aa...a.....
3-64	atctgcacatgggcagcctgag	tc..tc.aa..g.....
4-30,1	cctgcagctgagctctgtgac	c.c..a.....ctg...c
6-1	cctgcagctgaactctgtgac	c.c..c.....a.ctg...c
2-70	tcctacacatgaacacacatgga	t.c.tacaa...c..a..ga
2-26	tcctacacatgaacacacatgga	t.c.tacca...c..a..ga

Secuencias con el sitio ER esperado solamente 597 (contando secuencias con 4 o menos emparejamiento erróneos)

Secuencias con solamente un sitio inesperado 2

Secuencias con tanto esperados como inesperados 2

Secuencias sin sitios 686

C: HpyCH4III, Bst4CI o Taal en HC

En la puntuación de si está presente el sitio ER de interés solo se cuentan ON que tengan 4 o menos emparejamientos erróneos

Número de secuencias 1617

Secuencias con el sitio ER esperado solamente	1511
Secuencias con solamente un sitio inesperado.....	0

Tabla 255B

Secuencias con tanto esperadas como inesperadas8

Secuencias sin sitios.....0

Análisis repetido usando solamente los 8 mejores adaptadores de ER

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
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	1	4	2	0	0	72 330#23 ctgtgtattactgtgcgaaaga
6	79	15	17	25	8	11	1	2	0	0	76 439#44 ctgtgtattactgtgcgagaca
7	43	14	15	5	5	3	0	1	0	0	42 551#48 ccattgtattactgtgcgagaca
8	307	26	63	72	51	38	24	14	13	6	250 5a#49 ccattgtattactgtgcgaga
1	102#1	ccgtgtattactgtgcgagaga ccgtgtattactgtgcgagaga									
2	103#2	ctgtgtattactgtgcgagaga .t.....									
3	108#3	ccgtgtattactgtgcgagaggg									
4	323#22	ccgtatattactgtgcgaaagaa...									
5	330#23	ctgtgtattactgtgcgaaaga .t.....a...									
6	439#44	ctgtgtattactgtgcgagaca .t.....C.									
7	551#48	ccattgtattactgtgcgagaca ..a.....C.									
8	5a#49	ccattgtattactgtgcgagaAA ..a.....AA									

Secuencias con el sitio ER esperado solamente 1463/1617

Secuencias con solamente un sitio inesperado.....0

Secuencias con tanto esperados como inesperados7

Secuencias sin sitios0

Tabla 300: GLG FR1 kappa

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
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	
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 302 Sitios SRER hallados en GLG FR1 kappa humanos

	MslI	FokI --> <--	Pf1F1	BstI	BsmAI	MnlI	HpyCh 4V
VR1							
O12 1-69	3	3	23	15	18	26	36
O2 101-169	103	103	123	115	118	126	136
O18 201-269	203	203	223	215	218	226	236
O8 301-369	303	303	323	315	318	326	336
A20 401-469	403	403	423	415	418	426	436
A30 501-569	503	503	523	515	518	526	536
L14 601-669	603	603	623	615	618	626	636
L1 701-769	703	703	723	715	718	726	736
L15 801-869	803	803	823	815	818	826	836
L4 901-969	-	903	923	906	918	926	936
L18 1001-1069	-	1003	1012 1049	1006 1015	1018	1026	1036
L5 1101-1169	1103	-	1112 1149	1115	1118	-	1136
L19 1201-1269	1203	1203	1212 1249	1215	1218	-	1236
L8 1301-1369	-	1303	1312 1349	1306 1315	1318	-	1336
L23 1401-1469	1403	1403 1408	1412 1449	1415	1418	-	1436
L9 1501-1569	1503	1503 1508 1523	1512 1549	1515	1518	1526	1536
L24 1601-1669	1603	1608 1623	1612 1649	1615	1618	-	1636
L11 1701-1769	1703	1703	1712 1749	1715	1718	1726	1736
L12 1801-1869	1803	1803	1812 1849	1815	1818	-	1836

	Мелл	Ролл --> <-- -->	РлПл	Барл	Рсмал	МлИ	Рпыч 4V
VR11							
011 1901-1969	-	-	-	-	-	1956	-
01 2001-2069	-	-	-	-	-	2056	-
A17 2101-2169	-	-	2112	-	2118	2156	-
A1 2201-2269	-	-	2212	-	2218	2256	-
A18 2301-2369	-	-	-	-	-	2356	-
A2 2401-2469	-	-	-	-	-	2456	-
A19 2501-2569	-	-	2512	-	2518	2556	-
A3 2601-2669	-	-	2612	-	2618	2656	-
A23 2701-2769	-	-	-	-	-	2739 2756	-
VR211							
A27 2801-2869	-	-	2812	-	2818 2839	2860	-
A11 2901-2969	-	-	2912	-	2918 2939	2960	-
I2 3001-3069	-	-	3012	-	3018 3039	3060	-
I16 3101-3169	-	-	3112	-	3118 3139	3160	-
I6 3201-3269	-	-	3212	-	3218 3239	3260	-

	MslI	FokI --> <--	EclFI -->	BstI	BsmAI	NsiI	HpyCH 4V
L20 3301-3369	-	-	3312	-	3318 3339	3360	-
L25 3401-3469	-	-	3412	-	3418 3439	3460	-
VR1							
B3 3501-3569	3503	-	3512	3515	3518 3539	3551<	-
VR2							
B2 3601-3669	-	-	3612	3619	3618 3647	-	-
VR3							
A26 3701-3769	-	-	3712	-	3718	-	-
A10 3801-3869	-	-	3812	-	3818	-	-
A14 3901-3969	-	-	3912	-	3918	3930>	-

Tabla 302: Sitios SRER hallados en GLG FR1 kappa humanos, continuación

	SfaNI	SfiCI	HinfI	MlyI --> <--	MaeIII Tsp45I mismos sitios	HphI xx38 xx56 xx62	HpaII MspI xx06 xx52
VR1							
O12 1-69	37	41	53	53	55	56	-
O2 101-169	137	141	153	153	155	156	-
O18 201-269	237	241	253	253	255	256	-

	SfaNI	SfiCI	HinfI	MlyI --> --> <--<	MaeIII Tsp45I mismos sitios	HphI xx38 xx56 xx62	HpaII MspI xx06 xx52
O8	301-369	337	341	353	355	356	-
A20	401-469	437	441	453	455	456	-
A30	501-569	537	541	553	555	556	-
L14	601-669	637	641	653	655	656	-
L1	701-769	737	741	753	755	756	-
L15	801-869	837	841	853	855	856	-
L4	901-969	937	941	953	955	956	-
L18	1001-1069	1037	1041	1053	1055	1056	-
L5	1101-1169	1137	1141	1153	1155	1156	-
L19	1201-1269	1237	1241	1253	1255	1256	-
LB	1301-1369	1337	1341	1353	1355	1356	-
L23	1401-1469	1437	1441	1453	1455	1456	1406
L9	1501-1569	1537	1541	1553	1555	1556	1506
L24	1601-1669	1637	1641	1653	1655	1656	-
L11	1701-1769	1737	1741	1753	1755	1756	-
L12	1801-1869	1837	1841	1853	1855	1856	-
VRG1							
O11	1901-1969	-	1918	1937	1938	1939	1952
O1	2001-2069	-	2018	2037	2038	2039	2052
A17	2101-2169	-	2112	2137	2138	2139	2152
A1	2201-2269	-	2212	2237	2238	2239	2252

	SfaNI	SfiI	HinfI	MlyI --> --> <--<--	MaeIII Tsp451 micros sitios	HphI xx38 xx56 xx62	KpnI xx36 xx52
A18 2301-2369	-	-	2318	2318	2337	2338	2352
A2 2401-2469	-	-	2418	2418	2437	2438	2452
A19 2501-2569	-	-	2512	2512	2537	2538	2552
A3 2601-2669	-	-	2612	2612	2637	2638	2652
A23 2701-2769	-	-	2718	2718	2737	2731* 2738*	-
VR13							
A27 2801-2869	-	-	-	-	-	-	-
A11 2901-2969	-	-	-	-	-	-	-
L2 3001-3069	-	-	-	-	-	-	-
L16 3101-3169	-	-	-	-	-	-	-
L6 3201-3269	-	-	-	-	-	-	-
L20 3301-3369	-	-	-	-	-	-	-
L25 3401-3469	-	-	-	-	-	-	-
VR14							
B3 3501-3569	-	-	3525	3525	-	-	-
VR15							
B2 3601-3669	-	-	3639	3639	-	-	-
VR16							
A26 3701-3769	-	-	3712	3712	3737 3755	3756 3762	-
A10 3801-3869	-	-	3812	3812	3837 3855	3856 3862	-
A14 3901-3969	-	-	3939	3939	3937 3955	3956 3962	-

Tabla 302: Sitios SRER hallados en FR1 kappa humana, continuación

	BsaJI xx29 xx42 xx43	BssXI (NstNI) xx22 xx30 xx43	BpmI xx20 xx41 xx44 --> --> <--<--	BsrFI CacBI HaeI HgoNI V	HaeII I	Tsp509I
VKI						
O12 1-69	-	-	-	-	-	-
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	-	-	-	-	-	-
L24 1601-1669	-	-	-	-	-	-

	BsaII xx29 xx42 xx43	BssKI (NstNI) xx22 xx30 xx43	BpmI xx20 xx41 xx44 --> --> <--	BsrFI Cac8I NaeI NgoMI V	HaeII I	Tsp509I
L11 1701-1769	-	-	-	-	-	-
L12 1801-1869	-	-	-	-	-	-
VR11						
O11 1901-1969	1942	1943	1944	1951	1954	-
O1 2001-2069	2042	2043	2044	2051	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	2543	2544	2551	2554	-
A3 2601-2669	2642	2643	2644	2651	2654	-
A23 2701-2769	2742	-	-	2751	2754	-
VR12						
A27 2801-2869	2843	2842	2820 2841	-	-	2903
A11 2901-2969	2943	2943	2920 2941	-	-	2903
I2 3001-3069	3043	3043	3041	-	-	-
L16 3101-3169	3143	3143	3120 3141	-	-	-
L6 3201-3269	3243	3243	3220 3241	-	-	3203
L20 3301-3369	3343	3343	3320 3341	-	-	3303

	BsaJI xx28 xx42 xx43	BssKI (NotNI) xx22 xx30 xx43	BpmI xx20 xx41 xx44 --> --> <--	BsrFI CacGI NaeI NgoMI V	HaeII I	Tsp509I
L25 3401-3469	3443	3443	3420 3441	-	-	3403
VRIV						
B3 3501-3569	3529	3530	3520	-	3554	
VRV						
B2 3601-3659		3643	3620 3641	-	-	
VRVI						
A26 3701-3769		-	3720	-	-	3703
A18 3801-3869		-	3820	-	-	3803
A14 3901-3969	3943	3943	3920 3941	-	-	-

Tabla 400 Secuencias GLG 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 GeT gtg tcT gtg
 Gcc TTG gga cag aca gTc agG atc acA tgc ! 3l

tcc tat gTg ctg act cag cca ccc tca gtg tca gtg
 gcc cca gga Aag acG gcc agG atT acc tgT ! 3h
 tcc tat gag ctg acA cag cTa ccc tcG gtg tca gtg
 tcc cca gga cag aca gcc agG atc acc tgc ! 3e
 tcc tat gag ctg atG cag cca ccc tcG gtg tca gtg
 tcc cca gga cag acG gcc agG atc acc tgc ! 3m
 tcc tat gag ctg acA cag cca Tcc tca gtg tca 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 gcc tct gcT
 tCC ctg gga Tcc tcg Gtc aag ctc acc tgc ! 4a
 cAg cTt gtg ctg act caA TcG ccC tct gcC 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 tca gcc agT ctc acc tgc ! 5c
 cag cct gtg ctg act cag cca Tct tcc CAT tct gca
 tct Tct gga gCa tca 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

! 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 405 SRER hallados en GLG FR1 lambda humanos

! Hay 31 GLG lambda

MlyI 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 nº 6

~"- GAGTCNNNNNn

1

26: 34

MwoI 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 nº 9

HinfI 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
28: 12	30: 12	31: 12			

Hay 23 aciertos en la base nº 12

PleI 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 nº 12

~"- gagtc

1

26: 34

DdeI 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 nº 14

BsaJI Ccnngg 38

1: 23	1: 40	2: 39	2: 40	3: 39	3: 40
4: 39	4: 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
28: 39	29: 14	29: 39	30: 38	30: 39	30: 47
31: 23	31: 32				

Hay 17 aciertos en la base nº 39

Hay 5 aciertos en la base nº 38

Hay 5 aciertos en la base nº 40 Hace la escisión irregular

MnlI 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 nº 23

Hay 3 aciertos en la base nº 19

Hay 3 aciertos en la base nº 29

Hay 1 acierto en la base nº 26

Hay 1 acierto en la base nº 27 Estas podría hacer la escisión irregular

-"- 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	4: 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
22: 38	23: 39	24: 39	26: 39	27: 39	28: 39
29: 14	29: 39	30: 38			

Hay 21 aciertos en la base nº 39

Hay 4 aciertos en la base nº 38

Hay 3 aciertos en la base nº 31

Hay 3 aciertos en la base nº 40 Irregular

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 nº 40

Hay 7 aciertos en la base nº 53

Hay 4 aciertos en la base nº 39

Hay 1 acierto en la base nº 41 Irregular

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 nº 40

Hay 7 aciertos en la base nº 53

Hay 4 aciertos en la base nº 39

Hay 1 acierto en la base nº 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	24: 40	26: 40	27: 40	28: 40
29: 15	29: 40	30: 39			

Hay 21 aciertos en la base nº 40

Hay 4 aciertos en la base nº 39

Hay 3 aciertos en la base nº 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 nº 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 nº 52

HphI tcacc			26		
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 nº 59

Hay 10 aciertos en la base nº 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 nº 61 Va a CDR1

Tabla 500: h3401-h2 capturado 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
! aGT GCA Caa gac atc cag atg acc cag tct cca gcc acc ctg tct
! ApaLI...
! L25,L6,L20,L2,L16,A11
! Prolongador ..... 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 ttg 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

```

```

1 151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165
! Q W K V D N A L Q S G N S Q E
  cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa tcg ggt aac tcc cag gag

1 166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180
! 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

1 181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195
! 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

1 196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210
! 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 tcg cct gtc aca

1 211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223
! 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 501: H3401-d8 KAPPA capturado con CJ y *Bsm*AI

```

1 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... Prolongador .....a gcc acc !
L25,L6,L20,L2,L16,A11
! A GCC ACC CTG TCT ! L2

1 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

1 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

1 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

1 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 tcg 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

```


|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 512: Kappa, bases 12-30

ID	Ntot	0	1	2	3	4	5	6	Nombre	Secuencia	Forma con puntos
1	84	40	21	20	1	2	0	0	SK12012	gaccaggtctccatctctcc	gaccaggtctccatctctcc
2	32	19	3	6	2	1	0	1	SK12A17	gactcagttctccatctctcc	gactcagttctccatctctcc
3	26	17	8	1	0	0	0	0	SK12A27	gaccaggtctccatctctcc	gaccaggtctccatctctcc
4	40	21	18	1	0	0	0	0	SK12A11	gaccaggtctccatctctcc	gaccaggtctccatctctcc
132	97	50	28	2	3	0	1				
97	147	175	178	181	181	182					
Adaptadores de ERU:											
(S2KBL230-012)											
Tallo Bucla Reconocimiento											
5'-cactctccgtg ttttt caccgagtg gggaggtgagagactgggtc-3'											
{RC} 5'-gaccaggtctccatctctcc cactctccgtg AACAA caccgagtg-3'											
Reconocimiento Tallo Bucla Tallo Foki.											
(S2KBL230-A17)											
Tallo Bucla Reconocimiento											
5'-cactctccgtg ttttt caccgagtg gggaggtgagagactgggtc-3'											
{RC} 5'-gaccaggtctccatctctcc cactctccgtg AACAA caccgagtg-3'											
Reconocimiento Tallo Bucla Tallo Foki.											
(S2KBL230-A27)											
Tallo Bucla Reconocimiento											
5'-cactctccgtg ttttt caccgagtg gggaggtgagagactgggtc-3'											
{RC} 5'-gaccaggtctccatctctcc cactctccgtg AACAA caccgagtg-3'											
Reconocimiento Tallo Bucla Tallo Foki.											
(S2KBL230-A11)											
Tallo Bucla Reconocimiento											
5'-cactctccgtg ttttt caccgagtg gggaggtgagagactgggtc-3'											
{RC} 5'-gaccaggtctccatctctcc cactctccgtg AACAA caccgagtg-3'											
Reconocimiento Tallo Bucla Tallo Foki.											

Lo que sucede en la hebra superior

```

{SzKB1230-012*}      5'-gac cca gtc|ccc a-tc ctc c-3'      Sitio de escisión en sustrato
|
{SzKB1230-A17*}      5'-gac tca gtc|ccc a-ct ctc c-3'
|
{SzKB1230-A27*}      5'-gac gca gtc|ccc a-gg cac c-3'
|
{SzKB1230-A11*}      5'-gac gca gtc|ccc a-gc cac c-3'
|
(kapextURE)          5'-ccTctactctTgTcAcAgTgcAcAA gAc ATc cAg-3'      hebra sentido
|                      Scab.....Apali
(kapextUREPCR)       5'-ccTctactctTgTcAcAgTgcAgTg-3'
|                      Scab.....
(kaBRO1UR)           5'-ggAggATgga cTggATgTct TgtgcAcTgt gAcAgAgTA gAgg-3'
| [RC] 5'-ccTctactctTgTcAcAgTgcAcAA gAc ATc cAg tcc a-tc ctc c-3' ON anterior es inversa de esta
(kaBRO2UR)           5'-ggAggATgga cTggATgTct TgtgcAcTgt gAcAgAgTA gAgg-3'
| [RC] 5'-ccTctactctTgTcAcAgTgcAcAA gAc ATc cAg tcc a-ct ctc c-3' ON anterior es inversa de esta
(kaBRO3UR)           5'-ggTgcctTgga cTggATgTct TgtgcAcTgt gAcAgAgTA gAgg-3'
| [RC] 5'-ccTctactctTgTcAcAgTgcAcAA gAc ATc cAg tcc a-gg cac c-3' ON anterior es inversa de esta
(kaBRO4UR)           5'-ggTgcctTgga cTggATgTct TgtgcAcTgt gAcAgAgTA gAgg-3'
| [RC] 5'-ccTctactctTgTcAcAgTgcAcAA gAc ATc cAg tcc a-gc cac c-3' ON anterior es inversa de esta
|                      Scab.....Apali

```

TCT|AGA|gac|aac|tct|aat|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|-
 |aac|agc|tta|agg|gct|gag|gac|act|cca|ctc|tac|tat|tgt|acg|ag-3'
 (VR881PCR) 5'-cgcttcactaag|TCT|AGA|gac|aac-3'

Tabla 512: Kappa, bases 12-30

ID	Mtot	0	1	2	3	4	5	6	Nombre	Secuencia	Forma con puntos
1	84	40	21	20	1	2	0	0	SK12012	gaccagttctccatctccc	gaccagttctccatctccc
2	32	19	3	6	2	1	0	1	SK12A17	gactcagttctccactctcc	...t.....ct....
3	26	17	8	1	0	0	0	0	SK12A27	gacgcagttctccaggcacc	...g.....gg.a..
4	40	21	18	1	0	0	0	0	SK12A11	gacgcagttctccaggcacc	...g.....g.a..
182	97	50	28	3	3	0	1				
97	147	175	178	181	181	182					
Adaptadores de ERU:											
(SKB1230-012)									Tallo	Bucle	Tallo
									5'-cAcATccgTg TTgTt cAcgATgTg ggAgATgAgAcTggtc-3'		Reconocimiento
									[RC] 5'-gaccagttctccatctccc	cAcATccgTg AAcAA cAcgATgTg-3'	
									Reconocimiento	 Tallo	bucle Tallo
											FokI.
(SKB1230-A17)									Tallo	Bucle	Tallo
									5'-cAcATccgTg TTgTt cAcgATgTg ggAgATgAgAcTggtc-3'		Reconocimiento
									[RC] 5'-gactcagttctccactctcc	cAcATccgTg AAcAA cAcgATgTg-3'	
									Reconocimiento	 Tallo	bucle Tallo
											FokI.
(SKB1230-A27)									Tallo	Bucle	Tallo
									5'-cAcATccgTg TTgTt cAcgATgTg ggTgcTgAgAcTggtc-3'		Reconocimiento
									[RC] 5'-gacgcagttctccaggcacc	cAcATccgTg AAcAA cAcgATgTg-3'	
									Reconocimiento	 Tallo	bucle Tallo
											FokI.
(SKB1230-A11)									Tallo	Bucle	Tallo
									5'-cAcATccgTg TTgTt cAcgATgTg ggTgcTgAgAcTggtc-3'		Reconocimiento
									[RC] 5'-gacgcagttctccaggcacc	cAcATccgTg AAcAA cAcgATgTg-3'	
									Reconocimiento	 Tallo	bucle Tallo
											FokI.

Lo que sucede en la hebra superior

```

(S2KB1230-012*)      5'-gac cca gtcctcc a-tc ctc c-3'
                      | Sitio de escisión en sustrato
(S2KB1230-A17*)      5'-gac tca gtcctcc a-ct ctc c-3'
(S2KB1230-A27*)      5'-gac gca gtcctcc a-gg cac c-3'
(S2KB1230-A11*)      5'-gac gca gtcctcc a-gc cac c-3'

(kepxtURE)           5'-ccTctactctTgTcAcAgTgcAcAA gAc ATc cAg-3' | hebra sentido
                      Scab.....Apali
(kepxtUREPCR)        5'-ccTctactctTgTcAcAgTgcAcAgTg-3'
                      Scab.....Apali

(kaBRO1UR)           5'-ggAggATggA ctggATgTct TgTgcAcTgt gAcAgAgTA gAgg-3'
[RC] 5'-ccTctactctTgTcAcAgTgcAcAA gAc ATc cAg tcc a-tc ctc c-3' ON anterior es inversa de esta
(kaBRO2UR)           5'-ggAggATggA ctggATgTct TgTgcAcTgt gAcAgAgTA gAgg-3'
[RC] 5'-ccTctactctTgTcAcAgTgcAcAA gAc ATc cAg tcc a-ct ctc c-3' ON anterior es inversa de esta
(kaBRO3UR)           5'-ggTgcctggA ctggATgTct TgTgcAcTgt gAcAgAgTA gAgg-3'
[RC] 5'-ccTctactctTgTcAcAgTgcAcAA gAc ATc cAg tcc a-gg cac c-3' ON anterior es inversa de esta
(kaBRO4UR)           5'-ggTggctggA ctggATgTct TgTgcAcTgt gAcAgAgTA gAgg-3'
[RC] 5'-ccTctactctTgTcAcAgTgcAcAA gAc ATc cAg tcc a-gc cac c-3' ON anterior es inversa de esta
                      Scab.....Apali
  
```

Tabla 515. Bases de adaptadores de ERU lambda 13.3 a 19.3

Número de secuencias128

Número de emparejamientos erróneos										Nombre	Secuencia	Forma con puntos
Id	Ntot	0	1	2	3	4	5	6	7			
1	58	45	7	1	0	0	0	2	2	1	VL133-2a2	gtctcctggacagtcgagtc gtctcctggacagtcgagtc
2	16	10	1	0	1	0	1	1	0	2	VL133-31	ggccttgggacagacagtc .g.cttg.....a.ag..
3	17	6	0	0	0	4	1	1	5	0	VL133-2c	gtctcctggacagtcagtcag..
4	37	3	0	10	4	4	3	7	4	2	VL133-1c	ggccccaggagagaggttc .g.c..a..g...ag.g..
128	64	8	11	5	8	5	11	11	5			
64	72	83	88	96	101	112	123	128				
Tallo Bucle Reconocimiento 5'-cAcATccgTg TTgTT cAcgATgTg gATcgAcTgTccAggAgAc-3' [RC] 5'-gtctcctggacagtcagtc cAcATccgTg AACAA cAcgATgTg-3' Reconocimiento Tallo bucle Tallo												
Tallo Bucle Reconocimiento 5'-cAcATccgTg TTgTT cAcgATgTg gAcTgTcTgTcccAggAgAc-3' [RC] 5'-ggccttgggacagacagtc cAcATccgTg AACAA cAcgATgTg-3' Reconocimiento Tallo bucle Tallo												
Tallo Bucle Reconocimiento 5'-cAcATccgTg TTgTT cAcgATgTg gAcTgAcTgTccAggAgAc-3' [RC] 5'-gtctcctggacagtcagtc cAcATccgTg AACAA cAcgATgTg-3' Reconocimiento Tallo bucle Tallo												
Tallo Bucle Reconocimiento 5'-cAcATccgTg TTgTT cAcgATgTg gAcTgAcTgTccAggAgAc-3' [RC] 5'-gtctcctggacagtcagtc cAcATccgTg AACAA cAcgATgTg-3' Reconocimiento Tallo bucle Tallo												
Tallo Bucle Reconocimiento 5'-cAcATccgTg TTgTT cAcgATgTg gAcTgAcTgTccAggAgAc-3' [RC] 5'-gtctcctggacagtcagtc cAcATccgTg AACAA cAcgATgTg-3' Reconocimiento Tallo bucle Tallo												

Lo que sucede en la hebra superior

(VL133-2a2*) 5'-g tct cct giga tag tgg atc
 (VL133-31*) 5'-g gcc ttg giga cag aca gtc
 (VL133-2c*) 5'-g tct cct giga cag tca gtc
 (VL133-1a*) 5'-g gcc cca giga cag agg gtc

Los siguientes prolongadores y puentes codifican todas las secuencias de aminoácidos de 2a2 para los codones 1-15

(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

(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 cag at-3' ! 2a2

NB la secuencia real 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 ct-3' ! 3l

NB la secuencia real 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 ct -3' ! 2c

NB la secuencia real 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-
 13 14 15
 tcc ccG g gg cag agg gt-3' ! 1c

NB la secuencia real es el complemento inverso de la mostrada

(ON_Lam133PCR) 5'-ccTcTgAcTgAgT gca cAg AGt gc-3'

Tabla 525 ON usados en la captura de cadenas ligeras kappa usando método CJ y BsmAI

Todos los ON se escriben en 5' a 3'

72°C	1 minuto
72°C	17 minutos
4°C	mantenimiento
Reactivos (reacciones 100 µl)	
Molde	50 ng
Tampón de PCR turbo 10x	1x
turbo Pfu	4 U
dNTP	200 µM cada uno
kaPCRt1	300 nM
kapfor	300 nM

Adaptadores de ER (6)

ON_20SK15012 **gggAggATggAgAcTggTc**
 ON_20SK15L12 **gggAAGATggAgAcTggTc**
 ON_20SK15A17 **gggAgAgTggAgAcTgAgTc**
 ON_20SK15A27 **gggTgcccTggAgAcTgcgTc**
 ON_20SK15A11 **gggTggcTggAgAcTgcgTc**
 ON_20SK15B3 **gggAgTcTggAgAcTggTc**

Puentes (6)

kapbr11012 **gggAggATggAgAcTggTcATcTggATgTcTTgTgcAcTgTgAcAgAgg**
 kapbr11L12 **gggAAGATggAgAcTggTcATcTggATgTcTTgTgcAcTgTgAcAgAgg**
 kapbr11A17 **gggAgAgTggAgAcTggTcATcTggATgTcTTgTgcAcTgTgAcAgAgg**
 kapbr11A27 **gggTgcccTggAgAcTggTcATcTggATgTcTTgTgcAcTgTgAcAgAgg**
 kapbr11A11 **gggTggcTggAgAcTggTcATcTggATgTcTTgTgcAcTgTgAcAgAgg**
 kapbr11B3 **gggAgTcTggAgAcTggTcATcTggATgTcTTgTgcAcTgTgAcAgAgg**

Prolongador (biotinilado 5')

kapextlibio **ccTcTgTcAcAgTgcAcAAGAcATccAgATgAcccAgTcTcc**

Cebadores

kaPCRt1 **ccTcTgTcAcAgTgcAcAAGAc**
kapfor **5'-aca ctc tcc cct gtt gaa gct ctt-3'**

Tabla 530

Programa de PCR para amplificación de ADN kappa

95°C	5 minutos
95°C	15 segundos
65°C	30 segundos

Tabla 610: Relleno usado en VH

```

1  TCCGGAGCTT CAGATCTGTT TGCCTTTTIG TGGGTTGGTG CAGATCCGGT TACGGAGATC
61  GACCGACTGC TTGAGCAAAA GCUACGCTTA ACTGCTGATC AGGCHTGGGA TGTATTCCG
121  CAAACCAATC GTCAGGATCT TACCTGAGG CTTTTTTTAC CTACTCTGCA AGCAGCGACA
181  TCTGGTTTGA CACAGAGCGA TCGGCTCGT CAGTTGGTAG AACATTAAC ACGTTGGGAT
241  GGCATCAATT TGCTTAATGA TGATGGTAA ACCTGGCAGC AGCCAGGCTC TGCCATCCCTG
301  AACGTTGGC TGACCAAGTAT GTTGAAGCT ACCGTAGTGG CTGCCGTACC TATGCCATTT
361  GATAAGTGGT ACAGCGCCAG TGGCTACGAA ACAACCCAGG ACCGCCAAC TGGTTCCCTG
421  AATATAAGTG TTGGAGCAAA AATTTGTAT GAGGCGGTGC AGGAGACAA ATCACCATC
481  CCACAGGCGG TTGATCTGTT TGTGGGAAA CCACAGCAGG AGTTGTGTT GGTGCCCTG
541  GAGATACCT GGGAGACTCT TTCCAACCC TATGGCAATA ATGTAGTAA CTGGAAAACA
601  CCTGCAATGG CCTTAACGTT CCGGSCAAAT AATTCTTTG GTGTACCGCA GCGCCGAGCG
661  GAGGAACGC GTCATCAGGC GGATATCAA AACCGTGGAA CAGAAACGA TATGATTGTT
721  TTCTCACCAG CGACAAGCGA TCGTCTGTG CTTGCCCTGG ATGTGTGCG ACCCGGTCAG
781  AGTGGGTTTA TTGCTCCCGA TGGACAGTT GATAAGCACT ATGAAGATCA GCTGAAAATG
841  TACGAATTT TTGGCCGTAA GTGCTCTGG TTAACGAAGC AGGATGTGA GCGCATTAAG
901  GAGTCCTCTA GA

```

! 6680 bases de pCES5 = pCes4 con rellenos en CDR1-2 y CDR3 13.12.2000

! Ngen = 6680

! ER útiles (cortan MAAnLI menos de 3 veces) 05.06.2000

No cortadoras		Enzimas que cortan de 1 a 3 veces	
Acc661 Gtacc	Acc661 Gtacc	3	7
Baabi GACNNMnrat	Baabi Gtacc	1	12
Baabi Ttacc	Baabi GACNNMnrat	1	1703
Baabi Ttacc	Baabi Gtacc	3	43
Baabi Ttacc	Baabi Gtacc	1	65
Baabi Ttacc	Baabi Gtacc	2	140
Baabi Ttacc	Baabi Gtacc	1	301
Baabi Ttacc	Baabi Gtacc	2	1349
Baabi Ttacc	Baabi Gtacc	3	319
Baabi Ttacc	Baabi Gtacc	3	401
Baabi Ttacc	Baabi Gtacc	3	401
Baabi Ttacc	Baabi Gtacc	1	461
Baabi Ttacc	Baabi Gtacc	1	505

IPVLI CGATCG	3	616	3598	5926
IPSPI GCGGCA	2	763	5946	
ISGLI GGCNNNNnggc	3	864	2771	5552
ISGMI CTGCAG	1	898		
I-- ctcacg	1	4413		
ISAL GATTCNNnn	1	916		
IANDI GACNNNNngtc	1	983		
ISAM1051 GACNNNNngtc	1	983		
ISDRI GACNNNNNNngtc	3	1768	6197	6579
ISAPI gaagagc	1	1998		
ISAPI gaagagc	3	2054	3689	5896
IPVLI CAGctg	3	2233	3943	3991
IPFLMI CCANNNNntgg	1	2235		
IRANDIII Agcctt	1	2321		
ISAPLI Gtgcac	1	2321		
ISAPMI Nnnnnnnngcaggt	1	2328		
I-- ACCTCNNNNn	2	3460		
IPATI CTGCAG	1	2335		
IACCI Gtmgac	2	2341	2611	
IRINCII Gttrac	2	2341	3730	
ISALI Gtgcac	1	2341		
ITLII Ctcgag	1	2347		
IXHOI Ctcgag	1	2347		
ISBSI gtcttc	2	2383	4219	
ISLPI Gctnagc	1	2580		
ISAPI Gctnagc	1	3580		
ISGAI Ctcgaggg	1	2648		
ISGAI Ctcgaggg	2	2649	4302	
ISGAI Ctcgaggg	1	2689		
ISASHII Gctgagc	1	2690		
ISALI GGCNNNNnggac	1	2770		
ISAL GCGggc	2	2776	6349	
ISGMIIV Gcgggc	2	2776	6349	
ISGMI Cerygg	3	2781	3553	5712
ISGMI Cerygg	3	2781	3553	5712
ISGMI Cerygg	1	2781		
ISGMI Cerygg	3	2781	4205	4472
ISGMI Cerygg	1	2795		
ISGMI Cerygg	1	2861		
ISGMI Cerygg	1	2872		
ISGMI Cerygg	1	2956		
ISGMI Cerygg	3	3004	4143	4373
ISGMI Cerygg	1	3215		
ISGMI Cerygg	1	3527		

```

HpaII GTTAc 1 3730
XbaI TctAg 1 3767
|
AflII CttAaG 1 3811
BamI WGaAttc 1 3821
|-"- GAATGcN 1 4695
HaeII CGGwccg 1 3827
HhaI cctAgc 1 4156
HstBII GgtAaAc 1 4182
BamBI cGtCtCnnnn- 2 4188 6625
|-"- Nnnnnnpgcg 1 6673
APaI GcCCcC 1 4209
BsaII GRCcYc 3 4209 4492 6319
Bsp120I GggCCc 1 4209
HspOMI Gggcc 1 4209
BSaRI Mnnnnnnnnctcctc 1 4226
|-"- GAGGAGNnnnnnnnn 1 4937
ECOMI cCtNnnnag 1 4278
PFELI GACnnngtc 1 4308
Pth11I GACnnngtc 1 4308
KsaI Gcgcc 2 4327 5967
BSaXI cCANNnnnnnngg 1 4419
NotI Gggccgc 1 4507
BazI Gggccg 1 4508
BamHI Ggctcc 1 5169
BspDI ArgcAt 1 5476
NdeI cAtatg 1 5672
ECOR1 Gaatcc 1 5886
PstII TtAtaa 1 6118
DraIII CACnnngtg 1 6243
BsaBI VAcgtr 1 6246
|
1 gagaaaggg cCtCtGata ggcctattt tatagggtta tgcctgata ataaggttt
BSaI..(1/2)
61 cttagAGcYc aggtggcatt ttgggggaa atggcgagg aacccctatt tgtttattt
AatII.
121 tctaaataca ttcgaataG TATCCgtca tggagcaata accctgataa atgcctcaat
BcIV..(1 of 2)
181 aatattgaaa gaggaagat
| Base n° 201 a 1061 = gen Apr de pUC119 con algunos sitios de ER retirados
|
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
EM S I Q H Y R V A L I P F A

```

201 atg agt att eaa cat ttc cgt gcc gcc att att eaa ttt ttt ggg
16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30
A F C L P V F A H F E T L V K
246 gca ttt tgc ctt cct gtt ttt gct cac eca gaa acg ctg ggg aaa
31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45
V K D A E B Q L G A R V G Y I
291 gta aaa gat gct gaa gat cag ttg ggt gcc cga gtc ggt tac atc
46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60
E L D L N S C K I L E S F R P
336 gaa ctg gat etc aac agc ggt agt atc att 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 N S T F K V L L C
381 gaa gaa cgt ttc eca atg atg agt agt act ttt aas gtc 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 ggc gta tta ttc cgt att gag gcc gcc ggg cas gag cha etc ggt
91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105
R R I H Y S Q M D L V E Y S P
471 CGC CGC ata cac tat tct cag aac gag tgg gtt gag tac tca eaa
106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120
V T E K H L T D G H T V R R L
516 gtc aca gaa aag cat ctt acg gat gcc atg aca gta 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 G
561 tgc agt gct gcc ata acc atg agt gat aac act ggc gcc aac tta
136 137 138 139 140 141 142 143 144 145 146 147 148 149 150
L L T T I G E K E L T A K L
606 ctt ctg aca aCG ATC Gga aga cch aag gag ata aac gct ttt ttg
151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165
H K M G D R V T R L D R W S P

651 cac aac atg ggg gat cat gta att cgc ctt gat cgt tgg gaa ccc
166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180
E L N E A I P R D E R D T T M
696 gag ctg aat gaa gcc ata caa aac gac gag cgt gac acc aag atg
191 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195
P V A A M A T T L R N L L T G E
741 cct gta GCA ATG gca aca acg tgg TGC Aaa cta tta act ggc gaa
BsrDI... (1/2) EspI... (1/2)
196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210
L L T L A A S R Q Q L I D W M E
796 cta ctt act cta gct tcc cgg caa caa tta ata gac tgg atg gag
211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225
A E K V A G P L L R S A L P A
831 gcg gat aaa gtt gca gga cca ctt ctc cgc tgg gcc ctt ccc gct
226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239 240
G W P I A D K S G A G E R G S
876 ggc tgg ctt att gct gat aaa tct GGA gcc ggt gag cgt ggc TCT
BsrI... (1/2) BspI...
241 242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253 254 255
R G I L A A L G P D G R P S R
921 Cgc tgt atc ATT GCA gca ctg ggg cca gat ggt aag ccc tcc cgt
BsrI... (2/2) BsrDI... (2/2)
256 257 258 259 260 261 262 263 264 265 266 267 268 269 270
I V V I I Y T T G S Q A T M D R
966 atc gta gtt atc tac acc Acg ygg act 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 R N
1011 cga aat aga cag atc gct gag ata ggt gcc tca cty att aag cat
296 287
W
1056 tgg taa
1062
1091 catatatatt ttagattggt ttaaaatttc atttttaatt taaaaggatc taggtgaaga
ctgcagac caagtttact

```

1141 tcccttttga taatcccatg accaaatcc cttaacgtga gttctgttc cactgagcgt
1201 cagaccctgc agaaagatc aaagatctct ctgagatcc tttttttg caggtatctt
1261 gctgtttga aaaaaaaa caaccctac cagcgttgt ttttttgc gatcaagcgc
1321 tacaacac ttctcgaag gtaacggtt tcaagagac gcatataca aatactgac
1381 ttctagtga gcgtatga cgcaccact tcaagaacc tctagcacc cctacatacc
1441 tgcctctgct atcctctta ccagtggtg ctgcagctg cgtacagtg tctctaccg
1501 ggttgactc aagacgatag ttaccggata aggcagagc gtcgggtga ccgggggtt
1561 cgtgcataca gccacgcttg gaggaaaga cctacacca actgaatac ctccagcgtg
1621 agcattgaga aagcgcacg ctctccgaag ggaagaagc ggaagagat ccggttaagc
      BclVI.. (2 de 2)
1681 gcgggttcgg aacaggagag cgcacgaggg agttccagg gggaagccc tggtaicctt
      BssII.. (2/2)
1741 atagctctgt cgggttccgc cactctgac ttgagcgttg atttttga tgcctgcag
1801 gggggcggag cctatgaaa aacgcagaca agcggtctt ttacggttc ctggcctttt
1861 gctggccttt tctcncatg ttcttctcg cgttatccc tgaattctg cctaacctga
      PciI...
1921 ttaccgcctt tgaatgact gatacgcctc gcgcagcgg aacgaacgag cgcagggagt
1981 cagtgaagga gaaagcgaa GAGGcccaa taccgaacc gactctccc gcgcgttggc
      SspI...
2041 cgattcatta atgcagcttg caagcagagt ttccgactg gaagcgggc agtgagcgca
      PvuII.. (1/3)
2101 acccaattaa tctgagttag ctacatcatt aggcaccaca gctttacac ttatgcttc
      ...-15...
2161 cggctcgtat gttgtgtgga attgtgagtg gatacaatt tctacacga AACACCTATG
      M13Rev_seq_primer
2221 accatgatta cgcacagcct tggagccttc ttattgaga ttttcaac
      PflMI.....
      Hind3.
1  serial: enhazador: Cifera
1
1
1
1
1 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
1 fN K K L L F A I P L V V P F Y
1 gtg aaa aaa tta tta ttc gca att cct tta gtt gtt cct ttc tat
1
1
1 Enhazador ..... Final de PRA
1 15 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30
1 S H S A Q V Q L Q V D L E I K
1 tct cac agt gca Cag gtc caa ctg cag gtc tac CTC GAG atc aaa
1
1 Apali..... PstI... XhoI...
1 BspHI...
1 SalI...
1 AccI... (1/2)
1 HincII (1/2)

```

```

1  Los dominios V (ligeros podrían clonarse como fragmentos ApaLI-XhoI.
2  Los segmentos VL-CL (Kappa) pueden clonarse como fragmentos ApaLI-AccI.
3
4  -----
5  Ckappa
6  31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45
7  R G T V A A P S V F I F P P S
8  2359  cgt gga act gta gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccc cca tct
9  BsaI... (1/2)
10
11  46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60
12  D E Q L K S G T A S V V C L L
13  2404  gat gag cag ttg aaa tct gga act ggc tct gtt ggt tgc ctg ctg
14
15  61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75
16  N N F Y P R E A K V Q W K V D
17  2449  sat aac ttc tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat
18
19  76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90
20  N A L Q S C N S Q E S V T E Q
21  2494  aac gcc ctg caa tgg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag
22
23  91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105
24  D S K D S T Y S L S S T L T L
25  2539  gac agc aag gac agc acc tac agc ctc agc agc acc ctg acc ctg
26  EspI...
27
28  106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120
29  S K A D V E K H K V Y A C E V
30  2584  AGC aaa gca gac tac gag aaa cac aaa CTC TAC gcc tgc gaa gtc
31  ...EspI...
32  121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133 134 135
33  T H Q E L S S P V T K S F N R
34  2629  acc cat cag ggc ctg agt tca CCG GTg aca aag agc ttc aac agg
35  AgeI... (1/2)
36
37  136 137 138 139 140
38  G E C ,
39  2674  gga gag tgt taa taa GS CGCCGCCatt
40  AcetI...
41  BstHI.
42

```

```

2701      ctatttcaag gagacagctca ta
Gen de fusión de PeIB:: 3-23 (relleno):: CH1:III
1  2  3  4  5  6  7  8  9 10 11 12 13 14 15
M  K  Y  L  L  P  T  A  A  G  L  L  L  L  L
2723  atg aaa tacccta ttg cct acg gca gcc ggt gga tta tta ctc ctc
-----
16 17 18 19 20 21 22
A  A  Q  P  A  M  A
2768  gcc gcc cag ccg gcc atg gcc
Sfil.....
      NGONTV..(1/2)
      NcoI....

FR1(DR47/V3-23)-----
23 24 25 26 27 28 29 30
E  V  Q  L  L  E  S  G
gaa|att|caa|ttc|tta|gag|tct|tgt|
| MFeI |

2789
-----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  P  L  S  C  A
tggc|ggc|ctt|gtt|cag|cct|ggc|tgt|tct|tta|cgt|ctt|tct|tgt|tgt|
-----FR1-----
46 47 48
A  S  G
tct|tcc|cga|
| bspE |

2858
Relleno para CDR1, FR2 y CDR2----->
No hay codones de parada en este relleno
----->
2867      gcttcagatc tgtttgcctt
      gclli..
2887      ttctggggt ggtgcagatc gcgttacaga gatcacaga ctgcttgagc aaagccacg
2947      cttaactgct GATCAGgcat gggatgtttat tggcacaacc agtcgtcagg atattaaact
      gcll...
3007      gaggttttt ttactactc tgcacagacc gacatcttgt ttgacacaga gcgctctgug
3067      tctgcagttg gtegaacat taacagttg agatgggata aatttgctta atgatgatg

```

```

3127 taaaaccttg cagcaccag gctctgccc cctgaacatt tagctaccca gcatgttga
3187 ggtaccgta gtggctgcg taactatgc attgatag tccatagcg ccagtgcta
      XcmI.....
3247 cgaacaacc caggacggc caactgttc gctgaata agtgttggag caaaatttt
3307 gtagagccg gtgcagggg acaattacc ataccacag gctgttgcac tgttgcctg
3367 gaaccacag caggaggttg tgttggtgc gctgggaagt acctggaga ctctttccaa
3427 acgtatgac aataatgtg gtcaatgga aacacttga atggcortaa cyttccgggc
3487 aataatttc ttgggtgtac tgcagggcc aggggaaga acgggttacc aggcggagta
      MluI..
3547 taaaacccg tgaacagaa acgatatgat tttttctca ccaacgaca ggcacgtcc
3607 tttgttgc tgggatgtg tgcaccccg ttagagtgg ttatgttc ccgatggaac
3667 agttgataa cactatgaag atcagctga aatgtacaa aatttggcc gtaagtccg
      PvuII.
3727 atgcttacc aagcaggatg tggaggcgca taaggatcc
      HpaI..
      HindII(2/2)
-----PR3-----
      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 M S K N T L Y L Q M
      tcttaca|gac|aac|tcc|aag|aat|act|ctc|tact|tgc|agt|atg|
      | XbaI |
-----PR3-----
      17 18 19 20
      106 107 108 109
      N S L S I S I R S S
      laclagc|ttt|aac t ctg agc att cgg tcc g
      | RflI |
      q h s p t
      gg caa caa tct cca aac tga ccagaga cacaacaggc
      ttacgtaaa tcccgccat gggatggtaa agaggtggcg tctttgttg cctggactra
      ttagatgaag gccaaaatt ggcaggagtg gacacagag gcagcgaac aggcactgac
      catcaactgg tctatgtcg atgaaacgg caatatgtt tatgttata ctggtgtta
      tcaaatcgt caatcaggcc atgaccccg attaccggt cctgtaccg gaaatggga
      ctggaaagg ctattgcct tgaatgaa ccttaggtg tatacccc ag
      aa cctacc ctgcggcttc
      MhoI..
      4182 gctcttacc
      | BstEII |
      gtc tca agc

```

```

136 137 138 139 140 141 142 143 144 145 146 147 148 149 150
A S T K G P S V P P L A P S S
gcc tcc acc aag ggc cca tgg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc
4198
151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165
E S T S G G T A A L E C L V K
aag agc acc tct ggg ggc aca ggg ggc ctg ggc tgc ctg gtc aag
4243
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
gac tac ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tgg tgg aac tca ggc gcc
4288
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
ctg acc agc ggc gtc cac acc ttc ccc gct gtc ata cag tcc tca
4333
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
gga ctc tac tcc ctc agc agc gta gta acc gtg ccc tcc agc agc
4378
211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225
L E T Q T Y I C H V N H K P S
ttg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc
4423
226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238
N T K V D K K V R P K S C
aac acc aag ttg gac aac AAA GGT GAG CCC AAA TCT TCT
4468
ON-TORFORW.....
Poly HIs linker
139 140 141 142 143 144 145 146 147 148 149 150
A A A H H H H H H H G A A
GCC GCC GCA cat cat cat cat cat cat cat cat cat cat
4507
Notl.....
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
gaa caa aaa ctc atc tca gaa gag gat ctg aat ggg gcc gaa tag
4543
Maduro III
156 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180

```

4588 T V E S C L A K P R T E N S F
 act gtc gaa agt tgt tta gca aaa cct cat act aca gaa act tca ttt
 181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195
 T N V W K D R T L D R Y A N
 act aac gtc tgg aaa gac gac aaa act tta ggt cgt tac gct aag
 4593 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 Y C T
 tat gag ggc tgt ctg tgg AAT OCT eca ggc gtt gtt gtt act
 BamI...
 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
 ggt gac gaa act cag tgt tac ggt aca tgg gtt cct att ggg ctt
 4723 226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239 240
 A I P E N E G G S E G G S
 gct atc cct gaa aac gag ggt ggt ggc tct gag ggt ggc ggt tct
 4758 241 242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253 254 255
 E G G G S E G G T K P E Y
 gag ggt ggc ggt tct gag ggt ggc act aaa cct cct gag tac
 4813 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 T N P L D
 ggc gat aca cct att cag ggc tat act tat atc aac cct ctc gac
 4858 271 272 273 274 275 276 277 278 279 280 281 282 283 284 285
 G T Y P P Q T E Q N P A N P R
 ggc act tat cag cct ggt act gag caa aac ccc gct aat cct aat
 4903 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 P M P Q
 cct tct ctt GAG GAG tct cag cct ctt aat act ttc atg ttt cag
 BseNI... (2/2)
 301 302 303 304 305 306 307 308 309 310 311 312 313 314 315
 N N R F R R Q G A L T V Y Y
 aat aat agg ttc cga aat agg cag ggt gca tta act gtt tat aag
 4993 316 317 318 319 320 321 322 323 324 325 326 327 328 329 330
 G T V T Q G T D F V R T Y Y Q

```

5038   ggc act gtt act caa ggc act gac ccc gtc aaa act tat tac cag
      321 332 333 334 335 336 337 338 339 340 341 342 343 344 345
      Y T P V S S K A M Y D A Y W N
5063   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 P R D C A F H S G F H E D
5128   ggt aaa ttc aga gac tgc gct ttc cat tct ggc ttc aat gag gat
      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
      CCA ttc gtt tgt gaa tat caa ggc caa tgg tct gac ctg cct caa
      BamHI... (2/2)
      BamHI...
      376 377 378 379 380 381 382 383 384 385 386 387 388 389 390
      R P V N A G G G S G S G S G S
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 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 R K G A M T
5353   ttt gat 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 ggc 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 gat tct gtc gct act gat tac ggt ggt gct atc gat ggt ttc
      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
      BamHI...

```

```

5480 att ggt gac gtt tcc ggc ctt ggt aat ggt aat ggt ggt aat 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 Y G D G
5533 gat ttt ggt ggc tct aat tcc cca atg gct cca 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 P R Q Y I P S
5576 gat aat tca cct tta atg aat aat ttc cgt cca tat tta cct tct
511 512 513 514 515 516 517 518 519 520 521 522 523 524 525
L P Q S Y E C X P Y V P G A G
5623 ttg cct cag tgg gtt gaa tgt cgc cct tat gtc ttc ggc gct ggt
526 527 528 529 530 531 532 533 534 535 536 537 538 539 540
K P Y E P S I D C D K I M L F
5668 aac cca tat cca ttt tct att gat tgt gac aac ata aac tta ttc
NdeI...
541 542 543 544 545 546 547 548 549 550 551 552 553 554 555
R G Y F A F L I Y V A T F M Y
5713 cgt ggt ggc ttc gcg ttt ctt tta tat gtt ggc acc ttt atg tac
556 557 558 559 560 561 562 563 564 565 566 567 568 569 570
Y F S Y F A M I L P M K E S
5758 gta ttt tgg acg ttt gct aac ata cgg cgt aat aag gag tct taa
571
5803 taa GATTC
EcoRI.
5812 actggcgtt cgtttacaa cgtcgtgact gggaaaccc tggcgttaac caacttaac
5871 gcttgacgc acatccctt ttgcacgct ggcgtatag cgaagagcc cgcacCGATC
PvuII.
5931 ccccttcca acggttccc Agcctgaatg gcgaatccc cctgatggg tatctctcc
PvuII... (3/3) PstI... (2/2)
5991 ttacgtatct gtgcgttat tcacacgca tatcaatgtt aacgttaat atttgttaa
6051 aattgcgtt aaattttgt taatcagct catttttaa ccaataggcc gaatcggca
6111 aattccctta TAatcaaaa gaatagccc agatagggt gattgtgtt ccagtctga
PstI...
6171 acaagagctt acatttaag aacgttgact ccaactcaa agggcgaaaa accgtctatc
6231 agggcgatgg ccaactaac Gaactaac ccaaatcaag tttttggg togaggtgac
DraIII...

```

```

6291 qaaagaaat aaatcggaa cotaagggga gcccacgat tagagcttga cggggaagc
      NGxIV.
6351 CGCgaacgt gacgaataag gaagggaaga aagcazadz agcgggagct agggacgtg
      NGxIV. 12/2)
6411 caagtgtagc gttcagctg cggctaacca caaacccgc cgggttaat ggcacacac
6471 agggggagta ctatgattg tttagcaggt cagatctag taacatctg tggatggcg
6531 atagattag cagccccga caccgacaa caatcgatga cggacatga cgggttgic
6591 tggccccgc accgattac agacaagtg tgaacgtct cgggaatga atgtgtcaga
6651 ggtttcac gcatcacg aaacgucga

```

Tabla 630: Oligonucleótidos usados para clonar diversidad de 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_Bcl2, 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_CD2Kba, 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_BotKba, 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

Final de tablas