

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 897 202**

51 Int. Cl.:

C12N 15/10 (2006.01)

C07K 14/725 (2006.01)

C07K 14/705 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.07.2018** **PCT/EP2018/069333**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.01.2019** **WO19016175**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.07.2018** **E 18743749 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.08.2021** **EP 3655532**

54 Título: **Sistema de genoteca de vectores bicomponente para el ensamblado y diversificación rápida de marcos de lectura abiertos del receptor de linfocitos T de longitud completa**

30 Prioridad:

18.07.2017 EP 17181798

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
28.02.2022

73 Titular/es:

GENOVIE AB (100.0%)
Forskargatan 20 C
151 36 Södertälje, SE

72 Inventor/es:

JARVIS, REAGAN MICHEAL;
HILL, RYAN EDWARD y
PASE, LUKE BENJAMIN

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

ES 2 897 202 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

Sistema de genoteca de vectores bicomponente para el ensamblado y diversificación rápida de marcos de lectura abiertos del receptor de linfocitos T de longitud completa

Campo de la invención

El receptor heterodimérico de linfocitos T (TCR) es fundamental para la inmunidad adaptativa. Se generan TCR únicos continuamente durante la génesis de linfocitos T, donde un conjunto de segmentos génicos se recombinan en un único marco de lectura abierto (ORF) contiguo del TCR. Debido al alto grado de diversidad generada en este proceso de recombinación, es difícil capturar datos de secuencia de pares de TCR que se expresan en células individuales. Además, esta diversidad también supone un desafío para proporcionar estos marcos de lectura abiertos (ORF) del TCR dentro de construcciones genéticas de alto rendimiento para ensayos y manipulación de la función del TCR. La presente invención, en su primer aspecto, proporciona un sistema de genoteca de vectores bicomponente preensamblados que consiste en vectores de *entrada variable-constante* (entrada V-C) y vectores *donantes de unión* (donante J) que comprenden partes de segmentos génicos del TCR. El sistema bicomponente se diseña de modo que cuando un vector de entrada V-C seleccionado de la genoteca de vectores de entrada V-C se combina con un vector donante J seleccionado de la genoteca de vectores donantes J, junto con un *dúplex de oligonucleótidos de ADN sintético que codifica la región determinante de la complementariedad del TCR 3* (odeCDR3) en una reacción de ciclo de digestión con enzima de restricción/ligasa, se crea un único vector que reconstituye el ORF del TCR de longitud completa. Dicho sistema de genoteca de vectores permite métodos independientes de la PCR para la generación rápida y económica de los ORF del TCR en contextos de vectores seleccionados. Además, este sistema permite nuevos flujos de trabajo para generar secuencias sintéticas del TCR para los flujos de trabajo de maduración por afinidad y/o funcional. Este sistema de ingeniería y reconstitución del ORF del TCR (TORES) es por lo tanto una herramienta poderosa para el análisis funcional y la ingeniería del TCR. En el segundo aspecto, se proporciona un TORES con vectores de entrada V-C modificados junto con un tercer componente que es un vector donante terminador bidireccional (donante BiT) para permitir una segunda etapa para unir dos pares de cadenas de ORF del TCR, en un sentido de codificación antiparalelo, en un solo vector producto. Este sistema TORES² bidireccional permite flujos de trabajo alternativos para administrar construcciones de ORF del TCR emparejadas para la manipulación y caracterización del TCR.

Antecedentes de la invención

La vigilancia inmunitaria por linfocitos T (células T) es una función básica de la inmunidad adaptativa de todos los vertebrados provistos de mandíbulas. La vigilancia inmunitaria de los linfocitos T se logra a través de una rica diversidad funcional entre los subtipos de linfocitos T, que sirve para eliminar células neoplásicas e infectadas por patógenos, y coordinan respuestas inmunitarias adaptativas a patógenos invasores, microorganismos comensales, factores no propios comensales tales como componentes moleculares de alimentos e incluso mantener la autotolerancia inmunitaria. Para responder a diversos factores extraños y factores propios, los linfocitos T deben poder detectar específicamente constituyentes moleculares de estos factores extraños y factores propios. Por lo tanto, los linfocitos T deben poder detectar una parte importante de moléculas propias y extrañas con la que una persona se encuentre, con especificidad suficiente para desencadenar respuestas eficientes contra organismos patógenos y células propias enfermas, al tiempo que se evita desencadenar dichas respuestas contra células propias sanas. La naturaleza altamente compleja de esta tarea resulta evidente cuando se considera la diversidad prácticamente ilimitada de moléculas tanto extrañas como propias, y considerando que dichos organismos patógenos están bajo presión evolutiva para evadir la detección por parte de los linfocitos T.

Receptor de linfocitos T (TCR)

Los linfocitos T se definen principalmente por la expresión de un receptor de linfocitos T (TCR). El TCR es el componente del linfocito T que es responsable de interactuar con, y detectar, las dianas de la inmunidad adaptativa de los linfocitos T. En términos generales, el TCR se compone de un complejo proteico heterodimérico presentado en la superficie celular. Cada una de las dos cadenas del TCR se compone de dos dominios extracelulares, que son la región variable (V) y la región constante (C), perteneciendo ambas al dominio de la superfamilia de las inmunoglobulinas (IgSF), y formando láminas β antiparalelas. Estos están fijados a la membrana celular mediante un dominio transmembrana Tipo I, que incorpora una cola citoplásmica corta. La cualidad de los linfocitos T para adaptarse y detectar diversos constituyentes moleculares surge de la variación en las cadenas de TCR que se genera durante la génesis de los linfocitos T. Esta variación se genera por recombinación somática de forma similar a la génesis de anticuerpos en los linfocitos B.

Diversidad de cadenas del TCR

El grupo de linfocitos T consiste en varias subpoblaciones funcional y fenotípicamente heterogéneas. Sin embargo, los linfocitos T pueden clasificarse a grandes rasgos como $\alpha\beta$ o $\gamma\delta$ según la forma del TCR reordenado somáticamente que expresan en su superficie. Existen dos formas de pares de cadenas del TCR; pares TCR alfa (TRA) y TCR beta (TRB);

y pares TRC gamma (TRG) y TCR delta (TRD). Las linfocitos T que expresan pares TRA:TRB se denominan linfocitos T $\alpha\beta$, mientras que los linfocitos T que expresan pares TRG:TRD se denominan frecuentemente linfocitos T $\gamma\delta$.

Los TCR de ambas formas $\alpha\beta$ y $\gamma\delta$ son responsables del reconocimiento de diversos ligandos, o 'antígenos', y cada linfocito T genera cadenas del receptor $\alpha\beta$ o $\gamma\delta$ de novo durante la maduración de los linfocitos T. Estos pares de cadenas de novo del TCR logran diversidad de reconocimiento a través de la generación de diversidad de secuencias del receptor en un proceso denominado recombinación somática V(D)J por el cual cada linfocito T expresa copias de un único TCR reordenado de forma distinta. En los loci de TRA y TRG, hay disponibles varios segmentos génicos variables (V) y funcionales (J) distintos para su recombinación y yuxtapuestos a segmentos génicos constantes (C), que por tanto se denomina recombinación VJ. La recombinación en los loci de TRB y TRD incluye de forma adicional un segmento génico de diversidad (D), y esto se denomina recombinación VDJ.

Cada TCR recombinado tiene potencial de especificidad para un único ligando, determinada por la estructura del sitio de unión al ligando formado por las cadenas α y β en el caso de los linfocitos T $\alpha\beta$ o por las cadenas γ y δ en el caso de los linfocitos T $\gamma\delta$. La diversidad estructural de los TCR está limitada principalmente a tres bucles en horquilla cortos en cada cadena, denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR). Tres CDR proceden de cada cadena del par de cadenas del receptor y, colectivamente, estos seis bucles CDR se asientan en el extremo distal a la membrana del dominio extracelular del TCR para formar el sitio de unión al antígeno.

La diversidad de secuencias de cada cadena del TCR se obtiene de dos formas. Primero, la selección aleatoria de segmentos génicos para recombinación proporciona diversidad inicial de secuencias. Por ejemplo, la recombinación de TRB se produce entre 47 segmentos génicos V únicos, 2 segmentos génicos D únicos y 13 segmentos génicos J únicos de la línea germinal. De forma general, el segmento génico V contribuye a los bucles CDR1 y CDR2 y, por lo tanto, están codificados por la línea germinal. El segundo modo para generar diversidad de secuencia se produce en los bucles CDR3 hipervariables, que se generan por delección aleatoria de nucleótidos de patrón y adición de nucleótidos no del patrón en las uniones entre los segmentos génicos V, (D) y J recombinantes.

Complejo TCR:CD3

Los pares de cadenas $\alpha\beta$ y $\gamma\delta$ maduras del TCR se presentan en la superficie celular en un complejo con varias subunidades de CD3 auxiliares, denominadas ϵ , γ , δ y ζ . Estas subunidades se asocian con los TCR $\alpha\beta$ o $\gamma\delta$ en forma de tres dímeros ($\epsilon\gamma$, $\epsilon\delta$, ζ). Este complejo TCR:CD3 forma la unidad para iniciar las respuestas de señalización celular después de la unión de un TCR $\alpha\beta$ o $\gamma\delta$ con el antígeno afín. Los CD3 auxiliares asociados como complejo TCR:CD3 aportan motivos de señalización denominados motivos de activación del inmunorreceptor basados en tirosina (ITAM). Cada CD3 ϵ , CD3 γ y CD3 δ contribuye con una única ITAM mientras que el homodímero CD3 ζ contiene 3 ITAM. Los tres dímeros de CD3 ($\epsilon\gamma$, $\epsilon\delta$, ζ) que se ensamblan con el TCR contribuyen, por lo tanto, con 10 ITAM. Tras la unión del TCR con su antígeno afín, la fosforilación de los restos de tirosina en tándem crea sitios de acoplamiento emparejados para proteínas que contienen dominios de homología Src 2 (SH2), tales como la esencial proteína asociada a la cadena ζ de 70 kDa (ZAP-70). El reclutamiento de tales proteínas inicia la formación de complejos de señalización TCR:CD3 que en última instancia son responsables de la activación y diferenciación de los linfocitos T.

Linfocitos T $\alpha\beta$

Los linfocitos T $\alpha\beta$ son generalmente más abundantes en los seres humanos que sus contrapartes los linfocitos T $\gamma\delta$. La mayoría de los linfocitos T $\alpha\beta$ interactúan con antígenos peptídicos presentados por complejos de HLA en la superficie celular. Estos linfocitos T que reconocen el péptido-HLA (pHLA) fueron los primeros en ser descritos y, con diferencia son los mejor caracterizados. También se han descrito formas menos frecuentes de linfocitos T $\alpha\beta$. Al parecer, los linfocitos T invariantes asociadas a la mucosa (MAIT) parecen tener una diversidad de cadena α y β relativamente limitada, y reconocen metabolitos bacterianos en vez de fragmentos de proteína. Los linfocitos T natural killer invariantes (linfocitos T iNK) y los linfocitos T reactivos a micobacterias codificados por la línea germinal (linfocitos T GEM) se limitan al reconocimiento de glicolípidos presentados de forma cruzada por moléculas no HLA. Se considera que los linfocitos T iNK interactúan en gran medida con glicolípidos presentados por CD1d mientras que los linfocitos T GEM interactúan con glicolípidos presentados por CD1b. Se cree que otras formas de linfocitos T interactúan con glicolípidos en el contexto de CD1a y CD1c; sin embargo, dichas células aún deben caracterizarse con un detalle significativo.

Linfocitos T $\alpha\beta$ convencionales

La característica clave de la mayoría de los linfocitos T $\alpha\beta$ es el reconocimiento de antígenos peptídicos en el contexto de moléculas HLA. Se denominan frecuentemente linfocitos T $\alpha\beta$ 'convencionales'. En un individuo, las moléculas de propias de HLA presentan péptidos de proteínas propias y extrañas a los linfocitos T, proporcionando la base esencial de la inmunidad adaptativa contra neoplasias y patógenos extraños, tolerancia adaptativa hacia organismos comensales, alimentos y el propio organismo. El locus del HLA que codifica para las proteínas HLA es la región más polimórfica y densa en genes del genoma humano, y se han descrito más de

12.000 alelos en humanos. El elevado grado de polimorfismo en el locus del HLA asegura una diversidad de presentación de antígenos peptídicos entre individuos, que es importante para la inmunidad a nivel de población.

HLA de clase I y II

Existen dos formas de complejos clásicos de HLA: HLA de clase I (HLAI) y HLA de clase II (HLAII). Existen tres genes de HLA clásicos: *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C*. Estos genes codifican para una cadena α que atraviesa la membrana, que se asocia con una cadena invariante de β 2-microglobulina (β 2M). La cadena α de HLAI se compone de tres dominios con un pliegue de inmunoglobulina: α 1, α 2 y α 3. El dominio α 3 es proximal a la membrana y en gran medida invariante, mientras que los dominios α 1 y α 2 forman juntos la hendidura de unión al antígeno distal a la membrana polimórfica. Existen seis genes de HLAII clásicos: *HLA-DPA1*, *HLA-DPB1*, *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1*, *HLA-DRA*, y *HLA-DRB1*. Estos genes codifican complejos DP, DQ y DR heterodiméricos de HLA que comprenden una cadena α y una cadena β . Cada cadena tiene dos dominios estructurales principales con un pliegue de inmunoglobulina, donde el dominio α 2 y β 2 comprende módulos proximales a la membrana y en gran medida invariantes similares a los del dominio α 3 de HLAI. Los dominios α 2 y β 2 de HLAII forman juntos la hendidura de unión al antígeno distal a la membrana y son regiones de elevado polimorfismo.

La hendidura de unión al antígeno de HLAI y HLAII comprende dos hélices α antiparalelas sobre una plataforma de ocho láminas β antiparalelas. En esta hendidura, el antígeno peptídico se une y presenta en una conformación extendida. Los restos de contacto con péptidos en HLAI y HLAII son el lugar de la mayor parte del polimorfismo de secuencias, que constituye la base molecular de los diversos repertorios de péptidos presentados por distintos alelos de HLA. El péptido tiene un amplio contacto con la hendidura de unión al antígeno y, como resultado, cada alelo de HLA impone restricciones y preferencias de secuencia distintas sobre los péptidos presentados. Por lo tanto, un péptido dado se unirá únicamente a un número limitado de HLA y, a la inversa, cada alelo admite únicamente una fracción particular de la colección de péptidos de una proteína determinada. El conjunto de alelos de HLAI y HLAII que está presente en cada individuo se denomina haplotipo de HLA. El polimorfismo de los genes de HLAI y HLAII y la expresión codominante de alelos heredados dan lugar a una diversidad muy grande de haplotipos de HLA en la población humana, que cuando se une a la enorme diversidad de secuencias de los TCR $\alpha\beta$, supone un importante problema para la estandarización del análisis de estas interacciones HLA-antígeno-TCR.

Acoplamiento del TCR $\alpha\beta$ de HLAI y HLAII

Los TCR $\alpha\beta$ reconocen péptidos como parte de una interfase de unión a pHLA mixta formada por restos tanto del HLA como del antígeno peptídico (autoalterado). Los complejos de HLAI se presentan en la superficie de casi todas las células nucleadas y generalmente se considera que presentan péptidos derivados de proteínas endógenas. Por lo tanto, los linfocitos T pueden interrogar el proteoma celular endógeno de una célula presentadora de HLAI mediante el muestreo de los complejos de pHLAI de una célula interactuante. El acoplamiento de HLAI requiere la expresión del correceptor CD8 del TCR por el linfocito T interactuante; por lo tanto, el muestreo de HLAI está limitado a los linfocitos T CD8⁺ $\alpha\beta$. Por el contrario, la presentación superficial de los complejos HLAII está restringida en gran medida al APC profesional y de forma general se considera que presentan péptidos derivados de proteínas exógenas a la célula presentadora. Por lo tanto, un linfocito T interactuante puede interrogar al proteoma del microambiente extracelular en el que reside la célula presentadora.

El acoplamiento de HLAII requiere la expresión del correceptor CD4 del TCR por el linfocito T interactuante; por lo tanto, el muestreo de HLAII está restringido a los linfocitos T CD4⁺ $\alpha\beta$.

Selección tímica de los TCR $\alpha\beta$

La función de los TCR $\alpha\beta$, como se ha descrito anteriormente, es la detección de complejos de pHLA, de forma que el linfocito T presentador de TCR pueda suscitar respuestas relacionadas con la función de dicho linfocito T para establecer inmunidad. Debe tenerse en cuenta que el repertorio de TCR $\alpha\beta$ generado dentro de un individuo debe dar cuenta de la inmensa e imprevista diversidad de todos los antígenos extraños que probablemente se encuentren en el contexto de un haplotipo específico y antes de su aparición real. Este resultado se logra en un entorno donde se generan numerosos TCR $\alpha\beta$ extremadamente diversos de una forma casi aleatoria con el potencial de reconocer complejos de pHLA no especificados al tiempo que solo se instruyen específicamente para evitar interacciones fuertes con los pHLA propios. Esto se coordina cuidadosamente durante la maduración de los linfocitos T en un proceso denominado selección tímica de los linfocitos.

Durante la primera etapa de maduración de linfocitos T en el timo, los linfocitos T que portan TCR $\alpha\beta$ que no pueden interactuar con complejos auto-pHLA con suficiente afinidad, son despojados de una señal de supervivencia y se eliminan. Esta etapa, denominada selección positiva, asegura que los linfocitos T supervivientes porten un repertorio de TCR que sea al menos potencialmente capaz de reconocer péptidos extraños o alterados presentados en el contexto correcto de HLA. Posteriormente, los TCR $\alpha\beta$ que interactúan fuertemente con pHLA propios y, por lo tanto, tienen el potencial de activar la autoinmunidad se eliminan activamente a través de un proceso de selección negativa. Esta combinación de selección positiva y negativa da lugar a que solo sean los linfocitos T los que solamente llevan TCR $\alpha\beta$ con baja afinidad por el pHLA propio que puebla la periferia. Esto establece un repertorio de linfocitos T $\alpha\beta$ que está autorrestringido pero

que no es autorreactivo. Esta naturaleza altamente individualizada de la génesis de linfocitos T frente al haplotipo de HLA subraya las dificultades existentes en el análisis normalizado de las interacciones TCR $\alpha\beta$ -HLA. Además, forma la base tanto del rechazo de injertos como de la enfermedad de injerto contra hospedador, y del principio general de que los TCR $\alpha\beta$ identificados en un individuo pueden tener un efecto completamente diferente en un segundo individuo, lo que tiene claras implicaciones para estrategias terapéuticas y de diagnóstico basadas en TCR y basadas en linfocitos T que surgen en la práctica clínica.

Linfocitos T $\alpha\beta$ no convencionales

Las formas no restringidas por HLA, o 'no convencionales', de linfocitos T $\alpha\beta$ tienen dianas de antígeno molecular muy diferentes. Estos linfocitos T $\alpha\beta$ no convencionales no se acoplan a los complejos de HLA clásicos, sino que se acoplan a proteínas similares a HLA conservadas tales como la familia CD1 o MR1. La familia CD1 comprende cuatro formas implicadas en la presentación de antígenos cruzada (CD1a,b,c y d). Estos complejos de superficie celular tienen una cadena α parecida a HLA, que forma heterodímeros con β 2-M. Un pequeño bolsillo hidrófobo presentado en la superficie distal de la membrana de la cadena α forma un sitio de unión para antígenos basados en lípidos derivados de patógenos. Linfocitos T innatos como los linfocitos NK (linfocitos T iNK) son el ejemplo mejor entendido de reconocimiento de la familia de lípidos/CD1 donde los linfocitos T GEM representan otro ejemplo destacado. Se sabe que los linfocitos T iNK 'Tipo I' interactúan fuertemente con el lípido α -GalCer en el contexto de CD1d. Estos linfocitos T iNK muestran una diversidad de TCR muy limitada con una cadena α del TCR fija (Va10/J α 18) y un número limitado de cadenas β (con uso restringido de v β) y se han asimilado a receptores de reconocimiento de patrones moleculares innatos asociados a patógenos (PAMPS) tales como los receptores similares a Toll y a Nod. Por el contrario, los linfocitos T NK 'Tipo II' presentan un repertorio de TCR más diverso, y parecen tener un modo de acoplamiento al complejo CD1d-lípido más diverso. Los linfocitos T GEM reconocen los glicolípidos derivados de micobacterias presentados por CD1b, sin embargo, solo están empezando a comprenderse los detalles moleculares de la presentación de antígenos por CD1a, b y c así como su reconocimiento de linfocitos T.

Las células MAIT expresan principalmente una cadena α invariante del TCR (TRAV1-2 ligado a TRAJ33, TRAJ20 o TRAJ12), que puede emparejarse con una serie de cadenas β del TCR. En vez de péptidos o lípidos, los TCR MAIT pueden unirse a metabolitos de folato y riboflavinizados derivados de patógenos presentados por la molécula análoga a HLA, MR1. La diversidad limitada pero significativa en los TCR observados en los TCR MAIT parece permitir el reconocimiento de metabolitos diversos pero relacionados en el contexto del MR1 conservado.

No se entiende bien cómo se seleccionan en el timo los TCR de linfocitos T $\alpha\beta$ no clásicos restringidos por HLA durante la maduración. Sin embargo, parece probable que se siga aplicando el proceso fundamental de selección negativa y positiva descrito anteriormente y algunas pruebas sugieren que esto ocurre en nichos especializados dentro del timo.

Linfocitos T $\gamma\delta$

A diferencia de la comprensión mecanística detallada de la génesis de los TCR $\alpha\beta$ y de la unión a pHLA, se sabe relativamente poco acerca de los antígenos diana y el contexto de sus contrapartes los linfocitos T $\gamma\delta$. Esto se debe en parte a su abundancia relativamente baja en el compartimiento de linfocitos T circulantes. Sin embargo, se considera en general que los linfocitos T $\gamma\delta$ no están restringidos estrictamente por HLA y parecen reconocer el antígeno de superficie más libremente de forma no muy distinta a la de los anticuerpos. De forma adicional, se ha apreciado más recientemente que los linfocitos T $\gamma\delta$ pueden dominar el compartimiento de linfocitos T residente de tejidos epiteliales, el sitio de interacción principal del sistema inmunitario con el antígeno extraño. Además, están empezando a aparecer en la bibliografía diversos mecanismos de inmunovigilancia de tumores y de vigilancia de otras formas de células propias desreguladas para linfocitos T $\gamma\delta$. Las dianas de antígeno específicas de los linfocitos T $\gamma\delta$ de Tipo tanto innato como adaptativo siguen estando poco definidas, pero la distribución en los tejidos y el reconocimiento rápido de los PAMP sugieren un papel fundamental de los linfocitos T $\gamma\delta$ tanto en la respuesta temprana a antígenos extraños como también temprano en la vida cuando el sistema inmunitario adaptativo aún está madurando.

Las diversas funciones de los linfocitos T $\gamma\delta$ parecen estar basadas en el uso de distintos segmentos génicos Vy V δ , y pueden clasificarse ampliamente en dos categorías principales en las que los linfocitos T $\gamma\delta$ con TCR en gran medida invariables median el reconocimiento similar al innato de los PAMP muy tempranamente en la infección. Además de los PAMP, se cree que este tipo de linfocitos T $\gamma\delta$ reconocen además moléculas propias, incluidos fosfoantígenos que podrían proporcionar señales muy tempranas de estrés celular, infección y desarrollo potencialmente neoplásico. El reconocimiento de los PAMP y los denominados patrones moleculares asociados a peligro (DAMPs), así como las grandes cantidades de linfocitos T $\gamma\delta$ similares a los innatos con restringidos a tejidos sugieren fuertemente que estos linfocitos son adecuados para responder rápidamente a la exposición de antígenos sin necesidad de activación, migración selectiva y expansión clonal previas.

Se considera que una segunda forma de linfocitos T $\gamma\delta$ son de naturaleza más adaptativa, con un repertorio de TCR $\gamma\delta$ muy diverso y la capacidad de circular periféricamente y de acceder a los tejidos linfoides directamente. Se han descrito dichos linfocitos T $\gamma\delta$ específicos de antígeno para patógenos humanos comunes dichos como el CMV, y parecen constituir una respuesta con memoria. Sin embargo, también se ha observado que los linfocitos T

γδ muestran únicamente proliferación clonal relativamente limitada después de la activación y hay pocos datos disponibles sobre el grado de diversidad del TCR y las respuestas específicas de los linfocitos T γδ en circulación periférica, o en tejidos. Además, aun cuando se considera de forma general que los TCR γδ no interactúan con los complejos de pHLA y, por lo tanto, no se unen a los antígenos peptídicos en este contexto, solo se han

La baja frecuencia de los linfocitos T γδ periféricos y la dificultad para estudiar los linfocitos T residentes en tejidos de seres humanos han limitado nuestro conocimiento de cómo este tipo importante y diverso de linfocitos T participa en las respuestas inmunitarias adaptativas. Esta área emergente de investigación requeriría tecnologías más fiables con las que capturar y caracterizar linfocitos T γδ poco frecuentes, aislar sus pares de TCR e identificar sus antígenos afines.

Antígenos y células presentadoras de antígeno

En el contexto de los linfocitos T y los TCR, los antígenos pueden definirse como cualquier molécula que puede unirse a un TCR dando lugar a una señal que se transduce dentro del linfocito T. Los antígenos de linfocitos T mejor caracterizados son péptidos presentados en un complejo con HLA I y HLA II y unidos a linfocitos T αβ convencionales. Sin embargo, en los últimos años se ha hecho evidente que los linfocitos T αβ no convencionales y los linfocitos T γδ son capaces de unirse a una amplia variedad de biomoléculas como antígenos, incluidos lípidos, lipopéptidos, glicopéptidos, glicolípidos y a varios metabolitos y catabolitos. Además, se ha observado que los linfocitos T γδ pueden unirse a proteínas completamente plegadas directamente de forma similar a los anticuerpos. Por lo tanto, el punto de vista de los antígenos de linfocitos T están restringidos en gran medida a péptidos presentados por HLA se ha ampliado en las dos últimas décadas para incluir casi cualquier biomolécula. Con este concepto en mente, es relevante definir qué puede considerarse una célula presentadora de antígeno (APC).

Como se ha definido en las secciones anteriores, HLA I y HLA II tienen perfiles de expresión dispares entre los diversos tipos de células. Se acepta ampliamente que casi todas las células nucleadas presentan complejos HLA I en la superficie celular y, por lo tanto, son competentes para presentar antígenos peptídicos para el muestreo de linfocitos T. Sin embargo, el HLA II tiene un perfil de expresión restringido, y al menos en condiciones de estado estacionario se expresa únicamente en la superficie de células que tienen una función especializada de presentación de antígenos, incluidas las células dendríticas (DC), macrófagos y linfocitos B. Estos tipos de células especializadas se denominan frecuentemente APC profesionales. Para los propósitos de este documento, el término APC se utiliza para describir cualquier célula nucleada con capacidad de presentar un antígeno para el muestreo de linfocitos T αβ o γδ. Tales antígenos no se limitan a los presentados como 'carga' en complejos presentadores de antígeno específicos, tales como HLA y moléculas similares a HLA, sino que también pueden incluir cualquier resto presentado en la superficie celular que pueda unirse a un linfocito con TCR αβ o γδ.

Uso terapéutico de los TCR

La transferencia adoptiva de linfocitos T primarios se ensayó primero en un entorno clínico a principios de la década de los 90 del siglo pasado, partiendo de linfocitos T expandidos ex vivo polarizados hacia antígenos víricos para conferir inmunidad viral en pacientes inmunocomprometidos. Se han ensayado enfoques similares utilizando linfocitos T primarios expandidos ex vivo contra antígenos específicos de cáncer poco después para el tratamiento de neoplasias malignas. Una limitación en estos enfoques tempranos que sigue constituyendo un desafío hoy día es no comprender la naturaleza y diversidad de linfocitos T enfrentados a la necesidad de optimizar finamente su composición en el producto terapéutico. Actualmente, el uso de linfocitos T primarios expandidos ex vivo ha sido abandonado en gran medida por la industria farmacéutica con excepción de unas pocas iniciativas que utilizan linfocitos T primarios con especificidad para antígenos víricos.

En los últimos años, la capacidad de introducir material genético de forma fiable en células humanas primarias ha sido testigo del surgimiento de una serie de agentes terapéuticos de linfocitos T experimentales genéticamente modificados. Dichos productos celulares terapéuticos tienen como propósito aprovechar la potencia de las respuestas de linfocitos T y redirigir la especificidad de los linfocitos T hacia un antígeno diana asociado a una enfermedad, por ejemplo, un antígeno expresado únicamente por células cancerosas. Estos han dependido en gran medida de la transferencia de un receptor de antígeno quimérico (CAR) a linfocitos T receptores, en vez de pares de cadenas del TCR reales. Un CAR representa un resto de direccionamiento (con mayor frecuencia, un elemento de anticuerpo monocatenario dirigido a una proteína expresada en la superficie de células cancerosas) injertada en elementos receptores de señal tales como la cadena ζ del complejo CD3, para producir un receptor quimérico sintético que imita la función del CD3-TCR. Estos denominados productos de linfocitos T CAR (CAR-T) han tenido un éxito mixto en ensayos clínicos hasta la fecha y a pesar de su potencial no es fácil de llevarlos más allá de tumores con dianas moleculares únicas inherentes tales como neoplasias malignas de linfocitos B. De forma alternativa, la transferencia del par de cadenas de TCR de longitud completa a los linfocitos T presenta un interés creciente. Actualmente, dichos agentes terapéuticos de linfocitos T con TCR manipulado genéticamente están limitados por procesos de fabricación complicados y, como sucede con los productos CAR-T, por una escasez de antígenos diana y de construcciones de direccionamiento validadas. Hasta la fecha se ha centrado en el uso de los TCR αβ para el reconocimiento de antígenos peptídicos presentados por HLA I en

células cancerosas, y un desafío fundamental de este enfoque es la necesidad de que los antígenos sean específicos de células cancerosas.

Se ha considerado que dado que la interacción TCR-pHLA tiene afinidad relativamente baja, es probable que los TCR nativos sean subóptimos para terapias de linfocitos T con TCR manipulados genéticamente. Se han diseñado varios enfoques para TCR madurados por afinidad *in vitro*, de forma muy parecida a la maduración por afinidad de anticuerpos monocatenarios. Estos enfoques de maduración por afinidad de los TCR también utilizan de forma general formatos monocatenarios, en donde la región V de una cadena se fusiona a la región V de otra cadena para producir una construcción polipeptídica única. Dichos polipéptidos únicos pueden utilizarse después en sistemas de presentación en fagos o levaduras adaptados a partir de flujos de trabajo de ingeniería de anticuerpos y pasados por rondas de selección basadas en la unión a la diana. Existen dos limitaciones inherentes en dicho enfoque del TCR monocatenario en términos de producir pares funcionales de cadenas del TCR. En primer lugar, la selección se basa en la afinidad de unión a la diana. Sin embargo, se ha documentado bien que la afinidad del TCR no siempre está correlacionada con la intensidad o la competencia de la salida de señalización del TCR. En segundo lugar, la selección de construcciones monocatenarias basada en afinidad no siempre se traduce en afinidades equivalentes una vez que se reconstituyen como receptores de longitud completa.

En un contexto terapéutico, existe una limitación adicional en los pares del TCR madurados por afinidad. Es decir, considerando que sus secuencias se han alterado, las construcciones resultantes por definición ya no están sometidas a selección tímica, en donde los TCR que reaccionan fuertemente con los antígenos propios se eliminan del repertorio. Por lo tanto, estos TCR modificados conllevan el riesgo inherente de ser autorreactivos, lo que es muy difícil de descartar *in vitro* utilizando los métodos actuales. Por la misma razón, debe individualizarse cualquier TCR seleccionado o diseñado genéticamente para la aplicación terapéutica. Si los TCR son TCR modificados artificialmente o TCR nativos aplicados entre individuos, deben descartarse las reactividades cruzadas sobre la base del haplotipo de HLA y el repertorio de péptidos presentado de cada individuo específico para evitar una autoinmunidad potencialmente letal. Esto se debe al hecho de que la selección tímica se hace en un fondo de todas las moléculas HLA disponibles específicas únicamente para dicho individuo dado. La probabilidad de dicha reactividad cruzada no está clara. Sin embargo, la capacidad de nuestro repertorio de TCR para reconocer los complejos de pHLA de otros individuos de la misma especie como extraños es una propiedad fundamental de la inmunidad adaptativa y es la base del rechazo a los injertos y de la enfermedad de injerto contra hospedador. Ensayos clínicos recientes que utilizan un par de cadenas de TCR maduras frente al antígeno asociado a melanoma específico de cáncer (MAGE) señalaban el problema potencial de evitar la selección tímica. Cuando los linfocitos T autólogos que contenían los TCR madurados se volvieron a infundieron a dos pacientes con cáncer, estos pacientes desarrollaron rápidamente una cardiopatía mortal. Estudios posteriores determinaron que los TCR madurados específicos de MAGE tuvieron reactividad cruzada con un péptido presentado por HLA I de la proteína cardíaca titina. Esto sugiere fuertemente que la reactividad cruzada es una posibilidad clara en el uso terapéutico de los TCR.

Una forma distinta de utilizar los TCR con fines terapéuticos es su uso como reactivos de afinidad de una forma muy parecida a las sustancias terapéuticas de anticuerpos. Se han utilizado moléculas del TCR monocatenario en ensayos clínicos para administrar sustancias de fármacos conjugados a poblaciones celulares que expresan antígenos específicos de HLA. Este enfoque se considera en general más seguro que los agentes terapéuticos de linfocitos T CAR o con TCR manipulados, ya que la administración de la sustancia farmacológica puede simplemente retirarse. Sin embargo, el potencial de reactividad cruzada y los efectos no buscados que son difíciles de prever siguen suponiendo una limitación potencial en este escenario.

Detección del repertorio de TCR en el diagnóstico clínico

En un aspecto relacionado, existe un creciente interés en utilizar la detección de la abundancia de secuencias específicas del TCR con fines de diagnóstico clínico. Con el aumento de los métodos de secuenciación profunda en particular, es posible capturar de forma global toda la diversidad del TCR en un individuo y de pares $\alpha\beta$ coincidentes en contextos específicos. Esto supone potencialmente un medio para diagnosticar dolencias y patologías específicas simplemente detectando la abundancia de clones de linfocitos T expandidos, como lectura indirecta de la respuesta inmunitaria establecida contra un antígeno asociado a enfermedad en el paciente. Sin embargo, dichos enfoques globales están limitados actualmente a respuestas inmunitarias muy intensas con puntos temporales clínicos establecidos y presentan la dificultad subyacente de identificar el antígeno diana específico de cualquier TCR particular identificado mediante secuenciación.

Uso terapéutico y de diagnóstico de antígenos de linfocitos T

El punto fuerte fundamental de aprovechar las respuestas inmunitarias adaptativas se traduce en un desafío técnico fundamental ya que la exquisita especificidad de la interacción TCR-antígeno requiere un conocimiento detallado de los antígenos asociados específicamente a cada patógeno, célula cancerosa o enfermedad autoinmune. Además, cada antígeno puede presentarse mediante un complejo presentador de antígeno específico, o alelo del mismo, de forma que el descubrimiento del antígeno debe hacerse para cada gen HLA y alelo correspondientes. Para varias enfermedades infecciosas como el VIH, la gripe y el CMV que están asociadas con respuestas inmunitarias adaptativas fuertes y que muestran generalmente jerarquías de respuesta de epítomos conservadas, se han cartografiado los epítomos más importantes en el contexto de algunos HLA

comunes. De forma similar, se han hecho esfuerzos crecientes y sistemáticos en los campos del cáncer, de la alergia y de la autoinmunidad para mapear los antígenos asociados a linfocitos T. Sin embargo, son procedimientos complicados y los esfuerzos para describir de forma sistemática los antígenos de linfocitos T asociados a distintos contextos clínicos se ven obstaculizados por la ausencia de protocolos eficientes, sólidos, rápidos y escalables.

Específicamente, las células cancerosas suponen un aspecto importante y difícil, ya que la mayoría de los péptidos presentados en la superficie de las células cancerosas son antígenos propios o muy similares a los propios. Por lo tanto, la selección tímica habrá eliminado los TCR que podrían reconocer fuertemente estos péptidos, al tiempo que el tumor evoluciona para evadir el reconocimiento inmunitario. Esto significa que las respuestas inmunitarias potentes contra tumores establecidos son relativamente poco frecuentes y dianas difíciles de predecir o descubrir. Sin embargo, estas respuestas existen y, lo que es importante, se asocian generalmente con un mejor resultado. En la mayoría de casos, los antígenos asociados a tumores (TAA) tendrán características distintivas de los antígenos propios y se derivarán de proteínas que se sobreexpresan durante el desarrollo del cáncer, que de lo contrario estarían ausentes del tipo celular en esta etapa del desarrollo o alteradas específicamente por mutación genética o modificaciones postraduccionales tales como la fosforilación.

Cuando está disponible, el conocimiento de dichos epítomos permite interrogar la respuesta de los linfocitos T asociados para realizar descubrimientos fundamentales, con fines de diagnóstico y, por ejemplo, como una prueba de eficacia de una vacuna. Es importante destacar que también proporcionan dianas muy específicas para la tolerización de linfocitos T en alergia y autoinmunidad y, de forma crucial, apuntan a dianas valiosas para inmunoterapia específica y contra células cancerosas. Las neoplasias representan una diana especialmente valiosa ya que la promesa de inmunoterapias celulares y el progreso en las manipulaciones de linfocitos T se ven ralentizadas por una falta de TAA diana validadas más allá de los pocos casos donde se dispone de marcadores específicos para el tipo de cáncer.

A la vista del potencial de la terapia celular y de la falta de dianas validadas, la identificación de antígenos de TCR prometedores sigue siendo uno de los cuellos de botella más acuciantes de la inmunoterapia basada en TCR, especialmente en el esfuerzo para tratar el cáncer.

Obtención de los ORF del TCR de longitud completa

Debido principalmente a la diversidad de uso en segmentos génicos V en los TCR de origen natural, es complicado capturar datos de secuencia de cadenas de TCR emparejadas procedentes de grupos de linfocitos T. De forma general, para capturar de forma fiable la secuencia con fiabilidad elevada, es necesario amplificar el TCR utilizando métodos de transcripción inversa y/o PCR, con una combinación de cebadores que cubra toda la diversidad de la región V de la combinación de dianas. Este proceso genera fragmentos de ORF a partir de los que pueden obtenerse los datos de secuencia; sin embargo, constituye un material de partida inadecuado para clonar fácilmente ORF del TCR de longitud completa. Por lo tanto, las estrategias de alta eficiencia para extraer datos de secuencias emparejadas partiendo de grupos de linfocitos T son generalmente incompatibles con la clonación de los ORF del TCR de longitud completa para aplicaciones posteriores. Por lo tanto, se requiere una síntesis costosa y prolongada de los ORF del TCR para cualquier ensayo o aplicación funcional de los pares de TCR secuenciados.

Diversificación de los ORF del TCR de longitud completa

El uso terapéutico creciente de los TCR ha visto un aumento del interés por diversificar las secuencias del TCR dentro de flujos de trabajo de afinidad y/o maduración funcional para obtener pares de TCR sintéticos de especificidad y función definidas. De forma general, esto se ha logrado mediante la unión de pares de cadenas de TCR en una construcción monocatenaria para metodologías de presentación de fagos, y la introducción de una diversidad de secuencias en estas construcciones monocatenarias. Actualmente faltan tecnologías que puedan diversificar rápidamente los ORF del TCR únicos de forma sistemática, y donde estos ORF del TCR de longitud completa sean aplicables a ensayos y/o selección inmediatos en un contexto de expresión en superficie en células de mamífero viables. Una tecnología de ese tipo sería de gran valor en la maduración de los pares de TCR, con especificidad y capacidad de señalización altamente definidas, para uso terapéutico.

Aspectos tecnológicos de los análisis de TCR y antígenos de linfocitos T

En general, el desarrollo de terapias basadas en TCR sigue estando en sus primeras etapas y el éxito ha sido limitado. Los enfoques de diagnóstico, si bien tienen un inmenso potencial, rara vez se han aplicado en estudios clínicos controlados que pretendan evaluar patologías o respuestas a terapia en pacientes. Unas técnicas no suficientemente desarrolladas para la captura fiable de pares de cadenas del TCR nativos y el análisis sistemático de interacciones TCR-antígeno con elevado rendimiento y en un contexto funcional de comunicación celular han sido los principales obstáculos para el desarrollo de terapias y diagnósticos basados en TCR.

Los enfoques de secuenciación profunda han llevado a una mejor comprensión de la diversidad de los receptores de los linfocitos T en la salud y en la enfermedad. Sin embargo, estos enfoques han centrado generalmente en tramos cortos que abarcan las regiones CDR3, principalmente de la cadena β del TCR. La mayoría de los estudios han ignorado la contribución de la cadena α del TCR, y pocos han buscado analizar las cadenas $\alpha\beta$ emparejadas así como la especificidad de antígeno de los TCR considerados de interés. Los flujos de trabajo recientes utilizando encapsulación de células únicas y codificación genética ha permitido el emparejamiento de pares de cadenas $\alpha\beta$ o $\gamma\delta$ del TCR nativo y el análisis de secuencias de longitud completa; sin embargo, dichos flujos de trabajo siguen siendo experimentales.

Los pares de cadenas del TCR aislados pueden analizarse en términos de especificidad de antígeno en modos biofísico o funcional. El análisis biofísico requiere la producción recombinante tanto del TCR como del antígeno analito en forma soluble. En el caso de los TCR restringidos al HLA, esto requeriría por lo tanto la generación de todos los TCR individuales así como de los complejos pHLA afines. Esto supone un desafío técnico muy considerable, es lento y con muy bajo rendimiento. Además, dicho análisis solo proporcionaría afinidades de interacción, que no están bien correlacionadas con características funcionales de formas predecibles.

Hasta hace poco, el análisis funcional detallado de secuencias del TCR aisladas en un contexto celular se ha limitado a laboriosos protocolos de transfección de pares de cadenas del TCR analito a linfocitos T primarios o a líneas de linfocitos T inmortales, y la detección de respuestas celulares mediante análisis por citometría de flujo tradicional de la activación celular, o detección de factores secretados desde células transfectadas en la exposición con antígeno. En una publicación reciente de Guo y col., se comunicó la clonación rápida, expresión y caracterización funcional de cadenas de TCR emparejadas procedentes de células individuales (Molecular Therapy – Methods and clinical development (2016) 3: 15054). En este estudio, se expresaron parejas de analitos de TCR $\alpha\beta$ humanos en una línea celular indicadora que carecía de expresión de TCR $\alpha\beta$, y que contenía un sistema indicador de proteína fluorescente verde (GFP) unido al promotor Nur77 que se activa en la estimulación del TCR. Este sistema sigue siendo ineficiente debido a la falta de integración estandarizada del TCR en el genoma de la línea celular indicadora, y no proporciona una forma sistemática para la exposición con antígeno unido a células por un elemento APC.

De forma similar a los flujos de trabajo para identificar los TCR contra antígenos de linfocitos T conocidos, el descubrimiento de novo de antígenos de linfocitos T novedosos para la salud y la enfermedad sigue suponiendo un desafío considerable. La mayoría de los enfoques siguen siendo de naturaleza biofísica, y tienen como propósito producir antígenos candidatos que puedan ensayarse en protocolos de inmunización, o a través de la identificación de TCR afines como se ha tratado anteriormente. Existe poca o ninguna estandarización en el campo del descubrimiento de antígenos de linfocitos T, y el campo está restringido en gran medida al estudio académico.

Con el interés creciente en los TCR y sus antígenos afines para uso tanto terapéutico como diagnóstico, y con la aparición de medios para capturar cantidades significativas de pares de cadenas $\alpha\beta$ y $\gamma\delta$ nativos, aún se carece de tecnologías fiables de alto rendimiento y estandarizadas para el análisis sistemático de interacciones TCR-antígeno. Es importante señalar que se carece de sistemas estandarizados para la reconstitución rápida y/o diversificación sistemática de los ORF del TCR de longitud completa, de forma que estos ORF puedan aplicarse directamente al análisis funcional de pares de cadenas de TCR en el contexto nativo de un TCR de analito que se presenta en la superficie de una célula viable en un contexto nativo. Dicha capacidad es importante para lograr análisis de alto rendimiento de pares de cadenas de TCR nativas, pero también maduración por afinidad y/o funcional de pares de cadenas de TCR para usos terapéuticos y diagnósticos.

Existe una clara necesidad de métodos rápidos y sistemáticos para la reconstitución de cadenas de TCR, y de su diversificación sistemática, en métodos de alto rendimiento que permitan el uso de TCR en diagnóstico basado tanto en informática como en reactivos, y también inmunoterapias personalizadas basadas en el TCR.

Descripción detallada de la invención

La presente invención aborda las necesidades anteriormente mencionadas. La presente invención proporciona en un primer aspecto, un sistema de vectores bicomponente que comprende genotecas preensambladas que consisten en vectores que contienen secuencias variables (V), de unión (J) y constantes (C) para cadenas de TCR. El primer componente de dicho sistema comprende un vector de entrada V-C que contiene secuencias V y C. El segundo componente del sistema comprende un vector donante J que contiene la secuencia J. El sistema de vectores bicomponente está preensamblado en genotecas de vectores de entrada V-C y vectores donantes J con todas las combinaciones de secuencias V-C y secuencias J deseables, respectivamente. El sistema de vectores bicomponente se diseña de forma que un único vector de entrada V-C y un único vector donante J con las secuencias deseadas pueden combinarse con un dúplex de oligonucleótidos de ADN corto que codifica una secuencia CDR3 (odeCDR3) para reconstituir un ORF del TCR de longitud completa in vitro, en un solo tubo de ensayo en una reacción dependiente de enzima de restricción y ligasa e independiente de PCR. Además, el sistema modular bicomponente está idealmente adaptado para generar rápidamente grandes genotecas de ORF del TCR de longitud completa sintéticos o mutantes para flujos de trabajo de maduración por afinidad o funcional. En un segundo aspecto, los vectores de entrada V-C modificados para un par recíproco de cadenas TCR (es decir, TRA/TRB o TRD/TRG) se compilan en un sistema vectorial de 5

componentes para proporcionar un sistema en el que los pares de cadenas TCR reconstituidas pueden unirse en un único vector. Este segundo sistema utiliza ambos vectores de entrada V-C modificados, los mismos vectores donantes J que el primer sistema, y también un vector donante del terminador bidireccional (donante BiT) para obtener pares de cadenas del TCR contiguos codificados en orientación antiparalela en una construcción final, donde cada cadena del TCR intercala un elemento 'terminador bidireccional'.

Sistema de ingeniería y reconstitución del ORF del TCR (TORES)

La presente invención proporciona en primer lugar un sistema de vectores bicomponente con características únicas adecuadas para los usos anteriormente mencionados. Este sistema de reconstitución e ingeniería genética del ORF del TCR (TORES) se utiliza junto con un tercer componente, un dúplex de oligonucleótidos que codifica CDR3 (odeCDR3), para ensamblar de novo los ORF del TCR de longitud completa dentro de un contexto de vector definido y/o generar diversidad de secuencias con fórmula dentro de un ORF de TCR determinado.

La presente invención se resume en la Figura 1A. Un vector de entrada V-C seleccionado que contiene los segmentos génicos V y C del TCR necesarios para un ORF del TCR de longitud completa diana se combina con un vector donante J que contiene el segmento génico J del TCR necesario. El ORF del TCR de longitud completa se completa mediante la adición de un dúplex de oligonucleótidos que codifica CDR3 (odeCDR3), que representa la secuencia no fijada de la línea no germinal generada durante la recombinación V(D)J e interpuesta por la secuencia de V y J fija codificada por la línea germinal codificada por el vector de entrada V-C y el vector donante J, respectivamente. El sistema de vectores bicomponente y el tercer componente de odeCDR3 está diseñado de forma que, cuando se combinan en una reacción de ciclo de enzima de restricción y ligasa, se reconstituye el ORF de V-CDR3-J-C TCR completo. Esto se logra mediante una o más enzimas de restricción de Tipo IIS que se utilizan para realizar el ensamblado "sin cicatrices" de los elementos genéticos de forma estandarizada. El sistema de vectores bicomponente se ensambla en una genoteca que contiene todos los segmentos génicos V, C y J necesarios para la reconstitución de los ORF diana del TCR de longitud completa (Figura 1B). Por ejemplo, puede construirse una genoteca que contenga todos los segmentos génicos que codifican las secuencias de proteínas nativos del repertorio TRA humano como se describe en los Ejemplos 1 y 2, y el repertorio TRB humano como se describe en el Ejemplo 3.

Para reconstituir un ORF del TCR de longitud completa, a partir de la información de secuencia que es suficiente para definir el uso de segmentos génicos V, J y C, junto con la secuencia CDR3 no fija intercalada por segmentos V y J fijos, primero se seleccionan el vector de entrada V-C y el vector donante J que corresponden al uso V/C y J del ORF diana del TCR. También se genera un odeCDR3 que corresponde a la secuencia de CDR3 no fija necesaria para completar el ORF del TCR de longitud completa. Estos tres componentes se combinan con una enzima de restricción de Tipo IIS y una enzima ADN-ligasa en una reacción de ciclo para generar el ORF diana del TCR de longitud completa como se describe en la Figura 4 y en el Ejemplo 7. El TCR de longitud completa reconstituido resultante está contenido dentro de la cadena principal del vector de entrada V-C, por lo tanto contiene todas las características del vector contenidas dentro de esta construcción parental.

La acción de la enzima de restricción de Tipo IIS de los tres componentes combinados (Figura 4 a, b, c) en un ciclo de reacción con enzima de restricción/ligasa da lugar a dos subproductos de reacción y a dos productos intermedios de reacción. El subproducto de reacción derivado del vector de entrada V-C es el marcador de selección natural escindido y los sitios de unión de Tipo IIS (Figura 4D). La cadena principal del vector donante J de la cual se ha escindido la parte del segmento J representa un segundo subproducto de reacción (Figura 4E). La parte de segmento J escindida del vector donante J representa un producto de reacción intermedio, y contiene tanto una parte de segmento J, una parte C pequeña del segmento C, como salientes monocatenarios necesarios para la ligación (Figura 4F). El segundo intermedio de reacción es la cadena principal de entrada V-C parental que contiene los segmentos V y C, y salientes monocatenarios necesarios para la ligación (Figura 4G). El producto final de la reacción representa un ORF del TCR de longitud completa reconstituido dentro de la cadena principal del vector de entrada V-C precursor, que comprende la ligación del odeCDR3 (Figura 4C), la parte escindida del segmento J (Figura 4F) y la cadena principal de entrada V-C que contiene los segmentos génicos V y C (Figura 4G).

Componentes del vector de entrada V-C y del vector donante J

En el presente contexto, un sistema bicomponente combinado incluye uno o más vectores de entrada V-C que contienen

- a. origen de replicación,
- b. un primer marcador de selección positiva,
- c. elemento o elementos genéticos 5',
- d. secuencia de Kozak,

- e. segmento génico variable del TCR,
- f. una primera secuencia de Tipo IIS, para el reconocimiento y escisión específicos de sitio mediante una enzima de restricción de Tipo IIS,
- g. un marcador de selección negativa,
- h. una segunda secuencia de Tipo IIS,
- i. segmento génico constante del TCR, y
- j. elemento o elementos genéticos 3'

en donde, a) y b) se utilizan para la propagación y selección tanto del vector de entrada V-C precursor como del vector que contiene el TCR reconstituido en un hospedador bacteriano; c) y j) se utilizan para definir la aplicación posterior del ORF del TCR de longitud completa reconstituido; d) asegura el inicio eficiente de la traducción en células eucariotas, que podría representar de forma alternativa una secuencia Shine-Dalgarno para la regulación transicional en procariotas y archaea; e) representa el segmento génico variable (V) procedente del codón de iniciación hasta un motivo en el extremo 5' de la región CDR3 conservada en todos los segmentos V de un sistema de vectores bicomponente determinado; f) representa una secuencia de reconocimiento de Tipo IIS que dirige el corte de una enzima de restricción de Tipo IIS en dirección 5' para crear un saliente monocatenario estandarizado en el extremo 3' del segmento génico V; g) representa un marcador de selección negativa para eliminar el vector de entrada V-C precursor durante el funcionamiento del sistema para reconstituir un ORF del TCR de longitud completa; h) representa una secuencia de reconocimiento de Tipo IIS que dirige el corte de una enzima de restricción de Tipo IIS en la dirección 3' dirección para crear un saliente monocatenario estandarizado en el extremo 5' del segmento génico C; i) representa el segmento génico constante (C) procedente de un motivo en el extremo 5' del segmento génico C conservado en todos los segmentos C de un sistema vectorial bicomponente dado, y que define el límite con el segmento J (véanse las Figuras 2 y 4).

Un vector de entrada V-C que se utiliza para la reconstitución genética del ORF del TCR de longitud completa sin necesidad de una aplicación biológica posterior, por ejemplo, para utilizar como patrón en flujos de trabajo de biología molecular, el vector de entrada V-C mínimo comprendería elementos a), b), e), f), h) e i), careciendo de elementos reguladores.

Un vector de entrada V-C también puede contener una o más unidades de transcripción para la expresión de ORF adicionales adecuados para aplicaciones posteriores, por ejemplo, un gen o construcción indicadora de resistencia a antibióticos de mamífero.

El sistema bicomponente combinado incluye uno o más vectores donantes J que contienen

- a. origen de replicación,
- b. un segundo marcador de selección positiva,
- c. una segunda secuencia de Tipo IIS,
- d. segmento génico de unión al TCR,
- e. una parte C, que corresponde a una pequeña parte 5' de un segmento génico constante, y
- c. una cuarta secuencia de Tipo IIS.

en donde, a) y b) se utilizan para propagación y selección del vector donante J; c) representa una secuencia de reconocimiento de Tipo IIS que dirige el corte de una enzima de restricción de Tipo IIS en la dirección 3' y crear un saliente monocatenario estandarizado en el extremo 5' del segmento génico J; d) representa el segmento génico de unión (J) que parte de un 5' del motivo que define el límite 3' de la región CDR3 conservada para la totalidad de segmentos J en un sistema de vectores bicomponente dado, a una secuencia 3' que incorpora la parte C, que representa una parte en 5' del segmento C codificado por uno o más vectores de entrada V-C contenidos dentro del sistema bicomponente; representa una secuencia de reconocimiento de Tipo IIS que dirige el corte de una enzima de restricción de Tipo IIS en la dirección 5' para crear un saliente monocatenario estandarizado en el extremo 3' del segmento génico J, y contenido dentro de la parte de la parte C de la secuencia (véanse las Figuras 3 y 4).

Un vector donante J no tiene que llevar estrictamente una secuencia de parte C, que codifica una pequeña parte 5' del segmento génico C. Esta parte C se utiliza para optimizar y estandarizar salientes para la reacción de reconstitución durante el funcionamiento de un TORES. Esto se debe a la mayor variación de secuencia observada en el extremo 3' de los segmentos génicos J, de forma que la inclusión de una parte C permite la

estandarización por generación de salientes dentro del segmento génico C menos diverso. En el caso de construir un TORES para un locus del TCR procedente de otro organismo que no tenga diversidad de segmentos J 3', o utilizando segmentos génicos J sintéticos, esta parte C puede omitirse a favor de la estandarización de salientes dentro de dichos segmentos J. Esto reduciría la complejidad de la construcción de la genoteca de donantes J.

Cada una de la primera, segunda, tercera y cuarta secuencias de Tipo IIS puede ser igual o distinta. Preferiblemente, son iguales. Esto garantiza que cada uno de los sitios de restricción dentro del sistema de vectores bicomponente sea compatible con la misma enzima de Tipo IIS, y solo se necesita una única enzima para la reacción de ciclo de enzima de restricción/ligasa durante la reconstitución del ORF del TCR de longitud completa que utiliza el sistema. Las enzimas de Tipo IIS no cortan dentro de su secuencia de reconocimiento y, por lo tanto, los salientes monocatenarios se generan extrínsecos a la secuencia de reconocimiento. Por lo tanto, la naturaleza del saliente generado después de la acción de la enzima de restricción de Tipo IIS depende tanto de la orientación de la secuencia de reconocimiento como, de hecho, de la secuencia adyacente (véanse los Ejemplos 1 a 4).

De forma alternativa, cada una de las secuencias de restricción de Tipo IIS pueden ser distintas entre sí. Sin embargo, con la adición de cada secuencia de reconocimiento única, debe incorporarse una enzima de Tipo IIS adicional en la reacción de ciclo de enzima de restricción/ligasa. Esto aumentaría la complejidad y el coste de una reacción de reconstitución para ensamblar un ORF del TCR de longitud completa.

El primer y segundo marcadores de selección positiva dentro del vector de entrada V-C y del vector donante J, respectivamente, son normalmente diferentes. Esto es para asegurar que el vector de entrada V-C, que proporciona la cadena principal del producto ORF del TCR de longitud completa final, pueda seleccionarse independientemente del vector donante J, y por tanto eliminar los transformantes que llevan vectores donantes J sin digerir o recircularizados que de otro modo aportan un fondo a la reacción de reconstitución (véanse las Figuras 2 y 3 y el Ejemplo 7).

Los marcadores de selección positiva pueden seleccionarse de

- a. un gen de resistencia a antibióticos,
- b. un gen complementario auxótrofo,
- c. un gen indicador

en donde la selección, el formato y la aplicación de dichos marcadores de selección positiva son bien conocidos por los expertos en la técnica.

El elemento genético en 5' incorporado a un vector de entrada V-C comprende uno o más elementos seleccionados de

- a. elemento cis actuante en genes,
- b. sitio de reconocimiento heteroespecífico para las enzimas recombinasas,
- c. un brazo de recombinación homóloga en 5' para un sitio genómico de interés
- d. un sitio aceptor de corte y empalme de ARNm,
- e. un sitio interno de entrada al ribosoma, y
- f. secuencia del aislante epigenético

en donde, a) dirige la expresión del transcrito codificado por el producto ORF del TCR de longitud completa reconstituido dentro de la cadena principal del vector de entrada V-C; b) representa una secuencia que dirige la recombinación dirigida al sitio en presencia de enzimas recombinasas para insertar el producto ORF del TCR de longitud completa reconstituido dentro de la cadena principal del vector de entrada V-C en un contexto genético específico; c) representa una secuencia que dirige la recombinación homóloga dirigida al sitio para insertar el producto ORF del TCR de longitud completa reconstituido dentro de la cadena principal del vector de entrada V-C en un contexto genético específico; d) permite enfoques del dominio de fusión diseñado por ingeniería genética para manipular la forma de la proteína expresada a partir del ORF del TCR de longitud completa reconstituido en la cadena principal del vector de entrada V-C e) permite el inicio de la traducción del ARNm expresado a partir del ORF del TCR de longitud completa reconstituido independiente de protección en la cadena principal del vector de entrada V-C f) permite el aislamiento de la actividad transcripcional afectada de cualquier otra forma por los elementos potenciadores en un contexto genómico donde puede insertarse el ORF del TCR de longitud completa reconstituido en la cadena principal del vector de entrada V-C.

Puede utilizarse un elemento cis actuante para dirigir la expresión transitoria de los TCR reconstituidos en una cadena principal del vector de entrada V-C proporcionada en los Ejemplos 1 y 3, cuando dicho vector que contiene un ORF del TCR reconstituido se transfecta en células de mamífero.

5 Puede utilizarse un sitio de reconocimiento heteroespecífico para enzimas recombinasas para permitir el intercambio de casetes mediado por recombinasa de los TCR reconstituidos en una cadena principal del vector de entrada V-C proporcionada en el Ejemplo 4, cuando dicho vector que contiene un ORF del TCR reconstituido se transfecta en células de mamífero en presencia de una enzima recombinasa adecuada.

10 Una primera secuencia de reconocimiento de Tipo IIS que se incluye en el vector de entrada V-C se orienta para cortar en 5' de dicha secuencia de reconocimiento y dentro del segmento génico variable del TCR (Figura 4a) para producir un saliente de ADN monocatenario en el extremo 3' del segmento génico variable (Figura 4g) que es complementario al del extremo 5' del odcDR3 sintetizado (Figura 4c). Para más detalles sobre cómo se diseña esta secuencia de reconocimiento de primer Tipo IIS, véanse los Ejemplos 1, 3, 5 y 6.

15 Un vector de entrada V-C contiene un marcador de selección negativa entre la primera secuencia de reconocimiento de Tipo IIS y la segunda secuencia de reconocimiento de Tipo IIS (véase más abajo la Figura 2). Este marcador de selección negativa se selecciona de

20 a. un sitio de reconocimiento de enzimas de restricción no contenido en otro sitio del primer componente o dentro del segmento génico de unión del TCR,

b. un gen suicida bacteriano y

25 c. un elemento indicador.

en donde el marcador de selección negativa se utiliza para eliminar las células hospedadoras transformadas con el vector de entrada V-C parental y, por lo tanto, reducir el fondo de una reacción de reconstitución cuando se utiliza el primer marcador de selección positiva para seleccionar transformantes que contienen el ORF del TCR diana dentro de la cadena principal del vector de entrada V-C (véase el Ejemplo 7).

30 Con la excepción del propio marcador de selección negativa, todas las demás secuencias del sistema de dos partes deben estar desprovistas de dicha secuencia para no transmitir una selección negativa indebida sobre la base de la inclusión de esta secuencia en otra parte del sistema.

35 En el presente contexto, una segunda secuencia de reconocimiento de Tipo IIS que se incluye en el vector de entrada V-C se orienta para cortar en 3' de dicha secuencia de reconocimiento y dentro del segmento génico constante del TCR (Figura 4a) para producir un saliente de ADN monocatenario en el extremo 5' del segmento génico constante (Figura 4g) que es complementario al del extremo 3' del intermedio de reacción del fragmento donante J (Figura 4f). Para detalles sobre cómo se diseña esta secuencia de reconocimiento de segundo Tipo IIS, véanse los Ejemplos 1, 2, 3 y 5.

El elemento genético 3' incorpora a un vector de entrada V-C comprende uno o más elementos seleccionados de

45 a. un elemento terminador,

b. sitio de reconocimiento heteroespecífico para las enzimas recombinasas,

c. un brazo de recombinación homóloga 3', para un sitio genómico de interés,

50 d. un sitio donador de corte y empalme de ARNm,

e. un sitio interno de entrada al ribosoma, y

55 f. secuencia del aislante epigenético.

en donde a) representa una secuencia que dirige la terminación transcripcional para la producción eficiente de ARNm del ORF del TCR in situ y puede codificar una señal de poli-A; b) representa una secuencia que dirige la recombinación homóloga dirigida al sitio para insertar el producto ORF del TCR de longitud completa reconstituido dentro de la cadena principal del vector de entrada V-C en un contexto genético específico; c) permite la fusión de un ORF del TCR a una unidad transcripcional después de la integración en un locus genómico que codifica un sitio aceptor de corte y empalme de ARNm posterior para manipular la intensidad de los niveles de expresión de TCR o la forma de la proteína expresada a partir del ORF del TCR de longitud completa reconstituido en la cadena principal del vector de entrada V-C e) permite el inicio independiente de la traducción del ARNm expresado a partir del ORF del TCR de longitud completa reconstituido en la cadena principal del vector de entrada V-C f) evita la interacción inadecuada entre dominios de cromatina adyacentes, aislando de este modo el ORF del TCR de longitud completa de la regulación transcripcional adyacente o la descondensación de la

heterocromatina en un contexto genómico donde puede insertarse el ORF del TCR reconstituido en la cadena principal del vector de entrada V-C.

Se utiliza un elemento terminador para garantizar la terminación de la transcripción durante la expresión de los TCR reconstituidos en una cadena principal del vector de entrada V-C proporcionada en los Ejemplos 1 y 3, cuando dicho vector que contiene un ORF del TCR reconstituido se transfecta en células de mamífero.

Se utiliza un sitio de reconocimiento heteroespecífico para enzimas recombinasas para permitir el intercambio de casetes mediado por recombinasa de los TCR reconstituidos en una cadena principal del vector de entrada V-C proporcionada en el Ejemplo 4, cuando dicho vector que contiene un ORF del TCR reconstituido se transfecta en células de mamífero en presencia de una enzima recombinasa adecuada.

Un vector donante J contiene un segmento génico J con una secuencia de parte C que representa un fragmento 5' del segmento génico C hasta el 3' del segmento génico J (Figura 3).

La secuencia de la parte C se diseña para estandarizar los salientes monocatenarios generados por la acción de la enzima de Tipo IIS en el extremo 3' del intermedio de reacción del fragmento J derivado del vector donante J (Figura 4f), y el que está en el extremo 5' del segmento génico C dentro del producto intermedio de reacción del vector de entrada V-C abierto digerido por el Tipo IIS (Figura 4g).

Una tercera secuencia de reconocimiento de Tipo IIS que se incluye en el vector donante J se orienta para cortar 3' de dicha secuencia de reconocimiento y dentro del segmento génico de unión del TCR (Figura 4b) para producir un saliente de ADN monocatenario en el extremo 5' del segmento génico de unión (Figura 4f) que es complementario al del extremo 5' del odeCDR3 sintetizado (Figura 4c). Para ver más detalles sobre cómo se diseña esta secuencia de reconocimiento de tercer Tipo IIS, véanse los Ejemplos 2, 3, 5 y 6.

Una cuarta secuencia de reconocimiento de Tipo IIS que se incluye en el vector donante J se orienta para cortar 5' de dicha secuencia de reconocimiento y dentro de la parte C del TCR (Figura 4b) para producir un saliente de ADN monocatenario en el extremo 3' de la parte C (Figura 4f) que es complementario al que tiene el producto intermedio de reacción del vector de entrada V-C abierto digerido en 5' con el Tipo IIS (Figura 4G). Para detalles sobre cómo se diseña esta secuencia de reconocimiento del tercer Tipo IIS, véanse los Ejemplos 1, 2, 3, 5 y 6.

El sistema de vectores de dos partes, todos los segmentos génicos del TCR codificados y las partes no deben contener secuencias de reconocimiento de Tipo IIS que se utilizan para la operación, o ensamblado, del vector de entrada V-C o del vector donante J. La inclusión de dichas secuencias daría como resultado la acción de la enzima de restricción de Tipo IIS dentro de los segmentos o partes génicas codificadas, y daría como resultado la interrupción del proceso de reconstitución del TCR. De forma similar, las secuencias de reconocimiento de Tipo IIS no deberían incluirse en las cadenas principales del vector, ni en ningún elemento genético en 5' y 3' en estos vectores, ni los fragmentos de clonación utilizados para ensamblar el sistema de vectores de dos partes, ni el odeCDR3 que representa un tercer componente del sistema (véase más abajo).

Puede construirse un sistema vectorial bicomponente del TORES para cualquier colección de cadenas del TCR. En los ejemplos 1 a 4 que siguen, se construyen sistemas de vectores bicomponente para los loci de TRA y TRB humanos que codifican las cadenas alfa y beta del TCR humano, respectivamente. La construcción de tal TORES es igualmente aplicable en el contexto de los loci de TRD y TRG que codifican el par de cadenas delta y gamma del TCR, respectivamente, o de hecho para cualquier sistema de pares de cadenas TRA/TRB, TRD/TRG o variante del TCR que se encuentra en los vertebrados con mandíbulas.

El tercer componente odeCDR3

Para reconstituir un ORF del TCR de longitud completa utilizando cualquiera del TORES dado, se requiere un pequeño fragmento del ORF no codificado por el vector de entrada V-C bicomponente y el sistema del vector donante J como tercer componente. Este tercer componente toma la forma de un dúplex de oligonucleótidos que codifica CDR3 (odeCDR3).

Dicho tercer componente, odeCDR3, comprende

a. una primera secuencia de saliente monocatenario complementario del primer sitio de reconocimiento y corte de enzima de restricción de Tipo IIS orientada para cortar en 5' de la secuencia de reconocimiento y dentro del segmento génico variable del TCR del vector de entrada V-C,

b. un segmento bicatenario que codifica una región CDR3 del TCR y desprovisto de elemento de selección negativo, cuyo elemento de selección negativo es el definido en el punto 10, y también desprovisto de cualquier secuencia de restricción de Tipo IIS de la primera o segunda parte, y

c. una segunda secuencia de saliente monocatenario complementario del tercer sitio de reconocimiento y escisión de enzima de restricción de Tipo IIS orientada para escindir en 3' de la secuencia de reconocimiento y dentro del segmento génico de unión del TCR del vector donante J.

De forma alternativa, el odeCDR3 puede estar compuesto de una molécula de ADNbc y/o ADN plasmídico que codifica el CDR3 flanqueado por dos enzimas de Tipo IIS consistentes con el primer componente (vector de entrada V-C) o segundo componente (vector donante J), orientado de forma que cuando se digiere, se generan un producto digerido que comprende los a, b y c descritos anteriormente y dos subproductos que codifican para fragmentos ADNbc cortos flanqueados por los sitios de Tipo IIS. Este ADNbc de odeCDR3 alternativo es compatible con la reacción de la enzima de restricción/ligasa, que no requiere necesariamente una digestión o procesamiento previo.

Como alternativa al uso de la configuración de vector de entrada V-C y vector donante J en un TORES, la configuración del vector de entrada J-C y el vector donante V también pueden utilizarse aplicando el mismo marco conceptual.

Métodos para utilizar un TORES para reconstituir un ORF del TCR de longitud completa

Puede utilizarse un TORES para reconstituir un ORF del TCR de longitud completa en un contexto de vector genético, a partir de la información de las secuencias, como se presenta para un par de cadenas TRA/TRB humanas en el Ejemplo 7.

Para que TORES reconstituya un ORF del TCR de longitud completa a partir de la información de secuencia, dado el recurso de un sistema de vectores bicomponente para una cadena TCR dada, el método comprende

- a. seleccionar un vector de entrada V-C,
- b. seleccionar un vector donante J,
- c. seleccionar un odeCDR3,
- d. combinar a, b y c para reaccionar con i) una o varias enzimas de restricción de Tipo IIS para escindir todos los sitios de reconocimiento y escisión con enzimas de restricción de Tipo IIS presentes en el vector de entrada V-C y en el vector donante J y ii) enzima ADN-ligasa y iii) someter la mezcla combinada a una reacción de termociclado,
- e. transformar el producto de reacción obtenido en la etapa d en un organismo hospedador seleccionable competente para la propagación del vector de ADN, y
- f. realizar una selección del organismo hospedador para obtener el marco de lectura abierto del TCR reconstituido de longitud completa en la cadena principal del vector de entrada V-C.

en donde, a) y b) se seleccionan sobre la base del vector seleccionado que codifica los segmentos génicos V, J y C en el ORF del TCR de longitud completa diana; c) se selecciona sobre la base de completar la secuencia ORF del TCR de longitud completa no codificada por los vectores de entrada V-C o donante J seleccionados en a) y b), y unidos por los segmentos variable y de unión codificados en los mismos; d) combinar los tres componentes seleccionados en una mezcla de reacción junto con una enzima de restricción que cortará la primera, segunda, tercera y cuarta secuencias de reconocimiento de enzimas de restricción de Tipo IIS en los vectores de entrada V-C y donante J; e) representa, de forma general, bacterias competentes para transformación; f) la selección del hospedador se basa en el primer marcador de selección positiva proporcionado por la cadena principal del vector de entrada V-C.

De forma general, un flujo de trabajo para seleccionar y definir los elementos genéticos de un ORF del TCR de longitud completa para la reconstitución implica la secuenciación de novo de cadenas TCR procedentes de tejidos del organismo diana. El Ejemplo 8 que sigue presenta la identificación de novo de un conjunto de pares de cadenas TRA/TRB específicos de un antígeno CMVH en un contexto restringido por HLA-B*07:02. El flujo de trabajo descrito en la Figura 13, incorpora transcripción inversa y amplificación basada en PCR de pares de cadenas de TCR procedentes de células individuales clasificadas con secuenciación de Sanger posterior. Existe un requisito para la información de secuencia de alta calidad que abarca los segmentos V, CDR3, J y C del ORF del TCR, que dicta el uno o varios enfoques de secuenciación específicos asumidos.

Por lo tanto, un método para seleccionar y reconstituir un marco de lectura abierto del TCR comprende

- a. Obtener una secuencia de marco de lectura abierto del TCR en donde dicha información de secuencia es suficiente para identificar i) el uso de un segmento génico variable ii) el uso de un segmento génico constante iii) el uso de segmento génico de unión iv) una secuencia CDR3 completa que abarca el límite de segmento génico variable hasta el límite de segmento génico de unión, y

b. seleccionar un vector de entrada V-C correspondiente a los segmentos génicos variables y constantes identificados en la etapa a. i) y a. ii), respectivamente, y

c. seleccionar un vector donante J correspondiente al segmento génico de unión identificado en la etapa a. iii), y

d. generar un odeCDR3 que corresponde a la secuencia de CDR3 identificada en la etapa a. iv), y

e. combinar b, c y d para reaccionar con i) una o varias enzimas de restricción de Tipo IIS para cortar todos los sitios de reconocimiento y escisión con enzimas de restricción de Tipo IIS presentes en el vector de entrada V-C y en el vector donante J y ii) enzima ADN-ligasa, iii) someter la mezcla combinada a una reacción de termociclado, y

f. transformar el producto de reacción obtenido de la etapa e. en un organismo hospedador seleccionable competente para la replicación del plásmido, y

g. realizar una selección del organismo hospedador para obtener el marco de lectura abierto del TCR reconstituido de longitud completa en la cadena principal del vector de entrada V-C.

en donde, a) se lleva a cabo con métodos de secuenciación bien conocidos del experto en la técnica capaz de obtener una secuencia de suficiente longitud y calidad como para identificar los cuatro elementos genéticos requeridos; b) y c) se seleccionan de una genoteca de TORES que contiene vectores necesarios; d) se sintetiza de novo o se selecciona de una genoteca de odeCDR3; e) se lleva a cabo en un solo recipiente de reacción.

Para seleccionar el vector de entrada V-C apropiado, el vector donante J y el odeCDR3, las secuencias diana del TCR se alinearon respecto a una genoteca de segmentos génicos V, C y J para buscar sus cadenas del TCR correspondientes para determinar el uso de los segmentos V, C y J de la cadena diana. Esta etapa de alineación y análisis de secuencia también debe permitir la definición de la secuencia codificante CDR3 y, por lo tanto, la definición de la secuencia odeCDR3. Por lo tanto, de forma general, dicho análisis de secuencia permite la selección de vectores de entrada V-C y vectores donantes J para la reconstitución de cadenas de TCR. El análisis también permite la síntesis de odeCDR3 para cada reacción de reconstitución en cadena. Este proceso se describe bien en el Ejemplo 8 y se resume como parte de la Figura 13.

Es deseable llevar a cabo la digestión de Tipo IIS y la ligación dependiente de ADN-ligasa (etapa e) en una reacción de un solo ciclo. Esto minimiza las etapas de procesamiento y se hace posible por el diseño del sistema, donde las enzimas de restricción de Tipo IIS cortan fuera de sus secuencias de reconocimiento, de forma que pueden generarse varios salientes únicos con una sola enzima, manteniendo así una clonación direccional eficiente del producto intermedio de reacción del vector donante J y odeCDR3 en la cadena principal del vector de entrada V-C.

De forma alternativa, la digestión por restricción de Tipo IIS y la ligación de ADN pueden hacerse en procedimientos secuenciales.

En el Ejemplo 8, la aplicación del TORES se ilustra en el contexto de la clasificación de células activada por fluorescencia de células individuales (FACS) de linfocitos T CD8 específicos de antígeno a partir de sangre periférica humana para transcripción inversa y amplificación basada en PCR de pares de cadenas TRA/TRB del TCR, seguido por secuenciación de Sanger. Este es un flujo de trabajo aplicable de forma general, en donde cualquier tejido puede ser la fuente de linfocitos T de cualquier vertebrado con mandíbulas, y las células pueden clasificarse según cualquier característica fenotípica. Es importante señalar que no es necesario teñir las células individuales clasificadas por especificidad del antígeno utilizando reactivos de multímeros de HLA.

El enfoque de secuenciación del TCR utilizado no se limita a ningún método o tecnología particular, siempre que se obtenga suficiente información de secuencia de alta calidad para que las características genéticas definidas anteriormente del uno o más ORF de TCR puedan definirse basándose en la dicha información de secuencia.

El uso de FACS para separar células individuales de forma que los pares de cadenas del TCR nativos puedan secuenciarse e identificarse es un método potente gracias a la información fenotípica precisa y detallada que puede recogerse con paneles de anticuerpos multiespecíficos. Sin embargo, existen otros métodos para repartir células, que incluyen: PCR en emulsión; enfoques de PCR digital que utilizan encapsulación de células en microfluidos; PCR digital que utiliza sustratos de reparto físico.

En general, es deseable obtener pares del TCR nativos a partir de un material fuente, ya que ambas cadenas de un par de TCR contribuyen al acoplamiento y reconocimiento de HLA-antígeno. Sin embargo, existen casos en los que puede ser deseable la recuperación de una sola cadena, tal como el análisis de alto rendimiento de una sola cadena contra una especificidad establecida. En tal caso, los TCR pueden amplificarse y/o secuenciarse a partir de células no separadas.

Métodos para utilizar TORES para generar ORF del TCR de longitud completa con secuencia diversificada

Un sistema TORES está idealmente adaptado para generar ORF del TCR de longitud completa diversificados en varios modos sistemáticos. Dicha diversificación sistemática puede aplicarse a flujos de trabajo de maduración por afinidad y/o funcional para cadenas del TCR. Dicha diversificación de secuencias diana de la cadena del TCR se describe bien en los Ejemplos 9 y 10.

Dichos métodos de diversificación de secuencias ORF del TCR siguen el mismo esquema general que en una reacción de reconstitución. La diversificación puede realizarse en múltiples reacciones de reconstitución paralelas, donde se genera una única variante del ORF del TCR por reacción. Sin embargo, en la mayoría de escenarios, es deseable generar un conjunto de variantes de ORF del TCR en una sola reacción. Cada uno de estos enfoques se logra proporcionando múltiples variantes de uno o más de cada componente genético (vector de entrada V-C, vector donante J, odeCDR3) en una reacción de reconstitución.

Como se describe en el Ejemplo 9, puede diversificarse sistemáticamente un ORF del TCR en la región CDR3 agregando un grupo de odeCDR3 con diversidad de secuencia posicional definida.

Un método para seleccionar y reconstituir un marco de lectura abierto de TCR para lograr la diversidad de ORF del TCR en la región CDR3, comprende por lo tanto

a. Obtener una secuencia de marco de lectura abierto del TCR en donde dicha información de secuencia es suficiente para identificar i) el uso de un segmento génico variable ii) el uso de un segmento génico constante iii) el uso de segmento génico de unión iv) una secuencia CDR3 completa que abarca el límite de segmento génico variable hasta el límite de segmento génico de unión, y

b. seleccionar un vector de entrada V-C correspondiente a los segmentos génicos variables y constantes identificados en la etapa a. i) y a. ii), respectivamente, y

c. seleccionar un vector donante J correspondiente al segmento génico de unión identificado en la etapa a, iii), y

d. generar dos o más odeCDR3 que corresponden a la secuencia de CDR3 identificada en la etapa a. iv), con una composición de secuencia variante, y

e. combinar b, c y d para reaccionar con i) una o varias enzimas de restricción de Tipo IIS para escindir todos los sitios de reconocimiento y escisión con enzimas de restricción de Tipo IIS presentes en el vector de entrada V-C y en el vector donante J y ii) enzima ADN-ligasa, iii) someter la mezcla combinada a una reacción de termociclado, y

f. transformar el producto de reacción obtenido de la etapa e. en un organismo hospedador seleccionable competente para la replicación del plásmido, y

g. realizar una selección del organismo hospedador para obtener el marco de lectura abierto del TCR reconstituido de longitud completa en la cadena principal del vector de entrada V-C,

en donde, a) se lleva a cabo con métodos de secuenciación bien conocidos para un experto en la técnica capaz de obtener una secuencia de suficiente longitud y calidad como para identificar los cuatro elementos genéticos requeridos; b) y c) se seleccionan de una genoteca de TORES que contiene vectores necesarios; d) se sintetiza de novo o se selecciona de una genoteca de odeCDR3; e) se lleva a cabo en un solo recipiente de reacción.

Dicho método puede lograrse agrupando todas las variantes de odeCDR3 en una reacción única para generar un grupo de secuencias diversificadas, pero puede lograrse igualmente probando cada variante de odeCDR3 en una reacción paralela.

La odeCDR3 variante puede generarse mediante una variedad de métodos muy conocidos por los expertos en la técnica. La selección de la posición y el alcance de la degeneración/diversidad de odeCDR3 pueden variar de un solo cambio de resto en una sola posición a una secuencia completamente redundante de toda la longitud del odeCDR3.

Como se describe en el Ejemplo 10, un ORF del TCR puede diversificarse sistemáticamente manteniendo la región CDR3 mediante la provisión de odeCDR3, pero diversificando el uso de los segmentos V, C y J proporcionando dos o más del vector de entrada V-C y/o el vector donante J a la reacción de reconstitución.

Un método para seleccionar y reconstituir un marco de lectura abierto del TCR utilizando segmentos V, C y/o J diversificados comprende, por lo tanto

a. Obtener una secuencia de marco de lectura abierto del TCR en donde dicha información de secuencia es suficiente para identificar i) el uso de un segmento génico variable ii) el uso de un segmento génico constante iii) el uso de segmento génico de unión iv) una secuencia CDR3 completa que abarca el límite de segmento génico variable hasta el límite de segmento génico de unión, y

- b. seleccionar dos o más vectores de entrada V-C no correspondientes a los segmentos génicos variables y constantes identificados en la etapa a. i) y a. ii), respectivamente, y
- 5 c. seleccionar dos o más vectores donantes J que no corresponden al segmento génico de unión identificado en la etapa a. iii), y
- d. generar un odeCDR3 que corresponde a la secuencia de CDR3 identificada en la etapa a. iv), y
- 10 e. combinar b, c y d para reaccionar con i) una o varias enzimas de restricción de Tipo IIS para escindir todos los sitios de reconocimiento y escisión con enzimas de restricción de Tipo IIS presentes en el vector de entrada V-C y en el vector donante J y ii) enzima ADN-ligasa, iii) someter la mezcla combinada a una reacción de termociclado, y
- f. transformar el producto de reacción obtenido de la etapa e. en un organismo hospedador seleccionable
- 15 g. realizar una selección del organismo hospedador para obtener el marco de lectura abierto del TCR reconstituido de longitud completa en la cadena principal del vector de entrada V-C.
- 20 en donde, a) se lleva a cabo con métodos de secuenciación bien conocidos para un experto en la técnica capaz de obtener una secuencia de suficiente longitud y calidad como para identificar los cuatro elementos genéticos requeridos; b) y c) se seleccionan de una genoteca de TORES que contiene vectores necesarios; d) se sintetiza de novo o se selecciona de una genoteca de odeCDR3; e) se lleva a cabo en un solo recipiente de reacción.
- 25 Tal método puede lograrse combinando todos los vectores de entrada V-C y/o variantes de vector donante J en una reacción única para generar un grupo de secuencias diversificadas, pero puede lograrse igualmente mediante la prueba de cada variante de vector en una reacción paralela.
- 30 Cada vector entrada V-C y donante J de una genoteca dada podría seleccionarse para proporcionar una cobertura completa de los segmentos génicos V, C y J.
- Cualquier combinación de diversificación de CDR3 y V, C y J descrita anteriormente podría utilizarse para generar grupos o genotecas de ORF del TCR diversificados.
- 35 Este sistema puede utilizarse para generar genotecas completamente sintéticas de ORF con cobertura completa del uso de segmentos génicos V, C y J nativos y características de CDR3 definidas.
- Características de un TORES con respecto a los métodos de reconstitución/diversificación
- 40 Como se ha mencionado anteriormente, es deseable llevar a cabo la reacción de ciclo de ensamblado con una sola enzima de restricción de Tipo IIS. Esto economiza el uso de enzima de restricción y ello es posible por la naturaleza de la acción de Tipo IIS, y el diseño de salientes monocatenarios únicos en el sistema de vectores bicomponente y odeCDR3.
- 45 De forma alternativa, hasta cuatro secuencias de reconocimiento de enzimas de restricción de Tipo IIS a través de los cuatro sitios de reconocimiento de Tipo IIS del vector de entrada V-C y el vector donante J.
- Para una clonación eficiente de los productos ORF del TCR, se ejecuta al menos una etapa de selección negativa durante el ensamblado de un ORF del TCR de longitud completa mediante el uso del TORES, seleccionada de
- 50 a. realizar la digestión con enzima de restricción del producto de reacción para eliminar el vector de entrada V-C precursor
- b. realizar una selección de genes suicidas para eliminar hospedadores competentes transformados con
- 55 vector de entrada V-C precursor y/o
- c. realizar la selección de células hospedadoras transformadas con el vector de entrada V-C precursor mediante la identificación de un indicador.
- 60 en donde, la selección negativa se utiliza para eliminar el vector de entrada V-C precursor que sigue sin digerir mediante la una o varias enzimas de Tipo IIS o que se ha religado a la forma parental después de la digestión.
- La eliminación del vector de entrada V-C precursor es crítica, considerando que la cadena principal del vector de entrada V-C y, por lo tanto, el marcador de selección positiva portado en esta cadena principal, se utiliza para la
- 65 selección positiva del vector que contiene el producto de reacción ORF del TCR de longitud completa.

En el presente contexto, la selección negativa se hace utilizando un sitio de enzima de restricción que se ha diseñado dentro del subproducto de reacción escindido del vector de entrada V-C (Figura 4d). Este procedimiento de selección negativa se describe en los Ejemplos 7 y 8.

- 5 Uno cualquiera, o una combinación de los métodos de selección negativa mencionados anteriormente, pueden utilizarse para eliminar el vector de entrada V-C precursor de los productos clonados finales. Dicho procedimiento de selección negativa puede omitirse si la eficiencia de la clonación se considera lo suficientemente alta para una recuperación eficiente los productos de reacción clonados.
- 10 Se requiere la selección de los vectores que contienen el ORF del TCR de longitud completa clonado en el organismo hospedador transformado para obtener el producto clonado final. Dichas selecciones son bien conocidas por los expertos en la técnica.
- 15 Un organismo hospedador representa una bacteria competente para transformación, y la selección de transformantes que contienen el ORF del TCR de longitud completa contenido en una cadena principal del vector de entrada V-C comprende la selección con antibióticos. Esto implica añadir antibiótico al sistema de cultivo en el que se introducen las células transformadas, y la resistencia a este antibiótico está codificada por el gen representado como el primer marcador de selección positiva en la cadena principal del vector de entrada V-C.
- 20 De forma alternativa, la eliminación de factores auxotróficos del sistema de cultivo en el que se introducen los transformantes puede ser una forma de selección positiva, en donde la complementación auxotrófica es conferida por un producto génico codificado en la cadena principal del vector de entrada V-C. Puede utilizarse una combinación de las selecciones positivas descritas anteriormente.
- 25 Genotecas de vector de entrada V-C y vector donante J que comprenden un TORES
Para que un TORES realice eficientemente la operación de reconstitución o diversificación de los ORF del TCR seleccionados, se requiere la construcción previa de una genoteca de vectores de entrada V-C y de vectores donantes J. A partir de esta genoteca, que es específica de cada forma de cadena TCR, se realizan selecciones para completar el uso de V/J/C de la secuencia ORF del TCR diana, cuando se complementa con la secuencia o de CDR3.
- 30 Las genotecas de vectores de entrada V-C y donantes J pueden construirse para contener todos los segmentos génicos variables, constantes y de unión del TCR de la línea germinal de un organismo que tiene dichos TCR. Dicha genoteca puede incluir también todas las combinaciones del vector de entrada V-C, así como para el TORES específico de locus de TRB presentado en el Ejemplo 3, en donde la genoteca se replica con ambos segmentos génicos constantes contra cada segmento variable.
- 35 Una genoteca de vectores de entrada V-C y donantes J pueden contener segmentos génicos V/J/C, de forma que la secuencia de aminoácidos traducida de la proteína codificada no esté modificada en relación con la secuencia de proteínas codificada por los segmentos génicos de la línea germinal.
- 40 Dicha genoteca permite el cambio en la secuencia de ácido nucleico subyacente para generar una genoteca desprovista por lo demás de secuencias de reconocimiento de Tipo IIS no deseadas, o de elementos de selección positivos y negativos. Los cambios en la secuencia de ácido nucleico subyacente también pueden utilizarse para la optimización de codones para la expresión de cadenas TCR reconstituidas en células de diferentes organismos huésped.
- 45 De forma alternativa, una genoteca de vectores de entrada V-C y donantes J pueden contener segmentos génicos V/J/C, de forma que la secuencia de aminoácidos traducida de la proteína codificada esté modificada en relación con la secuencia de proteínas codificada por los segmentos génicos de la línea germinal.
- 50 Dicha genoteca puede utilizarse para construir TCR con características optimizadas para distintos usos de diagnóstico o terapéuticos. Podrían utilizarse cambios en los restos o regiones del marco dentro de los segmentos génicos V/J/C para aumentar la expresión o estabilidad en varios escenarios, tales como la expresión de TCR como reactivos solubles. De forma similar, las alteraciones en las regiones marco que no están implicadas en los contactos directos de HLA-antígeno pueden utilizarse para alterar la capacidad de señalización de los TCR reconstituidos producidos por el TORES.
- 55 También pueden codificarse etiquetas de afinidad o secuencias inmunogénicas en regiones marco para ayudar en la purificación y/o detección de los TCR reconstituidos en aplicaciones posteriores.
- 60 Las genotecas de vectores de entrada V-C y donantes J pueden ensamblarse en el kit que comprende una combinación de
- 65 a. uno o más vectores de entrada V-C que codifican combinaciones de segmentos génicos variables y constantes, y

- b. uno o más vectores donantes J que codifican los segmentos génicos J, y opcionalmente
- c. uno o más odeCDR3 estandarizados con salientes monocatenarios coincidentes con el vector de entrada V-C y salientes monocatenarios del vector donante J como control positivo odeCDR3 y, opcionalmente
- d. un ORF del TCR de longitud completa preensamblado como referencia

en donde, a) y b) cubren la diversidad genética requerida de segmentos génicos de un organismo diana, con una secuencia de aminoácidos no modificada o modificada relevante para la aplicación prevista; c) se utiliza como control positivo en las reacciones de reconstitución d) se utiliza como control positivo en aplicaciones posteriores de ORF del TCR de longitud completa reconstituido con las genotecas de vector de entrada V-C y vector donante J proporcionadas en dicho kit.

Método para construir vectores de entrada V-C

El ensamblado de genotecas de vectores de entrada V-C y donantes J puede lograrse mediante una variedad de métodos de biología molecular bien conocidos para los expertos en la técnica, que incluyen la síntesis directa de ADN de los vectores requeridos. Sin embargo, se prefiere un enfoque combinatorio rápido y económico que utilice fragmentos que contengan segmentos génicos pequeños. Dicho método permite el ciclado rápido de las formas de vectores de entrada V-C y donantes J que son importantes para los flujos de trabajo de ingeniería del TCR. De forma similar, puede utilizarse una expansión rápida de genoteca de vectores de entrada V-C y vectores donantes J dada para explicar el polimorfismo de un solo nucleótido y otras diferencias alélicas de segmentos génicos del TCR entre individuos de una población dada, que puedan tener significado funcional o afectar a la inmunogenicidad de una secuencia del TCR en un contexto terapéutico pseudoallogénico. En los Ejemplos 1, 2 y 3 se describen bien métodos sistemáticos para ensamblar genotecas de vectores de entrada V-C y vectores donantes J.

Un método para construir una entrada V-C comprende combinar tres componentes de ADN seleccionados de

- a. un fragmento de clonación del segmento génico variable
- b. un fragmento de clonación del segmento génico constante
- c. una cadena principal del vector de entrada V-C

en donde, a) contiene el segmento génico variable; b) contiene el segmento génico constante; c) representa la cadena principal del vector de entrada V-C en la que se ensamblan los fragmentos génicos variables y constantes.

En el presente contexto, un fragmento de clonación del segmento génico variable comprende

- a. una secuencia de unión del cebador 5' para la propagación dependiente de la reacción en cadena de la polimerasa del fragmento
- b. una quinta secuencia de Tipo IIS orientada para cortar en la dirección 3'
- c. una primera secuencia del saliente que codifica un saliente monocatenario definido tras la acción de la enzima de Tipo IIs en la quinta secuencia de Tipo IIs de b.
- d. una secuencia de Kozak
- e. un segmento génico variable del TCR
- f. una primera secuencia de Tipo IIS
- g. un segmento de secuencia 5' de un marcador de selección negativa
- h. una sexta secuencia de Tipo IIS orientada para cortar en la dirección 5' de forma que se genere un saliente monocatenario dentro del segmento de secuencia 5' del marcador de selección negativa de g.
- i. una secuencia de unión del cebador 3' para la propagación dependiente de la reacción en cadena de la polimerasa del fragmento

en donde, b) y h) codifican secuencias de Tipo IIS utilizadas en el ensamblado del vector de entrada V-C; f) codifica secuencias de Tipo IIS utilizadas en una reacción de reconstitución; g) representa un fragmento de la secuencia del

marcador de selección negativa que se completa mediante un fragmento complementario proporcionado en el fragmento de clonación del segmento génico constante.

En la Figura 5 se presenta una representación esquemática del fragmento de clonación del segmento génico variable. Los Ejemplos 1 y 3 describen el formato y uso de estos fragmentos de clonación para ensamblar vectores de entrada V-C para los loci de TRA y TRB humanos, respectivamente.

Estos ejemplos definen fragmentos de clonación de segmentos génicos TRA variables humanos como SEQ0001 a SEQ0046, y fragmentos de clonación de segmentos génicos TRB variables humanos como SEQ0435 a SEQ0481.

Para ensamblar un vector de entrada V-C debe combinarse un fragmento de clonación de segmento génico variable con un fragmento de clonación de segmento génico constante.

Un fragmento de clonación del segmento génico constante comprende

- a. una secuencia de unión del cebador 5' para la propagación dependiente de la reacción en cadena de la polimerasa del fragmento
- b. una séptima secuencia de Tipo IIS orientada para cortar en la dirección 3' de forma que se genere un saliente monocatenario dentro del segmento de secuencia 3' del marcador de selección negativa de c.
- c. un segmento de secuencia 3' de un marcador de selección negativa
- d. una segunda secuencia de Tipo IIS
- e. un segmento génico constante del TCR
- f. una segunda secuencia del saliente que codifica un saliente monocatenario definido tras la acción de la enzima de Tipo IIS en la octava secuencia de Tipo IIS de g.
- g. una octava secuencia de Tipo IIS orientada para cortar en la dirección 5' de forma que se genera un saliente monocatenario en la secuencia del saliente de f.
- h. una secuencia de unión del cebador 3' para la propagación dependiente de la reacción en cadena de la polimerasa del fragmento

en donde, b) y g) codifican secuencias de Tipo IIS utilizadas en el ensamblado del vector de entrada V-C; g) codifica secuencias de Tipo IIS utilizadas en la operación de una reacción de reconstitución; c) representa un fragmento de la secuencia del marcador de selección negativa que se completa por un fragmento complementario proporcionado en el fragmento de clonación del segmento génico constante.

En la Figura 6 se muestra una representación esquemática del fragmento de clonación del segmento génico variable. Los Ejemplos 1 y 3 describen el formato y uso de estos fragmentos de clonación para ensamblar vectores de entrada V-C para los loci de TRA y TRB humanos, respectivamente.

Estos ejemplos definen el fragmento de clonación del segmento génico TRB variable humano como SEQ0047, y fragmentos de clonación de segmentos génicos TRB constantes humanos como SEQ0482 a SEQ0483.

Los fragmentos de clonación de segmentos génicos variables y constantes se combinan en una cadena principal del vector de entrada V-C para ensamblar un vector de entrada V-C,

Una cadena principal del vector de entrada V-C comprende

- a. un origen de replicación
- b. un primer marcador de selección positiva
- c. un elemento genético 5'
- d. una primera secuencia de reconocimiento de enzimas de restricción que permite la digestión de la cadena principal para crear un saliente monocatenario complementario al saliente creado dentro del fragmento de clonación del segmento génico variable por una acción de Tipo IIS durante la reacción de ensamblado
- e. una segunda secuencia de reconocimiento de enzimas de restricción que permite la digestión de la cadena principal para crear el fragmento de clonación del segmento génico constante por una acción de Tipo IIS durante la reacción de ensamblado

f. un elemento genético 3'.

en donde c) y f) representan elementos genéticos utilizados para la aplicación de los ORF del TCR reconstituidos en diferentes sistemas biológicos como se ha mencionado anteriormente.

En la Figura 7 se muestra una representación esquemática del fragmento de clonación del vector de entrada V-C. Los Ejemplos 1, 3 y 4 describen el formato y uso de diferentes formas de la cadena principal del vector de entrada V-C para ensamblar vectores de entrada V-C para loci de TRA y TRB, respectivamente.

Una cadena principal del vector de entrada V-C utilizada para la expresión transitoria posterior de los ORF del TCR reconstituidos en células de mamífero se define como SEQ0048, mientras que un par de cadenas principales del vector de entrada V-C utilizadas para el intercambio de casete mediado por recombinasa de los ORF del TCR reconstituidos se definen como SEQ0688 y SEQ0689,

El ciclado rápido de fragmentos de clonación génica variables y constantes en diferentes cadenas principales del vector de entrada V-C es un enfoque económico para alterar las características del contexto del vector de los ORF del TCR reconstituidos a partir de una combinación V/J/C determinada. Esto permite la replicación rápida de la reclasificación de genotecas de segmentos génicos del TCR nativos o sintéticos en diferentes aplicaciones biológicas.

En los ejemplos de fragmentos de clonación de segmentos génicos variables y constantes y cadenas principales del vector de entrada V-C citados en la presente descripción, la enzima de Tipo IIS utilizada para el ensamblado del vector es BbsI, mientras que la enzima de Tipo IIS utilizada para la reconstitución del ORF del TCR es BsaI. La cadena principal del vector de entrada V-C contiene sitios de reconocimiento de enzimas de restricción para Acc65I y XbaI, para crear salientes compatibles con los salientes 5' y 3' generados en los fragmentos de clonación génica variable y constante, respectivamente, por la acción de BbsI.

Puede utilizarse cualquier otra combinación de enzimas de restricción para las reacciones de ensamblado y reconstitución, siempre que satisfagan los criterios descritos anteriormente.

Preferiblemente, las secuencias de Tipo IIS utilizadas para ensamblar el vector de entrada V-C, designadas como la quinta, sexta, séptima y octava secuencias de Tipo IIS anteriores, son iguales.

De forma alternativa, podrían utilizarse hasta cuatro secuencias de reconocimiento de Tipo IIS distintas para este procedimiento.

Las secuencias de Tipo IIS utilizadas para ensamblar el vector de entrada V-C, designadas como la quinta, sexta, séptima y octava secuencias de Tipo IIS anteriores, deben ser distintas de las utilizadas para la reacción de reconstitución; la primera, segunda y cuarta secuencias de Tipo IIS designadas anteriormente.

El método para combinar los fragmentos de clonación de segmentos génicos variables y constantes con la cadena principal del vector de entrada V-C para ensamblar un vector de entrada V-C se describe en los Ejemplos 1 y 3.

Un método de ensamblado de un vector de entrada V-C comprende

a. Digestión de la cadena principal del vector de entrada V-C con las dos enzimas de restricción específicas de las secuencias de reconocimiento contenidas dentro de la cadena principal del vector de entrada V-C

b. Combinar la cadena principal del vector de entrada V-C digerida con el fragmento de clonación V y el fragmento de clonación C junto con la enzima ADN-ligasa y una o más enzimas de restricción de Tipo IIS que reconocen la quinta, sexta, séptima y octava secuencias de Tipo IIS, y someter la mezcla combinada a una reacción de termociclado, y

c. Transformación del producto de reacción resultante en un organismo hospedador competente y selección positiva utilizando el primer marcador de selección positiva para obtener el vector de entrada V-C completo

en donde; a) crea salientes monocatenarios complementarios a los generados en fragmentos de clonación variables y constantes por la acción de enzimas de Tipo IIS en b); b) representa la digestión de fragmentos variables y constantes para generar salientes que se ligarán con los salientes generados en a), y permitir la ligación de los salientes complementarios generados en los fragmentos de marcador de selección negativa para ligar los fragmentos variables y constantes; c) representa la selección y propagación del producto del vector de entrada V-C.

Características genéricas de vectores de entrada V-C y elementos de construcción

Las descripciones anteriores utilizan los loci de TRA y TRB humanos de HLA como plantilla para la definición de un sistema TORES, como también se detalla en los Ejemplos 1 a 4. Sin embargo, en un TORES puede ensamblarse una familia de segmentos génicos de cualquier locus de TCR. En la descripción anterior se dan directrices sobre dónde hay flexibilidad en el diseño de un sistema TORES, para ambos loci de TRA/TRB humanos, pero aplicables también a cualquier otro locus de cualquier organismo. En la sección actual, las características genéricas de un sistema se describen utilizando el diseño de TRA/TRB presentado en los Ejemplos 1 a 4 como patrón.

Para lograr un TORES para cualquier locus de TCR dado, se requieren cuatro elementos de secuencia específicos para una cadena de TCR codificada por dichos loci de TCR:

X – un fragmento de segmento génico variable (V)

Y – un fragmento de segmento génico constante (C)

Y' – parte de un segmento génico constante (C)

Z – un fragmento de segmento génico de unión (J)

Según la descripción anterior y los ejemplos que siguen, estas cuatro formas de elementos de secuencia de TCR pueden ensamblarse en varios contextos vectoriales para construir y desplegar un TORES para cualquier combinación V-J-C dada para cualquier cadena TCR dada. Por ejemplo, sistemas para el locus de TRG y TRD humanos nativos, formas de cadena del TCR variantes y/o sintéticas, o formas de cadena del TCR nativas de un organismo distinto al humano.

Los fragmentos de los segmentos génicos V y C son aquellos ensamblados en un vector de entrada V-C mediante un fragmento de clonación V y un fragmento de clonación C, respectivamente. Este proceso se describe bien en los Ejemplos 1 y 3.

La secuencia SEQ0690 representa un fragmento de clonación genérico del segmento génico variable, en donde la primera secuencia de Tipo IIS codifica el reconocimiento de la enzima Bsal, y la quinta y sexta secuencias de Tipo IIS codifican el reconocimiento de la enzima BbsI y, por lo tanto, el fragmento de clonación del segmento génico variable. El fragmento del segmento génico variable codificado se designa como XN_n , en donde X es la designación del segmento génico variable, N representa cualquier nucleótido y n representa el número de nucleótidos en esa secuencia.

La secuencia SEQ0691 representa un fragmento de clonación genérico del segmento génico constante, en donde la primera secuencia de Tipo IIS codifica el reconocimiento de la enzima Bsal, y la séptima y octava secuencias de Tipo IIS codifican el reconocimiento de la enzima BbsI y, por lo tanto, el fragmento de clonación del segmento génico constante. El fragmento del segmento génico constante codificado se designa como YN_n , en donde Y es la designación del segmento génico constante, N representa cualquier nucleótido y n representa el número de nucleótidos en esa secuencia.

Se utiliza una cadena principal del vector de entrada V-C representada por la secuencia SEQ0048 para construir vectores de entrada V-C adecuados para la expresión transitoria o marcos de lectura abiertos de TCR de longitud completa reconstituídos en una célula hospedadora de mamífero, en donde el primer y el segundo salientes se generan por la acción enzimática de Acc65I y XbaI de la cadena principal, respectivamente, y los elementos genéticos 5' y 3' están representados por el promotor constitutivo y la señal de poliadenilación, respectivamente.

Se utiliza una cadena principal del vector de entrada V-C representada por la secuencia SEQ0688 para construir vectores de entrada V-C adecuados para el intercambio de casete mediado por recombinasa con dianas genéticas coincidentes con secuencias de recombinasa heteroespecíficas adecuadas, en donde el primer y el segundo saliente se generan por acción de las enzimas Acc65I y XbaI de la cadena principal, respectivamente, y los elementos genéticos 5' y 3' están representados por secuencias de recombinasa heteroespecíficas de F14 y F15 que dirigen la actividad de flipasa, respectivamente.

Se utiliza una cadena principal del vector de entrada V-C representado por la secuencia SEQ0689 para construir vectores de entrada V-C adecuados para el intercambio de casete mediado por recombinasa con dianas genéticas con secuencias de recombinasa heteroespecíficas coincidentes, en donde el primer y segundo salientes se generan por acción de las enzimas Acc65I y XbaI de la cadena principal, respectivamente, y los elementos genéticos 5' y 3' están representados por secuencias heteroespecíficas de recombinasa FRT y F3 que dirigen la actividad de flipasa, respectivamente.

Combinando el fragmento de clonación V genérico descrito anteriormente, el fragmento de clonación C con una cadena principal seleccionada del vector de entrada V-C, los vectores de entrada V-C variantes pueden construirse para diferentes aplicaciones posteriores de ORF del TCR reconstituídos dentro de estos contextos de vectores variables.

la secuencia SEQ0692 representa un vector de entrada V-C genérico construido utilizando la cadena principal del vector de entrada V-C que tiene la secuencia SEQ0048. Este vector de entrada V-C resultante es adecuado para la expresión transitoria o para marcos de lectura abiertos del TCR de longitud completa reconstituido en una célula hospedadora de mamífero, en donde la primera y segunda secuencias de Tipo IIS codifican el reconocimiento de la enzima Bsal, y el fragmento de segmento génico variable se designa como XN_n , y el fragmento de segmento génico constante se designa como YN_n , en donde X e Y son designaciones para dichas secuencias, N representa cualquier nucleótido y n representa el número de nucleótidos en cada secuencia.

La secuencia SEQ0693 representa un vector de entrada V-C genérico construido utilizando la cadena principal del vector de entrada V-C que tiene la secuencia SEQ0688 está representado por la secuencia SEQ0693, que contiene las secuencias F14 y F15 adecuadas para el intercambio de casete mediado por recombinasa con dianas genéticas con secuencias de recombinasa heteroespecíficas coincidentes, en donde la primera y segunda secuencias de Tipo IIS codifican el reconocimiento de la enzima Bsal y el fragmento de segmento génico variable se designa como XN_n y el fragmento de segmento génico constante se designa como YN_n , en donde X e Y son designaciones para dichas secuencias, N representa cualquier nucleótido y n representa el número de nucleótidos en cada secuencia.

La secuencia SEQ0694 representa un vector de entrada V-C genérico construido utilizando la cadena principal del vector de entrada V-C que tiene la secuencia SEQ0689, que contiene las secuencias FRT y F3 adecuadas para el intercambio de casete mediado por recombinasa con dianas genéticas con secuencias de recombinasa heteroespecíficas coincidentes, en donde la primera y segunda secuencias de Tipo IIS codifican el reconocimiento de la enzima Bsal y el fragmento de segmento génico variable se designa como XN_n y el fragmento de segmento génico constante se designa como YN_n , en donde X e Y son designaciones para dichas secuencias, N representa cualquier nucleótido y n representa el número de nucleótidos en cada secuencia.

El uso de pares de vectores de entrada V-C con sitios de recombinasa heteroespecíficos diferentes puede utilizarse para cada cadena de un par de cadenas TCR, como se presenta en el Ejemplo 4 para el par de cadenas TRA y TRB humanas. Esto significa que en una aplicación posterior del TCR, las cadenas reconstituidas en este sistema TORES emparejado pueden suministrarse en un contexto genético con sitios receptores de recombinasa heteroespecíficos dobles. Por ejemplo, una línea celular que contenga dichos sitios receptores de recombinasa heteroespecíficos dobles para la integración genómica del par de cadenas del TCR.

La descripción anterior del vector de entrada V-C, y los componentes a partir de los cuales se ensamblan, se basa en el uso de las enzimas de Tipo IIS BbsI y Bsal para la construcción y operación, respectivamente. Sobre la base de la guía anterior, pueden utilizarse una o más enzimas Tipo IIS alternativas para cada una de estas tareas.

Método para construir vectores donantes J

De forma similar al método combinatorio descrito anteriormente para la construcción de vectores de entrada V-C, puede utilizarse un método combinatorio para construir vectores donantes J. En el presente método, un vector donante J se construye en un proceso de dos etapas que implica la construcción de un vector del casete de recepción J intermedio en una primera etapa, en el que las partes de los segmentos J se insertan en una segunda etapa para formar el vector donante J. En este contexto, un vector del casete de recepción J, como el vector donante J derivado del mismo, contiene un pequeño fragmento de un segmento génico constante, denominado parte C. Por lo tanto, sería deseable un método o construcción combinatoria rápida para iterar diferentes formas de vectores donantes J que requieran el uso diferencial de segmentos génicos constantes. Este método se describe bien de forma práctica en los Ejemplos 2 y 3.

Un método para construir un vector donante J comprende combinar cuatro componentes de ADN seleccionados de

- a. fragmento del casete de recepción J
- b. cadena principal del vector donante J
- c. vector del casete de recepción J
- d. parte del segmento J

en donde, a) contiene la parte C mencionada anteriormente y cuatro sitios de clonación de Tipo IIS distintos para el ensamblado del vector y la operación de reacción de reconstitución; b) es la cadena principal del vector en la cual se inserta uno para crear c); d) es la parte del segmento génico J que se combina con c) para crear un vector donante J.

Un fragmento del casete de recepción J comprende

- a. un primer saliente monocatenario en el extremo 5' complementario a la secuencia del saliente generado en la cadena principal del vector donante J
 - b. una tercera secuencia de Tipo IIS orientada para cortar en dirección 3' unida a una secuencia que forma un saliente monocatenario cuando la enzima actúa sobre él dirigida por una novena secuencia de Tipo IIS mencionada en c.
 - c. una novena secuencia de Tipo IIS orientada para cortar en la dirección 5' y para crear un saliente monocatenario mencionado en b.
 - d. un marcador de selección negativa
 - e. una décima secuencia Tipo de IIS orientada para cortar en dirección 3' y crear un saliente monocatenario en el extremo 5' de la secuencia descrita en f.
 - f. una parte c que representa una parte 5' del fragmento génico constante, con la secuencia de un saliente en el extremo 5' generada por la acción enzimática dirigida por la décima secuencia de Tipo IIS y la secuencia de un saliente en el extremo 3' generada por la acción enzimática dirigida por la cuarta secuencia de Tipo IIS mencionada en g.
 - g. una cuarta secuencia de Tipo IIS orientada para cortar en la dirección 5' de forma que se genera un saliente monocatenario dentro de la secuencia 5' que contiene la parte c mencionada en g.
 - h. un segundo saliente monocatenario en el extremo 3' complementario de la secuencia del saliente generado en la cadena principal del vector donante J
- en donde; a) y h) se utilizan para la clonación direccional en la cadena principal del vector donante J; b) y g) codifican secuencias de Tipo IIS utilizadas en la operación de una reacción de reconstitución; c) y e) codifican secuencias de Tipo IIS utilizadas en el ensamblado del vector donante J; d) representa un marcador de selección negativa para la eliminación del vector del casete de recepción J precursor durante el ensamblado del vector donante J; f) representa el fragmento del segmento génico constante que lleva el vector donante J.
- La Figura 8 muestra una representación esquemática del fragmento del casete de recepción J. Los Ejemplos 2 y 3 describen el formato y uso de estos fragmentos del casete de recepción J para ensamblar vectores del casete de recepción J para los loci de TRA y TRB humanos, respectivamente.
- En el presente contexto, los fragmentos del casete de recepción J se forman por la hibridación de oligonucleótidos monocatenarios parcialmente complementarios, lo que da como resultado un dúplex de ADN con salientes monocatenarios en cada extremo.
- Los fragmentos del casete de recepción J para el locus de TRA se describen como SEQ0098 y SEQ0099.
- Los fragmentos del casete de recepción J para el locus de TRB se describen como SEQ0578 y SEQ0581, en donde existen dos formas para representar los dos segmentos génicos constantes utilizados en el locus de TRB humano.
- En los ejemplos proporcionados, el fragmento del casete de recepción J, la enzima de Tipo IIS utilizada para el ensamblado del vector donante J es BbsI, mientras que la enzima de Tipo IIS utilizada para la reconstitución del ORF del TCR es BsaI.
- Una cadena principal del vector donante J comprende
- a. un origen de replicación
 - b. un segundo marcador de selección positiva
 - c. una primera secuencia de reconocimiento de enzimas de restricción que permite la digestión de la cadena principal para crear un saliente monocatenario complementario a un saliente del fragmento del casete de recepción J
 - d. una segunda secuencia de reconocimiento de enzimas de restricción que permite la digestión de la cadena principal para crear un saliente monocatenario complementario a un saliente del fragmento del casete de recepción J
- en donde c) y d) permiten la clonación direccional de los fragmentos del casete de recepción J utilizando secuencias salientes complementarias únicas.
- En la Figura se representa esquemáticamente una cadena principal del vector donante J 9 y se describe en detalle en los Ejemplos 2 y 3. Una secuencia de cadena principal del vector donante J se representa como SEQ0097.

La cadena principal del vector donante J contiene sitios de reconocimiento de enzimas de restricción para EcoRI y XhoI, para crear salientes compatibles con el saliente 5' y los salientes 3' proporcionados en los fragmentos de clonación génica del casete de recepción J.

Puede utilizarse cualquier otra combinación de enzimas de restricción para las reacciones de ensamblado y reconstitución, siempre que satisfagan los criterios descritos anteriormente.

El método para generar un vector del casete de recepción J mediante la combinación de un fragmento del casete de recepción J y la cadena principal del vector donante J se describe bien en los Ejemplos 2 y 3.

Se construye un vector del casete de recepción J combinando el fragmento del casete de recepción TRAJ y la cadena principal del vector donante J de TRA, en donde el método comprende

a. Digestión de la cadena principal del vector donante J con las dos enzimas de restricción específicas de las secuencias de reconocimiento contenidas dentro de la cadena principal del vector de entrada V-C

b. Combinando la cadena principal del vector donante J digerido con el fragmento del casete receptor J con la enzima ADN-ligasa

c. Transformación del producto de reacción resultante en un organismo hospedador competente y selección positiva utilizando dicho segundo marcador de selección positiva para obtener el vector del casete de recepción J

en donde; a) crea salientes monocatenarios complementarios a los contenidos dentro de los fragmentos del casete de recepción J; b) representa la ligación de salientes complementarios para formar el vector del casete de recepción J; c) representa la selección y propagación del producto del vector de recepción J.

La Figura 10 muestra una representación esquemática del vector del casete de recepción J. Los Ejemplos 2 y 3 describen la construcción de vectores del casete de recepción J para los loci de TRA y TRB humanos, respectivamente.

Un vector del casete de recepción J para el locus de TRA se describe como SEQ0098, mientras que los del locus de TRB se describen como SEQ0582 y SEQ0583. El locus de TRB utiliza dos segmentos génicos constantes, por lo tanto la réplica J de TRB de los vectores del casete de recepción J contienen secuencias de la parte C específicas de cada segmento génico constante.

Un vector del casete de recepción J se combina con una parte del segmento J para crear un vector donante J. La parte del segmento J codifica el volumen del segmento del gen J.

Dicha parte de segmento J comprende

a. Una primera secuencia del saliente monocatenario en el extremo 5' que es complementaria al saliente generado en el vector del casete de recepción J, cuando sobre él actúa la enzima dirigida por la novena secuencia de Tipo IIS

b. Una parte del segmento génico de unión

c. Una segunda secuencia del saliente monocatenario en el extremo 3' que es complementario al saliente generado en el vector del casete de recepción J, cuando sobre él actúa la enzima dirigida por la décima secuencia de Tipo IIS

en donde, a) y c) dirigen la clonación direccional de la parte del segmento J en el vector del casete de recepción J digerido mediante la una o varias enzimas de Tipo IIS proporcionadas en la reacción de ensamblado; b) codifica el segmento génico de unión que va a llevar el producto del vector donante J.

En la Figura 11 se muestra una representación esquemática de una parte del segmento J. Los Ejemplos 2 y 3 describen partes de segmentos J utilizadas para construir vectores donantes J para los loci de TRA y TRB humanos, respectivamente.

Las partes cortas de segmentos J que abarcan el uso de segmentos génicos J del locus de TRA humano se describen como SEQ0099 a SEQ0210, en donde la parte del segmento J se genera mediante el anillado parcial de oligonucleótidos monocatenarios complementarios, dando lugar a un dúplex de ADN con salientes monocatenarios en cada uno de los extremos.

Puede utilizarse una parte corta del segmento J para generar vectores donantes J con partes estandarizadas del segmento J de longitud mínima, como se presenta en los Ejemplos 2 y 3.

Puede utilizarse una parte larga del segmento J para generar vectores donantes J con cobertura extendida del segmento génico J para minimizar el tamaño del oDCR3 utilizado en las reacciones de reconstitución del TCR. El

acortamiento del elemento o de CDR3 ahorra costes de síntesis de dicho elemento y, también minimiza la carga mutacional en estos dúplex de oligonucleótido.

5 Las partes largas de segmentos J que abarcan el uso de segmentos génicos J del locus de TRA humano se describen como SEQ0211 a SEQ0322, en donde la parte del segmento J se genera mediante el anillado parcial de oligonucleótidos monocatenarios complementarios, dando como resultado un dúplex de ADN con salientes monocatenarios en cada uno de los extremos.

10 Las partes cortas de segmentos J que abarcan el uso de segmentos génicos J del locus de TRB humano se describen como SEQ0584 a SEQ0609, en donde la parte del segmento J se genera mediante el anillado parcial de oligonucleótidos monocatenarios complementarios dando como resultado un dúplex de ADN con salientes monocatenarios en cada uno de los extremos.

15 Las partes largas de segmentos J que abarcan el uso de segmentos génicos J del locus de TRB humano se describen como SEQ0610 a SEQ0635, en donde la parte del segmento J se genera mediante el anillado parcial de oligonucleótidos monocatenarios complementarios dando como resultado un dúplex de ADN con salientes monocatenarios en cada uno de los extremos.

20 En el presente contexto, las secuencias de Tipo IIS utilizadas para el ensamblado del vector donante J, designadas como la novena y décima secuencias de Tipo IIS anteriores, son iguales.

De forma alternativa, podrían utilizarse hasta dos secuencias de reconocimiento de Tipo IIS distintas para este procedimiento.

25 Las secuencias de Tipo IIS utilizadas para ensamblar el vector donante J, designadas como la novena y décima secuencias de Tipo IIS anteriores, deben ser diferentes de las utilizadas para la reacción de reconstitución; la primera, segunda, tercera y cuarta secuencias de Tipo IIS designadas anteriormente.

30 Las secuencias de Tipo IIS utilizadas para ensamblar el vector donante J, designadas como la novena y décima secuencias de Tipo IIS anteriores, son las mismas que las utilizadas para ensamblar el vector de entrada V-C; designadas como quinta, sexta, séptima y octava secuencias de Tipo IIS anteriores.

35 Estas secuencias de Tipo IIS utilizadas para ensamblar los vectores de entrada V-C y donantes J no tienen que ser iguales o distintas, ya que se tratan independientemente.

Una parte del segmento J se combina con un vector del casete de recepción J que contiene una parte C coincidente para generar un vector donante J.

40 Un vector donante J se construye combinando una cadena principal del vector donante J con una parte del segmento J, en donde el método comprende

a. Combinar el vector del casete de recepción J con la parte del segmento J, junto con la enzima ADN-ligasa y una o más enzimas de restricción Tipo IIS que reconocen la novena y décima secuencias Tipo IIS, y someter la mezcla combinada a una reacción de termociclado,

45 b. Transformación del producto de reacción resultante en un organismo hospedador competente y selección positiva utilizando dicho segundo marcador de selección positiva para obtener el vector donante J completo

50 en donde, la acción de la enzima de Tipo IIS en la novena y décima secuencias de Tipo IIS en la etapa a) crea salientes monocatenarios dentro del vector del casete de recepción J, a través de la escisión de la secuencia del marcador de selección negativa.

55 En la Figura 3 se presenta una representación esquemática del vector donante J. Los Ejemplos 2 y 3 describen el uso de partes del segmento J y un vector del casete de recepción J para construir vectores donantes J para los loci de los TRA y TRB humanos, respectivamente.

60 Los vectores donantes J que contienen segmentos J cortos del locus del TRA humano se describen como SEQ0323 a SEQ0378, mientras que los vectores donantes J que contienen segmentos J largos del locus del TRA humano se describen como SEQ0379 a SEQ0434.

Los vectores donantes J que contienen segmentos J cortos del locus del TRB humano emparejado con segmentos génicos constantes C1 se describen como SEQ0636 a SEQ0648, mientras que los vectores donantes J que contienen segmentos J largos del locus del TRA humano se describen como SEQ0662 a SEQ0674.

Los vectores donantes J que contienen segmentos J cortos del locus del TRB humano emparejado con segmentos génicos constantes C2 se describen como SEQ0649 a SEQ0661, mientras que los vectores donantes J que contienen segmentos J largos del locus del TRA humano se describen como SEQ0675 a SEQ0687.

5 En los ejemplos proporcionados, la enzima de Tipo IIS utilizada para ensamblar un vector donante J es BbsI, mientras que la enzima de Tipo IIS utilizada en la reconstitución de un TCR es BsaI. El marcador de selección negativa es una secuencia de la enzima de restricción NotI.

10 El método para construir un vector donante J conlleva también una etapa de selección negativa para eliminar el vector del casete de recepción J precursor antes de la transformación y selección.

En el ejemplo proporcionado, esta selección negativa implica una digestión NotI para eliminar el vector del casete de recepción J precursor antes de la transformación y selección.

15 Características genéricas de vectores donantes J y elementos de construcción

Como se ha descrito anteriormente y en el Ejemplo 5 más abajo, varias características de una genoteca de vectores de entrada y donante J pueden ser genéricas, siempre que los elementos de segmento génico del TCR se construyan en un contexto genérico para lograr un sistema TORES.

20 Para lograr un TORES para cualquier locus de TCR dado, se requieren cuatro elementos de secuencia específicos para una cadena de TCR codificada por dichos loci de TCR:

X – un fragmento de segmento génico variable (V)

25 Y – un fragmento de segmento génico constante (C)

Y' – parte de un segmento génico constante (C)

30 Z – un fragmento de segmento génico de unión (J)

Según la descripción anterior y los ejemplos que siguen, estas cuatro formas de elementos de secuencia de TCR pueden ensamblarse en varios contextos vectoriales para construir y desplegar un TORES para cualquier combinación V-J-C dada para cualquier cadena TCR dada. Por ejemplo, sistemas para el locus de TRG y TRD humanos nativos, formas de cadena del TCR variantes y/o sintéticas, o formas de cadena del TCR nativas de un organismo distinto al humano.

35 La parte del segmento génico C y el fragmento del segmento génico J son los ensamblados en el vector donante J a través de un fragmento del casete de recepción J y un fragmento de clonación J, respectivamente. Este proceso se describe bien en los Ejemplos 2 y 3.

Un fragmento del casete de recepción J genérico representado por las secuencias SEQ0695 y SEQ0696, en donde la tercera y cuarta secuencias de Tipo IIS codifican el reconocimiento de la enzima BsaI, y la novena y décima secuencias de Tipo IIS codifican el reconocimiento de la enzima BbsI, y el marcador de selección negativa representa una secuencia de reconocimiento de la enzima de restricción NotI. Dentro de esta secuencia, la parte C codificada se designa como Y'N_n, en donde Y' es la designación para la parte C, N representa cualquier nucleótido y n representa el número de nucleótidos en esa secuencia.

50 Los fragmentos del casete de recepción J se generan mediante hibridación de oligonucleótidos monocatenarios representados por el par de secuencias con la secuencia parcialmente complementaria.

Una cadena principal del vector donante J para construir un vector del casete de recepción J con el fragmento del casete de recepción J genérico anterior se representa por SEQ0097, en donde las enzimas de restricción EcoRI y XhoI se utilizan para generar salientes de ADN monocatenario necesarios para la inserción de la secuencia del fragmento del casete de recepción J.

55 Un vector del casete de recepción J construido mediante la combinación del fragmento del casete de recepción J generado a partir de los fragmentos del casete de recepción J representados como las secuencias SEQ0695 y SEQ0696, y una cadena principal del vector donante J representada por la secuencia SEQ0097, están representados por lo tanto por SEQ0697. Dentro de este vector del casete de recepción J, la tercera y cuarta secuencias de Tipo IIS codifican el reconocimiento de la enzima BsaI, y la novena y décima secuencias de Tipo IIS codifican el reconocimiento de la enzima BbsI, y el marcador de selección negativa representa una secuencia de reconocimiento de la enzima de restricción NotI. Como se deriva del fragmento del casete de recepción J, la parte C codificada se designa como Y'N_n, en donde Y' es la designación para la parte C, N representa cualquier nucleótido y n representa el número de nucleótidos en esa secuencia.

El vector del casete de recepción J tiene una parte del segmento J insertada para obtener un vector donante J.

Una parte genérica del segmento J utilizada para su inserción en el vector del casete de recepción J genérico representado por SEQ0697, se representa por lo tanto mediante las secuencias complementarias SEQ0698 y SEQ0699, en donde la parte del segmento genérico J se denota como ZN_n , en donde Z es la designación del segmento genérico J, N representa cualquier nucleótido, y n representa el número de nucleótidos en dicha secuencia.

Una parte de segmento J se genera por anillamiento los dos oligonucleótidos monocatenarios representados por SEQ0698 y SEQ0699.

Un vector donante J genérico ensamblado a partir de la combinación del vector del casete de recepción J representado por SEQ0697 y la parte del segmento J representado por las secuencias complementarias SEQ0698 y SEQ0699 está representado por lo tanto mediante la secuencia SEQ0700. Este vector donante J resultante contiene por lo tanto dos inserciones de secuencias anotadas de ZN_n e $Y'N_n$, en donde Z es la designación del segmento del gen J e Y' es la designación de la parte del segmento C, N representa cualquier nucleótido, y n representa el número de nucleótidos en dichas secuencias.

La descripción anterior del vector de entrada V-C, y los componentes a partir de los cuales se ensamblan, se basan en el uso de las enzimas de Tipo IIS BbsI y BsaI para la construcción y operación, respectivamente. Sobre la base de la orientación anterior, pueden utilizarse una o más enzimas Tipo IIS alternativas para cada una de estas tareas.

Uso de los ORF del TCR de longitud completa en contextos de vector definidos para diagnóstico y terapéuticos

Un desafío clave para aprovechar la inmunidad de los linfocitos T en el tratamiento de enfermedades es la diversidad interindividual de los sistemas HLA y TCR, junto con el contenido intraindividual masivo del repertorio de TCR. Esto significa que los medicamentos y estrategias terapéuticas que se basan en la evaluación y/o administración de los TCR requieren una evaluación sólida de la función del TCR en un contexto biológico adecuado.

Para lograr una evaluación precisa de pares de cadenas del TCR nativo se necesita un método de alto rendimiento fiable y rentable para administrar los ORF del TCR capturados en contextos de vectores definidos. Un TORES para cualquier par de cadenas dado es un medio para suministrar dichos ORF del TCR.

Un contexto de vector definido para los ORF del TCR puede ser, por ejemplo, un vector de expresión transitorio, por ejemplo, donde los TCR puedan caracterizarse rápidamente en la superficie de las células humanas como se describe en el Ejemplo 8. En este ejemplo, los TCR podrían secuenciarse y volverse a expresar para confirmar la especificidad esperada. Esto permite el uso de secuencias del TCR validadas para seguir la abundancia de clonotipos del TCR por secuencia o amplificación o ensayos basados en sondas para procedimientos diagnósticos durante intervenciones inmunoterapéuticas de forma personalizada. De forma similar, la captura y validación rápidas de pares de cadenas de TCR significa que dichos pares del TCR podrían administrarse en medicina personalizada, tal como la administración de construcciones de TCR solubles como compuesto medicinal, o la provisión del TCR en una célula efectora como agente terapéutico celular.

En un enfoque similar, un sistema TORES es idealmente adecuado para la manipulación de los ORF del TCR para cambiar la especificidad y/o la función, como se describe en los Ejemplos 9 y 10. Esta ingeniería puede utilizarse para mejorar o reducir la intensidad de la señalización y/o cambiar o redirigir la especificidad de los pares de cadenas de TCR hacia antígenos específicos de la enfermedad. Dichas secuencias del TCR modificadas podrían proporcionarse en estrategias inmunoterapéuticas personalizadas en lugar de pares de cadenas del TCR nativas.

Sistema de diseño por ingeniería genética y reconstitución del ORF del TCR bidireccional (TORES 2)

El sistema TORES descrito anteriormente trata cada cadena del TCR dentro de sistemas de genoteca de vectores de dos partes independientes. Por lo tanto, los productos de la operación de TORES son vectores discretos que codifican los ORF del TCR reconstituido. En un aspecto independiente, la presente invención proporciona un sistema alternativo para unir pares de cadenas recíprocas del TCR en un único vector producto con un método de dos etapas. Esto se logra en un sistema de genoteca de vectores de cinco componentes, en donde los vectores de entrada V-C modificados se combinan con los vectores donantes J del sistema TORES y odcDR3 para lograr una reconstitución de un par de cadenas del TCR en reacciones diferenciadas. A continuación, los vectores de entrada V-C modificados permiten una reconstitución de los ORF del TCR para que se unan en una segunda etapa mediante la adición de un quinto componente vectorial, el vector donante del terminador bidireccional (donante BiT), para lograr un vector que codifica los dos pares del OFR del TCR en sentido de codificación antiparalelo.

Estos TORES bidireccionales (TORES²) representan un sistema combinado de vectores de cinco componentes ya que las modificaciones realizadas en los elementos que codifican los vectores de entrada V-C de los pares de cadenas recíprocos no son simétricos. Lo que significa que los vectores de entrada V-C comprenden disposiciones distintas. Es decir, el ORF reconstituido de una cadena se escinde del vector producto de la primera etapa y se liga en orientación antisentido en el vector producto recíproco de la primera etapa. Por lo tanto, el emparejamiento de los vectores de entrada V-C es crítico, ya que uno de los vectores de entrada V-C originales del sistema TORES² representa la cadena principal del producto final y, por lo tanto, codifica los elementos genéticos 3' y 5' deseados para la aplicación posterior del par de TCR reconstituido y unido. Para mayor claridad, la descripción y los ejemplos presentados a continuación fijan la cadena del TRA como la cadena principal del producto final (p. ej., vector de entrada V-Ca) y el TRB como cadena integrada en esta cadena principal del producto final (p. ej., vector de entrada V-Cβ). La disposición recíproca es igualmente válida, así como cualquier otra combinación de pares recíprocos de cadenas del TCR.

Componentes del vector de entrada V-C de TORES²

Como se ha mencionado anteriormente, el sistema de genoteca de vectores de cinco componentes que comprende TORES² difiere del sistema TORES en la provisión de contextos de vector de entrada V-C modificados. Estas modificaciones incorporan sitios de Tipo IIS (marcados como de Tipo IIS n.º 2) y elementos de selección negativos (marcados como selección negativa n.º 2) distintos de los utilizados para la reconstitución del ORF del TCR en una primera etapa, para dirigir la unión de dichos ORF reconstituidos en un solo vector en una segunda etapa. En efecto, el sistema TORES² incorpora el sistema TORES dentro de un nuevo contexto de vector de entrada V-C. La descripción siguiente trata la TRA cadena como la cadena principal del producto final, y la cadena TRB como la ligada a la cadena principal de la TRA reconstituida en una orientación antisentido. El mismo marco se aplica a cualquier par de cadenas del TCR, y no hay razones particulares en cuanto a por qué cualquiera de las cadenas del TCR tenga que estar en una de las disposiciones de los vectores descritos, o en la otra.

El vector de entrada V-Ca contiene,

- a. origen de replicación,
- b. un primer marcador de selección positiva,
- c. elemento o elementos genéticos 5',
- d. secuencia de Kozak,
- e. segmento génico alfa variable del TCR,
- f. una primera secuencia de Tipo IIS, para el reconocimiento y corte específicos de sitio mediante una enzima de restricción de Tipo IIS (para una enzima de Tipo IIS n.º 1),
- g. un primer marcador de selección negativa,
- h. una segunda secuencia de Tipo IIS (para una enzima de Tipo IIS n.º 1),
- i. segmento génico constante del TCR,
- j. una tercera secuencia de Tipo IIS (para una enzima de restricción de Tipo IIS n.º 2),
- k. un segundo marcador de selección negativa,
- l. una cuarta secuencia de Tipo IIS (para una enzima de restricción de Tipo IIS n.º 2), y
- m. elemento o elementos genéticos en 3'

en donde, a) y b) se utilizan para la propagación y selección tanto del vector de entrada V-C precursor como del vector que contiene el TCR reconstituido en un hospedador bacteriano; c) y m) se utilizan para definir la aplicación posterior de los ORF de longitud completa reconstituidos y contiguos, y pueden incluir elementos como se ha descrito anteriormente para el TORES; d) asegura el inicio eficiente de la traducción en células eucariotas, lo que podría representar de forma alternativa una secuencia de Shine-Dalgarno para la regulación de la transición en procariotas y arqueas; e) representa el segmento génico variable (V) alfa del codón de inicio para un motivo en el extremo 5' de la región CDR3 conservada en todos los segmentos V de un sistema de vectores bicomponente determinado; f) representa una secuencia de reconocimiento de Tipo IIS n.º 1 que dirige una enzima de restricción de Tipo IIS para cortar en la dirección 5' y crear un saliente monocatenario estandarizado en el extremo 3' del segmento génico V; g) representa un marcador de selección negativa n.º 1 para eliminar el vector de entrada V-C

precursor durante el funcionamiento del sistema para reconstituir un ORF del TCR de longitud completa; h) representa una secuencia de reconocimiento de Tipo IIS n.º 1 que dirige una enzima de restricción de Tipo IIS para cortar en la dirección 3' y crear un saliente monocatenario estandarizado en el extremo 5' del segmento génico C; i) representa el segmento génico constante (C) de un motivo en el extremo 5' del segmento génico C conservado en todos los segmentos C de un sistema vectorial bicomponente específico, y que define el límite con el segmento J (véanse las Figuras 2 y 4); j) representa una secuencia de reconocimiento de Tipo IIS n.º 2 que dirige una enzima de restricción de Tipo IIS para cortar en la dirección 5' y crear un saliente monocatenario estandarizado en el extremo 3' después del segmento génico C, esta enzima de Tipo IIS es diferente de la primera y la segunda enzima de Tipo IIS n.º 1; k) representa un marcador de selección negativa n.º 2 para eliminar el vector del ORF del TCR precursor durante la operación de crear una construcción de vector bidireccional; es distinto del primer marcador de selección negativa; l) representa una secuencia de reconocimiento de Tipo IIS n.º 2 que dirige una enzima de restricción de Tipo IIS para cortar en la dirección 3' y crear un saliente monocatenario estandarizado antes del elemento genético 3', esta enzima de Tipo IIS es distinta de la primera y segunda enzimas de Tipo IIS n.º 1; m) representa el elemento o elementos genéticos 3'.

La disposición del vector de entrada V-Ca descrito anteriormente se representa en la Figura 20a.

De forma general, las enzimas primera y segunda de Tipo IIS (designadas como de Tipo IIS n.º 1) son iguales, pero también pueden ser diferentes. De forma similar, la tercera y cuarta enzimas de Tipo IIS (designadas como de Tipo IIS n.º 2) son generalmente iguales pero también pueden ser diferentes. Críticamente, la una o varias enzimas de Tipo IIS utilizadas en el primer y segundo sitios de Tipo IIS (Tipo IIS n.º 1) deben ser diferentes de la enzima o enzimas utilizadas en el tercer y cuarto sitios de Tipo IIS (Tipo IIS n.º 2).

Una cadena principal del vector de entrada V-Ca se representa por SEQ0756, como se presenta en el Ejemplo 11.

El Ejemplo 11 más abajo presenta un vector de entrada V-Ca del TORES² para el locus de TRA humano (SEQ0756), en donde algunas de las secuencias V/C se han modificado respecto a las incorporadas en el sistema TORES ya que están desprovistas de la enzima de Tipo IIS utilizada en el tercer y cuarto sitios (SEQ0757 a SEQ0763)

El vector de entrada V-C β contiene,

- a. origen de replicación,
- b. un primer marcador de selección positiva,
- c. elemento o elementos genéticos 5',
- d. una primera secuencia de Tipo IIS, para el reconocimiento y escisión específicos de sitio mediante una enzima de restricción de Tipo IIS n.º 2
- e. secuencia de Kozak,
- f. segmento génico beta variable del TCR,
- g. una segunda secuencia de Tipo IIS, para el reconocimiento y escisión específicos de sitio mediante una enzima de restricción de Tipo IIS (Tipo IIS n.º 1),
- h. un primer marcador de selección negativa,
- i. una tercera secuencia de Tipo IIS (Tipo IIS n.º 1),
- j. segmento génico constante del TCR,
- k. una cuarta secuencia de Tipo IIS (Tipo IIS n.º 2),
- l. un segundo marcador de selección negativa, y
- m. elemento o elementos genéticos 3'

en donde, a) y b) se utilizan para la propagación y selección tanto del vector de entrada V-C precursor como del vector que contiene el TCR reconstituido en un hospedador bacteriano; c) y m) opcionalmente definen la aplicación posterior del ORF del TCR de longitud completa reconstituido como se ha descrito anteriormente para el sistema TORES; d) representa una secuencia de reconocimiento de Tipo IIS n.º 2 que dirige una enzima de restricción de Tipo IIS para cortar en la dirección 3' y crear un saliente monocatenario estandarizado después del elemento genético 5' y antes de la secuencia de Kozak, esta enzima de Tipo IIS es distinta de la segunda y tercera enzimas de Tipo IIS n.º 1; e) asegura el inicio eficiente de la

traducción en células eucariotas, lo que podría representar de forma alternativa una secuencia de Shine-Dalgarno para la regulación de la transición en procariotas y arqueas; f) representa el segmento génico variable (V) del codón de inicio a un motivo en el extremo 5' de la región CDR3 conservada en todos los segmentos V en un sistema de vectores bicomponente determinado; g) representa una secuencia de reconocimiento de Tipo IIS n.º 1 que dirige una enzima de restricción de Tipo IIS para cortar en la dirección 5' y crear un saliente monocatenario estandarizado en el extremo 3' del segmento génico V; h) representa un marcador de selección negativa para eliminar el vector de entrada V-C precursor durante el funcionamiento del sistema para reconstituir un ORF del TCR de longitud completa; i) representa una secuencia de reconocimiento de Tipo IIS n.º 1 que dirige una enzima de restricción de Tipo IIS para cortar en la dirección 3' y crear un saliente monocatenario estandarizado en el extremo 5' del segmento génico C; j) representa el segmento génico constante (C) de un motivo en el extremo 5' del segmento génico C conservado en todos los segmentos C de un sistema de vectores bicomponente específico y que define el límite con el segmento J (véanse las Figuras 2 y 4); k) representa una secuencia de reconocimiento de Tipo IIS n.º 2 que dirige una enzima de restricción de Tipo IIS para cortar en la dirección 5' y crear un saliente monocatenario estandarizado después del segmento C pero antes del segmento del elemento genético 3', esta enzima de Tipo IIS es distinta de la segunda y tercera enzimas de Tipo IIS n.º 1; m) representa un segundo marcador de selección negativa que es distinto del primer marcador de selección negativa, l) representa el elemento o elementos genéticos 3'.

La disposición del vector de entrada V-C β descrito anteriormente se representa en la Figura 20b.

Los elementos genéticos en 3' y 5' son opcionales en el contexto del vector de entrada V-C β , ya que el ORF reconstituido dentro de este vector se escinde y se liga posteriormente en el contexto de la cadena principal del vector de entrada V-Ca. Es decir, la cadena principal del vector de entrada V-Ca.

De forma general, la segunda y la tercera enzima del Tipo IIS (designadas como Tipo IIS n.º 1) son iguales, pero también pueden ser diferentes. De forma similar, las enzimas primera y cuarta Tipo IIS (designadas como Tipo IIS n.º 2) son generalmente iguales pero también pueden ser diferentes. Críticamente, la una o varias enzimas de Tipo IIS utilizadas para el segundo y tercer sitios de Tipo IIS (Tipo IIS n.º 1) deben ser diferentes de la una o varias enzimas utilizadas para el primer y cuarto sitios (Tipo IIS n.º 2).

De forma general, el primer y segundo sitios de Tipo IIS (Tipo IIS n.º 1) del vector de entrada V-Ca son los mismos que el segundo y tercer del vector de entrada V-C β , pero esto no es necesario ya que estas reacciones pueden funcionar independientemente. La reconstitución de cadenas TRA y cadenas TRB en el sistema descrito podría realizarse en una sola reacción si el primer y segundo sitios de Tipo IIS del vector de entrada V-Ca fueran distintos de los del segundo y tercer sitios de Tipo IIS de los vectores de entrada V-C β .

De forma general, el tercer y cuarto sitios de Tipo IIS (Tipo IIS n.º 2) de los vectores de entrada V-Ca son los mismos que el primero y el cuarto de los vectores de entrada V-C β para que solo sea necesario añadir una única enzima de Tipo IIS (Tipo IIS n.º 2) a la segunda reacción de unión.

De forma general, el segundo marcador de selección negativa (selección negativa n.º 2) de cada vector de entrada V-Ca y V-C β es el mismo para facilitar la selección negativa eficiente de vectores parentales en la etapa adjunta de la actuación de TORES², pero también puede ser distinto.

Una cadena principal del vector de entrada V-C β se representa por SEQ0764, como se presenta en el Ejemplo 11.

El Ejemplo 11 más abajo presenta un vector de entrada V-C β del TORES² para el locus de TRB humano (SEQ0764), en donde algunas de las secuencias V/C se han modificado respecto a las incorporadas en el sistema TORES ya que están desprovistas de la enzima de Tipo IIS utilizada en el primer y cuarto sitios (SEQ0765 a SEQ0776)

Componentes J donante y odeCDR3 del TORES²

El vector donante J y el dúplex de oligonucleótidos que codifica el CDR3 son los mismos que ya se describieron para el TORES convencional mencionado anteriormente. Ambos se utilizan dentro de la una o varias reacciones de la primera etapa para reconstituir los pares recíprocos de cadenas TCR dentro de los contextos de cadena principal del vector de entrada V-C designados en un procedimiento idéntico al descrito anteriormente para el TORES.

Vector donante del terminador bidireccional (donante BiT) del TORES²

Los primeros cuatro componentes de la genoteca de vectores del TORES² representan los vectores de entrada V-Ca y V-C β junto con los vectores donantes J de cada una de las cadenas TRA y TRB de la descripción centrada en TRA/TRB. Nuevamente, cabe señalar que cualquier cadena TCR puede incorporarse a este sistema siguiendo los principios de diseño descritos, y que la configuración de TRA y TRB específica se ha fijado para mayor claridad.

El quinto componente representa el vector donante del terminador bidireccional (donante de BiT), que proporciona un elemento terminador bidireccional que está interpuesto por las cadenas TRA y TRB de sentido antiparalelo

reconstituídas en la reacción de la primera etapa, y unidas mediante este elemento terminador bidireccional en la reacción de la segunda etapa.

El terminador bidireccional se proporciona generalmente como un vector y también está rodeado por dos enzimas de restricción de Tipo IIS (Tipo IIS n.º 2). Es igualmente relevante proporcionar el elemento terminador bidireccional como una construcción de ADNbc lineal con estos sitios de Tipo IIS, o con salientes de ADN monocatenario diana sin sitios de Tipo IIS.

El vector que contiene el terminador bidireccional contiene,

- a. origen de replicación,
- b. un segundo marcador de selección positiva,
- c. secuencia del primer Tipo IIS (Tipo IIS n.º 2),
- d. terminador bidireccional, y
- e. secuencia del segundo Tipo IIS (Tipo IIS n.º 2)

en donde a) y b) se utilizan para la propagación y selección del vector que lleva el terminador bidireccional en un hospedador bacteriano, c) representa una secuencia de reconocimiento de Tipo IIS que dirige una enzima de restricción de Tipo IIS (Tipo IIS n.º 2) para cortar en la dirección 3' y crear un saliente monocatenario estandarizado, d) representa el terminador bidireccional que se utiliza para asegurar la terminación transcripcional en las cadenas de ADN sentido y antisentido durante la expresión de los TCR reconstituídos en la estructura TRA, cuando dicho vector que contiene un ORF del TCR reconstituído se transfecta a células de mamífero; e) representa una secuencia de reconocimiento de Tipo IIS (Tipo IIS n.º 2) que dirige una enzima de restricción de Tipo IIS para cortar en la dirección 5' y crear un saliente monocatenario estandarizado.

La disposición del vector donante BiT descrito anteriormente se representa en la Figura 21.

De forma general, el marcador de selección positiva contenido dentro del donante de BiT es distinto del de los marcadores de selección positiva que tienen los vectores de entrada V-Ca y V-Cβ, para minimizar el arrastre del donante de BiT precursor a la segunda etapa de reacción de unión.

De forma general, el primer y el segundo sitios de Tipo IIS (Tipo IIS n.º 2) del donante de BiT son iguales que tanto el tercer como el cuarto sitio de Tipo IIS de los vectores de entrada V-Ca y el primero y el cuarto de los vectores de entrada V-Cβ, para que solo sea necesario añadir una única enzima de Tipo IIS (Tipo IIS n.º 2) a la segunda reacción de unión.

La secuencia del elemento terminador bidireccional se representa por SEQ0777.

Funcionamiento de TORES² para reconstituir y unir los pares de ORF del TCR de longitud completa

El funcionamiento del TORES² es un proceso de dos etapas, que incorpora una primera etapa de reconstitución del ORF del TCR, y una segunda etapa de unión del ORF del TCR. El método para la reconstitución de los ORF del TCR es idéntico al descrito anteriormente para el TORES (véanse las Figuras 1 y 4). Los productos de la primera etapa son por lo tanto análogos a los productos de TORES, comprendiendo vectores que codifican los ORF del TCR de longitud completa que contienen la disposición de elementos V-CDR3-J-C. Sin embargo, el sistema TORES² proporciona estos ORF del TCR en un contexto de cadena principal distinto del sistema TORES, en donde la cadena principal de TORES² contiene sitios de clonación adicionales para facilitar la reacción de la segunda etapa de unión. Esta segunda etapa de reacción de enzima de restricción y ciclo de ligasa implica la unión de los ORF del TCR reconstituídos procedentes de la primera etapa, en un sentido antiparalelo y la interposición de un elemento terminador bidireccional proporcionado por el donante de BiT. El proceso general se representa en la Figura 22, que representa la disposición TRA/TRB TORES² descrita anteriormente.

El vector que codifica TRA reconstituído (Figura 22 a), el vector que codifica TRB (Figura 22 b) y el donante BiT (Figura 22 c) se hacen reaccionar en un solo tubo con enzima de Tipo IIS (Tipo IIS n.º 2) y ligasa y se someten a una reacción de enzima de restricción y ciclo de ligasa. La enzima de restricción de Tipo IIS digiere los tres vectores proporcionados para obtener tres subproductos de reacción y tres productos intermedios de reacción con salientes diseñados para la ligación direccional en el producto de reacción.

Los tres subproductos de reacción se representan por el elemento de selección negativa n.º 2 y los sitios de Tipo IIS n.º 2 procedentes del vector TRA (Figura 22d), la cadena principal abierta del vector que codifica TRB de la que se ha escindido el ORF de TRB reconstituído (Figura 22e) y la cadena principal abierta del donante BiT de la que se ha escindido el elemento terminador bidireccional (Figura 22f).

El primero de los intermedios de reacción es el vector TRA abierto, que codifica el ORF del TRA reconstituido en el contexto de la cadena principal del vector de entrada V-Ca (Figura 22g). El tercer sitio de Tipo IIS n.º 2 en el vector de entrada V-Ca original que se ha descrito anteriormente dirige la enzima para cortar en la dirección 5' y crear un saliente monocatenario estandarizado en el extremo 3' después del segmento génico C (Figura 22g, saliente $\pm$ 1-5'), mientras que el cuarto sitio de Tipo IIS n.º 2 dirige la escisión de la enzima en la dirección 3' para crear un saliente monocatenario estandarizado antes del elemento genético en 3' (Figura 22e, saliente $\pm$ 3-3').

El segundo intermedio de reacción es el fragmento que codifica ORF de TRB escindido del contexto del vector de entrada V-C β . El primer sitio de Tipo IIS n.º 2 en el vector de entrada V-C β descrito anteriormente dirige la enzima para cortar en la dirección 3' y crear un saliente antes de la secuencia de Kozak (Figura 22h, saliente $\pm$ 3-5'). El cuarto sitio de Tipo IIS n.º 2 dirige la enzima a cortar en la dirección 5' y crear un saliente después del segmento C (Figura 22h, saliente $\pm$ 2-3'). Cabe señalar que la Figura 22 h representa este intermedio en la orientación antisentido en la que se ligará en el contexto del vector producto.

El tercer intermedio de reacción es el elemento terminador bidireccional escindido del donante BiT, donde el primer sitio de Tipo IIS n.º 2 dirige la enzima para cortar en la dirección 5' y producir un saliente monocatenario estandarizado (Figura 22i, saliente $\pm$ 1-3'). El segundo sitio de Tipo IIS n.º 2 dirige la enzima para cortar en la dirección 3' y crear un saliente monocatenario estandarizado (Figura 22i, saliente $\pm$ 2-5').

Dentro de la reacción de ciclo de la enzima de restricción y de la ligasa, los salientes monocatenarios dirigen la ligación direccional mediada por ligasa en el vector producto, uniendo las cadenas del TRA y TRB en el contexto original de la cadena principal del vector de entrada V-Ca (Figura 22j).

Un TORES² puede construirse para cualquier colección de cadenas TCR. Para mayor claridad, los loci de TRA y TRB se utilizan como estudio de caso para la descripción. La construcción de dichos TORES² es igualmente aplicable en el contexto de los loci TRD y TRG que codifican el par de cadenas delta y gamma del TCR, respectivamente, o de hecho para cualquier sistema de pares de cadenas TRA/TRB, TRD/TRG o variante del TCR que se encuentra en los vertebrados con mandíbulas.

En los ejemplos siguientes se proporciona un sistema TORES² para los loci de TRA/TRB humanos, y se aplica a la reconstitución de un ORF del TCR humano modelo que posteriormente se integra en una línea celular coincidente modificada que contiene sitios RMCE coincidentes con los elementos genéticos 5' y 3' del contexto de la cadena principal del vector de entrada V-Ca original. Esto demuestra que TORES² se utiliza fácilmente junto con líneas celulares diseñadas por ingeniería genética coincidentes optimizadas para la integración y presentación de los ORF del TCR reconstituidos en una configuración de un dispositivo de dos partes similar a la descrita en la solicitud WO 2018/083318 A1.

A continuación se proporciona una tabla que muestra las secuencias mencionadas en la presente descripción.

Id. de sec.	Nombre	Ejemplo de referencia	Descripción
0001-0046	Fragmentos de clonación V de TRA	Ejemplo 1	Secuencias de ADN completas del fragmento V de TRA
0047	Fragmento de clonación de TRA constante C	Ejemplo 1	Secuencia de ADN completa del fragmento C
0048	Transitorio de la cadena principal del vector de entrada V-C	Ejemplo 1	Secuencia de ADN de la cadena principal del vector procedente partir del elemento genético en 5' que codifica el promotor constitutivo del CMV hasta el elemento genético en 3' que codifica la señal de poliadenilación de SV40pA
0049-0094	Secuencia de la genoteca de vectores de entrada V-C de TRA	Ejemplo 1	Secuencias de ADN de los fragmentos V-C clonados que componen la genoteca del vector de entrada V-C de TRA
0095-0096	Fragmentos del casete de recepción J de TRA	Ejemplo 2	Secuencia de ADN completa de los oligonucleótidos del fragmento del casete de recepción J de TRA
0097	Cadena principal del donante J	Ejemplo 2	La cadena principal del vector donante J se utiliza para insertar el fragmento del casete de recepción J de TRA para crear el vector del casete de recepción J de TRA
0098	Vector del casete de recepción J de TRA	Ejemplo 2	Véase más arriba

0099-0210	Parte del segmento corto J de TRA	Ejemplo 2	Codifica todos los aminoácidos desde el inicio del codón Phe del límite J de CDR3
0211-0322	Parte del segmento largo J de TRA	Ejemplo 2	Codifica más aminoácidos del extremo N de los aminoácidos del límite de CDR3
0323-0378	Vector donante corto J de TRA	Ejemplo 2	Genoteca del donante corto J de TRA
0379-0434	Vector donante largo J de TRA	Ejemplo 2	Genoteca del donante largo J de TRA
0435-0481	Fragmento de clonación V de TRB	Ejemplo 3	Secuencias de ADN completas para la clonación del fragmento V de TRB
0482-0483	Fragmentos de clonación de TRB constante C	Ejemplo 3	Secuencias de ADN completas para la clonación del fragmento C de TRB
0484-0577	Secuencia de la genoteca de vectores de entrada V-C de TRB	Ejemplo 3	Secuencias de los fragmentos V-C clonados que componen la genoteca del vector de entrada V-C de TRA
0578-0581	Fragmentos del casete de recepción J de TRB	Ejemplo 3	Los fragmentos del casete de recepción J de TRB se construyen e insertan en una cadena principal del vector donante de J para crear un vector del casete de recepción J de TRB
0582-0583	Vectores del casete de recepción J de TRB	Ejemplo 3	Véase más arriba
0584-0609	Parte del segmento corto J de TRB	Ejemplo 3	Secuencias de ADN de las partes cortas de segmento J de TRB
0610-0635	Parte del segmento largo J de TRB	Ejemplo 3	Secuencias de ADN de las partes largas de segmento J de TRB
0636-0648	Vector donante corto C1 J de TRB	Ejemplo 3	Genoteca del donante C1 corto J de TRB
0649-0661	Vector donante corto C2 J de TRB	Ejemplo 3	Genoteca del donante C2 corto J de TRB
0662-0674	Vector donante largo C1 J de TRB	Ejemplo 3	Genoteca del donante C1 largo J de TRB
0675-0687	Vector donante largo C2 J de TRB	Ejemplo 3	Genoteca del donante C2 largo J de TRB
0688	Estructura principal del vector de entrada V-C F14-F15	Ejemplo 4	Secuencia principal del vector de entrada V-C de F14/F15 utilizada para construir la genoteca de entrada V-C de TRA
0689	Estructura principal del vector de entrada V-C FRT-F3	Ejemplo 4	Secuencia principal del vector de entrada V-C de FRT/F3 utilizada para construir la genoteca de entrada V-C de TRB
0690	Fragmento de clonación V genérico XN_n (parte izquierda)	Ejemplo 5	Contiene el fragmento del segmento génico V necesario en el contexto de sitios de clonación adecuados para el ensamblado final del vector de entrada V-C (secuencia completa: 0690- XN_n -0745)
0691	Fragmento de clonación C genérico YN_n (parte izquierda)	Ejemplo 5	secuencia completa: 0691- YN_n -0746
0692	Vector de entrada V-C transitorio genérico XN_n - YN_n (parte izquierda)	Ejemplo 5	secuencia completa: 0692- XN_n -0747- YN_n -0748
0693	Vector de entrada V-C F14-F15 genérico XN_n - YN_n (parte izquierda)	Ejemplo 5	secuencia completa: 0693- XN_n -0749- YN_n -0750
0694	Vector de entrada FRT-F3 V-C genérico XN_n - YN_n (parte izquierda)	Ejemplo 5	secuencia completa: 0694- XN_n -0751- YN_n -0752

0695-0696	Oligonucleótidos del casete de recepción J genérico Y'N _n (parte izquierda)	Ejemplo 5	secuencia completa de 0695: 0695-Y'N _n -TGAGACCC; secuencia completa de 0696: 0696-Y'N _n -0753
0697	Vector de recepción J genérico Y'N _n (parte izquierda)	Ejemplo 5	secuencia completa: 0697-Y'N _n -0754
0698-0699	Oligonucleótidos de segmento J genérico ZN _n	Ejemplo 5	secuencia completa de 0698:ctcgZN _n ; secuencia completa de 0699: Y'n(4)ZN _n ; para 0698 y 0699, la secuencia ficticia "aaaaaaaa" se incluyó en el listado de secuencias debido al requisito mínimo de 10 nucleótidos del ST.25
0700	Vector donante J genérico ZN _n -Y'N _n (parte izquierda)	Ejemplo 5	secuencia completa: 0700-ZN _n -Y'N _n -0755
0701-0702	Copia de las secuencias completas de JG9 TRA y TRB	Ejemplo 6	Secuencias de ADN de las cadenas TRA y TRB
0703-0706	Secuencias de odeCDR3 de JG9	Ejemplo 6	odeCDR3 sintetizado para las cadenas TRA y TRB
0707-0718	Resultados de la secuencia del Ejemplo 8	Ejemplo 8	
0719-0742	Recolección de odeCDR3 para reconstitución del Ejemplo 8	Ejemplo 8	
0743-0744	odeCDR3s de TRA redundante del Ejemplo 9	Ejemplo 9	oligonucleótidos de odeCDR3
0745	Fragmento de clonación V genérico XN _n (parte derecha)	Ejemplo 5	Contiene el fragmento del segmento génico V necesario en el contexto de sitios de clonación adecuados para el ensamblado final del vector de entrada V-C (secuencia completa: 0690-XN _n -0745)
0746	Fragmento de clonación C genérico YN _n (parte derecha)	Ejemplo 5	secuencia completa: 0691-YN _n -0746
0747	Vector de entrada V-C transitorio genérico XN _n -YN _n (parte media)	Ejemplo 5	secuencia completa: 0692-XN _n -0747-YN _n -0748
0748	Vector de entrada V-C transitorio genérico XN _n -YN _n (parte derecha)	Ejemplo 5	secuencia completa: 0692-XN _n -0747-YN _n -0748
0749	Vector de entrada F14-F15 V-C genérico XN _n -YN _n (parte media)	Ejemplo 5	secuencia completa: 0693-XN ⁿ -0749-YN _n -0750
0750	Vector de entrada V-C F14-F15 genérico XN _n -YN _n (parte derecha)	Ejemplo 5	secuencia completa: 0693-XN ⁿ -0749-YN _n -0750
0751	Vector de entrada FRT-F3 V-C genérico XN _n -YN _n (parte media)	Ejemplo 5	secuencia completa: 0694-XN _n -0751-YN _n -0752
0752	Vector de entrada V-C FRT-F3 genérico XN _n -YN _n (parte derecha)	Ejemplo 5	secuencia completa: 0694-XN _n -0751-YN _n -0752
0753	Oligonucleótidos del casete de recepción J genérico Y'N _n (parte derecha)	Ejemplo 5	secuencia completa: 0696-Y'N _n -0753
0754	Vector de recepción J genérico Y'N _n (parte derecha)	Ejemplo 5	secuencia completa: 0697-Y'N _n -0754

0755	Vector donante J genérico ZN _n -Y'N _n (parte derecha)	Ejemplo 5	secuencia completa: 0700-ZN _n -Y'N _n -0755
0756	Estructura principal del vector de entrada V-Cα FRT/F3	Ejemplo 11	Estructura principal del vector de entrada V-Cα para TORES2
0757-0763	Secuencias V-C de TRA modificadas	Ejemplo 11	Secuencias de ADN completas del fragmento V de TRA, modificadas para TORES2
0764	Estructura principal del vector de entrada V-Cβ FRT/F3	Ejemplo 11	Cadena principal del vector de entrada V-Cβ para TORES2
0765-0776	Secuencias V-C de TRB modificadas	Ejemplo 11	Secuencias de ADN completas del fragmento V de TRB, modificadas para TORES2
0777	Elemento terminador bidireccional	Ejemplo 11	Elemento terminador bidireccional (sitio Esp3I a Esp3I)
0778-0779	Par TRA/TRB modelo	Ejemplo 11	especificidad conocida para un antígeno restringido por HLA-A*02: 01.

Lista de abreviaturas

APC	Célula presentadora de antígeno
BiT	Donante del terminador bidireccional
CAR-T	Linfocitos T CAR
CAR	Receptor de antígeno quimérico
CDR	Regiones determinantes de la complementariedad
Segmento C	Segmento constante (también región C)
CMV	Citomegalovirus
DAMPS	Patrones moleculares asociados a peligros
DC	Células dendríticas
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADNbc	Molécula de ácido desoxirribonucleico bicatenario
Segmento D	Segmento de Diversidad (también región D)
eAPC	Célula presentadora de antígeno diseñada por ingeniería genética
FACS	Clasificación de células activadas por fluorescencia
FRT	Diana de reconocimiento de flipasa
GEM	Linfocitos T reactivos a micolilo codificados por la línea germinal de linfocitos T
GFP	Proteína fluorescente verde
HLAI	HLA de clase I
HLAII	HLA de clase II
HDR	Recombinación dirigida por homología
HLA	Antígeno leucocitario humano
IgSF	Superfamilia de inmunoglobulinas
IRES	Sitio interno de entrada al ribosoma
ITAM	Motivo de activación basado en tirosina del inmunorreceptor
Linfocitos T iNK	Linfocitos T natural killer invariantes
Segmento J	Segmento de unión (también región J)
MACS	Clasificación celular activada magnéticamente
MAGE	Antígeno asociado a melanoma
MAIT	Linfocitos T invariantes asociados a la mucosa
odeCDR3	Dúplex de oligonucleótidos que codifica CDR3
ORF	Marco de lectura abierto
PAMPS	Patrones moleculares asociados a patógenos
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
RMCE	Intercambio de casete mediado por recombinasa
RFP	Proteína fluorescente roja
RT	Transcripción inversa
ADN	Ácido ribonucleico

SH2	Homología Src 2
Células T	Linfocitos T
TCR	Receptor de linfocitos T
TRA	TCR alfa
TRB	TCR beta
TRD	TCR delta
TRG	TCR gamma
TAA	Antígenos asociados a tumores
TORES	Sistema de ingeniería y reconstitución del ORF del TCR
TORES2	Sistema de ingeniería y reconstitución del ORF del TCR bidireccional
Segmento V	Segmento variable (también región V)
β2M	β2 microglobulina
ZAP-70	Proteína asociada a la cadena ζ de 70 kDa

Lista de definiciones

- 5 **Par de cadenas del TCR complementarias:** dos cadenas del TCR, en donde las proteínas traducidas pueden formar un TCRsp en la superficie de una célula presentadora de TCR
- Afinidad:** Parámetro cinético o de equilibrio de la interacción entre dos o más moléculas o proteínas
- 10 **Alelo:** Forma variante de un gen específico
- Amplicón:** una fragmento de ADN o ARN que es el origen y/o un producto de amplificación artificial utilizando diversos métodos, que incluyen PCR.
- 15 **Analito:** una entidad que interesa identificar y/o medir y/o interrogar
- Anticuerpo:** Molécula de afinidad expresada por células especializadas del sistema inmunitario denominadas linfocitos B y que contiene dos cadenas. Los linfocitos B expresan un repertorio muy grande y muy diverso de anticuerpos que generalmente no se unen a proteínas propias, pero que pueden unir y neutralizar patógenos o toxinas que pudieran suponer una amenaza para el hospedador. Los anticuerpos nativos o modificados artificialmente se utilizan frecuentemente como reactivos de afinidad.
- 20 **APC:** Célula presentadora de antígeno. Una célula que puede presentar un antígeno en su superficie celular, generalmente en el contexto de un HLA.
- 25 **C (segmento):** Segmento constante. También región constante. Uno de los segmentos génicos que se utiliza para ensamblar el receptor de linfocitos T. La región c es un segmento distinto que en vez de dirigir la diversidad del TCR, define su función general en el sistema inmunitario.
- 30 **Fragmento de clonación C:** Fragmento de clonación constante. También denominado fragmento de clonación de segmento génico C. Construcción que lleva una parte de un segmento génico C utilizado para construir un vector de entrada V-C.
- Parte C:** Parte constante. Una pequeña parte de la secuencia constante del segmento génico llevada por un fragmento del casete de recepción J, el casete de recepción J y el vector donante J para estandarizar las secuencias salientes para la actuación del TORES para reconstituir los ORF del TCR.
- 35 **CDR:** regiones determinantes de la complementariedad. Secuencias cortas en el extremo orientado hacia el antígeno de los TCR y anticuerpos que desempeñan la mayor parte de la función de unión a dianas. Cada anticuerpo y TCR contiene seis CDR y generalmente son la parte más variable de las moléculas, que permiten la detección de un gran número de diversas moléculas diana.
- 40 **Elemento cis actuante:** regiones de ADN antisentido que regulan la transcripción de ORF cercanos.
- 45 **D (segmento):** Segmento de diversidad. También región D. Uno de los segmentos génicos que se utiliza para ensamblar el receptor de linfocitos T. Cada individuo tiene un gran número de variaciones distintas de estas regiones, permitiendo así armar linfocitos T con una variedad muy grande de TCR distintos.
- Diversificación:** Proceso donde se diversifica una secuencia.
- 50

ADN: Ácido desoxirribonucleico. Nombre químico de la molécula que forma el material genético que codifica genes y proteínas.

Endógeno: Sustancia que se origina dentro de una célula

Elemento regulador condicional eucariota: Secuencia de ADN que puede alterar la actividad de un promotor, que puede inducirse o reprimirse bajo condiciones definidas.

Promotor eucariótico: Secuencia de ADN que codifica un sitio de unión a la ARN polimerasa y elementos de respuesta. La secuencia de la región promotora controla la unión de la ARN polimerasa y de los factores de transcripción; por lo tanto, los promotores tienen gran importancia en la determinación del lugar y el momento en que se expresará el gen de interés.

Terminador eucariota/terminador de señal: Secuencia de ADN reconocida por factores proteicos que se asocian con la ARN polimerasa II y que desencadenan el proceso de terminación de la transcripción. También codifica la señal poli-A

FACS/citometría de flujo: Clasificación de células activadas por fluorescencia. La citometría de flujo es una técnica por la cual las células individuales pueden analizarse en masa para determinar la expresión de marcadores intracelulares y de superficie celular específicos. Una variación de esa técnica, la clasificación celular, permite recuperar las células que llevan un conjunto definido de marcadores para un análisis posterior.

Flipasa: Una recombinasa (Flipasa, Flp) derivada del plásmido de 2 µm de la levadura del pan *Saccharomyces cerevisiae*.

Sitios de recombinasa heteroespecíficos: Secuencia de ADN reconocida por una enzima recombinasa para estimular el entrecruzamiento de dos moléculas de ADN

HLA I: Antígeno leucocitario humano de clase I. Un gen que se expresa en todas las células nucleadas humanas y se exporta a la superficie celular donde presenta como carga fragmentos cortos, péptidos o proteínas internas a los receptores de linfocitos T. De este modo presenta fragmentos de infecciones potenciales en curso junto con proteínas intrínsecas. El HLA I puede presentarse además en forma de péptidos de carga que se añaden al medio de cultivo, generados a partir de proteínas expresadas a partir de elementos génicos introducidos o generados a partir de proteínas captadas por la célula. Los genes HLA de clase I son polimórficos, lo que significa que es probable que diferentes individuos tengan variaciones en el mismo gen, dando lugar a una variación en la presentación. Relacionado con el HLA de clase II.

HLA II: Antígeno leucocitario humano de clase II. Gen que se expresa en células específicas humanas que coordinan y ayudan a la respuesta inmune adaptativa, por ejemplo, en células dendríticas. Relacionado con el HLA de clase I. Las proteínas HLA de clase II se exportan a la superficie celular, donde presenta como carga fragmentos cortos, péptidos, proteínas externas a receptores de linfocitos T. De este modo presenta fragmentos de infecciones potenciales en curso junto con proteínas intrínsecas. El HLA II puede presentarse además en forma de péptidos de carga que se añaden al medio de cultivo, generados a partir de proteínas expresadas a partir de elementos génicos introducidos o generados a partir de proteínas captadas por la célula. Los genes HLA de clase II son polimórficos, lo que significa que es probable que diferentes individuos tengan variaciones en el mismo gen, dando lugar a una variación en la presentación.

Brazos homólogos: Tramo de ADN que tiene una identidad de secuencia casi idéntica a un brazo homólogo del complemento y que, por lo tanto, favorece el intercambio de dos moléculas de ADN por el proceso celular de la reparación dirigida por homología.

Vigilancia inmunitaria: Proceso en el que el sistema inmunitario detecta, y es activado por, infecciones, neoplasias malignas u otras alteraciones potencialmente patógenas.

Aislante: Secuencia de ADN que evita que un gen se vea influido por la activación o represión de genes cercanos. Los aislantes también impiden la descondensación de la heterocromatina de un gen silenciado a un gen transcrito activamente.

Integración: Ligación física de una secuencia de ADN en un cromosoma de una célula

Sitio interno de entrada al ribosoma (IRES): Secuencia de ADN que, una vez transcrita, codifica un elemento de ARN que permite el inicio de la traducción de una forma independiente de la protección

J (segmento): Segmento de unión. Además, región J. Uno de los segmentos génicos que se utiliza para ensamblar el receptor de linfocitos T. Cada individuo tiene un gran número de variaciones diferentes de estas regiones, lo que permite armar linfocitos T con una variedad muy grande de TCR diferentes.

Vector de entrada J-C: Vector del sistema de vectores bicomponente que lleva los segmentos J y C del TCR y que recibe secuencias de los vectores donantes V y o de CDR3 durante la reconstitución de un ORF del TCR de longitud completa.

Cadena principal del donante J: Se une a la cadena principal del donante. La cadena principal del vector en la que se inserta un fragmento del casete de recepción J para crear un vector del casete de recepción J.

Vector donante J: Vector del sistema de vectores bicomponente que lleva el segmento J del TCR, y dona este segmento al vector de entrada V-C durante la reconstitución de un ORF del TCR de longitud completa.

Fragmento del casete de recepción J: Fragmento del casete de recepción de unión. Un fragmento de clonación que lleva una parte C utilizada para construir un vector del casete de recepción J.

Vector del casete de recepción J: Unión al vector del casete de recepción. El vector, que lleva una parte C, en la que se inserta una parte de segmento J para crear un vector donante J.

Parte del segmento J: Parte del segmento de unión. Construcción de ADN que lleva una parte de un segmento génico J que se inserta en un vector del casete de recepción J para generar un vector donante J.

K es un código de nucleótido que indica ceto (K = G o T)

Secuencia de Kozak: Secuencia corta requerida para la iniciación eficiente de la traducción

M es un código de nucleótido que indica aMino (M = A o C)

HLA de clase I principal: una familia de APX que comprende los genes HLA-A, HLA-B y HLA-C

Coincidente: Cuando dos componentes codifican elementos genéticos que dirigen y restringen la interacción entre los componentes complementados

Sitio de reconocimiento de meganucleasa: Secuencia de ADN reconocida por una endodesoxirribonucleasa, denominada comúnmente meganucleasa

Elemento genético móvil: Secuencia de ADN que puede permitir la integración de ADN con la actividad de enzimas transposasa

N es un código de nucleótido que indica cualquier nucleótido (N = A, T, C o G)

Natural: una entidad de origen natural en la célula

Marcador de selección negativa: Marcador seleccionable que confiere selección negativa a un vector y/u organismo hospedador que tiene dicho vector portador del marcador

odeCDR3: dúplex de oligonucleótidos que codifica para regiones determinantes de la complementariedad. Construcción sintética que tiene la secuencia genética CDR3 con salientes terminales, que se utiliza junto con el sistema de vectores bicomponente para reconstituir un ORF del TCR de longitud completa.

Origen de replicación: una secuencia concreta de un vector, plásmido o genoma en la que se inicia la replicación.

ORF: Marco de lectura abierto. Extensión de material genético que codifica un marco de traducción para la síntesis de una proteína (polipéptido) por el ribosoma

Saliente: Una secuencia monocatenaria en el extremo de una molécula de ácido nucleico bicatenaria. A menudo denominados extremos cohesivos.

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa en la cual una molécula de ADN diana específica se amplifica exponencialmente

Péptido: Cadena corta de aminoácidos de 6 - 30 aminoácidos de longitud

Análisis fenotípico: Análisis de las características observables de una célula.

Plásmido: Construcción genética que puede replicarse independientemente de los cromosomas, de forma típica una cadena de ADN circular pequeña en el citoplasma de una bacteria o un protozoo.

Polimórfico: Presente en formas diferentes en individuos de la misma especie por la presencia de alelos diferentes del mismo gen.

Polipéptido: Proteína que consiste en untira de péptidos que forman una estructura tridimensional.

Marcador de selección positiva: Un marcador seleccionable que confiere selección positiva a un vector y/u organismo hospedador que tiene dicho vector portador del marcador.

Cebador: Secuencia de ADN corta que permite el reconocimiento específico de una secuencia de ADN diana, por ejemplo, durante una PCR.

Promotor: Elemento regulador de ADN para el inicio controlado de la expresión génica.

Recombinasa: Enzimas que median la recombinación genética.

Reconstitución: En el presente contexto, la reconstitución describe el funcionamiento de TORES y TORES² para ensamblar un ORF del TCR. Una 'reacción de reconstitución' es la mezcla de reacción y la reacción de termociclado que implica esta operación.

Elemento indicador: Elemento genético que media una señal de notificación en el organismo o vector que lleva dicho elemento. Puede utilizarse como marcador de selección positiva o negativa.

Secuencia de escisión por enzimas de restricción: La secuencia genética escindida mediante una enzima de restricción, que puede ser intrínseca o intrínseca a la secuencia de reconocimiento de dicha enzima de restricción.

Secuencia de reconocimiento de enzimas de restricción: La secuencia genética que es reconocida y a la que se une una enzima de restricción.

Marcador seleccionable: Secuencia de ADN que confiere un rasgo adecuado para métodos de selección artificial.

Sitio aceptor del corte: Secuencia de ADN en el extremo 3' del intrón AM, APX CM o reactivo de afinidad para la interacción con células con TCRsp en la superficie o reactivos basados en TCRsp.

Sitio donante del corte: Una secuencia de ADN en el extremo 5' del intrón.

Gen suicida: Un gen que mediará la muerte celular dentro del organismo hospedador que lleva ese gen. Puede utilizarse como marcador de selección positiva o negativa.

Sintética: una entidad que se genera artificialmente.

Células T: Linfocito T. Leucocito que expresa un receptor de linfocitos T en su superficie. Seleccionado por el sistema inmunitario para no reaccionar con el propio organismo, pero que tiene el potencial de reconocer infecciones y neoplasias malignas, así como de rechazar injertos procedentes de la mayoría de los miembros de la misma especie.

TCR: Receptor de linfocitos T. Molécula de afinidad expresada por un subgrupo de linfocitos denominados linfocitos T. En seres humanos, el TCR reconoce la carga presentada por APX CM o APX AM, que incluye fragmentos procedentes de infecciones víricas virales o bacterianas o células cancerosas. Por lo tanto, el reconocimiento del TCR forma parte integrante del sistema de inmunidad adaptativa. El TCR consiste en dos cadenas que están emparejadas en la superficie celular. El TCR expresado en la superficie de cada linfocito se ensambla aleatoriamente a partir de un gran conjunto de genes variados (los segmentos α , β , γ y δ) y por tanto cada individuo tiene un conjunto de linfocitos T que expresan un repertorio muy grande y diverso de diferentes TCR.

TRA: Locus que codifica para TCR α . Uno de los cuatro loci distintos que codifican genes que pueden formar una cadena del TCR recombinada VDJ. Las proteínas de la cadena α del TCR traducidas se emparejan de forma típica con las proteínas de la cadena β del TCR traducidas para formar TCRsp α/β .

TRB: Locus que codifica TCR β . Uno de los cuatro loci distintos que codifican genes que pueden formar una cadena del TCR recombinada VDJ. Las proteínas de la cadena β del TCR traducidas se emparejan de forma típica con las proteínas de la cadena α del TCR para formar TCRsp α/β .

TRD: Locus que codifica para TCR δ . Uno de los cuatro loci distintos que codifican genes que pueden formar una cadena del TCR recombinada VDJ. Las proteínas de la cadena δ del TCR traducidas típicamente se emparejan con las proteínas de la cadena γ del TCR traducidas para formar TCRsp γ/δ .

TRG: Locus que codifica TCR γ . Uno de los cuatro loci distintos que codifican genes que pueden formar una cadena del TCR recombinada VDJ. Las proteínas de la cadena γ del TCR traducidas se emparejan de forma típica con las proteínas de la cadena δ del TCR traducidas para formar TCRsp γ/δ .

Enzima de restricción de Tipo IIS: enzimas de restricción que reconocen secuencias de ADN asimétricas y cortan fuera de su secuencia de reconocimiento.

V (segmento): Región variable. Además, región V. Uno de los segmentos génicos que se utiliza para ensamblar el receptor de linfocitos T. Cada individuo tiene un gran número de variaciones diferentes de estas regiones, lo que permite armar linfocitos T con una variedad muy grande de TCR diferentes.

Vector de entrada V-C: El vector del sistema de vectores bicomponente que lleva los segmentos V y C del TCR y que recibe secuencias de los vectores donantes J y odeCDR3 durante la reconstitución de un ORF del TCR de longitud completa.

Fragmento de clonación V: Fragmento de clonación variable. También denominado fragmento de clonación de segmento de gen V. Construcción que tiene una parte de un segmento génico V para construir un vector de entrada V-C.

Vector donante V: Vector del sistema de vectores bicomponente que lleva el segmento V del TCR y dona este segmento al vector de entrada J-C durante la reconstitución de un ORF del TCR de longitud completa.

Vector: Un vector es una construcción genética que contiene información genética. En el presente contexto, un vector describe habitualmente vectores de ADN plasmídico. Un vector puede representar cualquier construcción de este tipo que pueda propagarse y seleccionarse en un organismo hospedador.

W es un código de nucleótido que indica Débil (W = A o T).

Leyendas de las figuras

Figura 1. Sistema de vectores bicomponente para la reconstitución rápida del ORF del TCR de longitud completa.

A)

Se ilustran las características centrales del sistema de vectores bicomponente (Cuadro i), la entrada del dúplex de oligonucleótido necesario (Cuadro ii) y el vector ORF del TCR de longitud completa resultante (Cuadro iii). El primer componente representa un vector de entrada V-C, que incorpora un segmento génico V (variable) del TCR seleccionado y un segmento génico C (constante) del TCR. Este vector de entrada representa la cadena principal en la que se incluirá el ORF del TCR final de longitud completa. Por lo tanto, cualquier característica deseable de esta cadena principal del vector se adapta a la aplicación posterior prevista. Normalmente, estará representado por al menos un elemento genético en 5' y 3'. El segmento génico V y el segmento génico C necesarios para el ORF del TCR de longitud completa diana se seleccionan de una genoteca de vectores de entrada V-C para construir un ORF del TCR de cualquier combinación V/C deseada (Cuadro i). El segundo componente representa un vector donante J, que contiene un segmento génico (de unión) J seleccionado. Este vector donante actúa donando el segmento génico J y, por lo tanto, la cadena principal de este vector es un subproducto de la reacción. El segmento génico J deseado del ORF del TCR diana se selecciona de una genoteca de vectores donantes J. Para completar la secuencia necesaria para el ORF del TCR de longitud completa, se sintetiza un dúplex de oligonucleótido corto que corresponde en gran medida a la región CDR3 del ORF del TCR maduro (Cuadro ii). Este dúplex de oligonucleótido se sintetiza con salientes monocatenarios compatibles con salientes únicos generados por digestión con enzimas de restricción de vectores entrada V-C y donantes J. Cuando se combinan en una reacción de un solo tubo junto con las enzimas de restricción y ligasa adecuadas, el ORF del TCR de longitud completa se reconstituye a partir de las secuencias proporcionadas por los vectores de entrada V-C y donantes J seleccionados de una genoteca preexistente, y el dúplex de oligonucleótido sintetizado (Cuadro iii).

B)

Se ilustra la función de la característica general de la genoteca del sistema de reconstitución del ORF del TCR. Se selecciona un único vector de entrada V-C de una genoteca de vectores de entrada V-C con combinaciones V-C variables (Cuadro i). Esta selección se basa en las secuencias de combinación V-C necesarias para una cadena del TCR seleccionada. Un único vector de entrada J se selecciona de una genoteca de vectores donantes J con segmentos génicos J codificados variables (Cuadro ii). Esta selección se basa en las secuencias de combinación J necesarias para la misma cadena del TCR seleccionada que la del vector de entrada V-C. Por último, se selecciona un *dúplex oligomérico que codifica CDR3* (odeCDR3) para completar el ORF de longitud completa de la cadena diana del TCR (Cuadro iii). Estos tres componentes (Cuadro i, ii y iii) se combinan en una sola reacción junto con las enzimas de restricción y ligasa adecuadas. El ciclo de reacción produce un ORF del TCR de longitud completa reconstituido en una sola etapa en el contexto de la cadena principal del vector de entrada V-C (Cuadro iv).

Figura 2. Diagrama esquemático del plásmido con las características genéticas de un vector de entrada V-C genérico.

Se representa un esquema de plásmido circularizado de un vector de entrada V-C con los elementos genéticos mínimamente necesarios representados como cuadros marcados. **Kozak** se refiere a la secuencia consenso que desempeña un papel en el inicio eficiente de la traducción. **Segmento V** se refiere a una secuencia seleccionada que codifica una parte del ORF de la línea germinal variable del TCR, u ORF mutante/sintético. **Tipo IIS ←** se refiere a un sitio de unión de enzimas de restricción de Tipo IIS orientado de forma que la enzima corta en la dirección 5'. **Tipo IIS →**, se refiere a un sitio de unión de enzimas de restricción de Tipo IIS orientado de forma que la enzima corta en la dirección 3'. **Selección -** se refiere a un elemento de selección negativo diseñado para ser perjudicial para el plásmido que contiene la secuencia durante la reacción de reconstrucción del TCR de longitud completa, o en etapas de selección posteriores. **Segmento C** se refiere a una secuencia seleccionada que codifica una parte del ORF de la línea germinal constante del TCR, o ORF mutante/sintético. **Selección + n.º 1** se refiere a un primer marcador de selección positiva del sistema bicomponente utilizado para transmitir una ventaja selectiva al organismo que aloja el vector, y que es diferente del marcador de selección positiva del segundo componente vectorial (véase la Figura 3). **Ori** se refiere a un origen de replicación utilizado para la propagación del plásmido dentro de un hospedador compatible. **Elemento genético 5'** se refiere a cualquier elemento genético deseado que proporciona atributos requeridos para la aplicación posterior del TCR de longitud completa reconstruido, y debe situarse en 5' del TCR de longitud completa reconstruido, por ejemplo, un elemento cis actuante. **Elemento genético 3'** se refiere a cualquier elemento genético deseado que proporciona atributos requeridos para la aplicación posterior del TCR de longitud completa reconstruido, y debe situarse en 3' del ORF del TCR de longitud completa reconstruido, por ejemplo, un elemento terminador de la transcripción.

Figura 3. Diagrama esquemático del plásmido con las características genéticas de un vector donante J genérico.

Se representa un esquema de plásmido circularizado de un vector donante J con las características genéticas mínimamente necesarias representadas como cuadros marcados. La parte del segmento J se refiere a una secuencia de ADN que codifica una parte de un ORF de la línea germinal de unión a TCR, o segmento génico J mutante/sintético. La Parte C se refiere a una pequeña parte 5' del segmento génico constante del TCR. **Tipo IIS ←** se refiere a un sitio de unión de enzimas de restricción de Tipo IIS orientado de forma que la enzima escinde en la dirección 5'. **Tipo IIS →** se refiere a un sitio de unión de enzimas de restricción de Tipo IIS orientado de forma que la enzima escinde en la dirección 3'. **Selección + n.º 2** se refiere al primer marcador de selección positiva del sistema bicomponente utilizado para conferir una ventaja selectiva al organismo que aloja el vector, y que es diferente del marcador de selección positiva del primer componente vectorial (véase la Figura 2). **Ori** se refiere a un origen de replicación utilizado para la propagación del plásmido dentro de un hospedador compatible.

Figura 4. Descripción genérica de la entrada genética, subproductos, intermedios y producto del sistema de vectores bicomponente para reconstruir un ORF del TCR de longitud completa.

Se ilustran los dos componentes del sistema vectorial (a y b), el dúplex de oligonucleótido (c); cuando estos tres componentes se combinan en una sola reacción con la enzima de restricción de Tipo IIS y ligasa, se generan dos subproductos de reacción (d y e), dos productos intermedios de reacción (f y g) y un producto de reacción (h). Los vectores de entrada y el producto del sistema bicomponente se representan como esquemas de plásmidos circularizados donde los elementos genéticos están representados como cuadros marcados; los vectores plasmídicos abiertos que representan el subproducto o producto intermedio son esquemas de plásmidos no circularizados donde los elementos genéticos están representados como cuadros marcados; y el ADN lineal se representa como una serie de cuadros marcados que describen elementos genéticos.

a) Un plásmido de entrada V-C genérico como el ilustrado en la Figura 2.

b) Un plásmido donante J genérico como el ilustrado en la Figura 3.

c) Un dúplex de oligonucleótido de ADN que contiene la secuencia de CDR3 flanqueada por dos salientes de ADN monocatenario, saliente $\ddagger$ 1-5' y el saliente $\ddagger$ 1-3'. El saliente $\ddagger$ 1-5' es compatible con el saliente $\ddagger$ 1-3' en el intermedio del vector de entrada V-C abierto (g). El saliente $\ddagger$ 2-3' es compatible con el saliente $\ddagger$ 2-5' en el intermedio del vector de entrada V-C abierto (f).

d) La digestión del vector de entrada V-C (a) con la enzima de restricción de Tipo IIS da como resultado un subproducto de reacción del vector de entrada V-C de ADN lineal que contiene el elemento de selección - y los elementos de **Tipo IIS←** y de **Tipo IIS→**.

e) La digestión del vector donante J (b) con la enzima de restricción de Tipo IIS da como resultado un subproducto plasmídico no circularizado que contiene todos los elementos genéticos del plásmido precursor excepto los que lleva el intermedio del fragmento donante J escindido (f).

f) La digestión del vector donante J (b) con la enzima de restricción de Tipo IIS da como resultado un fragmento de ADN lineal que contiene la parte del segmento J y la parte C flanqueadas por salientes de ADN monocatenario, salientes $\ddagger$ 2-5' y salientes $\ddagger$ 3-3'. El saliente $\ddagger$ 2-5' es compatible con el saliente $\ddagger$ 2-3' en el dúplex de oligonucleótido de ADN de CDR3 (c). El saliente $\ddagger$ 3-5' es compatible con el saliente $\ddagger$ 3-5' en el intermedio del vector de entrada V-C abierto (g).

g) La digestión del vector de entrada V-C (a) con la enzima de restricción de Tipo IIS da como resultado un intermedio de plásmido no circularizado que contiene todos los elementos genéticos del plásmido precursor excepto los que tiene el subproducto de la reacción del vector de entrada V-C del ADN lineal escindido (d). La digestión ha creado además dos salientes de ADN monocatenario, el saliente $\pm$ 1-3' y el saliente $\pm$ 3-5'. El saliente $\pm$ 1-3' es compatible con el saliente $\pm$ 1-5' en el dúplex de oligonucleótidos de ADN de CDR3 (c). El saliente $\pm$ 3-5' es compatible con el saliente $\pm$ 3-3' en el intermedio del vector de entrada V-C abierto (f).

h) La ligación de los tres salientes compatibles de ADN monocatenario da como resultado el vector ORF de longitud completa del TCR como plásmido circularizado. Este plásmido contiene todos los elementos genéticos del vector de entrada V-C precursor (a) con excepción del subproducto de reacción del vector de entrada V-C escindido (d). Además, el vector ORF del TCR de longitud completa incorpora la secuencia de CDR3 del dúplex de oligonucleótidos de ADN de CDR3 (c) y la parte del segmento J y la parte C del intermedio de reacción del fragmento donante J. Las flechas indican los puntos aproximados de ligación entre los salientes de ADN monocatenario compatibles $\pm$ 1, $\pm$ 2 y $\pm$ 3. El punto de ligación $\pm$ 1 comprende los elementos $\pm$ 1-3' y $\pm$ 1-5' donados por el intermedio de reacción del vector de entrada V-C (g) y el dúplex de oligonucleótidos ADN (c) de CDR3, respectivamente. El punto de ligación $\pm$ 2 comprende los elementos $\pm$ 2-3' y $\pm$ 2-5' donados por el dúplex de oligonucleótidos de ADN CDR3 (c) y el intermedio de reacción del fragmento donante J (f), respectivamente. El punto de ligación $\pm$ 3 comprende los elementos $\pm$ 3-3' y $\pm$ 3-5' donados por el intermedio de reacción del fragmento donante J (f) y el intermedio de reacción del vector de entrada V-C (g), respectivamente.

Figura 5 Disposición de los fragmentos de clonación V para la construcción de vectores de entrada V-C

Se muestra una representación de los fragmentos de clonación V utilizados para ensamblar vectores de entrada V-C de un TORES para cadenas TRA y TRB del TCR humano como se describe en los Ejemplos 1 a 4.

El fragmento de clonación V está flanqueado por secuencias únicas de unión de iniciadores en los extremos 5' y 3' para facilitar la amplificación mediada por PCR de los fragmentos de clonación. Los sitios BbsI representan sitios de unión de enzimas de restricción de Tipo IIS específicos utilizados en el ensamblado del vector de entrada V-C, donde $\rightarrow$ indica que el sitio de reconocimiento está orientado para cortar en la dirección 3' del sitio y $\leftarrow$ indica que el sitio está orientado para cortar en la dirección 5'. El sitio BbsI $\rightarrow$ corta en 5' de la secuencia de Kozak codificada para crear el Saliente*1. El sitio Bsal $\leftarrow$ corta para crear el saliente NotI en 5' que sobresale dentro del fragmento NotI en 5'. El Saliente*1 y el saliente NotI en 5' se ligan finalmente con el Saliente*1' de la cadena principal del vector de entrada V-C digerido y el saliente NotI en 3' del fragmento de clonación C digerido, respectivamente, durante el ensamblado del vector de entrada V-C. El fragmento NotI 5' representa un fragmento 5' de 6 nucleótidos de la secuencia de reconocimiento NotI, en donde NotI actúa como marcador de selección negativa para eliminar el vector de entrada V-C precursor durante el funcionamiento de TORES. El sitio de reconocimiento NotI completo se reconstituye con el fragmento NotI 3' proporcionado por el fragmento de clonación C. El segmento V representa el segmento génico V del TCR que debe codificar el vector de entrada V-C final y codifica desde el codón de iniciación ATG del segmento V específico hasta el último codón Cys del segmento V que define el límite de la región CDR3. El sitio $\rightarrow$ Bsal es la secuencia de reconocimiento de enzimas de restricción de Tipo IIS utilizada durante el funcionamiento del sistema TORES para reconstituir un ORF del TCR de longitud completa. La acción de la enzima Bsal, en donde el sitio está orientado para cortar en la dirección 5', da como resultado la creación de un saliente $\pm$ 1 en el extremo 3' del segmento V que abarca los tres nucleótidos del último codón Cys de cada segmento V y el tercer nucleótido del codón que precede a ese codón Cys. Este saliente se estandariza entre todos los segmentos V en un conjunto de TORES dado. Por último, el saliente $\pm$ 1 en 3' del segmento V se liga con el saliente $\pm$ 1 en el odcDR3 en 5' durante el funcionamiento del sistema TORES para reconstituir un ORF del TCR de longitud completa. Todos los **sp** denotan la adición de uno o más nucleótidos para crear la separación correcta entre las secuencias de reconocimiento de Tipo IIS y las secuencias salientes diana, o para separar el sitio de reconocimiento y corte de NotI para una acción eficiente.

Figura 6 Disposición de los fragmentos de clonación C para la construcción de vectores de entrada V-C

Se muestra una representación de los fragmentos de clonación C utilizados para ensamblar vectores de entrada V-C de un TORES para cadenas TRA y TRB del TCR humano como se describe en los Ejemplos 1 a 4.

El fragmento de clonación C está flanqueado por secuencias únicas de unión de iniciadores en los extremos 5' y 3' para facilitar la amplificación mediada por PCR de los fragmentos de clonación. Los sitios BbsI representan sitios de unión de enzimas de restricción de Tipo IIS específicos utilizados en el ensamblado del vector de entrada V-C, donde $\rightarrow$ indica que el sitio de reconocimiento está orientado para cortar en la dirección 3' del sitio y $\leftarrow$ indica que el sitio está orientado para cortar en la dirección 5'. El sitio BbsI $\rightarrow$ corta para crear el saliente NotI en 3' que sobresale dentro del fragmento NotI en 3'. El sitio Bsal $\leftarrow$ corta 3' del codón de terminación del segmento C para crear un **saliente*2** en el extremo 3' del segmento C. El **Saliente*2** y el saliente NotI en 3' se ligan en última instancia con el **Saliente*2'** de la cadena principal del vector de entrada V-C digerido y el saliente NotI en 5' del fragmento de clonación V digerido, respectivamente, durante el ensamblado del vector de entrada V-C. El fragmento NotI 3' representa un fragmento en 3' de 6 nucleótidos de la secuencia de reconocimiento NotI, en donde NotI actúa como

marcador de selección negativa para eliminar el vector de entrada V-C precursor durante la actuación de TORES. El sitio de reconocimiento NotI completo se reconstituye con el fragmento NotI en 5' proporcionado por el fragmento de clonación C.

- 5 El segmento C representa el segmento génico C del TCR que debe codificar el vector de entrada V-C final y codifica desde el resto de citosina 5' del primer codón Glu del segmento génico C hasta el codón de terminación. El sitio → Bsal es la secuencia de reconocimiento de enzimas de restricción de Tipo IIS utilizada durante el funcionamiento del sistema TORES para reconstituir un ORF del TCR de longitud completa. La acción de la enzima Bsal, en donde el sitio está orientado para cortar en la dirección 3', da como resultado la creación de un saliente $\uparrow$ 3 en el extremo 5' del segmento C. Este saliente se estandariza entre todos los segmentos C en un conjunto de TORES dado. Por último, el saliente $\uparrow$ 3 en el 5' del segmento C se liga con el saliente $\uparrow$ 3 de la parte C en el 3' del vector donante J durante la actuación del sistema TORES para reconstituir un ORF del TCR de longitud completa. Todos los **sp** denotan la adición de uno o más nucleótidos para crear la separación correcta entre las secuencias de reconocimiento de Tipo IIS y las secuencias salientes diana, o para separar el sitio de reconocimiento y corte de NotI para una acción eficiente.

Figura 7 Disposición de la cadena principal del vector de entrada V-C para la construcción de vectores de entrada V-C

- 20 Se muestra una representación de la cadena principal del vector de entrada V-C utilizada para ensamblar vectores de entrada V-C de un TORES para cadenas TRA y TRB del TCR humano como se describe en los Ejemplos 1 a 4.

- 25 El ADN plasmídico circular contiene un origen de replicación (Ori) y un marcador de selección positiva n.º 1. Este marcador de selección se utiliza para la selección de hospedadores transformados cuando se aíslan clones de la cadena principal del vector de entrada V-C y vectores de entrada V-C durante el ensamblado, y también para la selección de vectores que contienen un ORF del TCR de longitud completa durante la actuación del TORES. Los elementos genéticos 5' y 3' codifican los elementos diana que flanquean el ORF del TCR final después de la generación del ORF de TCR final de longitud completa después de su generación durante la actuación del TORES. Un elemento génico 5' podría representar un elemento promotor de mamífero para dirigir la expresión de transcritos de TCR, y un elemento genético 3' podría representar una secuencia terminadora de la transcripción. El sitio ACC65I representa una secuencia de reconocimiento de enzimas de restricción, en donde la acción de la enzima Acc65I da como resultado la creación de un Saliente*1'. Este Saliente*1' se liga al Saliente*1 del fragmento de clonación V digerido durante el ensamblado del vector de entrada V-C. El sitio XbaI representa una secuencia de reconocimiento de enzimas de restricción, en donde la acción de la enzima XbaI da como resultado la creación de un Saliente*2'. Este Saliente*2' se liga con el Saliente*2 en el fragmento de clonación C digerido durante el ensamblado del vector de entrada V-C. Sp denota la adición de nucleótidos para separar los sitios de reconocimiento Acc65I y XbaI para una acción eficiente de ambas enzimas.

Figura 8 Disposición del fragmento del casete de recepción J

- 40 Se muestra una representación de un fragmento del casete de recepción J utilizado en el ensamblado de vectores donantes J de un TORES para cadenas de TRA y TRB del TCR humano como se describe en los Ejemplos 2 y 3. Un fragmento del casete de recepción J se inserta en una cadena principal donante J para generar un vector del casete de recepción J.

- 45 Se genera un fragmento del casete de recepción J anillando dos oligonucleótidos complementarios para crear una construcción de ADN bicatenario lineal con salientes monocatenarios de 4 nucleótidos en los extremos 5' y 3' que se utilizan para la inserción del fragmento en la cadena principal del vector donante J. El Saliente*3 del extremo 5' del fragmento del casete de recepción J se une al Saliente*3' de la cadena principal del vector donante J digerido, mientras que el Saliente*4 del extremo 3' se une al Saliente*4' de la cadena principal del vector donante J digerido.

- 55 Los sitios Bsal representan los sitios de reconocimiento de restricción de Tipo IIS utilizados durante la actuación del TORES para ensamblar un ORF del TCR de longitud completa. El sitio Bsal ← está orientado para cortar en la dirección 5' y actúa sobre la secuencia de la parte C para generar un saliente $\uparrow$ 3 en la parte C 3'. El sitio Bsal → actúa en última instancia en la parte del segmento J del vector donante J para crear el saliente $\uparrow$ 2 en el extremo 5' de la parte del segmento J. El elemento Bsal → también contiene el Saliente*5, que se genera por acción de BbsI ← en el sitio BbsI durante el ensamblado del vector donante J.

- 60 Los sitios BbsI representan los sitios de reconocimiento de restricción de Tipo IIS utilizados para ensamblar el vector donante J. El sitio BbsI ← corta el elemento Bsal → para generar un Saliente*5, mientras que el sitio BbsI → corta el extremo 5' de la parte C para generar un Saliente*6. El Saliente*5 y el Saliente*6 se ligan en última instancia al Saliente*5' y al Saliente*6' de la parte del segmento J, respectivamente.

- 65 La parte C representa una pequeña parte del segmento génico C diana para permitir la generación estandarizada de salientes no palindrómicos durante la actuación del TORES. Esta parte C se inserta finalmente en el extremo

3' de la parte del segmento J, y forma parte de la secuencia que se une al segmento C contenida en el vector de entrada V-C digerido durante el funcionamiento del TORES para generar un ORF del TCR de longitud completa.

El sitio NotI representa un marcador de selección negativa utilizado para eliminar el vector del casete de recepción J precursor durante la generación del vector donante J.

Todos los **sp** denotan la adición de uno o más nucleótidos para crear la separación correcta entre las secuencias de reconocimiento de Tipo IIS y las secuencias salientes diana, o para separar el sitio de reconocimiento y corte de NotI para una acción eficiente.

Figura 9 Disposición de la cadena principal del donante J

Se muestra una representación de la cadena principal del donante J utilizado en el ensamblado de vectores donantes J de un TORES para cadenas TRA y TRB del TCR humano como se describe en los Ejemplos 2 y 3. Se inserta un fragmento del casete de recepción J en una cadena principal donante J para generar un vector del casete de recepción J.

El ADN plasmídico circular contiene un origen de replicación (Ori) y un marcador de selección positiva n.º 2. Este marcador de selección se utiliza para la selección de huéspedes transformados cuando se aíslan clones de cadena principal del vector donante J y vectores donantes J durante el ensamblado. Es importante destacar que este marcador de selección positiva es distinto del marcador de selección positiva n.º 1 dentro de los vectores de entrada V-C, de forma que los vectores donantes J precursores se eliminan con selección positiva n.º 1 durante el funcionamiento del TORES para generar un ORF del TCR de longitud completa en el contexto de la cadena principal del vector de entrada V-C.

El sitio EcoRI representa una secuencia de reconocimiento de enzimas de restricción, en donde la acción de la enzima EcoRI da como resultado la creación de un Saliente*3'. Este Saliente*3' se une al Saliente*3 del fragmento del casete de recepción J hibridado durante el ensamblado del vector del casete de recepción J. El sitio XbaI representa una secuencia de reconocimiento de enzimas de restricción, en donde la acción de la enzima XbaI da como resultado la creación de un Saliente*4'. Este Saliente*4' se une al Saliente*4 del fragmento del casete de recepción J hibridado durante el ensamblado del vector del casete de recepción J. Sp denota la adición de nucleótidos para separar los sitios de reconocimiento Acc65I y XbaI para una acción eficiente de ambas enzimas.

Figura 10 Disposición del vector del casete de recepción J

Se muestra una representación de la cadena principal de un donante J utilizado en el ensamblado de vectores donantes J de un TORES para cadenas TRA y TRB del TCR humano como se describe en los Ejemplos 2 y 3. Se crea un vector del casete de recepción J mediante la inserción de un fragmento del casete de recepción J en una cadena principal donante J.

El ADN plasmídico circular contiene un origen de replicación (Ori) y un marcador de selección positiva n.º 2. Este marcador de selección se utiliza para la selección de huéspedes transformados cuando se aíslan clones de cadena principal del vector donante J y vectores donantes J durante el ensamblado. Es importante señalar que este marcador de selección positiva es distinto del marcador de selección positiva n.º 1 dentro de los vectores de entrada V-C, de forma que los vectores donantes J precursores se eliminan con selección positiva en n.º 1 durante la actuación del TORES para generar un ORF del TCR de longitud completa en el contexto de la cadena principal del vector de entrada V-C.

Los sitios BsaI representan los sitios de reconocimiento de restricción de Tipo IIS utilizados durante el funcionamiento del TORES para ensamblar un ORF del TCR de longitud completa. El sitio BsaI ← está orientado para cortar en la dirección 5' y actúa sobre la secuencia de la parte C para generar un saliente $\nmid$ 3 en la parte C 3'. El sitio BsaI → actúa en último término en la parte del segmento J del vector donante J para crear el saliente $\nmid$ 2 en el extremo 5' de la parte del segmento J. El elemento BsaI → también contiene el Saliente*5, que se genera por acción de BbsI ← en el sitio BbsI durante el ensamblado del vector donante J.

Los sitios BbsI representan los sitios de reconocimiento de restricción de Tipo IIS utilizados para ensamblar el vector donante J. El sitio BbsI ← corta el elemento BsaI → para generar un Saliente*5, mientras que el sitio BbsI → corta el extremo 5' de la parte C para generar un Saliente*6. El Saliente*5 y el Saliente*6 se unen en último término al Saliente*5' y al Saliente*6' de la parte del segmento J, respectivamente.

La parte C representa una pequeña parte del segmento génico C diana para permitir la generación estandarizada de salientes no palindrómicos durante la actuación del TORES. Esta parte C se inserta finalmente en el extremo 3' de la parte del segmento J, y forma parte de la secuencia que se liga al segmento C contenida en el vector de entrada V-C digerido durante la actuación del TORES para generar un ORF del TCR de longitud completa.

El sitio NotI representa un marcador de selección negativa utilizado para eliminar el vector del casete de recepción J precursor durante la generación del vector donante J.

Todos los **sp** denotan la adición de uno o más nucleótidos para crear la separación correcta entre las secuencias de reconocimiento de Tipo IIS y las secuencias salientes diana, o para separar el sitio de reconocimiento y corte de NotI para una acción eficiente.

Figura 11 Disposición de una parte de segmento J

Se muestra una representación de una parte del segmento J utilizada en el ensamblado de segmento J de un TORES para cadenas TRA y TRB del TCR humano como se describe en los Ejemplos 2 y 3. Una parte del segmento J se inserta en un vector del casete de recepción J para crear un vector donante J.

La hibridación de oligonucleótidos monocatenarios complementarios para formar una construcción de ADN bicatenario lineal con salientes monocatenarios en cualquier extremo genera una parte del segmento J. El Saliente*5' del extremo 5' se anilla con el Saliente*5 generado dentro del vector del casete de recepción J digerido con BbsI. El Saliente*6' del extremo 3' se anilla con el Saliente*6 generado dentro del vector del casete de recepción J digerido con BbsI.

La parte del segmento J representa la secuencia diana del segmento del gen J. Dependiendo del estilo del vector donante J en construcción (es decir, corto o largo), el límite 5' de la parte del segmento J se define de forma distinta. Para los vectores donantes J cortos, el límite 5' de la parte del segmento J se define como los motivos Phe-Ala/Gly o Trp-Gly que se utilizan para definir el límite canónico entre las partes J y CDR3 de un ORF del TCR de longitud completa. Para vectores donantes J largos, el límite 5' de la parte del segmento J se extiende diez a doce nucleótidos 5' del motivo Phe-Ala/Gly o Trp-Gly. Esto extiende la parte del ORF de TCR global codificado por el vector donante J, y acorta por el contrario la longitud del odcDR3 necesaria para construir un ORF del TCR de longitud completa durante la actuación del TORES. En el extremo 3' de la parte del segmento J hay codificado un único resto de adenina (A) que representa el primer nucleótido del fragmento C. Esta adenina se excluye del vector del casete de recepción J.

Figura 12 Validación de especificidad del par TRA/TRB modelo reconstituido con TCR

Se reconstituyó un par de cadenas de TRA/TRB del TCR modelo con especificidad para un antígeno derivado de pp65 del CMVH restringido por HLA-A2*01 con el sistema TORES como se describe en el ejemplo 7. Los dos productos plasmídicos de TRA y TRB se transfectaron transitoriamente en una línea celular humana que expresa constitutivamente los componentes de CD3, pero que carece de la expresión endógena de las cadenas de TRA y TRB del TCR. 48 horas después de la transfección, las células se trataron con anticuerpos contra el tetrámero CD3, TCRalfa/beta y HLA-A2*01-NLVPMTATV específico y se analizaron por citometría de flujo. El par TCR modelo se presentó en la superficie celular como se indica por la tinción positiva con anticuerpos de CD3 y TCRalfa/beta (izquierda, panel superior). El par TCR modelo también mostró tinción positiva para el reactivo del tetrámero HLA-A2*01-NLVPMTATV (izquierda, panel inferior), lo que indica la especificidad de unión esperada. Se transfectó también en paralelo un par irrelevante de construcciones de plásmidos TRA y TRB (paneles centrales), así como un vector vacío (paneles más a la derecha). El TCR irrelevante se presentó en la superficie celular como se indica por la tinción positiva para anticuerpos de CD3 y TCRalfa/beta (centro, panel superior), pero no mostró unión para el reactivo del tetrámero HLA-A2*01-NLVPMTATV (centro, panel inferior). Las células transfectadas con el vector vacío no mostraron tinción para anticuerpos de CD3 o TCRalfa/beta ni para el reactivo del tetrámero HLA-A2*01-NLVPMTATV.

Figura 13 Flujo de trabajo para la identificación y reconstitución de un conjunto de pares de cadenas TRA/TRB de TCR de sangre periférica humana

Para demostrar el uso del sistema TORES en la reconstitución de pares de cadenas TRA/TRB nativas de TCR capturadas a partir de una muestra humana, se generó un conjunto de TCR específicos para el antígeno pp65 de CMVH restringido por HLA-B*07:02, TPRVTGGGAM, a través de la captura de información de secuencia procedente de la clasificación de células individuales de células tetrámero positivas procedentes de una fracción de PBMC humana. Este proceso se describe en el Ejemplo 8.

i) Una fracción de PBMC de un donante con el alelo de HLA-B*07:02 se tiñe con un reactivo de tetrámero HLA-B*07:02-TPRV. Los linfocitos T CD8⁺ únicos que muestran tinción positiva para el tetrámero se depositan en tubos de PCR individuales mediante FACS.

ii) Los tubos que contienen una sola célula se sometieron a una reacción de transcripción inversa con conjuntos de cebadores anclados en todos los segmentos génicos variables y constantes expresados de ambas cadenas TRA y TRB.

iii) Se realizaron reacciones de la PCR anidadas sobre el producto de transcripción inversa con conjuntos de cebadores internos, aún anclados en todos los segmentos génicos V y C expresados, independientemente de las cadenas TRA y TRB.

iv) El producto de PCR anidada se somete a secuenciación de Sanger

v) Las secuencias de productos de la PCR se alinearon respecto a una genoteca de segmentos génicos de TCR de la línea germinal humana para determinar el uso de segmentos génicos V y J (y C) para cada cadena de TCR amplificada. Se determina la secuencia CDR3 del codón Cys 5' hasta los motivos Phe-Ala/Gly o Trp-Gly 3'.

vi) Se selecciona un vector de entrada V-C de la genoteca de TORES correspondiente al uso determinado de los segmentos génicos V y C de cada cadena TRA y TRB a reconstituir.

vii) Un vector donante J se selecciona de la genoteca de TORES correspondiente al uso determinado de los segmentos génicos J de cada cadena TRA y TRB a reconstituir.

viii) Se sintetiza un odeCDR3 correspondiente a la región CDR3 determinada a partir de cada cadena TRA y TRB a reconstituir.

ix) Se ensambla un ciclo de reacción de enzima de restricción (RE) independiente /ligasa para cada TRA y TRB del TCR a reconstituir, que contiene el vector de entrada V-C seleccionado, el vector donante J y el odeCDR3 sintetizado.

x) El producto de reacción de ciclo de RE/ligasa se transforma en bacterias y se pone bajo selección de antibióticos para el primer marcador de selección positiva (es decir, cadena principal del vector de entrada V-C).

xi) Los clones se propagan y confirman mediante secuenciación de Sanger del ORF de TCR de longitud completa final.

Figura 14 Validación de especificidad para un conjunto de pares de cadenas TRA/TRB de TCR capturado de sangre periférica humana y reconstituido con TORES

Se capturó un conjunto de seis pares de cadenas TRA/TRB de TCR a partir de sangre periférica humana y se reconstituyó a través del flujo de trabajo detallado en la Figura 13 y descrito en el Ejemplo 8. Los seis pares del TCR tuvieron la especificidad esperada para el reactivo del tetrámero B*07:02-TPRV utilizado para aislar los linfocitos T CD8⁺ individuales. Cada uno de los seis pares capturados, un par de cadenas de TCR irrelevante, y un vector vacío del control se transfectaron en células humanas que expresaban componentes de CD3, pero que carecían de la expresión endógena para las cadenas TRA y TRB del TCR. 48 horas después de la transfección, se utilizó un análisis por citometría de flujo para teñir las células con anticuerpos contra CD3, las cadenas alfa y beta del TCR y se confirmó la especificidad del TCR reconstituido y expresado con el reactivo del tetrámero HLA-B*07:02-TPRV específico. Los datos se presentan como gráficos de contorno. Cada panel muestra la señal de CD3 en el eje X y la del tetrámero HLA-B*07:02-TPRV en el eje y. La inserción en la parte inferior derecha de cada panel es la relación de señal del tetrámero HLA-B*07:02-TPRV en las células positivas para CD3 respecto a las células negativas para CD3 en unidades arbitrarias de grado de tinción del tetrámero. Los seis pares de cadenas de TCR presentados muestran cierto grado de tinción con el tetrámero específico en comparación con el control de pares de TCR irrelevante.

Figura 15 Funcionamiento del TORES para generar cadenas del TCR diversificadas en CDR3

Se muestra una representación esquemática del TORES cuando se utiliza para generar cadenas del TCR de longitud completa con inserciones de CDR3 diversificadas. Se define un TCR precursor utilizando V-J-C, y se define la secuencia de la región CDR3. Se introdujeron en el tubo de reacción el vector de entrada V-C único correspondiente (cuadro i) y el único vector donante J (cuadro ii). Se sintetizó un conjunto de odeCDR3 con degeneración de nucleótidos posicional y/o mutagénesis puntual definida que cambia la secuencia de aminoácidos codificada (Cuadro iii). Dicho grupo de CDR3 podría incluir secuencias de CDR3 completamente aleatorizadas dentro de los límites del marco de odeCDR3 definido, para crear unos ORF del TCR de longitud completa 'sintéticos' de CDR utilizando V-J-C de línea germinal. Estos tres componentes (Cuadro i, ii y iii) se combinan en una sola reacción junto con las enzimas de restricción y ligasa adecuadas. El ciclo de reacción produce numerosos ORF del TCR de longitud completa reconstituidos variantes, proporcional al número de odeCDR3 variantes incluidas, en una sola etapa en el contexto de la cadena principal del vector de entrada V-C (Cuadro iv).

Figura 16 Una sola ronda de diversificación de la cadena del TCR que utiliza degeneración limitada de CDR3 genera un conjunto de TCR con un amplio espectro de afinidades diana

La cadena TRA de un par de cadenas TRA/TRB del TCR modelo con especificidad para un antígeno pp65 derivado del CMVH, como se ha descrito en el Ejemplo 7, se sometió a un ciclo de diversificación de CDR3 según el esquema presentado en la Figura 15 y como se ha descrito en el Ejemplo 9. La odeCDR3 de la cadena TRA se sintetizó con degeneración de nucleótidos por 4 veces en 3 posiciones separadas, alterando el uso de codones en esas tres posiciones. El producto de reacción resultante contenía 64 variantes de cadena de longitud completa, incluida la secuencia parental. Se clonó cada una de las 64 cadenas TRA y se confirmó la secuencia.

A) Cada uno de los 64 plásmidos de la cadena TRA se transfectó transitoriamente en una línea celular humana que expresa constitutivamente los componentes de CD3, pero que carece de la expresión endógena de las cadenas TRA y TRB del TCR. 48 horas después de la transfección, las células se tiñeron con anticuerpos contra CD3 y contra el reactivo del tetrámero HLA-A2*01-NLVPMTATV específico y se analizaron por citometría de flujo. La relación entre la intensidad de fluorescencia media (IFM) de la señal del tetrámero NLVPMTATV HLA-A2*01-NLVPMTATV para la población CD3+ respecto de la población CD3- se representó gráficamente como indicación de la fuerza de unión de cada variante del par de cadenas del TCR. La flecha indica el punto de datos correspondiente al TRA parental. Los óvalos indican variantes de elevada unión y sin unión en cada extremo del espectro.

B) Cada variante de cadena de TRA se presenta en una tabla con la relación IFM de la señal del tetrámero HLA-A2*01-NLVPMTATV para la población CD3+ respecto de la población CD3-, y el aminoácido presente en cada una de las tres posiciones diversificadas (Pos1, 2 y 3), en código de una letra. La flecha indica el punto de datos correspondiente al TRA parental. Los paréntesis indican variantes de elevada unión y sin unión en cada extremo del espectro.

Figura 17 Actuación del TORES para generar cadenas del TCR diversificadas en segmentos V

Se muestra una representación esquemática del TORES cuando se utiliza para generar cadenas del TCR de longitud completa con usos del segmento V diversificados. Se define un TCR precursor utilizando V-J-C, y se define la secuencia de la región CDR3. El único vector donante J correspondiente (cuadro ii) se introdujo en el tubo de reacción, al igual que el único odeCDR3 sintetizado para corresponder con la secuencia de la región CDR3 parental (cuadro iii). Se añade también al tubo de reacción una selección de vectores de entrada V-C, que corresponde a los segmentos V y C deseados en el producto ORF del TCR de longitud completa diversificado del segmento V del producto (Cuadro i). Estos tres componentes (Cuadro i, ii y iii) se combinan en una sola reacción junto con las enzimas de restricción y ligasa adecuadas. El ciclo de reacción produce numerosos ORF del TCR de longitud completa reconstituidos variantes, proporcional al número de vectores de entrada V-C variantes incluidos, en una sola etapa en el contexto de la cadena principal del vector de entrada V-C (Cuadro iv).

Figura 18 Funcionamiento del TORES para generar cadenas del TCR diversificadas en el segmento J

Se muestra una representación esquemática del TORES cuando se utiliza para generar cadenas del TCR de longitud completa con uso diversificado del segmento J. Se define un TCR precursor utilizando V-J-C, y se define la secuencia de la región CDR3. El único vector de entrada V-C correspondiente (cuadro i) se introdujo en el tubo de reacción, al igual que el único odeCDR3 sintetizado para que corresponda a la secuencia de la región CDR3 parental (cuadro iii). También se añade al tubo de reacción una selección de donantes J, que corresponde a los segmentos J deseados en el producto ORF del TCR de longitud completa diversificado del segmento J del producto (Cuadro ii). Estos tres componentes (Cuadro i, ii y iii) se combinan en una sola reacción junto con las enzimas de restricción y ligasa adecuadas. El ciclo de reacción produce una serie de ORF de TCR de longitud completa reconstituidos variantes, proporcional al número de vectores de entrada donantes J incluidos, en una sola etapa en el contexto de la cadena principal del vector de entrada V-C (Cuadro iv).

Figura 19 Funcionamiento del TORES para generar cadenas del TCR diversificadas en segmentos V/J

Se muestra una representación esquemática del TORES cuando se utiliza para generar cadenas del TCR de longitud completa con uso diversificado de segmentos V y J. Se define un TCR precursor utilizando V-J-C, y se define la secuencia de la región CDR3. El odeCDR3 único correspondiente se sintetizó para que corresponda a la secuencia de la región CDR3 parental (Cuadro iii). Se añadió al tubo de reacción una selección de vectores de entrada V-C y vectores donantes J, que corresponde a la combinación de los segmentos V(C) y J deseados en el producto ORF del TCR de longitud completa diversificado para el segmento V/J (Cuadro ii). Estos tres componentes (Cuadro i, ii y iii) se combinan en una sola reacción junto con las enzimas de restricción y ligasa adecuadas. El ciclo de reacción produce un numerosos ORF del TCR de longitud completa reconstituidos variantes, proporcional al número de combinaciones de vectores donantes V-C y J posibles a partir de los incluidos, en una sola etapa en el contexto de la cadena principal del vector de entrada V-C (Cuadro iv).

Figura 20. Esquema de las características genéticas de los vectores de entrada TORES2 V-C $\square$ y V-C $\square$.

Se representa un esquema de un plásmido circularizado de vectores de entrada V-C $\square$ (a) y V-C $\square$ (b) con los elementos genéticos mínimamente necesarios representados como cuadros marcados. **Kozak** se refiere a la secuencia consenso que desempeña un papel en el inicio eficiente de la traducción. **Segmento V** se refiere a una secuencia seleccionada que codifica una parte del ORF de la línea germinal variable del TCR, u ORF mutante/sintético. **Tipo IIS n.º 1 $\leftarrow$** se refiere a un primer sitio de unión de enzimas de restricción de Tipo IIS orientado de forma que la enzima corte en la dirección 5'. **Tipo IIS n.º 1 $\rightarrow$** se refiere a un primer sitio de unión de enzimas de restricción de Tipo IIS orientado de forma que la enzima corte en la dirección 3'. **selección - n.º 1** se refiere a un elemento de selección negativo diseñado para ser perjudicial para el plásmido que contiene la secuencia durante la reacción de reconstrucción del TCR de longitud completa, o etapas de selección posteriores. **Segmento C** se refiere a una secuencia seleccionada que codifica una parte del ORF de la línea germinal constante del TCR, o ORF mutante/sintético. **Tipo IIS n.º 2 $\leftarrow$** se refiere a un segundo sitio de unión de enzimas de restricción de Tipo IIS orientado de forma que la enzima corte en la dirección 5'. La enzima es diferente del primer Tipo de IIS. **Tipo IIS n.º 2 $\rightarrow$** se refiere a un segundo sitio de unión de

enzimas de restricción de Tipo IIS orientado de forma que la enzima corte en la dirección 3'. La enzima es diferente del primer Tipo de IIS. **selección - n.º 2** se refiere a un elemento de selección negativo diseñado para ser perjudicial para el plásmido que contiene la secuencia durante el ensamblado del vector bidireccional de longitud completa de ORF del TCR. **selección - n.º 2** es diferente de la primera selección -. **selección + n.º 1** se refiere al primer marcador de selección positiva del sistema bicomponente utilizado para transmitir una ventaja selectiva al organismo que aloja el vector, y que es diferente del marcador de selección positiva de un segundo componente vectorial (donante J) (véase la Figura 2). **Ori** se refiere a un origen de replicación utilizado para la propagación del plásmido dentro de un hospedador compatible. **Elemento genético 5'** se refiere a cualquier elemento genético deseado que proporciona atributos requeridos para la aplicación posterior del TCR de longitud completa reconstruido, y debe estar situado 5' del TCR de longitud completa reconstruido, por ejemplo, un elemento RMCE. **Elemento genético 3'** se refiere a cualquier elemento genético deseado que proporciona atributos requeridos para la aplicación posterior del TCR de longitud completa reconstruido, y debe estar situado 3' del ORF del TCR de longitud completa reconstruido, por ejemplo, un segundo elemento RMCE.

Figura 21. Diagrama esquemático del plásmido con las características genéticas del vector donante del terminador bidireccional (donante BiT).

Se representa un esquema de plásmido circularizado de un vector donante terminador bidireccional con las características genéticas mínimamente necesarias representadas como cuadros marcados. **El elemento terminador bidireccional (T-T)** se refiere a una secuencia de ADN que codifica un terminador bidireccional. **Tipo IIS n.º 2 →** se refiere a un segundo sitio de unión de enzimas de restricción de Tipo IIS orientado de forma que la enzima corte en la dirección 3'. **Tipo IIS n.º 2 ←** se refiere a un segundo sitio de unión de enzimas de restricción de Tipo IIS orientado de forma que la enzima corte en la dirección 5'. **selección + n.º 2** se refiere al primer marcador de selección positiva del sistema bicomponente utilizado para transmitir una ventaja selectiva al organismo que aloja el vector, y que es diferente del marcador de selección positiva del primer componente vectorial (véase la Figura 20). **Ori** se refiere a un origen de replicación utilizado para la propagación del plásmido dentro de un hospedador compatible.

Figura 22. Descripción genérica de la entrada genética, subproductos, intermedios y producto del sistema de vectores bicomponente bidireccionales para reconstruir un vector con TRA y TRB emparejadas.

Se ilustran el TRA (a), TRB (b) y el vector donante del terminador bidireccional (c); cuando estos tres componentes se combinan en una sola reacción con la enzima de restricción del segundo Tipo IIS y ligasa, se generan tres subproductos de reacción (d, e y f), tres intermedios de reacción (g, h e i) y un producto de reacción (j). Los vectores de entrada y el producto del sistema bicomponente se representan como esquemas de plásmidos circularizados donde los elementos genéticos están representados como cuadros marcados; los vectores plasmídicos abiertos que representan el subproducto o intermedio son esquemas de plásmidos no circularizados donde los elementos genéticos están representados como cuadros marcados; y el ADN lineal se representa como una serie de cuadros marcados que describen elementos genéticos.

a) Un ORF del TRA reconstruido en el contexto del vector de entrada V-C $\square$ como se describe en la Figura 20a.

b) Un ORF del TRA reconstruido en el contexto del vector de entrada V-C $\square$ como se describe en la Figura 20b

c) Un vector donante de BiT como se representa en la Figura 21

d) La digestión del vector TRA (a) con la enzima de restricción de Tipo IIS n.º 2 da como resultado un subproducto de reacción de vector TRA de ADN lineal que contiene el elemento de selección - n.º 2 y el sitio de unión de **Tipo IIS n.º 2 ←** y de **Tipo IIS n.º 2 →**.

e) La digestión del vector TRB (b) con la enzima de restricción de Tipo IIS n.º 2 da como resultado un subproducto de reacción del vector TRB de ADN lineal que contiene los elementos genéticos 5' y 3', los elementos del **Tipo IIS n.º 2 →** y de **Tipo IIS n.º 2 ←**, el elemento de selección - n.º 2, el elemento de selección + n.º 1 y el origen del elemento de replicación.

f) La digestión del vector donante del terminador bidireccional (c) con la enzima de restricción de Tipo IIS n.º 2 da como resultado un subproducto plasmídico no circularizado que contiene todos los elementos vectoriales del plásmido precursor excepto los que lleva el intermedio del fragmento donante del terminador bidireccional escindido (i).

g) La digestión del vector TRA (a) con la enzima de restricción de Tipo IIS n.º 2 da como resultado un intermedio de plásmido no circularizado que contiene todos los elementos genéticos del plásmido precursor excepto los que tiene el subproducto de la reacción del vector TRA del ADN lineal escindido (d). La digestión ha creado además dos salientes de ADN monocatenario, saliente $\nmid$ 1-5' y el saliente $\nmid$ 3-3'. El saliente $\nmid$ 1-5' es compatible con el saliente $\nmid$ 1-3' en el intermedio del vector del terminador bidireccional (i). El saliente $\nmid$ 3-3' es compatible con el saliente $\nmid$ 3-5' en el intermedio del fragmento TRB (h).

h) La digestión del vector TRB (b) con la enzima de restricción de Tipo IIS n.º 2 da como resultado un fragmento de ADN lineal que contiene el segmento C, parte C, segmento J, CDR3, segmento V $\square$ y secuencia Kozak flanqueada por salientes de ADN monocatenario, el saliente $\pm$ 2-3' y el saliente $\pm$ 3-5'. El saliente $\pm$ 2-3' es compatible con el saliente $\pm$ 2-5' en el intermedio del terminador bidireccional (i). El saliente $\pm$ 3-5' es compatible con el saliente $\pm$ 3-3' en el intermedio del vector de TRA abierto (g).

i) La digestión del vector donante del terminador bidireccional (c) con la enzima de restricción de Tipo IIS n.º 2 produce un intermedio de fragmento de ADN lineal que contiene el terminador bidireccional. La digestión ha creado de forma adicional dos salientes de ADN monocatenario, el saliente $\pm$ 1-3' y el saliente $\pm$ 2-5'. El saliente $\pm$ 1-3' es compatible con el saliente $\pm$ 1-5' en el intermedio del vector de TRA abierto (g). El saliente $\pm$ 2-5' es compatible con el saliente $\pm$ 2-3' en el intermedio del fragmento TRB (h).

j) La ligación de los tres salientes de ADN monocatenario compatibles da como resultado el vector de TRA y TRB emparejadas bidirección en forma de un plásmido circularizado. Este plásmido contiene todos los elementos genéticos del vector TRA parental (a) con excepción del subproducto de reacción vector TRA escindido (d). Además, el vector ORF del TCR de longitud completa incorpora el intermedio del fragmento TRB (h) y el intermedio del terminador bidireccional (i). Las flechas indican los puntos aproximados de ligación entre los salientes de ADN monocatenario compatibles $\pm$ 1, $\pm$ 2 y $\pm$ 3. El punto de ligación $\pm$ 1 comprende los elementos $\pm$ 1-5' y $\pm$ 1-3' donados por el intermedio de reacción del vector TRA (a) y el intermedio del terminador bidireccional (i), respectivamente. El punto de ligación $\pm$ 2 comprende los elementos $\pm$ 2-3' y $\pm$ 2-5' donados por el intermedio del fragmento TRB (h) y el fragmento del terminador bidireccional (i), respectivamente. El punto de ligación $\pm$ 3 comprende los elementos $\pm$ 3-3' y $\pm$ 3-5' donados por el intermedio de reacción del vector TRA (a) y el intermedio de reacción del fragmento TRB (h), respectivamente.

Figura 23 Validación de especificidad de un par TRA/TRB de TCR modelo reconstituido utilizando TORES2

Se reconstituyó un par de cadenas de TRA/TRB del TCR modelo con especificidad para un antígeno restringido por HLA-A*02:01 con el sistema TORES² como se describe en el ejemplo 11. El vector donante TRA/TRB bidireccional se utilizó para integrar de forma estable los ORF del TCR en una línea celular humana que expresaba constitutivamente componentes CD3 pero que carecía de expresión endógena para las cadenas TRA y TRB, y que codifica además un sitio receptor genómico compatible con los sitios RMCE contenidos dentro del vector donante de producto que tiene contribución del vector de entrada V-C α original. La funcionalidad del vector donante de TRA y TRB emparejado de longitud completa reconstituido generado por el TORES² se determinó por tinción de superficie del complejo CD3, y la especificidad esperada del TCR reconstituido y expresado se confirmó por tinción con tetrámero HLA-A*02:01-SLLMWITQV específico.

a) El par de TCR modelo se integró en el genoma de la línea celular presentadora del TCR modificada genéticamente que contiene sitios receptores genómicos coincidentes con el vector donante. Este sitio receptor genómico contiene elementos promotores que dirigen dos marcadores fluorescentes independientes (proteína fluorescente roja, RFP y proteína fluorescente azul, BFP) en disposición antiparalela interpuestos por un elemento terminador bidireccional análogo al producto final del vector donante TRA/TRB del TORES² TRA/TRB descrito en el Ejemplo 11. Después de la transfección y el crecimiento de las células receptoras, se llevó a cabo un análisis mediante citometría de flujo para observar la persistencia de estos indicadores fluorescentes. Por lo tanto, la ausencia de los sitios del receptor genómico (RFP-BFP-) indicó que las células habían integrado correctamente el vector donante TRA/TRB. Aunque las células no integraron el vector donante TRA/TRB, mostraron presencia de los sitios receptores genómicos (RFP+BFP+). La mayoría de las células integraron con éxito las secuencias del vector donante TRA/TRB en el sitio receptor genómico.

b) Cada una de las poblaciones RFP-BFP- y RFP+BFP+ de a) se clasificaron y volvieron a representar en un segundo gráfico de histograma de superposición. Las células que integraron la construcción bidireccional también mostraron tinción positiva con anticuerpo de CD3, lo que demuestra que TCR se expresaba en la superficie celular (histograma claro). Las células que no integraron la construcción bidireccional no mostraron tinción con el anticuerpo de CD3 (histograma oscuro).

c) y d) las células RFP-BFP- analizadas en a) y b) se clasificaron y volvieron a representar como gráficos de contorno. Se tiñeron muestras paralelas de las células con el reactivo del tetrámero HLA-A*02:01-SLLMWITQV c), o no d), en donde la doble positividad para el tetrámero/CD3 en c) indica la especificidad esperada del par TCR ORF reconstituido e integrado.

Materiales y métodos

Secuenciación de ADN

Toda la secuenciación mencionada en los ejemplos presentados se realizó mediante el método de Sanger, y fue realizada por GATC Biotech AB, Suecia.

Síntesis de ADN

Todas las síntesis de ADN mencionadas en los ejemplos presentados fueron realizadas por *Integrated DNA Technologies BVBA*, Bélgica.

- 5 Los fragmentos de ADN >125 pb se sintetizaron como moléculas de ADN bicatenarias lineales como un producto de '*Fragmentos de genes gBlock*'.

Los fragmentos de ADN de 15-60 nt se sintetizaron como moléculas de ADN monocatenario como un producto de '*Fragmento de oligonucleótidos personalizado*'.

- 10 Los fragmentos de ADN de 61-124 nt se sintetizaron como moléculas de ADN monocatenario como un producto de '*Fragmento de oligonucleótidos de ADN Ultramer*'.

Ensamblado y clonación de la genoteca de vectores

- 15 La construcción de vectores descrita en los ejemplos comprende una variedad de métodos bien conocidos por los expertos en la técnica, y las composiciones de reacción específicas se describen detalladamente en los Ejemplos 1 a 3. En los procedimientos descritos se utilizaron los siguientes materiales clave:

Producto	Proveedor	Número de proveedor
Acc651	New England BioLabs	R0599L
BbsI HF	New England BioLabs	R3539L
Células competentes DH5alpha	Thermo Fisher Scientific	18265017
Kit de limpieza y concentración de ADN	Zymo Research	D4030
EcoRI	New England BioLabs	R3101S
NotI	New England BioLabs	R3189L
QIAamp DNA Mini kit	Qiagen	51306
QIAquick Gel Extraction kit	Qiagen	28704
Qiagen Plasmid Plus Midi kit	Qiagen	12945
Ligasa de T4	New England BioLabs	M0202L
Tampón de ligasa de T4 10x	New England BioLabs	B0202S
XbaI	New England BioLabs	R0145S
XhoI	New England BioLabs	R0146S

- 20 Dúplex de oligonucleótidos que codifica el ensamblado de CDR3 (odeCDR3)

odeCDR3 se ensambló rutinariamente por anillado de oligonucleótidos monocatenarios parcialmente complementarios. En el Ejemplo 6 se proporciona una descripción detallada de la composición de reacción y de las condiciones. En los procedimientos descritos se utilizaron los siguientes materiales clave:

25

Producto	Proveedor	Número de proveedor
Tampón de ligasa de T4 10 x	New England BioLabs	B0202S
T4 PNK	New England BioLabs	M0201L

Reconstitución del TCR

- 30 El funcionamiento del TORES para reconstituir los ORF del TCR de longitud completa se describe en detalle en los Ejemplos 7 a 9. En los procedimientos descritos se utilizaron los siguientes materiales clave:

Producto	Proveedor	Número de proveedor
BsaI-HF	New England BioLabs	R3535L
Tampón CutSmart 10 x	New England BioLabs	B7204S
Células competentes DH5alpha	Thermo Fisher Scientific	18265017
NotI-HF	New England BioLabs	R3189L
QIAamp DNA Mini kit	Qiagen	51306
Ligasa de T4	New England BioLabs	M0202L
Tampón de ligasa de T4 10 x	New England BioLabs	B0202S

Clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS)

Linfocitos T CD8⁺ positivos para el HLA múltimero único se clasificaron mediante FACS para la amplificación y secuenciación de cadenas del TCR. Esto se logró utilizando metodologías estandarizadas de clasificación celular utilizando el instrumento *BDInflux*. En resumen, las células se tiñeron con el reactivo de HLA múltimero en hielo durante 10 minutos, a continuación con anticuerpos de CD3 y CD8 como marcadores de linfocitos T CD8⁺. Los linfocitos con la señal CD3+CD8+Múltimero+ se clasificaron en una placa de PCR precargada con 5 µl de agua exenta de nucleasas. Las muestras se congelaron rápidamente hasta el procesamiento posterior. En los procedimientos descritos se utilizaron los siguientes materiales clave:

Producto	Proveedor	Número de proveedor
CMV-B.07:02-TPRVT-pp65 (PE)	Immudex	WH2136
Anti-CD8 (clon RPA-T8) (BV510)	BD	563256
Anti-CD3 (clon SK7) (APC-H7)	BD	560176

Secuenciación de cadenas alfa y beta de TCR a partir de linfocitos T individuales

Los linfocitos T clasificados individualmente mediante FACS se sometieron a un proceso de amplificación en dos etapas que implica la recogida de cebadores específicos de la región V de cada TRA y TRB, seguido por reacciones de PCR anidadas emparejadas que crean amplicones de TRA y TRB para el análisis de secuencias como se describe en el Ejemplo 8. Este procedimiento se ha descrito anteriormente (Han y col. *Nat Biotechnol.* 2014 32(7): 684-692). En los procedimientos descritos se utilizaron los siguientes materiales:

Producto	Proveedor	Número de proveedor
Mezcla de reacción 2x	Thermo Scientific	12574035
Tampón 5X Phusion HF	Thermo Fisher Scientific	F-549S
dNTPs	Thermo Fisher Scientific	10297018
Agua exenta de nucleasa	Qiagen	129114
ADN polimerasa Phusion Hot Start II	Thermo Fisher Scientific	F-549S
Sistema de RT-PCR de una sola etapa SuperScript® III con ADN polimerasa Platinum® Taq de alta fidelidad	Thermo Scientific	12574035

Ejemplo 1

Diseño y ensamblado de una genoteca de vectores de entrada V-C de TRA para un repertorio de TRA humana natural

Un TORES consiste en una genoteca de vectores de entrada V-C y una genoteca de vectores donantes J para una cadena del TCR dada. Cuando se combina con una secuencia diana de odeCDR3 a introducir en un contexto V-J-C seleccionado, puede reconstituirse un ORF del TCR de longitud completa. Variando las características de la secuencia odeCDR3 y/o de la selección de V/J/C, esta etapa de reconstitución también puede representar una etapa de diversificación de secuencia de un ORF del TCR en flujos de trabajo de ingeniería de etapas de diversificación de secuencia de un ORF del TCR. En el presente ejemplo, el diseño y ensamblado de una genoteca de vectores de entrada V-C de TRA que contiene el repertorio de secuencias V-C de TRA humanas nativas. Este es un ejemplo del tipo de vector de entrada V-C genérico representado en la Figura 2.

Los componentes de ADN necesarios para una genoteca de vectores V-C de TRA son:

- I. Un fragmento de clonación V de TRA para cada segmento génico V de TRA funcional codificado en el genoma humano
- II. Fragmento de clonación C único de TRA
- III. Una cadena principal del vector de entrada V-C

En el presente ejemplo, los fragmentos de clonación V de TRA y C de TRA se sintetizaron y utilizaron para su ensamblado en una cadena principal del vector de entrada V-C diana en una sola reacción de enzima de restricción y ligasa. En el presente ejemplo, la cadena principal de entrada V-C diana se diseñó para permitir la expresión transitoria de los ORF del TRA reconstituídos en células de mamífero.

En el presente ejemplo, la genoteca de vectores de entrada V-C de TRA se construye con la enzima de restricción de Tipo IIS BbsI. La enzima de restricción de Tipo IIS utilizada en el funcionamiento del TORES completo para reconstituir los ORF del TRA de longitud completa es BsaI.

5 Diseño de fragmentos de clonación V de TRA sintéticos

La disposición de los elementos genéticos de los fragmentos de clonación V de TRA en el presente ejemplo se representa en la Figura 5.

10 Cada extremo del fragmento de clonación V de TRA codifica una secuencia estandarizada 5' y 3' de ADN **de unión al cebador** de 20 nucleótidos para la propagación del fragmento general por PCR.

Proximal a la **unión del cebador 5'** hay codificado un sitio de unión de la enzima de restricción BbsI de Tipo IIS, en donde la dirección del sitio de unión de BbsI guía la enzima BbsI para cortar el ADN en 3' respecto a su secuencia de reconocimiento. Los salientes generados por la actividad enzimática de BbsI se denominan **Saliente*1**. Este saliente está diseñado para permitir la clonación dependiente de ligasa dirigida con un brazo de la cadena principal del vector de entrada V-C.

Una secuencia consenso de **kozak** está codificado en 5' del codón de iniciación ATG dentro del segmento génico V de TRA para el inicio eficiente de la traducción del ARNm de TRA reconstituido y expresado final. En el presente ejemplo, cada **segmento V de TRA** codifica todos los aminoácidos desde el resto de metionina inicial hasta la última cisteína (Cys) del segmento V de TRA. Este residuo Cys se reconoce generalmente como un límite de los segmentos génicos TRA variables, cuya delección es rara en cadenas TRA recombinadas y funcionales de origen natural. Cuando es necesario, las secuencias de consenso nativas de V de TRA humanas se han editado para eliminar las secuencias de reconocimiento de cualquier enzima de restricción utilizada en las operaciones de ensamblado o reconstitución con el TORES, y también de cualquier enzima utilizada en aplicaciones posteriores.

Hacia el extremo 3' del **segmento V de TRA** hay codificado un sitio de unión de enzima de restricción BsaI de Tipo IIS, **BsaI** ←. La dirección del sitio de unión de BsaI guía la enzima BsaI para cortar el ADN en 5' respecto a su secuencia de reconocimiento. La secuencia del saliente resultante está diseñada para incluir el último codón de cisteína del elemento de segmento V y el 3^{er} nucleótido del codón de aminoácidos que precede a la cisteína. Por lo tanto, la acción de BsaI en la secuencia diseñada crea un Saliente **Cys‡1 de V de TRA** en el extremo 3' del **segmento V de TRA**. En el presente ejemplo, este **Saliente Cys ‡1** se estandariza entre todos los segmentos V de TRA incluidos para simplificar y unificar la estrategia de clonación. Cuando fue necesario, se cambiaron los nucleótidos que codifican el elemento genético V de TRA para codificar este saliente estandarizado pero sin cambiar la secuencia de aminoácidos traducida. Este sitio **BsaI** ← se utiliza durante la reacción de reconstitución de TRA de longitud completa.

En este ejemplo actual, el **marcador de selección negativa** del vector de entrada V-C es un sitio de unión a enzimas de restricción NotI. Para construir un sitio de unión NotI, se combinan dos mitades del sitio cuando el **fragmento de clonación V de TRA y el fragmento de clonación C de TRA** se ligan entre sí. El fragmento de clonación V de TRA codifica el segmento **NotI 5'** de seis nucleótidos.

El extremo 5' de la secuencia de **unión del cebador en 3'** codifica un segundo sitio de restricción BbsI, que dirige la enzima BbsI para cortar el ADN en 5' respecto a su secuencia de reconocimiento, **BbsI** ←. La acción de BbsI en la secuencia diseñada crea por lo tanto un saliente de 4 nucleótidos, **saliente NotI 5'**, diseñado para ser complementario del saliente generado en el fragmento de ADN C de TRA y reconstituye un sitio de unión NotI en la ligación.

50 **Sp** denota adiciones de nucleótidos en puntos específicos del fragmento de clonación V de TRA para lograr la separación correcta del sitio de unión de enzimas de restricción de Tipo IIS y el sitio de corte, cuando está adyacente a dichos sitios. Los bloques **Sp** que flanquean la secuencia del sitio de unión de enzimas de restricción NotI se han utilizado para separar adecuadamente el sitio de unión y de corte de NotI para una acción eficiente. La selección de nucleótidos tuvo en cuenta el impacto potencial de la metilación de DAM en el sitio de unión a BsaI.

Las secuencias completas de ADN para los **fragmentos de clonación V de TRA** en el presente ejemplo de cadenas TRA humanas nativas se proporcionan como SEQ0001 a SEQ0046. Estas secuencias incluyen las secuencias de unión al iniciador 5' y las secuencias de unión al iniciador 3'.

60 Diseño del fragmento de clonación C de TRA sintético

en la Figura 6 se representa la disposición de los elementos genéticos de los fragmentos de clonación C de TRA en el presente ejemplo.

65

Cada extremo del fragmento de clonación C de TRA codifica una secuencia estandarizada 5' y 3' de ADN de unión al cebador de 20 nucleótidos para la propagación del fragmento general por PCR.

Proximal a la secuencia de **unión al cebador 5'** hay codificado un sitio de reconocimiento de la enzima de restricción BbsI, de forma que la enzima BbsI cortará el ADN 3' respecto a su secuencia de reconocimiento, **BbsI→**.

El fragmento de clonación C de TRA codifica el segmento **NotI 3'** de seis nucleótidos, que completa un sitio de reconocimiento NotI que constituirá el **marcador de selección negativa** del vector de entrada V-C. El sitio de restricción **BbsI →** adyacente actúa sobre el elemento NotI 3' para crear el **saliente NotI 3'** de cuatro nucleótidos. Este saliente está diseñado para ser complementario al saliente NotI 5' generado en el fragmento de ADN V de TRA y reconstituir un sitio de unión NotI completo en el ensamblado de vectores de entrada V-C.

En el extremo 3' del elemento **NotI 3'**, el fragmento de clonación C de TRA codifica un sitio de unión de enzimas de restricción BsaI, **BsaI →**. La dirección del sitio de unión de BsaI guía la enzima BsaI para cortar el ADN 5' respecto a su secuencia de reconocimiento. La secuencia del saliente resultante está diseñada para comenzar desde la primera citosina del fragmento genético C de TRA, **saliente C de TRA ±3**. Este sitio **BsaI →** se utiliza durante la reacción de reconstitución TRA de longitud completa. La enzima **BsaI→** actúa sobre el **segmento C de TRA** codificado en el vector de entrada V-C para crear el **Saliente de C de TRA ±3** necesario durante las reacciones de reconstitución. En el presente ejemplo, en el fragmento de clonación C de TRA hay incluida una secuencia de C de TRA de consenso desde el resto de citosina 5' del primer codón de glutamina hasta el codón de terminación

El extremo 5' de la **unión al cebador** en 3' codifica una secuencia de reconocimiento de la enzima de restricción BbsI, **BbsI ←**. La dirección del sitio de unión a BbsI guía la enzima BbsI para cortar el ADN 5' respecto a su secuencia de reconocimiento. Los salientes generados por la actividad enzimática de BbsI se denominan **Saliente*2**. El diseño de este saliente permite la clonación dependiente de ligasa dirigida con un brazo de la cadena principal del vector de entrada V-C durante el ensamblado.

Sp denota las adiciones de nucleótidos en puntos específicos del fragmento de clonación C de TRA para lograr la separación correcta del sitio de unión de enzimas de restricción de Tipo IIS y el sitio de corte, cuando está adyacente a dichos sitios. Los bloques **Sp** que flanquean la secuencia del sitio de unión de enzimas de restricción NotI se han utilizado para separar adecuadamente el sitio de unión y de corte de NotI para una acción eficiente. La selección de nucleótidos tuvo en cuenta el impacto potencial de la metilación de DAM en el sitio de unión a BsaI

La secuencia completa de ADN para el **fragmento de clonación C de TRA** del presente ejemplo de cadenas TRA humanas nativas se presenta como SEQ0047. Esta secuencia incluye las secuencias de unión al iniciador 5' y las secuencias de unión al iniciador 3'.

Diseño de la cadena principal del vector de entrada V-C para la expresión transitoria del ORF del TRA reconstituido en células de mamífero

En el presente ejemplo, la cadena principal del vector de entrada V-C se deriva del plásmido pMA. Codifica un origen de replicación Col E1, **ori**, junto con el gen de la beta-lactamasa de resistencia a antibióticos, **selección positiva n.º 1**. La beta-lactamasa confiere resistencia al grupo de antibióticos betalactámicos de la penicilina, tales como ampicilina y carbenicilina.

La cadena principal del vector, como se representa en la Figura 7, codifica los elementos genéticos necesarios que confieren la funcionalidad adecuada para aplicaciones posteriores del ORF del TRA completamente reconstituido. En este ejemplo, el **elemento genético 5'** codifica el promotor constitutivo mamífero de CMV y el **elemento genético 3'** codifica la señal de poliadenilación de SV40pA para permitir la expresión transitoria del ORF del TRA completamente reconstituido en una célula de mamífero.

En el presente ejemplo, la cadena principal del vector codifica sitios de unión de enzimas de restricción **Acc65I** y **XbaI** que generan el **saliente *1'** y **saliente *2'**, respectivamente. El **Saliente*1'** es complementario al **Saliente*1** en el fragmento de clonación V de TRA (Figura 5). El **Saliente*1'** es complementario del **Saliente*2** en el fragmento de clonación C de TRA (Figura 6). Estos salientes complementarios permiten la clonación dirigida de los fragmentos de clonación V de TRA y C de TRA en la cadena principal del vector de entrada V-C.

La característica **Sp** denota nucleótidos añadidos entre los sitios de reconocimiento de los enzimas de restricción **Acc65I** y **XbaI** necesarios para separar los dos sitios para una acción eficiente.

La secuencia de ADN de la cadena principal del vector procedente del **elemento genético 5'** que codifica promotor constitutivo del CMV hasta el **elemento genético 3'** que codifica la señal de poliadenilación de SV40pA se presenta como SEQ0048.

Método para ensamblar la genoteca de vectores de entrada V-C de TRA

Este método utiliza técnicas estandarizadas de biología molecular para ensamblar el **fragmento de clonación V de TRA** seleccionado (Figura 5) y el **fragmento de clonación C de TRA** (Figura 6) en una **cadena principal del vector de entrada V-C** dada (Figura 7) para crear un **vector de entrada V-C de TRA** (Figura 2). En este ejemplo, el método lleva a cabo la digestión con enzimas de restricción y la reacción de ligación en una sola reacción.

Reacción de digestión y ligación de RE

100 ng de cadena principal del vector lineal (linealizado por digestión con ACC65I y XbaI)

10 ng del fragmento genético V de TRA

20 ng del fragmento genético C de TRA

2 µl de tampón de ligasa NEB 10x

0,5 µl de BbsI

1 µl de ADN-ligasa de T4

Hasta 20 µl de H₂O

Condiciones de reacción

Etapas 1; 2 minutos a 37 °C

Etapas 2; 3 min a 16 °C

Repetir las etapas 1 y 2, 20 veces

5 min a 50 °C

5 min a 80 °C

Volver a la temperatura ambiente

El producto resultante se transforma en células E. coli competentes que se seleccionan por colonias resistentes a carbenicilina. Los plásmidos aislados de colonias seleccionadas se secuencian para determinar las construcciones ensambladas correctamente. El procedimiento se repite para cada fragmento de clonación del segmento V independiente. Las construcciones resultantes componen la genoteca de vectores de entrada V-C de TRA para su uso en la reconstitución de ORF de longitud completa para su uso posterior en la expresión transitoria de dicho TRA reconstituido en células de mamífero. La secuencia de los fragmentos V-C clonados que componen la genoteca del vector de entrada V-C de TRA se presenta como SEQ0049 a SEQ0094. Las secuencias presentadas incluyen toda la secuencia Kozac que precede al codón de iniciación del segmento variable, hasta el codón de terminación del segmento C.

Ejemplo 2

Diseño y ensamblado de una genoteca de vectores de donantes J de TRA para un repertorio de TRA humana nativa

Un TORES consiste en una genoteca de vectores de entrada V-C y una genoteca de vectores donantes J para una cadena del TCR dada. Cuando se combina con una secuencia diana de oDeCDR3 a introducir en un contexto V-J-C seleccionado, puede reconstituirse un ORF del TCR de longitud completa. Variando las características de la secuencia oDeCDR3 y/o de la selección de V/J/C, esta etapa de reconstitución también puede representar una etapa de diversificación de secuencia de un ORF del TCR en flujos de trabajo de ingeniería de etapas de diversificación de secuencia de un ORF del TCR

En el presente ejemplo, el diseño y ensamblado de una genoteca de vectores donantes J de TRA que contiene el repertorio de secuencias V-C de TRA humanas nativas. Este es un ejemplo del tipo de vector donante J genérico representado en la Figura 3.

En el presente ejemplo, un **fragmento del casete de recepción J de TRA** se construye y se inserta en la cadena principal del vector donante J para crear un **vector del casete de recepción J**. Posteriormente, partes sintéticas de segmento J de TRA se pueden ensamblar en un **vector del casete de recepción J de TRA** para crear la

genoteca de **vectores donantes J**. Este método flexible de ensamblado multietapa permite un diseño rápido y económico de las características del segmento donante J, tales como variaciones en la longitud del segmento J.

Los componentes de ADN necesarios para una genoteca de **vectores donantes J de TRA** son:

- I. Fragmento del casete de recepción J de TRA
- II. Cadena principal del vector donante J
- III. Vector del casete de recepción J de TRA
- IV. Parte del segmento J de TRA

Diseño del fragmento sintético del casete de recepción J de TRA

El anillado de dos oligonucleótidos de ADN monocatenarios se utiliza para generar el fragmento del casete del sitio receptor que, por diseño, contiene salientes monocatenarios de 4 nucleótidos a cada extremo del fragmento de ADN; el **Saliente*3** y el **Saliente*4**. Los salientes de 4 nucleótidos permiten la clonación dirigida dependiente de ligasa a una cadena principal del vector donante J para crear el **vector del casete de recepción J de TRA**, representado en la Figura 8.

El par de sitios de restricción de Tipo IIS, **Bsal** $\leftarrow$ y **Bsal** $\rightarrow$ está situado en el extremo 5' y 3' del fragmento de ADN del casete del sitio de recepción. La dirección del sitio de reconocimiento de Bsal es para guiar a la enzima Bsal para cortar el ADN hacia el centro de la construcción. Estos sitios se utilizan durante el protocolo de reconstitución del ORF de TRA generando un **saliente $\pm 2-5'$** y un **saliente $\pm 3-3'$** . El **Saliente ± 3** es un componente de la parte C de TRA codificada en el fragmento del casete de recepción, mientras que el **Saliente ± 2** se define después de clonar la parte del segmento J de TRA (véase más abajo).

El par BbsI de los sitios de reconocimiento de Tipo IIS **BbsI** $\leftarrow$ y **BbsI** $\rightarrow$ están codificados cerca del centro del casete y se utilizan para ensamblar el vector donante J de TRA, durante la creación de salientes complementarios incluidos en las **partes del segmento J de TRA** sintetizadas (véase más abajo). El sitio BbsI en 5', **BbsI** $\leftarrow$, corta el sitio Bsal para crear el **Saliente*5** en el extremo 3' de esta característica. El sitio BbsI en 3', **BbsI** $\rightarrow$, corta el elemento de parte C de TRA, para crear un **Saliente*6** en el extremo 5' de este elemento. Estos salientes están codificados en las características de la parte Bsal y C de TRA de esta construcción para evitar la adición de nucleótidos no nativos que se incorporarían al ORF del TRA reconstituido final.

La región entre el saliente generado por la enzima **BbsI** $\rightarrow$ y el saliente generado por la enzima **Bsal** $\leftarrow$ codifica una parte de la región C de TRA que comienza a partir del segundo nucleótido del fragmento genético C de TRA, **parte C de TRA**. El motivo para comenzar a partir del segundo nucleótido del fragmento genético C de TRA es porque, en el presente ejemplo de un locus de TRA humano TORES, el saliente resultante es TATC y no un saliente palindrómico, lo que sería el caso si se incluyera el comienzo del fragmento genético C de TRA (saliente resultante ATAT). Debe evitarse un saliente palindrómico, ya que permitiría que dos extremos de vector se uniesen sin la inserción de la parte del segmento J requerida. La orientación del sitio **BbsI** $\rightarrow$ permite la clonación dependiente de ligasa dentro del marco de todos los fragmentos J de TRA 3' hasta el comienzo de la región C de TRA 5' del casete del sitio receptor. La orientación del sitio **Bsal** $\leftarrow$ permite la clonación dependiente de ligasa dentro del marco del comienzo de la región C de TRA con los fragmentos C de TRA restantes en la etapa final del protocolo de reconstitución del ORF de longitud TRA completa utilizando un TORES completo.

Entre los dos sitios de unión de BbsI hay una secuencia de reconocimiento de 8 nucleótidos de la enzima **NotI**. Este sitio de restricción se utiliza como un marcador de **selección negativa** para reducir el fondo de colonias del plásmido parental. Esto se logra cuando la enzima NotI se añade después de realizar la inserción del fragmento génico J de TRA. Por lo tanto, los plásmidos que clonan correctamente un fragmento de gen J de TRA deberán seguir siendo circulares en presencia de la enzima NotI pero los plásmidos parentales que no intercambiaron su sitio NotI por un fragmento de gen J de TRA se linealizarán, sesgando a su vez la transformación bacteriana para que propague un plásmido que contiene el fragmento J de TRA circular completo.

Sp denota las adiciones de nucleótidos en puntos específicos del fragmento del casete de recepción J de TRA para lograr la separación correcta del sitio de unión de enzimas de restricción de Tipo IIS y el sitio de corte, cuando está adyacente a dichos sitios. Los bloques Sp que flanquean la secuencia del sitio de unión de enzimas de restricción NotI se han utilizado para separar adecuadamente el sitio de unión y corte NotI para una acción eficiente. Se han incluido nucleótidos adicionales para mantener el marco de lectura correcto dentro del TRA de longitud completa reconstituido final. La selección de nucleótidos tuvo en cuenta el impacto potencial de la metilación de DAM en el sitio de unión a Bsal.

La secuencia completa de ADN para el **fragmento del casete de recepción J de TRA** del presente ejemplo de cadenas TRA humanas nativas se presenta como SEQ0095 y SEQ0096. Se especifican ambas secuencias de oligonucleótidos directa (F1) e inversa (R1).

5 Diseño de la cadena principal del vector donante J

La **cadena principal del vector donante J** se utiliza para insertar el **fragmento del casete de recepción J de TRA** para crear el **vector del casete de recepción J de TRA**. Por tanto se lleva la cadena principal en la genoteca de vectores donantes J. En la reacción final para crear los ORF de TRA longitud completa, esta cadena principal es un subproducto de reacción (Figura 4E) y, por lo tanto, tiene características mínimas como se representa en la Figura 9.

En el presente ejemplo, la **cadena principal del vector donante J** codifica para un origen de replicación Col E1, **ori**. La resistencia a antibióticos es el gen de la aminoglicósido 3'-fosfotransferasa, **selección positiva n.º 2**. La aminoglicósido 3'-fosfotransferasa confiere resistencia a sustratos antibióticos tales como kanamicina, estreptomicina, neomicina y gentamicina. Esta selección positiva alternativa se utiliza para asegurar que los vectores donantes J no se seleccionen después de la reconstitución del ORF del TCR de longitud completa, que se seleccionan en la **selección positiva n.º 1**.

En el presente ejemplo, los sitios de unión de la enzima de restricción **EcoRI** y **XhoI** del vector que generan salientes complementarios, el **saliente *3'** y el **saliente *4'**, respectivamente. El **Saliente*3'** es complementario al **Saliente*3'** contenido dentro del **fragmento del casete de recepción J de TRA**. El **Saliente*4'** es complementario al **Saliente*4'** contenido dentro del **fragmento del casete de recepción J de TRA**. Estos salientes permiten la clonación dirigida del fragmento del casete de recepción J de TRA.

El bloque Sp denota nucleótidos añadidos entre los sitios de unión de enzimas de restricción **EcoRI** y **XhoI** para separar los dos sitios para asegurar una acción eficiente.

En el presente ejemplo, la cadena principal del donante J se presenta como SEQ0097.

30 Método para ensamblar el vector del casete de recepción J de TRA

Este método utiliza técnicas estándar de biología molecular para ensamblar los **fragmentos del casete de recepción J de TRA** dado (Figura 8) en una **cadena principal del vector donante J** dado (Figura 9) para crear un **vector del casete de recepción J de TRA** (Figura 10). El **vector del casete de recepción J de TRA** resultante se utiliza para insertar **partes del segmento J de TRA** (Figura 11) para construir **vectores donantes J de TRA** (Figura 3).

Primero, los dos oligonucleótidos que forman el fragmento de ADN del casete de recepción J de TRA deben fosforilarse y anillarse.

40 Mezcla de reacción

Oligonucleótido (cadena sentido) (100 µM)	1 µl
Oligonucleótido (cadena antisentido) (100 µM)	1 µl
Tampón de ligasa de T410x	1 µl
T4 PNK	1 µl
H ₂ O	6 µl

Condiciones de reacción

45 Incubar a 37 °C durante 1 hora

Desnaturalizar a 95 °C durante 5 min

50 Hibridar los oligonucleótidos sentido y antisentido enfriando lentamente la reacción a 25 °C a 3 °C por min

Ligación de ensamblado de fragmentos del casete de recepción J de TRA y de la cadena principal del vector donante J.

Mezcla de reacción

Cadena principal del vector lineal	100 ng
Fragmento de ADN del casete del sitio receptor (0,5 µM)	2 µl
Tampón de ligasa de T410x	2 µl
Ligasa de T4	0,5 µl
H ₂ O	hasta 20 µl

Condiciones de reacción

Incubar durante 1 hora a 25 °C

Inactivar térmicamente a 65 °C durante 10 min

El producto resultante se transforma en células *E. coli* competentes y se selecciona por colonias resistentes a kanamicina. Las colonias resistentes se seleccionan para determinar las construcciones correctamente ensambladas. El plásmido resultante es el **vector del casete de recepción J de TRA**. En el presente ejemplo, el vector del casete de recepción J de TRA se presenta como SEQ0098 y se representa en la Figura 10.

Diseño de partes sintéticas de segmentos J de TRA

Después de haber generado el **vector del casete de recepción J de TRA** sintético, deben generarse las partes del segmento J de TRA sintéticas a introducir en este vector. Cada secuencia J de TRA se inserta en un contexto del **vector receptor J de TRA** independiente para generar la **genoteca de vectores donantes J de TRA** como parte del TORES de TRA humana.

La **genoteca de vectores donantes J** viene en dos formas distintas, que comprenden una parte larga o corta del segmento J. La **parte del segmento J de TRA corta** codifica para todos los aminoácidos desde el inicio del codón de límite de CDR3. Sin embargo, teniendo en cuenta que la mayoría de los segmentos J de TRA se recortan en menos de 10 nucleótidos durante el reordenamiento del TCR, se diseña una genoteca de donantes J de TRA que contiene un segmento de línea germinal J de TRA más largo, la **parte del segmento J de TRA larga**. El motivo de una genoteca de fragmentos de genes J de TRA más largos es que se necesitaría un dúplex de oligonucleótidos que codifica para CDR3 más corto (odeCDR3) para la reconstitución de un TRA de longitud completa, que si se utilizara el **fragmento J de TRA corto**. Dado que se proporcionan secuencias altamente variables como dúplex de oligonucleótidos cortos, **odeCDR3**, es menos probable que una síntesis de oligonucleótidos de CDR3 más corto contenga contaminantes de oligonucleótidos truncados o mutados y, por lo tanto, se reduce la probabilidad de clonar el dúplex de oligonucleótidos con errores de secuencia durante la reconstrucción del TRA de longitud completa. Además, las síntesis de **odeCDR3** más cortos ahorra costes.

Las **partes de los segmentos J de TRA** se construyen anillando dos oligonucleótidos de ADN monocatenarios diseñados para contener salientes monocatenarios de 4 nucleótidos en cada extremo del fragmento de ADN. La parte resultante del segmento J de TRA se representa en la Figura 11.

El saliente 5' designado **Saliente*5'** es complementario al **Saliente*5'** generado dentro del **vector del casete de recepción del donante J** por acción de BbsI. El saliente 3' designado **Saliente*6'** es complementario del **Saliente*6'** generado dentro del **vector del casete de recepción del donante J** por acción de BbsI. Este par de salientes complementarios permite la clonación direccional de las partes del segmento J de TRA en el **vector del casete de recepción J de TRA**.

La **parte de segmento J de TRA corto** codifica para todos los aminoácidos desde el inicio del codón Phe del límite CDR3-J. La CDR3 se define como la secuencia flanqueada por la Cys conservada C terminal de la región V y la Phe en la región J que forma parte del motivo conservado Phe-Gly/Ala. Este motivo Phe-Gly/Ala conservado se utiliza para estandarizar los salientes 5' de los fragmentos J de TRA hasta TTTG para la reconstitución de TRA posterior. Las excepciones a esta estandarización en el presente ejemplo son TRAJ33 y TRAJ38 humanas que limitan la región CDR3 con Trp y Gly. Los salientes 5' son TGGG para TRAJ33 y TRAJ38 en el presente ejemplo.

La **parte de segmento J largo** está diseñada para codificar más aminoácidos en el extremo N terminal de los aminoácidos límite de CDR3. El punto de inicio de cada fragmento de gen largo está en el primer nucleótido de un codón de aminoácido situado a 10-12 nt del extremo 5' del elemento de unión del TCR codificado por la línea germinal. El extremo 5' de cada **parte larga del segmento J** sigue siendo idéntico al de la **parte corta del segmento J de TRA**.

En ambas **partes corta y larga del segmento J de TRA** se añade una adenina, representada como bloque A en la Figura 11, al extremo 3' de cada parte de segmento J de TRA. Esta adenina representa el primer nucleótido del **fragmento C de TRA** que se excluye del **casete de recepción J de TRA**.

Las secuencias de las partes cortas de los segmentos J de TRA del presente ejemplo de segmentos J humanos nativos se presentan como SEQ0099 a SEQ0210 y las partes largas de los segmentos J de TRA como SEQ0211 a SEQ0322. En ambos casos se especifican ambas secuencias de oligonucleótidos directa (F1) e inversa (R1).

Método para ensamblar la genoteca de vectores de donante J corto o largo

Este método utiliza técnicas estandarizadas de biología molecular para clonar el **segmento J de TRA corto** o la **parte del segmento J de TRA largo** (Figura 11) en el **vector del casete de recepción J de TRA** (Figura 10) para

crear los **vectores donantes J de TRA** (Figura 3) que contienen los **segmentos J de TRA cortos o largos**. En este ejemplo, el método lleva a cabo la digestión con enzimas de restricción y la reacción de ligación en una sola reacción.

- 5 Los componentes de ADN necesarios para una genoteca de vectores donantes J son los siguientes:
 - I. Parte corta de segmento J de TRA o parte larga de segmento J de TRA
 - II. Vector del casete de recepción de donante J
- 10 Fosforilación y anillado de dos oligonucleótidos para formar el fragmento de ADN de la parte del segmento J
Mezcla de reacción

Oligonucleótido (cadena sentido) (100 µM)	1 µl
Oligonucleótido (cadena antisentido) (100 µM)	1 µl
Tampón de ligasa de T4 10x	1 µl
T4 PNK	1 µl
H ₂ O	6 µl
- 15 Condiciones de reacción
Incubar a 37 °C durante 1 hora
- 20 Desnaturalizar a 95 °C durante 5 min
Hibridar los oligonucleótidos sentido y antisentido enfriando lentamente la reacción a 25 °C, a 3 °C por min
- 25 Reacción de digestión y ligación de RE

Estructura principal del casete de recepción J de TRA	100 ng
Fragmento de ADN J de TRA (0,5 µM)	2 µl
Tampón de ligasa de T4 NEB 10x	2 µl
BbsI	0,5 µl
ADN-ligasa de T4	0,5 µl
H ₂ O	hasta 20 µl

Condiciones de reacción
- 30 Etapa 1; 2 minutos a 37 °C
Etapa 2; 3 min a 16 °C
Repetir las etapas 1 y 2, 20 veces
- 35 5 min a 50 °C
5 min a 80 °C
- 40 Volver a temperatura ambiente
Se añaden 0,5 µl de enzima NotI y se incuba durante 30 min a 37 °C para linealizar el vector parental.
El producto de reacción se transforma en células competentes de E. coli y se seleccionan por resistencia a kanamicina. Las colonias resistentes seleccionadas se secuencian para determinar las construcciones ensambladas correctamente. Las construcciones resultantes componen la genoteca de vectores donante J de TRA que codifica un fragmento génico J largo o corto.
- 45 La secuencia de las genotecas resultantes, excluyendo la secuencia de la cadena principal no incluida en los sitios de reconocimiento BsaI, se presenta como SEQ0323 a SEQ0378 para la **genoteca donante J de TRA corta** y SEQ0379 a SEQ0434 para la **genoteca donante J de TRA larga**.
- 50

Ejemplo 3

Diseño y ensamblado del vector de entrada V-C de TRB y genotecas del vector donante J de TRB para el repertorio de TRB humano nativo

En los ejemplos anteriores, se ha descrito detalladamente el diseño y ensamblado del vector de entrada V-C y las genotecas del vector donante J para el repertorio de TRA humano nativo. El diseño y ensamblado general de dichas genotecas vectoriales que codifican secuencias de TRB es esencialmente el mismo. En el presente ejemplo, el diseño y ensamblado del **vector de entrada V-C de TRB y las genotecas del vector donante J de TRB** se esbozan brevemente para construir un TORE o el locus del TRB del TRC humano nativo.

Diseño y ensamblado de una genoteca de vectores de entrada V-C de TRB para un repertorio de TRB humana nativa

En el presente ejemplo, el diseño y ensamblado de una genoteca de vectores de entrada V-C de TRB que contiene el repertorio de secuencias V-C de TRB humanas nativas. Este es un ejemplo del Tipo de vector de entrada V-C genérico representado en la Figura 2.

Los componentes de ADN requeridos para una genoteca de vectores V-C de TRB son:

- I. Un fragmento de clonación V de TRB para cada segmento génico V de TRB funcional codificado en el genoma humano
- II. Un fragmento de clonación C1 de TRB o C2 de TRB
- III. Una cadena principal del vector de entrada V-C

A diferencia del locus de TRA humano, el locus de TRB humano codifica dos segmentos constantes distintos, C1 y C2 de TRB. Por lo tanto, para capturar ambas regiones constantes, se construyen dos conjuntos de vectores de entrada V-C para emparejar cada uno de los segmentos V con cada uno de los segmentos C1 y C2.

En el presente ejemplo, los fragmentos de clonación V de TRB y C de TRB se sintetizaron y utilizaron para ensamblarse en una cadena principal del vector de entrada V-C diana en una sola reacción de enzima de restricción y ligasa. En el presente ejemplo, la cadena principal de entrada V-C diana se diseñó para permitir la expresión transitoria de los ORF del TRB reconstituidos en células de mamífero.

En el presente ejemplo, la genoteca de vectores de entrada V-C de TRB se construye con la enzima de restricción de Tipo IIS BbsI. La enzima de restricción de Tipo IIS utilizada en el funcionamiento del biblioteca para reconstituir los ORF del TRB de longitud completa es BsaI.

Diseño de fragmentos de clonación V de TRB sintéticos

La disposición de los elementos genéticos de los fragmentos de clonación V de TRB es idéntica a la los de los fragmentos de clonación V de TRA descritos en el Ejemplo 1, como se representa en la Figura 5.

Las secuencias completas de ADN para los **fragmentos de clonación V de TRB** en el presente ejemplo de cadenas TRB humanas nativas se presentan como SEQ0435 a SEQ481.

Diseño del fragmento de clonación C de TRB sintético

La disposición de los elementos genéticos de los fragmentos de clonación V de TRB es idéntico a los de los fragmentos de clonación C de TRA descritos en el Ejemplo 1, como se representa en la Figura 6.

El locus de TRB codifica dos segmentos C distintos, y ambos se incluyen en el diseño de la genoteca de **vectores de entrada V-C de TRB**.

La secuencia completa de ADN para los **fragmentos de clonación C de TRB** en el presente ejemplo de cadenas TRB humanas nativas se presentan como SEQ0482 y SEQ0483.

Método para ensamblar la genoteca de vectores de entrada V-C de TRB

El método para ensamblar los **fragmentos de clonación V de TRB y C de TRB** dados en una **cadena principal del vector de entrada V-C** dada para crear un **vector de entrada V-C de TRB** es idéntico al descrito en el Ejemplo 1. La cadena principal del vector de entrada V-C utilizada, diseñada para la expresión transitoria de ORF de TRA o TRB de longitud completa en células de mamífero, se utiliza en el presente ejemplo y en el ejemplo 1 (SEQ0048).

La secuencia de los fragmentos V-C clonados que componen la genoteca del vector de entrada V-C de TRA se presenta como SEQ0484 a SEQ0577.

Diseño y ensamblado de una genoteca de vectores de donantes J de TRB para un repertorio de TRB humana nativa

En el presente ejemplo, el diseño y ensamblado de una genoteca de vectores donantes J de TRB que contiene el repertorio de secuencias V-C de TRB humanas nativas. Este es un ejemplo del Tipo de vector donante J genérico representado en la Figura 3.

En el presente ejemplo, un **fragmento del casete de recepción J de TRB** se construye y se inserta en la cadena principal del vector donante J para crear un **vector del casete de recepción J de TRB**. Posteriormente, una **parte sintética de segmento J de TRB** puede ensamblarse en un **vector del casete de recepción J de TRB** para crear la genoteca de **vectores donantes J de TRB**. Este método flexible de ensamblado multietapa permite un diseño rápido y económico de las características del segmento donante J, tales como variaciones en la longitud del segmento J.

Este procedimiento sigue el mismo patrón que el ensamblado del vector donante J de TRA descrito en el Ejemplo 2. Sin embargo, cabe señalar que dado que los fragmentos del casete de recepción J contienen partes del segmento C, los fragmentos del casete de recepción de J de TRA y J de TRB difieren con respecto a la secuencia de la parte C, que debe corresponder a los segmentos génicos C respectivos. Además, a diferencia del escenario para J de TRA que solo requiere un único fragmento del casete de recepción J, el J de TRB requiere dos fragmentos distintos del casete de recepción J para dar cuenta del uso de segmentos de C1 y C2 alternativos.

Los componentes de ADN necesarios para una genoteca de **vectores donantes J de TRB** son:

- I. Fragmento del casete de recepción J de C1 de TRB o J de C2 de TRB
- II. Cadena principal del vector donante J
- III. Vector de casete de recepción J de C1 de TRB o J de C2 de TRB
- IV. Parte del segmento J de TRB

Diseño del fragmento sintético del casete de recepción J de TRA

El anillado de dos oligonucleótidos de ADN monocatenarios se utiliza para generar los **fragmentos del casete receptor**, que contienen salientes monocatenarios de 4 nucleótidos en cada extremo del fragmento de ADN, representado en la Figura 8. Los salientes de 4 nucleótidos permiten la clonación dirigida dependiente de ligasa en una cadena principal del vector donante J para crear el **vector del casete de recepción J de TRB**.

Los dos fragmentos del casete receptor necesarios para el uso alternativo de los segmentos C1 y C2 se presentan como SEQ0578 y SEQ0581. Para cada fragmento se proporcionan las secuencias de oligonucleótidos directa (F1) e inversa (R1).

Método para ensamblar los vectores de casete de recepción J de TRB

El método para ensamblar los **vectores del casete de recepción J de TRB** es idéntico al del método para ensamblar los **vectores del casete de recepción J de TRA** descrito en el Ejemplo 2. Se utiliza la misma **cadena principal del vector donante J** (SEQ0097) para generar dos **vectores del casete de recepción J de TRB**, conteniendo cada uno contiene una parte de C1 o C2 que corresponde a los segmentos C alternativos del locus de TRB.

Los dos **vectores de casete de recepción de J de TRB** resultantes se utilizan para insertar **partes del segmento J de TRB** para construir **vectores de donante J de TRB**.

Los **vectores del casete de recepción J de TRB** resultantes se presentan como SEQ0582 y SEQ0583.

Diseño de partes sintéticas de segmentos J de TRB

Las **partes de los segmentos J de TRB** se construyen mediante el anillado de dos oligonucleótidos de ADN monocatenarios diseñados para contener salientes monocatenarios de 4 nucleótidos en cada extremo del fragmento de ADN. La disposición de esta parte y método de ensamblado son idénticos a los de las partes del segmento J de TRA, y se representan en la Figura 11.

En el caso de la **parte de segmento J de TRB corto**, codifica para todos los aminoácidos desde el inicio del codón de Phe del límite de CDR3-J. La CDR3 se define como la secuencia flanqueada por la Cys conservada en el

extremo C de la región V y la Phe en la región J que forma parte del motivo Phe-Gly conservado para todos los segmentos J de TRB nativos. Este motivo Phe-Gly conservado se utiliza para estandarizar los salientes en 5' de los fragmentos J de TRB hasta TTTG para la reconstitución del TRA posterior. A diferencia de los segmentos J de TRA, no hay excepciones a este saliente estandarizado en las partes de los segmentos J de TRA del presente ejemplo.

Se añade una adenina a ambas **partes del segmento J de TRB corto y largo**, representada como bloque A en la Figura 11, al extremo 3' de cada parte de segmento J de TRB. Esta adenina representa el primer nucleótido del **fragmento C de TRB** que se excluye de los **casetes de recepción J de TRB**.

Las secuencias de las partes cortas de los segmentos J de TRB del presente ejemplo de segmentos J humanos nativos se presentan como SEQ0584 a SEQ0609 y las partes largas de los segmentos J de TRB como SEQ0610 a SEQ0635. En ambos casos se especifican las secuencias de oligonucleótidos directa (F1) e inversa (R1).

Método para ensamblar la genoteca de vectores de donante J de TRB corto o largo

El procedimiento para ensamblar las genotecas donantes J de TRB es idéntico al de las genotecas TRA descritas en el Ejemplo 2. Sin embargo, en el caso de las genotecas de TRB, deben generarse cuatro genotecas, a diferencia de las genotecas cortas y largas para los segmentos del locus de TRA.

En el caso de genotecas de TRB, puede construirse cada genoteca corta y larga para contener cada uno de los segmentos alternativos de C C1 y C2, lo que da como resultado cuatro subconjuntos dentro de la genoteca donante J de TRB.

Los componentes de ADN necesarios para una genoteca de vectores donantes J son los siguientes:

I. Parte corta de segmento J de TRB o parte larga de segmento J de TRB

II. Vector de casete de recepción J de C1 de TRB o J de C2 de TRB

Siguiendo el mismo procedimiento que se describe en el Ejemplo 2, se generan los cuatro subconjuntos resultantes dentro de la genoteca donante de J de TRB. Se presenta la secuencia de las genotecas resultantes, que excluye la secuencia de la cadena principal fuera de los sitios de reconocimiento Bsal.

Genoteca de donantes J cortos C1 de TRB presentada como SEQ0636 a SEQ0648

Genoteca de donantes J cortos C2 de TRB presentada como SEQ0649 a SEQ0661

Genoteca de donantes J largos C1 de TRB presentada como SEQ0662 a SEQ0674

Genoteca de donantes J largos C2 de TRB presentada como SEQ0675 a SEQ0687

Ejemplo 4

Diseño de vectores de entrada V-C de TRA y TRB para aplicación de intercambio de casetes mediada por recombinasa

El diseño de los vectores de entrada V-C de TRA y TRB en los Ejemplos 1 y 3, respectivamente, es tal que los TCR de longitud completa reconstituidos utilizando estos TORES para cada cadena TCR pueden aplicarse directamente a la expresión transitoria en células de mamífero mediante transfección. El diseño general del TORES permite que la cadena principal del vector de entrada V-C se intercambie por cualquier cadena principal adecuada para aplicaciones posteriores, y las genotecas necesarias del vector de entrada V-C se ensamblen rápidamente a partir de fragmentos de clonación V y C.

En el presente ejemplo, se utiliza un par de cadenas principales heteroespecíficas del vector de entrada V-C *FRT* para ensamblar genotecas del vector de entrada V-C de TRA y TRB. Cada genoteca de vectores de entrada V-C de TRA y TRB se construye con cadenas principales de vectores que contienen secuencias diana de reconocimiento de *flipasa* (FRT) distintas. Una aplicación posterior de dichos vectores es la presentación de pares de TRA y TRB reconstituidos finales para una integración genómica rápida en células de mamífero que contienen sitios FRT relevantes.

En el presente ejemplo, el vector de entrada V-C de TRA del diseño representado en la Figura 7 contiene secuencias FRT, F14 y F15, como elementos genéticos 5' y 3', respectivamente. Esta secuencia de cadena principal del vector de entrada V-C de F14/F15 se presenta como SEQ0688.

Esta cadena principal se utilizó para construir la genoteca de entrada V-C de TRA del diseño descrito en la Figura 2, utilizando fragmentos de clonación V de TRA (SEQ0001 a SEQ0046) y el fragmento de clonación C de TRA (SEQ0047)

utilizando los métodos descritos en el Ejemplo 1. Esta construcción produjo una genoteca de entrada V-C de TRA con secuencias idénticas a las de la genoteca de vectores de entrada V-C de TRA de expresión transitoria (SEQ0049 a SEQ0094), pero flanqueada por las secuencias FRT en el contexto de la cadena principal del vector de entrada V-C F14/F15.

En el presente ejemplo, el vector de entrada V-C de TRB del diseño representado en la Figura 7 contiene secuencias FRT, y FRT F3, como elementos genéticos 5' y 3', respectivamente. Esta secuencia de cadena principal del vector de entrada V-C de FRT/F3 se presenta como SEQ0689.

Esta cadena principal se utilizó para construir la genoteca de entrada V-C de TRB del diseño descrito en la Figura 2, utilizando fragmentos de clonación V de TRB (SEQ0435 a SEQ0481) y los fragmentos de clonación C de TRB (SEQ0482 y SEQ0483) utilizando los métodos descritos en el Ejemplo 3. Esta construcción produjo una genoteca de entrada V-C de TRB con secuencias idénticas a las de la genoteca de vectores de entrada V-C de TRB de expresión transitoria (SEQ0484 a SEQ0577), pero flanqueada por las secuencias FRT en el contexto de la cadena principal del vector de entrada V-C FRT/F3.

De forma general, los vectores de entrada V-C de TRA y TRB del presente ejemplo pueden utilizarse indistintamente con vectores de entrada V-C de los ejemplos anteriores. En cada caso, el vector donante J permanece sin cambios, al igual que el diseño y la provisión de oDeCDR3 (véase el Ejemplo 6). En efecto, diferentes cadenas principales del vector de entrada V-C proporcionan los ORF del TCR de longitud completa en contextos de vector deseados para aplicaciones posteriores como un producto directo de la reacción de reconstitución del TCR.

Ejemplo 5

Diseño de vectores de entrada V-C y vectores donantes J adecuados para proporcionar cualquier combinación V-J-C

En los ejemplos anteriores de vectores de entrada V-C y vectores donantes J, se utilizan cadenas TRA y TRC del TCR humanas nativas como demostración práctica del TORES. Sin embargo, está claro que cualquier cadena TCR nativa o no nativa puede utilizarse en el formato TORES en la inserción de las secuencias de cadena TCR necesarias en los formatos de vector especificados.

Para lograr un TORES para cualquier cadena de TCR dada, se requieren cuatro elementos de secuencia específicos para dicha cadena del TCR:

X – un fragmento de segmento génico variable (V)

Y – un fragmento de segmento génico constante (C)

Y' – parte de un segmento génico constante (C)

Z – un fragmento de segmento génico de unión (J)

Según los ejemplos anteriores, estas cuatro formas de elementos de secuencia pueden ensamblarse en varios contextos vectoriales para construir y desplegar un TORES para cualquier combinación V-J-C dada para cualquier cadena TCR dada. Por ejemplo, sistemas para el locus de TRG y TRD humanos nativos, formas de cadena del TCR variantes sintéticos o formas de cadena del TCR nativas de un organismo distinto al humano.

Ensamblado del vector de entrada V-C y construcción final

Para lograr el ensamblado del vector de entrada V-C, pueden construirse dos intermedios que contengan los fragmentos de segmentos génicos V y C relevantes.

Un fragmento de clonación V, según la Figura 5, está diseñado para contener el fragmento de segmento génico V necesario en el contexto de sitios de clonación adecuados para el ensamblado final del vector de entrada V-C. En el presente ejemplo, como también se presenta en los Ejemplos 1, 3 y 4, el ensamblado de vectores de entrada V-C se logró utilizando sitios de enzimas de restricción BbsI para crear salientes diana en los extremos 5' y 3' para coincidir con salientes complementarios en la cadena principal del vector de entrada V-C y el fragmento de clonación C, respectivamente. La estrategia ilustrada incorpora también un sitio de restricción de la enzima NotI como marcador de selección negativa.

La secuencia genérica de tal enfoque de clonación se presenta como SEC-0690, en donde el fragmento del segmento génico V está delimitado por sitios BbsI en los extremos 5' y 3', y el fragmento del segmento génico V se designa como XN_n , en donde X es la designación del segmento génico V, N representa cualquier nucleótido y n representa el número de nucleótidos en dicha secuencia. El fragmento del segmento génico V está unido por

Kozac y nucleótidos espaciadores en los extremos 5' y 3', respectivamente, e incluye el codón de inicio de traducción.

El segundo intermedio que puede construirse para ensamblar genotecas de vectores de entrada V-C para secuencias de cadena de TCR específicas es el fragmento de clonación C, como se representa en la Figura 6. En el presente ejemplo, como también se presenta en los Ejemplos 1, 3 y 4, el ensamblado de vectores de entrada V-C se logró utilizando sitios de enzimas de restricción BbsI para crear salientes diana en los extremos 5' y 3' para coincidir con salientes complementarios en el fragmento de clonación V y la cadena principal del vector de entrada V-C, respectivamente. La estrategia ilustrada también incorpora un sitio de restricción de la enzima NotI como marcador de selección negativa.

La secuencia genérica de dicho enfoque de clonación se presenta como SEC-0691, en donde el fragmento del segmento génico C está delimitado por sitios BbsI en los extremos 5' y 3', y el fragmento del segmento génico C se designa como YN_n, en donde Y es la designación del segmento génico C, N representa cualquier nucleótido y n representa el número de nucleótidos en dicha secuencia. El fragmento del segmento génico C está unido por la citosina 5' del primer codón Glu del segmento génico C, o sitio conservado equivalente, y los nucleótido(s) separador(es) en los extremos 5' y 3', respectivamente, e incluiría el codón de terminación de traducción.

Para ensamblar un vector de entrada V-C utilizando los fragmentos de clonación V y C definidos anteriormente, estos fragmentos se combinan con una cadena principal del vector de entrada V-C como se representa en la Figura 7 y se describe en los Ejemplos 1 y 3. En el ejemplo presente y en los anteriores, esta cadena principal se define con los sitios de unión de enzimas de restricción **Acc65I** y **XbaI** que generan el **saliente *1'** y el **saliente *2'**, respectivamente. El **Saliente*1'** es complementario del **Saliente*1** dentro del fragmento de clonación V (Figura 5). El **Saliente*2'** es complementario del **Saliente*2** dentro del fragmento de clonación C (Figura 6). Estos salientes complementarios permiten la clonación dirigida de los fragmentos de clonación V y C en la cadena principal del vector de entrada V-C.

La característica **Sp** denota nucleótidos añadidos entre los sitios de reconocimiento de los enzimas de restricción **Acc65I** y **XbaI** necesarios para separar los dos sitios para una acción eficiente.

Como se ha descrito en el Ejemplo 4, una cadena principal del vector de entrada V-C (Figura 7), mediante la provisión de los elementos genéticos 5' y 3' al vector de entrada V-C (Figura 2), proporciona en última instancia el contexto del vector en el que se reconstituye un ORF del TCR de longitud completa (Figura 4h). Por lo tanto, puede hacerse una gama de selecciones para la cadena principal del vector de entrada V-C/vector de entrada V-C que satisfaga una gama de aplicaciones posteriores para el ORF del TCR reconstituido.

En el presente ejemplo, como en los ejemplos 1, 3 y 4 anteriores, se proporcionan tres cadenas principales distintas del vector de entrada V-C.

La secuencia de la cadena principal del vector de entrada V-C con el **elemento genético 5'** que codifica el promotor constitutivo del CMV hasta el **elemento genético 3'** que codifica la señal de poliadenilación de SV40pA se presenta como SEQ0048. Este contexto del vector permite la expresión transitoria de los ORF del TCR reconstituido en células de mamífero.

Cuando esta cadena principal del vector de entrada V-C de expresión transitoria SEQ0048 se combina con el fragmento de clonación V genérico (SEQ0690) y el fragmento de clonación C (SEQ0691) en el presente ejemplo, la secuencia SEQ0692 puede definir un vector de entrada V-C generalizado.

La secuencia de la cadena principal del vector de entrada V-C con el **elemento genético 5'** que codifica el sitio FTR, F14, la secuencia y el **elemento genético 3'** que codifica el sitio FRT, F15, se presenta como SEQ0688. Este contexto de vector permite el intercambio de casete mediado por flipasa en los ORF del TCR reconstituido en contextos genéticos limitados por sitios FRT heteroespecíficos F14 y F15. Por ejemplo, dicho enfoque puede emplearse para la integración estable de los ORF del TCR en líneas celulares de mamífero que contienen dichos sitios receptores FRT heteroespecíficos.

Cuando esta cadena principal del vector de entrada V-C F14/F15 RCME de expresión transitoria SEQ0688 se combina con el fragmento de clonación V genérico (SEQ0690) y el fragmento de clonación C (SEQ0691) en el presente ejemplo, la secuencia SEQ0693 puede definir un vector de entrada V-C generalizado.

La secuencia de una segunda cadena principal del vector de entrada V-C con el **elemento genético 5'** que codifica el sitio FRT, la secuencia FRT, y el **elemento genético 3'** que codifica el sitio FRT, F3, se presenta como SEQ0689. Este contexto de vector permite el intercambio de casete mediado por flipasa en los ORF del TCR reconstituido en contextos genéticos limitados por sitios FRT heteroespecíficos FRT y F3. Por ejemplo, dicho enfoque puede emplearse para la integración estable de los ORF del TCR en líneas celulares de mamífero que contienen dichos sitios receptores FRT heteroespecíficos.

Cuando esta cadena principal del vector de entrada V-C FRT/F3 RCME de expresión transitoria SEQ0689 se combina con el fragmento de clonación V genérico (SEQ0691) y el fragmento de clonación C (SEQ0692) en el presente ejemplo, la secuencia SEQ0694 puede definir un vector de entrada V-C generalizado.

En el presente ejemplo, una cadena TCR puede reconstituirse en uno de los dos contextos RCME, y una segunda cadena en el otro contexto RCME. Por ejemplo, un ORF de TRA puede reconstituirse en el contexto de F14/F15, y un ORF de TRB puede reconstituirse en el contexto de FRT/F3. Por lo tanto, las construcciones TRA/TRB emparejadas pueden integrarse en una línea celular de mamífero que contiene sitios F14/F15 y FRT/F3 por RCME para la expresión estable del par TRA/TRB en dicha línea celular.

Ensamblado del vector donante J y construcción final

Se han descrito anteriormente construcciones genéricas que se pueden utilizar para ensamblar varias combinaciones de segmentos génicos V y C del TCR en vectores de entrada V-C como componentes de un TORES.

Para completar un TORES se requieren vectores donantes J adecuados. Como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 2, un vector donante J puede ensamblarse en un proceso multietapa para lograr un sistema donante J con flexibilidad para diseñar características de segmentos J. Un aspecto importante a destacar es que el vector donante J aporta una parte C que corresponde al segmento C de una genoteca de vectores de entrada V-C coincidentes.

Para ensamblar una genoteca de vectores donantes J, se necesitan cuatro construcciones distintas;

- I. Fragmento del casete de recepción J
- II. Cadena principal del vector donante J
- III. Vector del casete de recepción J
- IV. Parte del segmento J

En el presente ejemplo, como en el Ejemplo 2, el vector donante J se ensambla utilizando sitios de restricción BbsI, y el TORES general funciona utilizando sitios de restricción BsaI incluidos tanto en el vector donante J resultante como en el vector de entrada V-C coincidente.

Cabe señalar que el fragmento del casete de recepción J como se representa en la Figura 8 contiene una parte C correspondiente al segmento C aportado por la genoteca de vector donante V-C coincidente. La secuencia genérica de ese enfoque de clonación se presenta como SEQ0695 a SEQ0696, en donde la parte C que codifica una parte 5' del segmento C está limitada por un sitio de reconocimiento BbsI al 5' y un sitio BsaI al 3'. Las dos secuencias presentadas representan los oligonucleótidos sentido y antisentido anillados para generar el fragmento del casete de recepción J, en donde las secuencias Y' proporcionadas son complementarias. La parte C en la secuencia presentada se designa Y'Nn, en donde Y' es la designación de la parte C que coincide con el segmento Y C descrito anteriormente, N representa cualquier nucleótido y n representa el número de nucleótidos en dicha secuencia. El sitio BbsI está separado y orientado para cortar en dirección 3' y crear un saliente de clonación que coincida con una parte del segmento J a insertar. El sitio BsaI está separado y corta en dirección 5' para crear el saliente C en la reacción de ensamblado final para generar los ORF del TCR de longitud completa durante la actuación del TORES. También se utiliza en la operación final del TORES un segundo sitio BsaI en el extremo 5' del fragmento del casete de recepción J, cortado en la dirección 3'. El corte del sitio interno de BbsI en la dirección 5' crea el segundo saliente de clonación para el ensamblado del vector donante J. En el presente ejemplo, hay codificado un sitio de restricción de NotI separado entre los sitios de reconocimiento de BbsI para actuar como marcador de selección negativa para eliminar los fragmentos precursores del proceso de ensamblado del vector donante J. El fragmento de recepción J se ensambla por anillado de dos oligonucleótidos complementarios diseñados para producir dos salientes monocatenarios de 4 nucleótidos, designados como saliente*3 en el extremo 5' y saliente*4 en el extremo 3', como se describe en el Ejemplo 2.

Para ensamblar el vector intermedio del casete de recepción J con el fragmento del casete de recepción J descrito anteriormente debe crearse una cadena principal donante J, como se ilustra en la Figura 9. En el presente ejemplo, las características de clonación de esta cadena principal del vector son sitios de restricción EcoRI y Xol separados para permitir una acción enzimática de restricción eficiente. La digestión de esta cadena principal con EcoRI y Xol genera el saliente*3' y el saliente*4' complementarios del saliente*3 y el saliente*4 en el fragmento de casete de recepción J ensamblado. Esto permite la clonación direccional del fragmento del casete de recepción J en la cadena principal donante J para crear el vector del casete de recepción J como se describe en el Ejemplo 2. Un ejemplo de la cadena principal del vector donante J con un marcador de selección positiva diferente del que tiene el vector de entrada V-C descrito anteriormente se presenta como SEQ0097.

El vector del casete de recepción J obtenido anteriormente se representa en la Figura 10, y esencialmente ilustra el fragmento del casete de recepción J en el contexto de la cadena principal del vector donante J, y se presenta como SEQ0697, en donde Y' es la designación de la parte C que coincide con el segmento C que se denomina Y que se ha descrito anteriormente, N representa cualquier nucleótido y n representa el número de nucleótidos en esa secuencia.

Dentro del vector del casete de recepción J se inserta una matriz de segmentos J para construir una genoteca de vectores donantes J. El diseño del segmento génico J se representa en la Figura 11, en donde un segmento génico J está limitado por el saliente*5' y el saliente*6' en los extremos 5' y 3', respectivamente. La parte del segmento J está separada del saliente 3' por un único nucleótido de adenina en el presente ejemplo, para mantener las secuencias de reconocimiento de enzimas y el marco de lectura correcto cuando se inserta la parte del segmento J en el vector del casete de recepción J para crear un vector donante J, como se describe en el Ejemplo 2. En el presente ejemplo, una secuencia genérica para la parte del segmento J se presenta como SEQ0698 a SEQ0699, en donde la parte del segmento J del gen se designa como ZN_n, en donde Z es la designación del segmento J del gen, N representa cualquier nucleótido y n representa el número de nucleótidos en dicha secuencia. Las dos secuencias presentadas representan oligonucleótidos sentido y antisentido anillados para ensamblar la parte del segmento J, en donde las secuencias Z son complementarias.

El vector donante J genérico final obtenido en el presente ejemplo se presenta como SEQ0700, cuya representación se presenta en la Figura 3. Este vector donante J en el presente ejemplo representa una parte del segmento J insertada y la parte C procedente del vector del casete de recepción J. La secuencia se presenta con dos inserciones de secuencias anotadas de ZN_n e Y'N_n, en donde Z es la designación del segmento génico J, e Y' es la designación de la parte del segmento C, N representa cualquier nucleótido, y n representa el número de nucleótidos en dichas secuencias.

Dentro de todas las secuencias proporcionadas, la selección de nucleótidos tuvo en cuenta el impacto potencial de la metilación de DAM en los sitios de unión a BsaI. Se eliminaron todas las secuencias de reconocimiento adicionales para el ensamblado y las enzimas de selección dentro de los vectores. También deberá eliminarse cualquiera de tales secuencias de reconocimiento de la línea germinal o de los elementos V, J y C sintéticos del TCR insertados en el fragmento y contextos de vector descritos.

Ejemplo 6

Diseño y generación del dúplex de oligonucleótidos que codifica para CDR3 (odeCDR3)

En el ejemplo anterior se describen varios formatos de TORES en el diseño y generación de genotecas de vectores de entrada V-C y vectores donantes J coincidentes para diversas aplicaciones. El uso de estas genotecas de vectores de entrada V-C y vectores donantes J para la reconstitución en una sola etapa de marcos de lectura abiertos de TCR de longitud completa requiere la provisión de un dúplex de oligonucleótidos que codifique la construcción CDR3 (odeCDR3) para completar la secuencia diana de la cadena del TCR de longitud completa (Figura 4C). Una vez generadas las genotecas del vector de entrada V-C y vectores donantes J, estos vectores representan los elementos de reserva a los que se puede recurrir indefinidamente para seleccionar las combinaciones V-J-C deseadas de las secuencias de las cadenas del TCR de longitud completa diana. Sin embargo, el odeCDR3 representa una secuencia corta única específica del ORF del TCR de longitud completa diana.

El presente ejemplo describe el diseño y la generación de odeCDR3 para su uso en las plataformas de vectores nativos de TRA y TRB humanos.

Diseño del odeCDR3 de TRA

La hibridación de dos oligonucleótidos de ADN monocatenarios genera un **odeCDR3** que contiene salientes monocatenarios de 4 nucleótidos en cada extremo del fragmento de ADN, como se ilustra en la Figura 4c. Los salientes de 4 nucleótidos se diseñan para permitir la clonación dirigida dependiente de ligasa al extremo 3' del segmento V de TRA codificado en el vector de entrada, (**saliente $\pm 1-5'$**) y al extremo 5' del fragmento J de TRA durante la reconstitución de TRA (**saliente $\pm 2-3'$**). El **Saliente $\pm 1-5'$** se estandariza a **CTGC**, complementario al **Saliente $\pm 1-5'$** estandarizado codificado en el segmento V del vector de entrada V-C de TRA. En el caso del **saliente $\pm 2-3'$** , este puede tomar dos formas de secuencia, determinadas por la divergencia de secuencias entre los segmentos J del locus de TRA humano. Para los segmentos J de TRA humanos nativos TRAJ33 y TRAJ38, el **Saliente $\pm 2-3'$** se estandariza a **TGGG**, complementario al **Saliente $\pm 2-3'$** codificado en el vector donante J de estos dos segmentos J. Para el resto de segmentos J de TRA humanos el **Saliente $\pm 2-3'$** se estandariza a **TTTG**, complementario al **Saliente $\pm 2-3'$** codificado en el vector donante J de estos segmentos J (véase el Ejemplo 2).

Diseño del odeCDR3 de TRB

En cuanto al odeCDR3 de TRB, el anillado de dos oligonucleótidos de ADN monocatenarios genera un **odeCDR3** que contiene salientes monocatenarios de 4 nucleótidos en cada extremo del fragmento de ADN, como se representa en la Figura 4c. Los salientes de 4 nucleótidos están diseñados para permitir la clonación dirigida dependiente de ligasa al extremo 3' del segmento V de TRB codificado en el vector de entrada, **saliente $\pm 1-5'$** , y al extremo 5' del fragmento J de TRB durante la reconstitución de TRB **saliente $\pm 2-3'$** . El **saliente $\pm 1-5'$** se estandariza a **TTGC**, complementario al **saliente $\pm 1-5'$** estandarizado codificado en el segmento V de los vectores de entrada V-C de TRB. A diferencia del odeCDR3 de TRA, en donde se necesitan dos formas alternativas del **Saliente $\pm 2-3'$** , para el odeCDR3 de TRB el **Saliente $\pm 2-3'$** se estandariza a **TTTG**, complementario al **Saliente $\pm 2-3'$** codificado en el vector donante J de todos los segmentos J de TRB (véase el Ejemplo 3).

Diseño general del odeCDR3

De forma general, el diseño de odeCDR3 debe hacer que los salientes coincidan con los salientes de 4 nucleótidos diseñados para permitir la clonación dirigida dependiente de ligasa al extremo 3' del segmento V codificado en el vector de entrada (**Saliente $\pm 1-5'$**) y al extremo 5' del fragmento J durante la reconstitución, (**Saliente $\pm 2-3'$**).

Método para generar el dúplex de oligonucleótidos de ADN de CDR3 fosforilado

Fosforilación y anillado de dos oligonucleótidos para formar el odeCDR3

Mezcla de reacción

Oligonucleótido (cadena sentido) (100 μ M)	1 μ l
Oligonucleótido (cadena antisentido) (100 μ M)	1 μ l
Tampón de ligasa de T4 10x	1 μ l
T4 PNK	1 μ l
H ₂ O	6 μ l

Condiciones de reacción

Incubar a 37 °C durante 1 hora

Desnaturalizar a 95 °C durante 5 min

Anillar los oligonucleótidos sentido y antisentido enfriando lentamente la reacción a 25 °C a 3 °C por min

Ejemplo 7

Reconstitución del ORF de longitud completa de TRA y TRB a partir de genotecas de los vectores donantes J y de entrada V-C respectivas

Ejemplo JG9a/b.

Este ejemplo describe las etapas utilizadas para definir los componentes de la genoteca de vectores y odeCDR3 necesarios para reconstituir los ORF del TCR de longitud completa de TRA y TRB dada la información de secuencia de los TCR diana. El presente ejemplo también demuestra el proceso de ensamblado del par de cadenas de TRA y TRB del TCR modelo de longitud completa, y confirma su especificidad mediante la expresión transitoria en un modelo de células humanas, y la tinción del TCR presentado en la superficie con reactivo multímero HLA-específico.

Selección del vector de entrada V-C, vector donante J y odeCDR3

Las secuencias de todos los fragmentos posibles de la línea germinal que se representan en la genoteca de clonación se alinean con las secuencias TRA o TRB de interés. Los fragmentos génicos con la identidad más alta con la secuencia TRA o TRB determinan qué elemento genético V, J y C constituirán las secuencias de clonotipo de TRA o TRB deseadas. Para TRA, el vector de entrada V-C apropiado se selecciona según la determinación del uso de V de la TRA deseada. Para TRB, cuando la cobertura de secuencias es suficiente para determinar el uso de V y C, se seleccionará el vector de entrada de V-C adecuado que corresponda al uso de V del clonotipo de TRB deseado, además de si dicho clonotipo utiliza TRBC1 o TRBC2.

Cuando la versión tanto corta como larga del elemento genético J de TRA o J de TRB específico se alinean con la secuencia TRA y TRB, respectivamente, se utilizarán los plásmidos correspondientes que codifican los elementos genéticos más largos para la reconstrucción de TRA.

La secuencia odeCDR3 necesaria para sintetizar TRA se determina como la región entre el extremo 3' del fragmento genético V de TRA alineado y el extremo 5' del fragmento genético TRAJ alineado. La cadena sentido del oligonucleótido requiere el saliente adicional de 4 nucleótidos 5', el **saliente ±1-5'**, CTGC que es universal respecto al saliente generado en el vector de entrada V de TRA cuando se digiere con Bsal, el **saliente ± 1-3'**. La cadena antisentido del oligonucleótido complementario requiere el saliente de 4 nucleótidos adicional en 5', el **saliente ±2-3'**, que es único para el saliente específicamente para el vector TRAJ añadido a la reacción de reconstrucción de TRA, el **saliente ±2-5'**.

La secuencia CDR3 necesaria para sintetizar TRB se determina como la región entre el extremo 3' del fragmento genético V de TRB alineado y el extremo 5' del fragmento genético J de TRB alineado. La cadena sentido del oligonucleótido requiere el saliente adicional de 4 nucleótidos en 5', el **saliente ±1-5'**, TTGC que es universal respecto del saliente generado en el vector de entrada V de TRB cuando se digiere con Bsal, el **saliente ±1-3'**. La cadena antisentido del oligonucleótido complementario requiere el saliente de 4 nucleótidos adicional en 5', el **saliente ±2-3'**, que es único para el saliente específicamente para el J vector TRB añadido a la reacción de reconstrucción de TCR, el **saliente ±2-5'**.

En el presente ejemplo, se utiliza un par de TRA/TRB del TCR modelo con una especificidad conocida para un antígeno restringido por HLA-A2*01. Las secuencias de las cadenas TRA y TRB se presentan como SEQ701 y SEQ702, respectivamente.

Basándose en esta secuencia de longitud completa, fue sencillo seleccionar los vectores de entrada V-C y donantes J adecuados y partir de las genotecas de TRA y TRB. En el presente ejemplo, se utilizó el vector de entrada V-C del Tipo de expresión transitoria, es decir, con la cadena principal presentada como SEQ0048.

En el presente ejemplo se seleccionaron el vector de entrada V-C de TRA SEQ0088 (de la lista 0049 a 0094) y el vector donante J SEQ0371 (de la lista 0323 a 0378).

En el presente ejemplo se seleccionaron el vector de entrada V-C de TRB SEQ0563 (de la lista 0484 a 0577) y el vector donante J SEQ0637 (de la lista 0636 a 0687).

El odeCDR3 sintetizado para la cadena TRA se presenta en SEQ703 y SEQ704 como sentido y antisentido, respectivamente.

El odeCDR3 sintetizado para la cadena TRB se presenta en SEQ705 y SEQ706 como sentido y antisentido, respectivamente.

Método para la reconstitución de longitud completa

Para cada uno de los componentes TRA y TRB seleccionados anteriormente, se realizaron ciclos de reacción con enzima de restricción/ligasa como se describe a continuación.

Reacción de digestión y ligación de RE

Vector de entrada V-C	100 ng
Vector donante J	60 ng
dúplex de oligonucleótidos odeCDR3 (0,5 µM)	2 µl
Tampón de ligasa de T4 10x	2 µl
Bsal	0,5 µl
ADN-ligasa de T4	0,5 µl
H ₂ O	hasta 20 µl

Condiciones de reacción

Etapas 1; 2 minutos a 37 °C

Etapas 2; 3 min a 16 °C

Repetir las etapas 1 y 2, 20 veces

5 min a 50 °C

5 min a 80 °C

Volver a la temperatura ambiente

Añadir 0,5 µl de enzima NotI y se incubó durante 30 min a 37 °C

El producto de reacción resultante se transformó en células E. coli competentes y se sembró en placas que contenían carbenicilina.

Se realizó el análisis y secuenciación de colonias resistentes a carbenicilina para determinar las construcciones ensambladas correctamente. El análisis de colonias se realizó mediante digestión diagnóstica con enzimas de restricción del ADN plasmídico aislado, y los tamaños esperados de los fragmentos de ADN se observaron mediante electroforesis de ADN. Las construcciones resultantes codifican las secuencias de clones de TCR alfa y beta de longitud completa.

Validación de los vectores TRA y TRB reconstituidos.

Para verificar la especificidad del par TRA/TRB del TCR reconstituido anterior, ambas construcciones se transfectaron transitoriamente en una línea celular que expresa todos los componentes de CD3, pero que carece de expresión de TRA y TRB. Este análisis se presenta en la Figura 12, en donde el TCR reconstituido se transfecta junto con un TCR irrelevante y un control de vector vacío. El vector vacío no muestra tinción de superficie con anticuerpos para TCRalfa/beta ni CD3, ni tampoco se tiñen estas células de control con el reactivo del tetrámero HLA-A2*01-NLVPMTATV (Figura 12, paneles de la derecha). La expresión del TCR es necesaria para la presentación superficial del complejo CD3. El TCR irrelevante produce tinción positiva para TCRalfa/beta y CD3, pero no muestra tinción para el reactivo del tetrámero HLA-A2*01-NLVPMTATV (Figura 12, paneles centrales). Esto indica que un TCR se expresa en la superficie celular, pero no es específico del antígeno diana cargado en el reactivo tetramérico HLA-A2*01. El TCR diana produce tinción positiva para TCRalfa/beta y CD3, y también muestra una tinción positiva para el reactivo del tetrámero HLA-A2*01-NLVPMTATV (paneles más a la izquierda). Esto indica que el TCR reconstituido se presenta sobre la superficie celular y que también es específico del antígeno diana cargado en el reactivo tetramérico HLA-A2*01, como se espera.

Ejemplo 8

Reconstitución de un conjunto de pares de cadenas TRA/TRB del TCR específico de antígeno identificado a partir de sangre periférica humana

Uno de los requisitos clave de las próximas estrategias en el diagnóstico y terapia basados en TCR personalizados es la capacidad de capturar y caracterizar rápidamente pares de cadenas del TCR específicas de antígeno de los individuos. En el presente ejemplo, se lleva a cabo un flujo de trabajo en donde los pares de cadenas de TRA/TRB del TCR se amplifican y se secuencian a partir de linfocitos T individuales aislados de sangre humana periférica, seguido por la reconstitución y validación de estos pares a través de la expresión transitoria en células de mamífero.

Secuenciación y reconstitución de los pares de cadenas TRA y TRB

La Figura 13 presenta el flujo de trabajo general. En resumen, se recogió una muestra de PBMC reciente de un donante positivo para HLA-B*07:02, y se tiñó con un reactivo multímero HLA-B*07:02-TPRV. Este multímero HLA es el alelo HLA-B*07:02 cargado con un antígeno inmunodominante conocido del gen pp65 del CMV, cuya secuencia peptídica completa es; TPRVTGGGAM. Las células positivas individuales para el multímero HLA-B*07:02-TPRV se clasificaron por FACS en tubos de PCR de 0,2 ml que contenían 5 µl de agua. Las muestras se congelaron rápidamente y se almacenaron a -80 °C hasta un procesamiento posterior (Figura 13 Etapa i).

Los aislados de una sola célula se sometieron a un proceso de amplificación en dos etapas que implica la recogida de cebadores específicos de la región V para cada TRA y TRB (Figura 13 etapa ii), seguido por reacciones de PCR anidadas emparejadas que crean amplicones de TRA y TRB (Figura 13 etapa iii) para el análisis de secuencias (Figura 13 etapa iv). Este procedimiento se ha descrito anteriormente (Han y col. Nat Biotechnol. 2014 32(7): 684-692).

En el presente ejemplo, 6 clones emparejados se presentan como ejemplo de procesamiento posterior. Las secuencias obtenidas se presentan como SEQ0707 a SEQ0718.

Estas secuencias se alinearon después respecto a la genoteca de segmentos génicos V, C y J según sus cadenas TRA y TRB correspondientes para determinar el uso de los segmentos V, C y J de cada cadena amplificada. Esta etapa de análisis de secuencias también permite la definición de la secuencia codificante CDR3 y, por lo tanto, la definición de la secuencia odeCDR3 (Figura 13 etapa v). Este análisis de secuencia permite la selección de vectores de entrada V-C (Figura 13 etapa vi) y vectores donantes J (Figura 13 etapa vii) para la reconstitución de cadenas del TCR. El análisis también permite la síntesis de odeCDR3 para cada reacción de reconstitución en cadena (Figura 13 etapa viii). Las selecciones y secuencias se resumen en la Tabla 1.

La tabla que sigue presenta un resumen de las ID secuencia para los pares TRA/TRB de TCR identificados en el ejemplo de secuenciación de novo y reconstitución

Cadena	Id. de sec.	Uso del segmento V	Sec. del vector de entrada V-C	Uso del segmento J	Sec. del vector donante J	Sec. de odCDR3 directa	Sec. de odCDR3 inversa
TRA	SEQ0707	TRAV26-1	SEQ0082	TRAJ49	SEQ0370	SEQ0719	SEQ0720
TRB	SEQ0708	TRBV27	SEQ0574	TRBJ2-7	SEQ0661	SEQ0721	SEQ0722
TRA	SEQ0709	TRAV14DV4	SEQ0071	TRAJ 12	SEQ0334	SEQ0723	SEQ0724
TRB	SEQ0710	TRBV7-9	SEQ0554	TRBJ1-1	SEQ0636	SEQ0725	SEQ0726
TRA	SEQ0711	TRAV27	SEQ0084	TRAJ9	SEQ0331	SEQ0727	SEQ0728
TRB	SEQ0712	TRBV27	SEQ0574	TRBJ1-2	SEQ0637	SEQ0729	SEQ0730
TRA	SEQ0713	TRAV14DV4	SEQ0071	TRAJ9	SEQ0331	SEQ0731	SEQ0732
TRB	SEQ0714	TRBV27	SEQ0574	TRBJ1-2	SEQ0637	SEQ0733	SEQ0734
TRA	SEQ0715	TRAV3	SEQ0052	TRAJ12	SEQ0334	SEQ0735	SEQ0736
TRB	SEQ0716	TRBV7-9	SEQ0554	TRBJ2-1	SEQ0655	SEQ0737	SEQ0738
TRA	SEQ0717	TRAV17	SEQ0073	TRAJ 12	SEQ0334	SEQ0739	SEQ0740
TRB	SEQ0718	TRBV7-9	SEQ0554	TRBJ2-5	SEQ0659	SEQ0741	SEQ0742

La selección de estos componentes permite el ensamblado de reacciones independientes de reacciones de ciclo con enzima de restricción/ligasa para cada cadena TRA y TRB para realizar la reconstitución de los ORF del TCR de longitud completa (Figura 13 etapa ix). Cada reacción se realiza como se ha descrito en el Ejemplo 7 anterior, que incluye la transformación y la selección con antibióticos y (Figura 13 etapa X), seguidamente propagación y confirmación de secuenciación de los ORF del TCR reconstituidos resultantes (Figura 13 etapa xi).

Validación de los pares de cadenas TRA y TRB

Para verificar la especificidad del conjunto de pares TRA/TRB del TCR reconstituidos anteriormente, las construcciones emparejadas se transfectaron transitoriamente en una línea celular que expresa todos los componentes CD3, pero que carece de la expresión de TRA y TRB, como se presenta en el ejemplo 7. Este análisis se presenta en la Figura 14. Las células se transfectaron con cada uno de los 6 pares de construcciones de ORF del TCR, en paralelo con un par de clones TRA/TRB irrelevantes y un vector vacío de control. Las células se analizaron por citometría de flujo después de la tinción con un anticuerpo contra CD3 y el reactivo del tetrámero HLA-B*07:02-TPRV utilizado inicialmente para aislar los linfocitos T individuales de la muestra de PBMC. Todas las construcciones emparejadas del presente ejemplo mostraron unión al reactivo del tetrámero HLA-B*07:02-TPRV diana, y se observan diferencias cuantitativas. El número insertado en cada cuadro representa la relación IFM de eventos celulares negativos para CD3 respecto de los positivos para CD3.

Ejemplo 9

Diversificación rápida de la cadena del TCR a través de la degeneración del odeCDR3

La diversificación y selección de los ORF del TCR es deseable para diseñar con ingeniería genética pares de cadenas de TCR con especificidades, afinidades y/o capacidad de señalización alteradas. El sistema TORES es adecuado para la generación rápida de colecciones de cadenas TCR que se alteran sistemáticamente respecto de la secuencia diana original. En el presente ejemplo se presenta un enfoque para diversificar un par de cadenas del TCR modelo mediante la inclusión de un odeCDR3 en una reacción de reconstitución con una degeneración de nucleótidos definida y limitada en posiciones seleccionadas del codón. Este enfoque se utilizó para diversificar la cadena TRA del par TRA/TRB de TCR modelo presentado en el Ejemplo 7. Esta diversificación de reacción única se muestra para producir un conjunto de TCR con una amplia gama de afinidades para un reactivo multímero específico de HLA cuando se presenta en la superficie de células de mamífero con su par de cadena de TRB natural. Este enfoque es idealmente adecuado para un diseño rápido del TCR por ingeniería genética utilizando los ORF del TCR de longitud completa que pueden presentarse y seleccionarse en un contexto funcional de células de mamífero viables.

Generación de la diversa colección de cadenas TRA

La Figura 15 presenta la estrategia general para generar una colección diversificada por secuencias de cadenas de TCR en una reacción única utilizando una mezcla de odeCDR3. Un único vector de entrada C-V y el vector donante J se seleccionan para representar los segmentos génicos V,J y C diana en el producto final del TCR de longitud completa (Figura 15, cuadro i y cuadro ii). Se genera una combinación de odeCDR3 con diversidad seleccionada, de forma que haya un número de secuencias de CDR3 distintas representadas en la combinación de odeCDR3 (Figura 15, Cuadro iii). Cuando todos los componentes se combinan en un ciclo de reacción con enzima de restricción/ligasa, el producto resultante es una colección de construcciones que contienen cadenas de TCR de longitud completa con uso definido de los segmentos génicos V,J C, y una diversidad definida en la región CDR3

(Figura 15, Cuadro iv). El número de cadenas del TCR de longitud completa diversificada en el producto final es directamente proporcional al número de variantes de odeCDR3 en la combinación inicial de odeCDR3 agregada a la reacción.

En el presente ejemplo, se utiliza un par TRA/TRB de TCR modelo con una especificidad conocida por un antígeno de citomegalovirus humano (CMVH) presentado en HLA-A2*01 (el mismo par que el Ejemplo 7). Este péptido antigénico se deriva de la proteína pp65 del CMVH, y la secuencia completa de aminoácidos del antígeno peptídico que se presenta en HLA-A2*01 es NLVPMVATV. Las secuencias de las cadenas TRA y TRB se presentan como SEQ701 y SEQ702, respectivamente.

En el presente ejemplo, la cadena TRA fue el objetivo de la diversificación de la secuencia, y esto se logró a través de la síntesis de oligos sentido y antisentido de odeCDR3 con degeneración de nucleótidos en 3 posiciones distintas, cada una alterando un codón independiente para dar lugar a la posibilidad de 4 aminoácidos distintos en cada uno de los tres codones. Los codones seleccionados para degeneración se separaron a través del bucle CDR3. Los oligonucleótidos de odeCDR3 se presentan como SEQ0743 y SEQ0744, en donde los codones degenerados se denotan como N.

Los oligonucleótidos de odeCDR3 se anillaron por el método descrito en el Ejemplo 6, con la degeneración de aminoácidos por 4 veces en 3 posiciones de codón independientes, dando como resultado un grupo de productos de odeCDR3 con 64 secuencias únicas, que incluyen la secuencia codificante original (es decir, SEQ0701).

odeCDR3 se utilizó para ensamblar los ORF del TRA de longitud completa siguiendo el método descrito en el Ejemplo 7 para crear 64 ORF del TRA únicos con una degeneración de aminoácidos por 4 veces en 3 posiciones distintas de codón. En el presente ejemplo, el odeCDR3 se sintetizó utilizando nucleótidos degenerados en las posiciones indicadas y, por lo tanto, la reconstitución se realizó en un solo tubo para generar las 64 variantes de cadena. El enfoque es igualmente válido donde se proporciona un único odeCDR3 a reacciones discretas en paralelo. Se prepararon todos los clones esperados y la secuencia se confirmó a partir de una sola reacción. Cada cadena TRA se preparó como un stock de plásmido separado para su caracterización posterior.

Caracterización de cadenas TRA diversificadas con un par de cadenas TRB

Para caracterizar la especificidad, cada una de las 64 cadenas TRA del TCR derivadas anteriormente se transfectaron simultáneamente con la cadena TRB (SEQ0702) en una línea celular que expresa todos los componentes CD3, pero que carece de expresión de TRA y TRB. Después, estas células se tiñeron con un anticuerpo contra CD3 y un reactivo multímero HLA-A2*01-NLVPMVATV, y se analizaron por citometría de flujo. Este análisis se presenta en la Figura 16.

Cada población transfectante se expresa como la relación de la intensidad media de fluorescencia (IFM) de la señal de CD3 positiva para el multímero HLA-A2*01-NLVPMVATV respecto de las poblaciones de CD3 negativas, y se representa gráficamente en un gráfico de dispersión clasificado en relación ascendente (Figura 16a). Es evidente que las cadenas de TRA diversificadas producen una gama de afinidades con el multímero HLA-A2*01-NLVPMVATV. La cadena alfa original se indica con una flecha. La mayoría de los clones diversificados mostraron una peor unión que el original. También se observa un número significativo de clones sin unión. Sorprendentemente, varios clones mostraron un aumento significativo en la tinción con el multímero de HLA-A2*01-NLVPMVATV (clones de afinidad elevada), que incluyen clones que mejoran la señal relativa en más de 3 veces. Los clones también se presentan como una tabla de rango ascendente de relación de IFM, especificando los aminoácidos presentados y las posiciones 1, 2 y 3 diversificadas (Figura 16b). Puede observarse que una Pro en posición 2 estabiliza mucho la unión con el multímero de HLA-A2*01-NLVPMVATV, y en menor grado una Asp en la posición 3. Por el contrario, una His en la posición 3 suprime completamente la unión, salvo en presencia de Pro en la posición 2. Este sesgo de posición de las sustituciones de aminoácidos hacia la mayor y menor unión con el multímero HLA-A2*01-NLVPMVATV sugiere fuertemente una alteración genuina en la afinidad de unión en la degeneración de aminoácidos dirigida creada en la cadena TRA utilizando el TORES.

En general, este ejemplo demuestra que una mínima diversidad en el bucle CDR3 introducida en una sola etapa por degeneración de odeCDR3 dentro del TORES puede crear una colección de TCR con diversas características de unión hacia el complejo analito HLA-antígeno. Esto puede incorporarse directamente a los flujos de trabajo de maduración del TCR para generar TCR sintéticos con características alteradas en diversos escenarios de diseño del TCR, pero manteniendo el contexto natural de longitud completa de las cadenas del TCR junto con el uso de los segmentos génicos V, J y C nativos.

Ejemplo 10

Diversificación rápida de la cadena del TCR a través del barajado de segmentos V y J

La diversificación y selección de los ORF del TCR es deseable para diseñar por ingeniería genética pares de cadenas de TCR con especificidades, afinidades y/o capacidad de señalización alteradas. El sistema TORES es adecuado para la generación rápida de colecciones de cadenas TCR que se alteran sistemáticamente a partir de la secuencia diana original.

En el presente ejemplo se describe un enfoque de diversificación de cadenas del TCR, en donde se proporciona un único odeCDR3 a una reacción en cadena del TCR de longitud completa con múltiples vectores de entrada V-C, vectores donantes J o múltiples tanto de vectores de entrada V-C como de vectores donantes J. Puede utilizarse un enfoque de ese tipo para diversificar una cadena de TCR dada utilizando segmentos V, J y C de la línea germinal natural, mientras se mantiene la posibilidad de llevar contactos centrales del CDR3 con el complejo de HLA-antígeno afín en cadenas TCR nuevas. Este enfoque es idealmente adecuado para un diseño rápido del TCR por ingeniería genética utilizando los ORF del TCR de longitud completa que pueden presentarse y seleccionarse en un contexto funcional de células de mamífero viables.

En la Figura 17 se presenta un ejemplo del uso del segmento génico V con barajado. Este ejemplo esquemático describe un enfoque para mantener un único uso de odeCDR3 y del vector donante J, donde la secuencia coincide con la cadena TCR parental, a la vez que proporciona una selección de segmentos génicos V mediante la provisión de varios vectores de entrada V-C a la reacción de reconstitución. En el caso de cadenas del TCR que tienen la oportunidad de utilizar múltiples segmentos génicos C (p. ej., TRB humano), esto también puede incluirse en el flujo de trabajo de diversificación. El producto de una reacción que contiene un único odeCDR3 y vector donante J, y una selección de vectores de entrada V-C, constará de varias cadenas del TCR de longitud completa que contengan la secuencia CDR3/J parental y cada uno de los segmentos génicos V (y/o C) proporcionados. Un enfoque de ese tipo es igualmente válido para lograr reacciones discretas con varios vectores de entrada V-C seleccionados, más que con la reacción agrupada ilustrada en la Figura 17.

En la Figura 18 se presenta un ejemplo del uso del segmento génico J con barajado. Este ejemplo esquemático describe un enfoque para mantener un único uso de odeCDR3 y vector de entrada V-C, donde la secuencia coincide con la cadena TCR parental, a la vez que proporciona una selección de segmentos génicos J proporcionando una selección de vectores donantes J a la reacción de reconstitución. El producto de una reacción que contiene un único odeCDR3 y vector entrada V-C, y una selección de vectores donantes J, constará de varias cadenas del TCR de longitud completa que contengan la secuencia CDR3/V-C parental y cada uno de los segmentos génicos donantes J proporcionados. Un enfoque de ese tipo es igualmente válido para lograr reacciones discretas con varios vectores de donante J seleccionados, más que con la reacción agrupada ilustrada en la Figura 18.

En la Figura 19 se presenta un ejemplo final del uso del barajado de los segmentos génicos V y J. Este ejemplo esquemático describe un enfoque para mantener un único odeCDR3, donde la secuencia coincide con la cadena del TCR parental, a la vez que proporciona una selección de ambos segmentos génicos V(-C) y J proporcionando una selección de ambos vectores V-C y donante J a la reacción de reconstitución. El producto de una reacción que contiene un único odeCDR3 único y una selección de ambos vectores de entrada V-C y donantes J, que constará de varias cadenas del TCR de longitud completa que contienen la secuencia CDR3 parental, y cada combinación de segmentos génicos V(-C) y donante J proporcionada a la reacción. Un enfoque de ese tipo es igualmente válido para lograr reacciones discretas con varios vectores de entrada V-C y donantes J seleccionados, más que con la reacción agrupada ilustrada en la Figura 19.

Ejemplo 11

Reconstitución de ORF del TCR de longitud completa a partir de TRA y TRB utilizando TORES²

Este ejemplo describe un TORES² para los loci de TRA/TRB humanos con sitios RMCE como elementos genéticos 5' y 3', y demuestra la reconstitución de un par de TCR modelo humano, y la posterior integración de los ORF reconstituidos en una línea celular diseñada por ingeniería genética que tiene sitios RMCE coincidentes con los elementos genéticos 5' y 3' del contexto de la cadena principal del vector de entrada V-Cα original. El par TRA/TRB de TCR modelo tiene especificidad conocida por un antígeno restringido HLA-A*02:01. Las secuencias TRA y TRB modelo están representadas por SEQ0778 y SEQ0779, respectivamente. El péptido antigénico tiene la secuencia de aminoácidos SLLMWITQV.

Vectores de entrada V-C, vector donante J, odeCDR3 y terminador bidireccional para TORES²

V-Cα, V-Cβ, el vector donante J y el dúplex de oligonucleótido que codifica el odeCDR3 se seleccionan con los mismos criterios de selección que se describen en el Ejemplo 7. Como se ha descrito anteriormente, el TORES² requiere la adaptación de V-Cα y V-Cβ para incorporar distintos sitios de Tipo IIS y elementos de selección negativa. Las secuencias de la cadena principal del vector de entrada V-Cα y V-Cβ están representadas por SEQ07056 y SEQ07064, respectivamente. Debido a la adición de nuevos sitios de restricción a estas secuencias de cadena principal, algunas de las secuencias de segmentos V requieren modificación a las secuencias de nucleótidos subyacentes en comparación con las presentadas para el sistema TORES anterior, para eliminar estos nuevos sitios de restricción de la secuencia codificante del TCR. Las secuencias V-C de TRA modificadas están representadas por SEQ07057 a SEQ07063 y las secuencias V-C de TRB modificadas por SEQ07065 a SEQ07076. El resto de secuencias TRA y TRB utilizadas fueron las descritas para el sistema TORES anterior.

Componente donante del terminador bidireccional

El vector donante del terminador bidireccional (donante de BiT) proporciona el elemento terminador bidireccional introducido en la segunda etapa de reacción, y que en última instancia se une a las cadenas TRA y TRB antiparalelas reconstituidas en la primera etapa de reacción. En el presente ejemplo, el elemento terminador bidireccional está representado por SEQ0777, y se proporciona en un contexto de cadena principal de vector adecuado.

Reacciones de reconstitución

La primera reacción del ciclo de reacción con enzima de restricción/ligasa para reconstituir los ORF de TRA y TRB diana se realiza como se describe en el Ejemplo 7. Esto da como resultado TRA y TRB reconstituidos, cada uno dentro de sus contextos de cadena principal de entrada V-C respectivos. En la segunda reacción, estos dos vectores de producto se combinan con el vector donante de BiT en una nueva reacción del ciclo de la enzima ligasa para generar el vector producto final, que codifica los ORF de TRA y TRB reconstituidos en un sentido antiparalelo y unidos mediante el elemento terminador bidireccional introducido.

Reacción de digestión y ligación de RE para TORES²

Vector ORF del TRA reconstituido	25 ng
Vector ORF DE TRB reconstituido	25 ng
Vector donante BiT	25 ng
Tampón de ligasa de T4 10x	2 µl
Esp3I	0,5 µl
ADN-ligasa de T4	0,5 µl
H ₂ O	hasta 20 µl

Condiciones de reacción

Etapas 1; 2 minutos a 37 °C

Etapas 2; 3 min a 16 °C

Repetir las etapas 1 y 2, 20 veces

5 min a 50 °C

5 min a 80 °C

Volver a la temperatura ambiente

Añadir 0,5 µl de enzimas Sall y MluI e incubar durante 30 min a 37 °C

El producto de reacción resultante se transformó en células E. coli competentes y se sembró en placas que contenían carbenicilina.

Se realizó el análisis y secuenciación de colonias resistentes a carbenicilina para determinar las construcciones ensambladas correctamente. El análisis de colonias se realizó mediante digestión diagnóstica con enzimas de restricción del ADN plasmídico aislado, y los tamaños esperados de los fragmentos de ADN se observaron mediante electroforesis de ADN. Las construcciones resultantes codifican las secuencias de clones de TCR alfa y beta de longitud completa.

Validación del ORF del TCR de longitud completa reconstituido

Para verificar la funcionalidad del vector donante TRA/TRB bidireccional reconstituido generado por el sistema TORES², la construcción se suministró en una línea celular que expresa todos los componentes CD3 pero que carece de expresión de TRA y TRB, y que adicionalmente codifica sitios receptores genómicos compatibles con los sitios RMCE contenidos dentro del vector donante producto y que proceden del vector de entrada V-Cα original, y elementos promotores antiparalelos adecuados en los extremos 5' y 3'. El análisis se presenta en la Figura 23, en donde el vector donante reconstituido se transfecta a células. Las células que han perdido los marcadores del sitio receptor genómico (Figura 23 a, RFP- BFP-) son células que expresan el ORF del TCR bidireccional, dando lugar a la expresión superficial de CD3 (Figura 23 B, histograma gris claro). Mientras, las células que no perdieron los marcadores del sitio receptor genómico son células que no integraron la construcción TCR bidireccional (Figura 23a) RFP+BFP+) y no se tiñeron para la expresión superficial de CD3 (Figura 23 B, histograma gris oscuro). La expresión del TCR es necesaria para la presentación superficial del complejo CD3. Todas las células RFP-BFP- que han perdido los marcadores receptores genómicos son positivas para la expresión de CD3 superficial (Figura 23b, histograma gris claro). Todas las células RFP+BFP+ que no han perdido los marcadores receptores genómicos son negativas para la expresión de CD3

superficial (Figura 23b) histograma gris oscuro). Estas células CD3+ que expresan el TCR reconstituido también muestran tinción positiva para el reactivo del tetrámero HLA-A*02:01-SLLMWITQV (Figura 23c) en comparación con las células que no se tiñeron con dicho tetrámero (Figura 23d). En su conjunto, los resultados indican que el TCR reconstituido se presenta en la superficie celular y es específico para el antígeno diana cargado en el reactivo del tetrámero HLA-A*02:01-SLLMWITQV.

5

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Genovie AB

<120> AN05

<130> AN05

<160> 779

<170> BiSSAP 1.3

<210> 1

<211> 396

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAV1-1_BB_1

<400> 1

gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccacccat gtggggagct ttccttctct 60

atgtttccat gaagatggga ggcactgcag gacaaagcct tgagcagccc tctgaagtga 120

cagctgtgga aggagccatt gtccagataa actgcacgta ccagacatct gggttttatg 180

ggctgtcctg gtaccagcaa catgatggcg gagcaccac atttctttct tacaatgctc 240

tggatggttt ggaggagaca ggtcgttttt cttcattcct tagtcgctct gatagttatg 300

gttacctcct tctacaggag ctccagatga aagactctgc ctcttacttc tgcagagacc 360

ttgcggccgt gtcttcgact agtagctcac ctacga 396

<210> 2

<211> 396

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAV1-2_BB_1

<400> 2

gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccacccat gtggggagtt ttccttcttt 60

atgtttccat gaagatggga ggcactacag gacaaaacat tgaccagccc actgagatga 120

cagctacgga aggtgccatt gtccagatca actgcacgta ccagacatct gggttcaacg 180

ggctgttctg gtaccagcaa catgctggcg aagcaccac atttctgtct tacaatgttc 240

tggatggttt ggaggagaaa ggtcgttttt cttcattcct tagtcgggtct aaaggggtaca 300

gttacctcct tttgaaggag ctccagatga aagactctgc ctcttacctc tgcagagacc 360

ttgcggccgt gtcttcgact agtagctcac ctacga 396

<210> 3

<211> 408

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAV2_BB_1

<400> 3

gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccacccat ggctttgcag agcactctgg	60
gggcggtgtg gctagggctt ctctcaact ctctctggaa ggttgcagaa agcaaggacc	120
aagtgtttca gccttcaca gtggcatctt cagagggagc tgtggtggaa atcttctgta	180
atcactctgt gtccaatgct tacaacttct tctggtacct tcaactcccg ggatgtgcac	240
caagactcct tgttaaaggc tcaaagcctt ctgagcaggg acgatacaac atgacctatg	300
aacggttctc ttcacgctg ctcatcctcc aggtgcggga ggcagatgct gctgtttact	360
actgcagaga ccttgcgggc gtgtcttoga ctagtagctc acctacga	408

<210> 4

<211> 411

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAV3_BB_1

<400> 4

gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccacccat ggctctgca cccatctcga	60
tgcttgcat gctcttcaca ttgagtgggc tgagagctca gtcagtggct cagccggaag	120
atcaggtcaa cgttgctgaa gggaatcctc tgactgtgaa atgcacctat tcagtctctg	180
gaaaccctta tcttttttgg tatgttcaat accccaaccg aggcctccag ttccttctga	240
aatacatcac aggggataac ctggttaaag gcagctatgg ctttgaagct gaatttaaca	300
agagccaaac ctcttccac ctgaagaaac catctgccct tgtgagcgac tccgctttgt	360
acttctgcag agaccttgcg gccgtgtctt cgactagtag ctcacctacg a	411

<210> 5

<211> 396

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAV4_BB_1

<400> 5

gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccacccat gaggcaagtg gcgagagtga	60
tcgtgttctt gacctgagt actttgagcc ttgctaagac caccagccc atctccatgg	120
actcatatga aggacaagaa gtgaacataa cctgtagcca caacaacatt gctacaaatg	180
attatatcac gtggtaccaa cagtttccca gccaaaggacc acgatttatt attcaaggat	240

acaagacaaa agttacaaac gaagtggcct ccctgtttat ccctgccgac agaaagtcca 300
gcactctgag cctgccccgg gtttccctga gcgacactgc tgtgtactac tgcagagacc 360
ttgcggccgt gtcttcgact agtagctcac ctacga 396

<210> 6
<211> 411
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAV5_BB_1

<400> 6
gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat gaaaacattt gctggatttt 60
cgttcctggt tttgtggctg cagctggact gtatgagtag aggagaggat gtggagcaga 120
gtcttttctt gagtgtccga gaggagagaca gctccgttat aaactgcact tacacagaca 180
gctcctccac ctacttatac tgggtataagc aagaacctgg agcaggtcta cagttgctga 240
cgtatatttt ttcaaataatg gacatgaaac aagaccaaag actcactggt ctattgaata 300
aaaaggataa acatctgtct ctgcgcattg cagacaccca gactggggac tcagctatct 360
acttctgcag agaccttgcg gccgtgtctt cgactagtag ctcacctacg a 411

<210> 7
<211> 411
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAV6_BB_1

<400> 7
gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat ggagtcattc ctgggagggtg 60
ttttgctgat tttgtggctt caagtggact ggggtgaagag ccaaaagata gaacagaatt 120
ccgaggccct gaacattcag gagggtaaaa cggccaccct gacctgcaac tataaaaact 180
attccccagc atacttacag tgggtaccgac aagatccagg aagaggccct gttttcttgc 240
tactcatagc tgaaaatgag aaagaaaaaa ggaaagaaag actgaagggtc acctttgata 300
ccacccttaa acagagtttg tttcatatca cagcctccca gcctgcagac tcagctacct 360
acctctgcag agaccttgcg gccgtgtctt cgactagtag ctcacctacg a 411

<210> 8
<211> 408
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAV7_BB_1

<400> 8
gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccacccat ggagaagatg cgtagacctg 60
tcctaattat attttgtcta tgtcttggct gggcaaattg agaaaaccag gtggagcaca 120
gccctcattt tctgggaccc cagcagggag acgttgccctc catgagctgc acgtactctg 180
tcagtcgttt taacaatttg cagtgggtaca ggcaaaatac agggatgggt cccaaacacc 240
tattatccat gtattcagct ggatatgaga agcagaaagg aaggctaaat gctacattac 300
tgaagaatgg aagcagcttg tacattacag ccgtgcagcc tgaagattca gccacctatt 360
tctgcagaga ccttgcgggc gtgtcttcga ctagtagctc acctacga 408

<210> 9
<211> 411
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAV8-1_BB_1

<400> 9
gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccacccat gtcctgttg ctcataccag 60
tgctggggat gatttttgcc ctgagagatg ccagagccca gtctgtgagc cagcataacc 120
accacgtaat tctctctgaa gcagcctcac tggagttggg atgcaactat tcctatggtg 180
gaactgttaa tctcttctgg tatgtccagt accctggtca acaccttcag cttctcctca 240
agtacttttc aggggatcca ctggttaaag gcatcaaggg ctttgaggct gaatttataa 300
agagtaaatt ctctttaat ctgaggaaac cctctgtgca gtggagtgc acagctgagt 360
acttctgcag agaccttgcg gccgtgtctt cgactagtag ctcacctacg a 411

<210> 10
<211> 411
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAV8-2_BB_1

<400> 10
gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccacccat gtcctgtctg ctcgctccag 60
tgctcgagggt gatttttact ctgggaggaa ccagagccca gtcggtgacc cagcttgaca 120
gccacgtctc tgtctctgaa ggaaccccggt tgctgtctgag gtgcaactac tcatcttctt 180
attcaccatc tctcttctgg tatgtgcaac accccaacaa aggactccag cttctcctga 240
agtacacatc agcggccacc ctggttaaag gcatcaacgg ttttgaggct gaatttaaga 300
agagtgaac ctcttccac ctgacgaaac cctcagccca tatgagcgac gcggctgagt 360

acttctgcag agaccttgcg gccgtgtctt cgactagtag ctcacctacg a 411

<210> 11
<211> 411
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAV8-3_BB_1

<400> 11
gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat gtccttgag cttatccac 60
tgctggggat acattttgtc ctgagaactg ccagagccca gtcagtgacc cagcctgaca 120
tccacatcac tgtctctgaa ggagcctcac tggagttgag atgtaactat tcctatgggg 180
caacacctta tctcttctgg tatgtccagt ccccgggcca aggcctccag ctgctcctga 240
agtacttttc aggagacact ctgggtcaag gcattaaagg ctttgaggct gaatttaaga 300
ggagtcaatc ttccttcaat ctgaggaaac cctctgtgca ttggagtgat gctgctgagt 360
acttctgcag agaccttgcg gccgtgtctt cgactagtag ctcacctacg a 411

<210> 12
<211> 411
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAV8-4_BB_1

<400> 12
gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat gtccttgctg ctcgctccag 60
tgctcgaggt gattttttacc ctgggaggaa ccagagccca gtcggtgacc cagcttggca 120
gccacgtctc tgtctctgaa ggagccctgg ttctgctgag gtgcaactac tcatcgtctg 180
ttccaccata tctcttctgg tatgtgcaat accccaacca aggactccag cttctcctga 240
agtacacatc agcggccacc ctgggttaaag gcatcaacgg ttttgaggct gaatttaaga 300
agagtgaaac ctccttccac ctgacgaaac cctcagccca tatgagcgac gcggctgagt 360
acttctgcag agaccttgcg gccgtgtctt cgactagtag ctcacctacg a 411

<210> 13
<211> 411
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAV8-6_BB_1

<400> 13
gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat gtccttgctg ctcgctccag 60
cgttccaggt gattttttacc ctgggaggaa ccagagccca gtctgtgacc cagcttggca 120

gccaagtccc tgtctttgaa gaagcccctg tggagctgag gtgcaactac tcatcgtctg 180
 tttcagtgtg tctcttctgg tatgtgcaat accccaacca aggactccag cttctcctga 240
 agtattttatc aggatccacc ctgggttaaag gcatcaacgg ttttgaggct gaatttaaca 300
 agagtcaaac ttccttccac ttgaggaaac cctcagtcca tataagcgac acggctgagt 360
 acttctgcag agaccttgcg gccgtgtctt cgactagtag ctcacctacg a 411

<210> 14
 <211> 408
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAV8-7_BB_1

<400> 14
 gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat gctcttagtg gtcattctgc 60
 tgcttggaat gttcttcaca ctgagaacca gaaccagtc ggtgaccag cttgatggcc 120
 acatcactgt ctctgaagaa gccctctgg aactgaagtg caactattcc tatagtggag 180
 ttccttctct cttctggtat gtccaatact ctagccaaag cctccagctt ctccctcaaag 240
 acctaacaga ggccaccag gttaaaggca tcagaggttt tgaggctgaa ttttaagaaga 300
 gcgaaacctc cttctacctg aggaaaccat caacccatgt gagtgatgct gctgagtact 360
 tctgcagaga ccttgcgggc gtgtcttcga ctagtagctc acctacga 408

<210> 15
 <211> 408
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAV9-1_BB_1

<400> 15
 gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat gaattcttct ccaggaccag 60
 cgattgcact attcttaatg tttgggggaa tcaatggaga ttcagtggtc cagacagaag 120
 gccaagtgct cccctctgaa ggggattccc tgattgtgaa ctgctcctat gaaaccacac 180
 agtacccttc ctttttttgg tatgtccaat atcctggaga aggtccacag ctccacctga 240
 aagccatgaa ggccaatgac aagggaagga acaaagggtt tgaagccatg taccgtaaag 300
 aaaccacttc tttccacttg gagaaagact cagttcaaga gtcagactcc gctgtgtact 360
 tctgcagaga ccttgcgggc gtgtcttcga ctagtagctc acctacga 408

<210> 16
 <211> 408
 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAV9-2_BB_1

<400> 16

gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat gaactattct ccaggcttag	60
tatctctgat actcttactg cttggaagaa cccgtggaaa ttcagtgacc cagatggaag	120
ggccagtgac tctctcagaa gaggccttcc tgactataaa ctgcacgtac acagccacag	180
gatacccttc ccttttctgg tatgtccaat atcctggaga aggtctacag ctccctcctga	240
aagccacgaa ggctgatgac aagggaagca acaaaggttt tgaagccaca taccgtaaag	300
aaaccacttc tttccacttg gagaaaggct cagttcaagt gtcagactca gcggtgtact	360
tctgcagaga ccttgcgggc gtgtcttcga ctagtagctc acctacga	408

<210> 17

<211> 414

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAV10_BB_1

<400> 17

gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat gaaaaagcat ctgacgacct	60
tcttggtgat tttgtggctt tatttttata gggggaatgg caaaaaccaa gtggagcaga	120
gtcctcagtc cctgatcatc ctggagggaa agaactgcac tcttcaatgc aattatacag	180
tgagcccctt cagcaactta aggtggtata agcaagatac tgggagaggt cctgtttccc	240
tgacaatcat gactttcagt gagaacacaa agtcgaacgg aagatatata gcaactctgg	300
atgcagacac aaagcaaagc tctctgcaca tcacagcctc ccagctcagc gattcagcct	360
cctacatctg cagagacctt gcggccgtgt cttcgactag tagctcacct acga	414

<210> 18

<211> 408

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAV12-1_BB_1

<400> 18

gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat gatataccttg agagtgtttac	60
tggtgatcct gtggcttcag ttaagctggg tttggagcca acggaaggag gtggagcagg	120
atcctggacc cttcaatgtt ccagagggag ccactgtcgc tttcaactgt acttacagca	180
acagtgcctc tcagtctttc ttctggtaca gacaggattg caggaaagaa cctaagttgc	240

tgatgtccgt atactccagt ggtaatgaag atggaagggt tacagcacag ctcaatagag	300
ccagccagta tatttcctg ctcatcagag actccaagct cagtgtattca gccacctacc	360
tctgcagaga ccttgcggcc gtgtcttcga ctagtagctc acctacga	408

<210> 19
 <211> 414
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAV12-2_BB_1

<400> 19	
gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat gatgaaatcc ttgagagttt	60
tactagtgat cctgtggctt cagttgagct gggtttggag ccaacagaag gaggtggagc	120
agaattctgg accctcagt gttccagagg gagccattgc ctctctcaac tgcacttaca	180
gtgaccgagg ttcccagtc ttcttctggt acagacaata ttctgggaaa agccctgagt	240
tgataatggt catatactcc aatggtgaca aagaagatgg aaggtttaca gcacagctca	300
ataaagccag ccagtatggt tctctgctca tcagagactc ccagcccagt gattcagcca	360
cctacctctg cagagacctt gcggccgtgt ctctgactag tagctcacct acga	414

<210> 20
 <211> 414
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAV12-3_BB_1

<400> 20	
gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat gatgaaatcc ttgagagttt	60
tactggtgat cctgtggctt cagttaagct gggtttggag ccaacagaag gaggtggagc	120
aggatcctgg accactcagt gttccagagg gagccattgt ttctctcaac tgcacttaca	180
gcaacagtgc ttttcaatac ttcatgtggt acagacagta ttccagaaaa ggccctgagt	240
tgctgatgta cacatactcc agtggttaaca aagaagatgg aaggtttaca gcacaggtcg	300
ataaatccag caagtatatc tccttgttca tcagagactc acagcccagt gattcagcca	360
cctacctctg cagagacctt gcggccgtgt ctctgactag tagctcacct acga	414

<210> 21
 <211> 408
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAV13-1_BB_1

<400> 21
 gtcagataact ccatgagcac gaagacttgt acgccacccat gacatccatt cgagctgtat 60
 ttatatctcct gtggctgcag ctggacttgg tgaatggaga gaatgtggag cagcatcctt 120
 caaccctgag tgtccaggag ggagacagcg ctgttatcaa gtgtacttat tcagacagtg 180
 cctcaaacta cttcccttgg tataagcaag aacttggaaa aggacctcag cttattatag 240
 acattcgttc aaatgtgggc gaaaagaaa accaacgaat tgctgttaca ttgaacaaga 300
 cagccaaaca tttctccctg cacatcacag aaaccaacc tgaggactcg gctgtctact 360
 tctgcagaga ccttgcgggc gtgtcttcga ctagtagctc acctacga 408

<210> 22
 <211> 411
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAV13-2_BB_1

<400> 22
 gtcagataact ccatgagcac gaagacttgt acgccacccat ggcaggcatt cgagctttat 60
 ttatgtactt gtggctgcag ctggactggg tgagcagagg agagagtgtg gggctgcatc 120
 ttcctaccct gagtgtccag gaggggtgaca actctattat caactgtgct tattcaaaca 180
 ggcgctcaga ctacttcatt tgggtacaagc aagaatctgg aaaaggctcct caattcatta 240
 tagacattcg ttcaaatatg gacaaaaggc aaggccaaag agtcaccgtt ttattgaata 300
 agacagtgaac acatctctct ctgcaaattg cagctactca acctggagac tcagctgtct 360
 acttctgcag agaccttgcg gccgtgtctt cgactagtag ctcacctacg a 411

<210> 23
 <211> 417
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAV14DV4_BB_1

<400> 23
 gtcagataact ccatgagcac gaagacttgt acgccacccat gtcactttct agcctgctga 60
 aggtgggtcac agcttcactg tggctaggac ctggcattgc ccagaagata actcaaacc 120
 aaccaggaat gttcgtgcag gaaaaggagg ctgtgactct ggactgcaca tatgacacca 180
 gtgatcaaag ttatgggtcta ttctggtaca agcagcccag cagtggggaa atgatttttc 240
 ttatttatca ggggtcttat gacgagcaaa atgcaacaga aggtcgctac tcattgaatt 300
 tccagaaggc aagaaaatcc gccaaccttg tcatctccgc ttcacaactg ggggactcag 360
 caatgtatct ctgcagagac cttgcgggagc tgtcttcgac tagtagctca cctacga 417

<210> 24
 <211> 399
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAV16_BB_1

<400> 24
 gtcagataact ccatgagcac gaagacttgt acgccacccat gaagcccacc ctcatctcag 60
 tgcttgtgat aatatttata ctgagaggaa caagagccca gagagtgact cagcccgaga 120
 agctcctctc tgtcttttaa ggggccccag tggagctgaa gtgcaactat tcctattctg 180
 ggagtcctga actcttctgg tatgtccagt actccagaca acgcctccag ttactcttga 240
 gacacatctc tagagagagc atcaaaggct tcaactgctga ccttaacaaa ggcgagacat 300
 ctttccacct gaagaaacca tttgctcaag aggaagattc agccatgtat tactgcagag 360
 accttgccgc cgtgtcttcg actagtagct cacctacga 399

<210> 25
 <211> 408
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAV17_BB_1

<400> 25
 gtcagataact ccatgagcac gaagacttgt acgccacccat ggaaactctc ctgggagtgt 60
 ctttgggtgat tctatggctt caactggcta ggggtgaacag tcaacaggga gaagaggatc 120
 ctgagcctt gagcatccag gagggtgaaa atgccacccat gaactgcagt tacaaaacta 180
 gtataaaciaa ttacagtgg tatagacaaa attcaggtag aggccttgct cacctaattt 240
 taatacgttc aaatgaaaga gagaaacaca gtggaagatt aagagtcacg cttgacactt 300
 ccaagaaaag cagttccttg ttgatcacgg cttcccgggc agcagacact gcttcttact 360
 tctgcagaga ccttgccggc gtgtcttcga ctagtagctc acctacga 408

<210> 26
 <211> 405
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAV18_BB_1

<400> 26
 gtcagataact ccatgagcac gaagacttgt acgccacccat gctgtctgct tcctgctcag 60
 gacttgtgat cttgttgata ttcagaagga ccagtggaga ctcggttacc cagacagaag 120

gcccagttac cctccctgag agggcagctc tgacattaaa ctgcacttat cagtccagct 180
attcaacttt tctattctgg tatgtccagt atctaaacaa agagcctgag ctccctctga 240
aaagttcaga aaaccaggag acggacagca gaggttttca ggccagtcct atcaagagtg 300
acagttcctt ccacctggag aagccctcgg tgcagctgtc ggactctgcc gtgtactact 360
gcagagacct tgcggccgtg tcttcgacta gtagctcacc tacga 405

<210> 27
<211> 417
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAV19_BB_1

<400> 27
gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat gctgactgcc agcctgttga 60
gggcagtcac agcctccatc tgtgttgtat ccagcatggc tcagaaggta actcaagcgc 120
agactgaaat ttctgtggtg gagaaggagg atgtgacctt ggactgtgtg tatgaaacct 180
gtgatactac ttattactta ttctggtaca agcaaccacc aagtggagaa ttgggttttcc 240
ttattcgtcg gaactctttt gatgagcaaa atgaaataag tggtcggtat tcttggaact 300
tccagaaatc caccagttcc ttcaacttca ccatcacagc ctcaacaagtc gtggactcag 360
cagtatactt ctgcagagac cttgcggccg tgtcttcgac tagtagctca cctacga 417

<210> 28
<211> 408
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAV20_BB_1

<400> 28
gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat ggagaaaatg ttggagtgtg 60
cattcatagt cttgtggctt cagcttggct gggtgagtgg agaggaccag gtgacgcaga 120
gtcccagaggc cctgagactc caggagggag agagtagcag tcttaactgc agttacacag 180
tcagcggttt aagagggctg ttctggtata ggcaagatcc tgggaaaggc cctgaattcc 240
tcttcaccct gtattcagct ggggaagaaa aggagaaaga aaggctaaaa gccacattaa 300
caaagaagga aagctttctg cacatcacag cccctaaacc tgaggactca gccacttatc 360
tctgcagaga cttgcgggcc gtgtcttcga ctagtagctc acctacga 408

<210> 29
<211> 408
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAV21_BB_1

<400> 29

gtcagataact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat ggagaccctc ttgggcctgc	60
ttatcctttg gctgcagctg caatgggtga gcagcaaaca ggaggtgacg cagattcctg	120
cagctctgag tgtcccagaa ggagaaaact tggttctcaa ctgcagtttc actgatagcg	180
ctatttaciaa cctccagtgg tttaggcagg accctgggaa aggactcaca tctctgttgc	240
ttattcagtc aagtcagaga gagcaaacia gtggacgcct taatgcctcg ctggataaat	300
catcaggacg tagtacttta tacattgcag cttctcagcc tggtgactca gccacctacc	360
tctgcagaga ccttgcgggc gtgtcttcga ctagtagctc acctacga	408

<210> 30

<211> 402

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAV2 2_BB_1

<400> 30

gtcagataact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat gaagaggata ttgggagctc	60
tgctggggct cttgagtgcc caggtttgct gtgtgagagg aatacaagtg gagcagagtc	120
ctccagacct gattctccag gagggagcca attccacgct gcggtgcaat ttttctgact	180
ctgtgaaciaa tttgcagtgg tttcatcaaa acccttgggg acagctcatc aacctgtttt	240
acattccctc agggacaaaa cagaatggaa gattaagcgc cacgactgtc gctacggaac	300
gctacagctt attgtacatt tcctcttccc agaccacaga ctcaggcggt tattttctgca	360
gagaccttgc ggccgtgtct tcgactagta gctcacctac ga	402

<210> 31

<211> 435

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAV23DV6_BB_1

<400> 31

gtcagataact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat ggacaagatc ttaggagcat	60
catttttagt tctgtggctt caactatgct gggtgagtgg ccaacagaag gagaaaagtg	120
accagcagca ggtgaaacia agtcctcaat ctttgatagt ccagaaagga gggatttcaa	180
ttataaactg tgcttatgag aacactgcgt ttgactactt tccatggtac caacaattcc	240
ctgggaaagg ccctgcatta ttgatagcca tacgtccaga tgtgagtga aagaaagaag	300

gaagattcac aatctccttc aataaaagtg ccaagcagtt ctcatcgcat atcatggatt 360
cccagcctgg agactcagcc acctacttct gcagagacct tgcggccgtg tcttcgacta 420
gtagctcacc tacga 435

<210> 32
<211> 417
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAV2 4_BB_1

<400> 32
gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccacccat ggagaagaat cctttggcag 60
ccccattact aatcctctgg ttcatcttg actgcgtgag cagcatactg aacgtggaac 120
aaagtcctca gtcactgcat gttcaggagg gagacagcac caatttcacc tgcagcttcc 180
cttcagcaa tttttatgcc ttacactggg acagatggga aactgcaaaa agccccgagg 240
ccttgtttgt aatgacttta aatggggatg aaaagaagaa aggacgaata agtgccactc 300
ttaataccaa ggagggttac agctatttgt acatcaaagg atcccagcct gaagattcag 360
ccacatacct ctgcagagac cttgcggccg tgtcttcgac tagtagctca cctacga 417

<210> 33
<211> 402
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAV25_BB_1

<400> 33
gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccacccat gctactcatc acatcaatgt 60
tggtcttatg gatgcaattg tcacagggtga atggacaaca ggtaatgcaa attcctcagt 120
accagcatgt acaagaagga gaggacttca ccacgtactg caattcctca actactttaa 180
gcaatataca gtggtataag caaaggcctg gtggacatcc cgtattcttg atacagttag 240
tgaagagtgg agaagtgaag aagcagaaaa gactgacatt tcagtttgga gaagcaaaaa 300
agaacagctc cctgcacatc acagccaccc agactacaga tgtaggaacc tacttctgca 360
gagaccttgc ggccgtgtct tcgactagta gctcacctac ga 402

<210> 34
<211> 396
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAV26-1_BB_1

<400> 34
gtcagataact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat gaggctggtg gcaagagtaa 60
ctgtgttttct gaccttttga actataattg atgctaagac caccagccc ccctccatgg 120
attgcgctga aggaagagct gcaaacctgc cttgtaatca ctctaccatc agtggaaatg 180
agtatgtgta ttggtatcga cagattcact ccagggggcc acagtatatc attcatggtc 240
taaaaaacaa tgaaaccaat gaaatggcct ctctgatcat cacagaagat agaaagtcca 300
gcaccttgat cctgccccac gctacgctga gagacactgc tgtgtactac tgcagagacc 360
ttgcggccgt gtcttcgact agtagctcac ctacga 396

<210> 35
<211> 396
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAV26-2_BB_1

<400> 35
gtcagataact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat gaagtgggtg acaagcatta 60
ctgtactcct atctttgggt attatgggtg atgctaagac cacacagcca aattcaatgg 120
agagtaacga agaagagcct gttcacttgc cttgtaacca ctccacaatc agtggaaactg 180
attacataca ttggtatcga cagcttcctt ccaggggtcc agagtacgtg attcatggtc 240
ttacaagcaa tgtgaacaac agaatggcct ctctggcaat cgctgaggac agaaagtcca 300
gtaccttgat cctgcaccgt gctaccttga gagatgctgc tgtgtactac tgcagagacc 360
ttgcggccgt gtcttcgact agtagctcac ctacga 396

<210> 36
<211> 402
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAV27_BB_1

<400> 36
gtcagataact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat ggtcctgaaa ttctccgtgt 60
ccattctttg gattcagttg gcatgggtga gcaccagct gctggagcag agccctcagt 120
ttctaagcat ccaagaggga gaaaatctca ctgtgtactg caactcctca agtgtttttt 180
ccagcttaca atggtacaga caggagcctg ggggaaggtcc tgtcctcctg gtgacagtag 240
ttacgggttg agaagtgaag aagctgaaga gactaacctt tcagtttggt gatgcaagaa 300
aggacagttc tctccacatc actgcagccc agcctgggtga tacaggcctc tacctctgca 360

gagaccttgc ggccgtgtct tcgactagta gctcacctac ga 402

<210> 37

<211> 429

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAV29DV5_BB_1

<400> 37

gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat ggccatgctc ctgggggcat 60

cagtgtgat tctgtggctt cagccagact gggtaaacag tcaacagaag aatgatgacc 120

agcaagttaa gcaaaattca ccatccctga gcgtccagga aggaagaatt tctattctga 180

actgtgacta tactaacagc atgtttgatt atttcctatg gtacaaaaaa taccctgctg 240

aaggtcctac attcctgata tctataagtt ccattaagga taaaaatgaa gatggaagat 300

tcactgtttt cttaaacaaa agtgccaagc acctctctct gcacattgtg ccctcccagc 360

ctggagactc tgcagtgtac ttctgcagag accttgccgc cgtgtcttcg actagtagct 420

cacctacga 429

<210> 38

<211> 408

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAV30_BB_1

<400> 38

gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat ggagactctc ctgaaagtgc 60

tttcaggcac cttgttgtgg cagttgacct gggtgagaag ccaacaacca gtgcagagtc 120

ctcaagccgt gatcctccga gaaggggaag atgctgtcat caactgcagt tcctccaagg 180

ctttatattc tgtacactgg tacaggcaga agcatgggtga agcaccggtt ttctgatga 240

tattactgaa gggtagagaa cagaagggtc atgaaaaaat atctgcttca tttaatgaaa 300

aaaagcagca aagctccctg taccttacgg cctcccagct cagttactca ggaacctact 360

tctgcagaga ccttgccggc gtgtcttcga ctagtagctc acctacga 408

<210> 39

<211> 408

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAV34_BB_1

<400> 39

gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat ggagactggt ctgcaagtac 60

tcctagggat attgggggttc caagcagcct gggtcagtag ccaagaactg gagcagagtc 120
ctcagtcctt gatcgtccaa gagggaaaga atctcaccat aaactgcacg tcatcaaaga 180
cggttatatgg cttatactgg tataagcaaa agtatgggtga aggtcttatc ttcttgatga 240
tgctacagaa aggtggggaa gagaaaagtc atgaaaagat aactgccaag ttggatgaga 300
aaaagcagca aagttccctg catatcacag cctcccagcc cagccatgca ggcatctacc 360
tctgcagaga ccttgcgggc gtgtcttcga ctagtagctc acctacga 408

<210> 40
<211> 402
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAV3 5_BB_1

<400> 40
gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat gtccttgaa catttattaa 60
taatcttgtg gatgcagctg acatgggtca gtgggtcaaca gctgaatcag agtcctcaat 120
ctatgtttat ccaggaagga gaagatgtct ccatgaactg cacttcttca agcatattta 180
acacctggct atggtacaag caggaacctg gggaagggtcc tgcctcttg atagccttat 240
ataaggctgg tgaattgacc tcaaattgaa ggctgactgc tcagtttggt ataaccagaa 300
aggacagctt cctgaatatc tcagcatcca tacctagtga tgtaggcac tacttctgca 360
gagaccttgc ggccgtgtct tcgactagta gtcacctac ga 402

<210> 41
<211> 411
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAV3 6DV7_BB_1

<400> 41
gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat gatgaagtgt ccacaggctt 60
tactagctat cttttggctt ctactgagct gggtgagcag tgaagataag gtgggtacaaa 120
gccctctatc tctggttgct cacgaggag acaccgtaac tctcaattgc agttatgaag 180
tgactaactt tcgaagccta ctatggtaca agcaggaaaa gaaagctccc acatttctat 240
ttatgctaac ttcaagtga attgaaaaga agtcaggtag actaagtagc atattagata 300
agaaagaact ttccagcatc ctgaacatca cagccacca gaccggagac tcggccatct 360
acctctgcag agaccttgcg gccgtgtctt cgactagtag ctcacctacg a 411

<210> 42

<211> 417
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAV38-1_BB_1

<400> 42
 gtcagataact ccatgagcac gaagacttgt acgccacccat gacacgagtt agcttgctgt 60
 gggcagtcgt ggtcagtacc tgtcttgaat ccggcatggc ccagacagtc actcagtctc 120
 aaccagagat gtctgtgcag gaggcagaga ctgtgaccct gagttgcaca tatgacacca 180
 gtgagaataa ttattatttg ttctggtaca agcagcctcc cagcaggcag atgattctcg 240
 ttattcgcca agaagcttat aagcaacaga atgcaacgga gaatcgtttc tctgtgaact 300
 tccagaaagc agccaaatcc ttcagttctca agatctcaga ctacacagctg ggggacactg 360
 cgatgtatatt ctgcagagac cttgcggccg tgtcttcgac tagtagctca cctacga 417

<210> 43
 <211> 417
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAV38-2DV8_BB_1

<400> 43
 gtcagataact ccatgagcac gaagacttgt acgccacccat ggcatgccct ggcttcctgt 60
 gggcacttgt gatctccacc tgtcttgaat ttagcatggc tcagacagtc actcagtctc 120
 aaccagagat gtctgtgcag gaggcagaga cggtgaccct gagctgcaca tatgacacca 180
 gtgagagtga ttattattta ttctggtaca agcagcctcc cagcaggcag atgattctcg 240
 ttattcgcca agaagcttat aagcaacaga atgcaacaga gaatcgtttc tctgtgaact 300
 tccagaaagc agccaaatcc ttcagttctca agatctcaga ctacacagctg ggggatgccg 360
 cgatgtatatt ctgcagagac cttgcggccg tgtcttcgac tagtagctca cctacga 417

<210> 44
 <211> 402
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAV3 9_BB_1

<400> 44
 gtcagataact ccatgagcac gaagacttgt acgccacccat gaagaagcta ctagcaatga 60
 ttctgtggct tcaactagac cggttaagtg gagagctgaa agtggaaaca aaccctctgt 120
 tcctgagcat gcaggaggga aaaaactata ccatctactg caattattca accacttcag 180

acagactgta ttggtacagg caggatcctg ggaaaagtct ggaatctctg tttgtgttgc 240
tatcaaattg agcagtgaag caggagggac gattaatggc ctcaattgat accaaagccc 300
gtctcagcac cctccacatc acagctgccg tgcattgacct ctctgccacc tactttctgca 360
gagaccttgc ggccgtgtct tcgactagta gctcacctac ga 402

<210> 45
<211> 387
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAV4 0_BB_1

<400> 45
gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat gaactcctct ctggactttc 60
taattctgat cttaatgttt ggaggaacca gcagcaattc agtcaagcag acggggccaaa 120
taaccgtctc ggagggagca tctgtgacta tgaactgcac atacacatcc acgggggtacc 180
ctaccctttt ctggtatgtg gaatacccca gcaaacctct gcagcttctt cagagagaga 240
caatggaaaa cagcaaaaac ttcggaggcg gaaatattaa agacaaaaac tccccattg 300
tgaaatattc agtccaggta tcagactcag ccgtgtacta ctgcagagac cttgcggccg 360
tgtcttcgac tagtagctca cctacga 387

<210> 46
<211> 408
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAV41_BB_1

<400> 46
gtcagatact ccatgagcac gaagacttgt acgccaccat ggtgaagatc cggcaatttt 60
tggttggtat tttgtggctt cagctaagct gtgtaagtgc cgccaaaaat gaagtggagc 120
agagtcctca gaacctgact gccaggaag gagaatttat cacaatcaac tgcagttact 180
cggtaggaat aagtgcctta cactggctgc aacagcatcc aggaggaggc attgtttcct 240
tgtttatgct gagctcaggg aagaagaagc atggaagatt aattgccaca ataaacatac 300
aggaaaagca cagctccctg cacatcacag cctcccatcc cagagactct gccgtctaca 360
tctgcagaga ccttgcgggc gtgtcttcga ctagtagctc acctacga 408

<210> 47
<211> 497
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> Fragmento de clonación TRAC1

<400> 47

gtgcactcct atgactaacg gaagactagg ccgcataggt ctcaccagaa ccctgaccct	60
gccgtgtacc agctgagaga ctctaaatcc agtgacaagt ctgtctgcct attcaccgat	120
tttgattctc aaacaaatgt gtcacaaagt aaggattctg atgtgtatat cacagacaaa	180
actgtgctag acatgaggtc tatggacttc aagagcaaca gtgctgtggc ctggagcaac	240
aaatctgact ttgcatgtgc aaacgccttc aacaacagca ttattccaga ggacaccttc	300
ttccccagcc cagaaagttc ctgtgatgtc aagctggctg agaaaagctt tgaaacagat	360
acgaacctaa actttcaaaa cctgtcagtg attgggttcc gaatcctcct cctgaaagtg	420
gccgggttta atctgctcat gacgctgcgg ctgtgggtcca gctgactagg tgtcttccct	480
atgctgaatc gatggtc	497

<210> 48

<211> 3210

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Transitorio de la cadena principal de entrada V-C

<400> 48

tctagacctg atcataatca agccatatca catctgtaga ggtttacttg ctttaaaaaa	60
cctccacacc tccccctgaa cctgaaacat aaaatgaatg caattgttgt tgttaacttg	120
tttattgcag cttataatgg ttacaaataa agcaatagca tcacaaattt cacaaataaa	180
gcattttttt cactgcattc tagttgtggg ttgtccaaac tcatcaatgt atcttatcat	240
gtctggatct gcggatccaa tctcgagctg ggccctcatgg gccttccgct cactgcccgc	300
tttccagctg ggaaacctgt cgtgccagct gcattaacat ggtcatagct gtttccttgc	360
gtattgggcg ctctccgctt cctcgctcac tgactcgctg cgctcggtcg ttcgggtaaa	420
gcctgggggtg cctaattgagc aaaaggccag caaaaggcca ggaaccgtaa aaaggccgcg	480
ttgctggcgt ttttccatag gctccgcccc cctgacgagc atcacaaaaa tcgacgctca	540
agtcagaggt ggcgaaaccc gacaggacta taaagatacc aggcgtttcc ccctggaagc	600
tccctcgtgc gctctcctgt tccgaccctg ccgcttaccg gatacctgtc cgcctttctc	660
ccttcgggaa gcgtggcgct ttctcatagc tcacgctgta ggtatctcag ttcgggtgtag	720
gtcgttcgct ccaagctggg ctgtgtgcac gaaccccccg ttcagcccga ccgctgcgcc	780
ttatccggta actatcgtct tgagtccaac ccggtaagac acgacttatc gccactggca	840
gcagccactg gtaacaggat tagcagagcg aggtatgtag gcggtgctac agagttcttg	900

aagtgggtggc ctaactacgg ctacactaga agaacagtat ttggatatctg cgctctgctg	960
aagccagtta ccttcggaaa aagagttggg agctcttgat ccggcaaaaca aaccaccgct	1020
ggtagcgggtg gtttttttgt ttgcaagcag cagattacgc gcagaaaaaa aggatctcaa	1080
gaagatcctt tgatcttttc tacgggggtct gacgctcagt ggaacgaaaa ctcacgttaa	1140
gggatttttg tcatgagatt atcaaaaagg atcttcacct agatcctttt aaattaaaaa	1200
tgaagtttta aatcaatcta aagtatatat gagtaaactt ggtctgacag ttaccaatgc	1260
ttaatcagtg aggcacctat ctcagcgatc tgtctatttc gttcatccat agttgcctga	1320
ctccccgtcg tgtagataac tacgatacgg gagggcttac catctggccc cagtgcctgca	1380
atgataccgc gagaaccacg ctccaccggt ccagatttat cagcaataaa ccagccagcc	1440
ggaagggccg agcgcagaag tggtcctgca actttatccg cctccatcca gtctattaat	1500
tgttgccggg aagctagagt aagtagttcg ccagttaata gtttgcgcaa cgttgttgcc	1560
attgctacag gcatcgtggg gtcacgctcg tcgtttggta tggcttcatt cagctccggt	1620
tcccaacgat caaggcgagt tacatgatcc cccatgttgt gcaaaaaagc ggtagctcc	1680
ttcggtcctc cgatcgttgt cagaagtaag ttggccgcag tgttatcact catggttatg	1740
gcagcactgc ataattctct tactgtcatg ccatccgtaa gatgcttttc tgtgactggg	1800
gagtactcaa ccaagtcatt ctgagaatag tgtatgcggc gaccgagttg ctcttgcccg	1860
gcgtcaatac gggataatac cgcgccacat agcagaactt taaaagtgct catcattgga	1920
aaacgttctt cggggcgaaa actctcaagg atcttaccgc tgttgagatc cagttcgatg	1980
taaccactc gtgcacccaa ctgatcttca gcatctttta ctttcaccag cgtttctggg	2040
tgagcaaaaa caggaaggca aaatgccgca aaaaagggaa taagggcgac acggaaatgt	2100
tgaatactca tactcttctt ttttcaatat tattgaagca tttatcaggg ttattgtctc	2160
atgagcggat acatatttga atgtatttag aaaaataaac aaataggggt tccgcgcaca	2220
tttccccgaa aagtgccacc taaattgtaa gcgttaatat tttgttaaaa ttcgcgttaa	2280
atTTTTgtta aatcagctca ttttttaacc aataggccga aatcggcaaa atcccttata	2340
aatcaaaaga atagaccgag atagggttga gtggccgcta cagggcgctc ccattcgcca	2400
ttcaggctgc gcaactgttg ggaagggcgt ttcggtgcgg gcctcttcgc tattacgcca	2460
gctggcgaaa gggggatgtg ctgcaaggcg attaaagtgg gtaacgccag ggTTTTccca	2520
gtcacgacgt tgtaaaacga cggccagtga gcgcgacgta atacgactca ctataggcg	2580
aattggcgga aggccgtcaa ggccgcatga attcgctacc ggtatagtaa tcaattacgg	2640
ggtcattagt tcatagccca tatatggagt tccgcgttac ataacttacg gtaaattggc	2700

cgccctggctg accgcccac gacccccgcc cattgacgtc aataatgacg tatgttccca	2760
tagtaacgcc aatagggact ttccattgac gtcaatgggt ggagtattta cggtaaaactg	2820
cccacttggc agtacatcaa gtgtatcata tgccaagtac gccccctatt gacgtcaatg	2880
acggtaaatg gcccgccctgg cattatgccc agtacatgac cttatgggac tttcctactt	2940
ggcagtacat ctacgtatta gtcacgcta ttaccatggg gatgcgggtt tggcagtaca	3000
tcaatgggcg tggatagcgg tttgactcac ggggatttcc aagtctccac ccattgacg	3060
tcaatgggag tttgttttgg caccaaaatc aacgggactt tccaaaatgt cgtaacaact	3120
ccgccccatt gacgcaaatg ggcggtaggc gtgtacgggt ggaggtctat ataagcagag	3180
ctggtttagt gaaccgtcag atcaggtacc	3210

<210> 49
 <211> 769
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRAV1-1_TRAC

<400> 49	
gccaccatgt ggggagcttt ccttctctat gtttccatga agatgggagg cactgcagga	60
caaagccttg agcagccctc tgaagtgaca gctgtggaag gagccattgt ccagataaac	120
tgcacgtacc agacatctgg gttttatggg ctgtcctggg accagcaaca tgatggcgga	180
gcaccacat ttctttctta caatgctctg gatgggttgg aggagacagg tcgtttttct	240
tcattcctta gtcgctctga tagttatggg tacctccttc tacaggagct ccagatgaaa	300
gactctgcct cttacttctg cagagacctt gcggccgcat aggtctcacc agaaccctga	360
ccctgccgtg taccagctga gagactctaa atccagtac aagtctgtct gcctattcac	420
cgattttgat tctcaaaca atgtgtcaca aagtaaggat tctgatgtgt atatcacaga	480
caaaactgtg ctagacatga ggtctatgga cttcaagagc aacagtgtgt tggcctggag	540
caacaaatct gactttgcat gtgcaaacgc cttcaacaac agcattattc cagaggacac	600
cttcttcccc agcccagaaa gttcctgtga tgtcaagctg gtcgagaaaa gctttgaaac	660
agatacgaac ctaaactttc aaaacctgtc agtgattggg ttccgaatcc tcctcctgaa	720
agtggccggg tttaatctgc tcatgacgct gcggctgtgg tccagctga	769

<210> 50
 <211> 769
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRAV1-2_TRAC

<400> 50
gccaccatgt ggggagtttt ctttctttat gtttccatga agatgggagg cactacagga 60
caaaacattg accagccac tgagatgaca gctacggaag gtgccattgt ccagatcaac 120
tgcacgtacc agacatctgg gttcaacggg ctgttctggg accagcaaca tgctggcgaa 180
gcacccacat ttctgtctta caatgttctg gatggtttgg aggagaaagg tcgtttttct 240
tcattcctta gtcggtctaa agggtagagt tacctccttt tgaaggagct ccagatgaaa 300
gactctgcct cttacctctg cagagacctt gcggccgcat aggtctcacc agaaccctga 360
ccctgccgtg taccagctga gagactctaa atccagtac aagtctgtct gcctattcac 420
cgattttgat tctcaaaca atgtgtcaca aagtaaggat tctgatgtgt atatcacaga 480
caaaactgtg ctagacatga ggtctatgga cttcaagagc aacagtgtgt tggcctggag 540
caacaaatct gactttgcat gtgcaaacgc cttcaacaac agcattattc cagaggacac 600
cttcttcccc agcccagaaa gttcctgtga tgtcaagctg gtcgagaaaa gctttgaaac 660
agatacgaac ctaaactttc aaaacctgtc agtgattggg ttccgaatcc tcctcctgaa 720
agtggccggg tttaatctgc tcatgacgct gcggctgtgg tccagctga 769

<210> 51
<211> 781
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRAV2 TRAC

<400> 51
gccaccatgg ctttgcagag cactctgggg gcgggtgtggc tagggcttct cctcaactct 60
ctctggaagg ttgcagaaag caaggaccaa gtgtttcagc cttccacagt ggcattctca 120
gaggagctg tgggtggaat cttctgtaat cactctgtgt ccaatgctta caacttcttc 180
tggtaccttc acttcccggg atgtgcacca agactccttg ttaaaggctc aaagccttct 240
cagcagggac gataacaacat gacctatgaa cggttctctt catcgctgct catcctccag 300
gtgcgggagg cagatgctgc tgtttactac tgcagagacc ttgcggccgc ataggtctca 360
ccagaaccct gaccctgccg tgtaccagct gagagactct aaatccagtg acaagtctgt 420
ctgcctattc accgattttg attctcaaac aaatgtgtca caaagtaagg attctgatgt 480
gtatatcaca gacaaaactg tgctagacat gaggtctatg gacttcaaga gcaacagtgc 540
tgtggcctgg agcaacaaat ctgactttgc atgtgcaaac gccttcaaca acagcattat 600
tccagaggac accttcttcc ccagcccaga aagttcctgt gatgtcaagc tggtcgagaa 660
aagctttgaa acagatacga acctaaactt tcaaaacctg tcagtgattg gggtccgaat 720

cctcctcctg aaagtggccg ggtttaatct gctcatgacg ctgcggctgt ggtccagctg 780

a 781

<210> 52

<211> 784

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRAV3 TRAC

<400> 52

gccaccatgg cctctgcacc catctcgatg cttgcgatgc tcttcacatt gagtgggctg 60

agagctcagt cagtggctca gccggaagat caggtcaacg ttgctgaagg gaatcctctg 120

actgtgaaat gcacctattc agtctctgga aacccttata ttttttggtg tgttcaatac 180

cccaaccgag gcctccagtt ccttctgaaa tacatcacag gggataacct ggttaaaggc 240

agctatggct ttgaagctga atttaacaag agccaaacct ccttccacct gaagaaacca 300

tctgcccttg tgagcgactc cgctttgtac ttctgcagag accttgccgc cgcataggctc 360

tcaccagaac cctgaccctg ccgtgtacca gctgagagac tctaaatcca gtgacaagtc 420

tgtctgccta ttcaccgatt ttgattctca aacaaatgtg tcacaaagta aggattctga 480

tgtgtatatc acagacaaaa ctgtgctaga catgaggtct atggacttca agagcaacag 540

tgctgtggcc tggagcaaca aatctgactt tgcatgtgca aacgccttca acaacagcat 600

tattccagag gacaccttct tccccagccc agaaagttcc tgtgatgtca agctgggtcga 660

gaaaagcttt gaaacagata cgaacctaaa ctttcaaaac ctgtcagtga ttgggttccg 720

aatcctcctc ctgaaagtgg ccgggtttta tctgctcatg acgtgcgggc tgtggtccag 780

ctga 784

<210> 53

<211> 769

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRAV4 TRAC

<400> 53

gccaccatga ggcaagtggc gagagtgatc gtgttcctga ccctgagtac tttgagcctt 60

gctaagacca cccagcccat ctccatggac tcatatgaag gacaagaagt gaacataacc 120

tgtagccaca acaacattgc tacaaatgat tatatcacgt ggtaccaaca gtttcccagc 180

caaggaccac gatttattat tcaaggatac aagacaaaag ttacaaacga agtggcctcc 240

ctgtttatcc ctgccgacag aaagtccagc actctgagcc tgccccgggt ttccctgagc 300

gacactgctg tgtactactg cagagacctt gcggccgcat aggtctcacc agaaccctga 360
ccctgccgtg taccagctga gagactctaa atccagtgac aagtctgtct gcctattcac 420
cgattttgat tctcaaacia atgtgtcaca aagtaaggat tctgatgtgt atatcacaga 480
caaaactgtg ctagacatga ggtctatgga cttcaagagc aacagtgtgt tggcctggag 540
caacaaatct gactttgcat gtgcaaacgc cttcaacaac agcattattc cagaggacac 600
cttcttcccc agcccagaaa gttcctgtga tgtcaagctg gtcgagaaaa gctttgaaac 660
agatacgaac ctaaactttc aaaacctgtc agtgattggg ttccgaatcc tcctcctgaa 720
agtggccggg tttaatctgc tcatgacgct gcggctgtgg tccagctga 769

<210> 54
<211> 784
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRAV5 TRAC

<400> 54
gccaccatga aaacatttgc tggattttcg ttctgtttt tgtggctgca gctggactgt 60
atgagtagag gagaggatgt ggagcagagt cttttcctga gtgtccgaga gggagacagc 120
tccgttataa actgcactta cacagacagc tcctccacct acttatactg gtataagcaa 180
gaacctggag caggtctaca gttgctgacg tatatttttt caaatatgga catgaaacia 240
gaccaaagac tcaactgttct attgaataaa aaggataaac atctgtctct gcgcattgca 300
gacaccaga ctggggactc agctatctac ttctgcagag accttgccgc cgcataaggtc 360
tcaccagaac cctgaccctg ccgtgtacca gctgagagac tctaaatcca gtgacaagtc 420
tgtctgccta ttcaccgatt ttgattctca aacaaatgtg tcacaaagta aggattctga 480
tgtgtatatc acagacaaaa ctgtgctaga catgaggtct atggacttca agagcaacag 540
tgctgtggcc tggagcaaca aatctgactt tgcatgtgca aacgccttca acaacagcat 600
tattccagag gacaccttct tccccagccc agaaagttcc tgtgatgtca agctgggtcga 660
gaaaagcttt gaaacagata cgaacctaaa ctttcaaaac ctgtcagtga ttgggttccg 720
aatcctctc ctgaaagtgg ccgggtttaa tctgctcatg acgctgcggc tgtggtccag 780
ctga 784

<210> 55
<211> 784
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRAV6 TRAC

<400> 55

gccaccatgg agtcattcct gggaggtggt ttgctgattt tgtggcttca agtggactgg	60
gtgaagagcc aaaagataga acagaattcc gagggcctga acattcagga gggtaaaacg	120
gccaccctga cctgcaacta tacaaactat tccccagcat acttacagtg gtaccgacaa	180
gatccaggaa gagggcctgt tttcttgcta ctcatcagtg aaaatgagaa agaaaaaagg	240
aaagaaagac tgaagggtcac ctttgatacc acccttaaac agagtttggt tcatatcaca	300
gcctcccagc ctgcagactc agctacctac ctctgcagag accttgcggc cgcatagggtc	360
tcaccagaac cctgaccctg ccgtgtacca gctgagagac tctaaatcca gtgacaagtc	420
tgtctgccta ttcaccgatt ttgattctca aacaaatgtg tcacaaagta aggattctga	480
tgtgtatatc acagacaaaa ctgtgctaga catgagggtc atggacttca agagcaacag	540
tgctgtggcc tggagcaaca aatctgactt tgcattgtgca aacgccttca acaacagcat	600
tattccagag gacaccttct tccccagccc agaaagttcc tgtgatgtca agctgggtcga	660
gaaaagcttt gaaacagata cgaacctaaa ctttcaaaac ctgtcagtga ttgggttccg	720
aatcctctc ctgaaagtgg ccgggtttta tctgctcatg acgctgcggc tgtggtccag	780
ctga	784

<210> 56

<211> 781

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRAV7 TRAC

<400> 56

gccaccatgg agaagatgcg tagacctgtc ctaattatat tttgtctatg tcttggtg	60
gcaaattggag aaaaccaggt ggagcacagc cctcattttc tgggacccca gcaggagag	120
gttgctcca tgagctgcac gtactctgtc agtcgtttta acaatttgca gtggtacagg	180
caaaatacag ggatgggtcc caaacaccta ttatccatgt attcagctgg atatgagaag	240
cagaaaggaa ggctaaatgc tacattactg aagaatggaa gcagcttgta cattacagcc	300
gtgcagcctg aagattcagc cacctatttc tgcagagacc ttgcggccgc ataggctctca	360
ccagaaccct gaccctgccg tgtaccagct gagagactct aaatccagtg acaagtctgt	420
ctgcctattc accgattttg attctcaaac aaatgtgtca caaagtaagg attctgatgt	480
gtatatcaca gacaaaactg tgctagacat gaggtctatg gacttcaaga gcaacagtgc	540
tgtggcctgg agcaacaaat ctgactttgc atgtgcaaac gccttcaaca acagcattat	600

tccagaggac accttcttcc ccagcccaga aagttcctgt gatgtcaagc tggtcgagaa 660
aagctttgaa acagatacga acctaaactt tcaaaacctg tcagtgattg ggttccgaat 720
cctcctcctg aaagtggccg ggtttaatct gctcatgacg ctgcggctgt ggtccagctg 780
a 781

<210> 57
<211> 784
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRAV8-1_TRAC

<400> 57
gccaccatgc tcctgttgct cataccagtg ctggggatga tttttgccct gagagatgcc 60
agagcccagt ctgtgagcca gcataaccac cacgtaattc tctctgaagc agcctcactg 120
gagttgggat gcaactattc ctatggtgga actgttaatc tcttctggta tgtccagtac 180
cctgggtcaac accttcagct tctcctcaag tacttttcag gggatccact ggttaaaggc 240
atcaagggct ttgaggctga atttataaag agtaaattct cctttaatct gaggaaaccc 300
tctgtgcagt ggagtgcac agctgagtac ttctgcagag accttgcggc cgcataaggtc 360
tcaccagaac cctgaccctg ccgtgtacca gctgagagac tctaaatcca gtgacaagtc 420
tgtctgccta ttcaccgatt ttgattctca aacaaatgtg tcacaaagta aggattctga 480
tgtgtatatc acagacaaaa ctgtgctaga catgaggtct atggacttca agagcaacag 540
tgctgtggcc tggagcaaca aatctgactt tgcatgtgca aacgccttca acaacagcat 600
tattccagag gacaccttct tccccagccc agaaagttcc tgtgatgtca agctggtcga 660
gaaaagcttt gaaacagata cgaacctaaa ctttcaaac ctgtcagtga ttgggttccg 720
aatcctctc ctgaaagtgg ccgggtttaa tctgctcatg acgctgcggc tgtggtccag 780
ctga 784

<210> 58
<211> 784
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRAV8-2_TRAC

<400> 58
gccaccatgc tcctgctgct cgtcccagtg ctcgaggtga tttttactct gggaggaacc 60
agagcccagt cggtgaccca gcttgacagc cacgtctctg tctctgaagg aaccccggtg 120
ctgctgaggt gcaactactc atcttcttat tcaccatctc tcttctggta tgtgcaacac 180

cccaacaaag gactccagct tctcctgaag tacacatcag cggccaccct ggttaaaggc	240
atcaacgggtt ttgaggctga atttaagaag agtgaaacct ccttccacct gacgaaacct	300
tcagcccata tgagcgacgc ggctgagtag ttctgcagag accttgcggc cgcatagggtc	360
tcaccagaac cctgaccctg ccgtgtacca gctgagagac tctaaatcca gtgacaagtc	420
tgtctgccta ttcaccgatt ttgattctca aacaaatgtg tcacaaagta aggattctga	480
tgtgtatatc acagacaaaa ctgtgctaga catgagggtct atggacttca agagcaacag	540
tgctgtggcc tggagcaaca aatctgactt tgcattgtgca aacgccttca acaacagcat	600
tattccagag gacaccttct tccccagccc agaaagttcc tgtgatgtca agctgggtcga	660
gaaaagcttt gaaacagata cgaacctaaa ctttcaaaac ctgtcagtga ttgggttccg	720
aatcctcttc ctgaaagtgg ccgggtttta tctgctcatg acgctgcggc tgtggtccag	780
ctga	784

<210> 59

<211> 784

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRAV8-3_TRAC

<400> 59

gccaccatgc tcttgagct tatcccactg ctggggatag attttgcct gagaactgcc	60
agagcccagt cagtgacca gcctgacatc cacatcactg tctctgaagg agcctcactg	120
gagttgagat gtaactattc ctatggggca acaccttata tcttctggta tgtccagtc	180
cccggccaag gcctccagct gctcctgaag tacttttcag gagacactct ggttcaaggc	240
attaaaggct ttgaggctga atttaagagg agtcaatctt ccttcaatct gaggaaacct	300
tctgtgcatt ggagtgatgc tgctgagtag ttctgcagag accttgcggc cgcatagggtc	360
tcaccagaac cctgaccctg ccgtgtacca gctgagagac tctaaatcca gtgacaagtc	420
tgtctgccta ttcaccgatt ttgattctca aacaaatgtg tcacaaagta aggattctga	480
tgtgtatatc acagacaaaa ctgtgctaga catgagggtct atggacttca agagcaacag	540
tgctgtggcc tggagcaaca aatctgactt tgcattgtgca aacgccttca acaacagcat	600
tattccagag gacaccttct tccccagccc agaaagttcc tgtgatgtca agctgggtcga	660
gaaaagcttt gaaacagata cgaacctaaa ctttcaaaac ctgtcagtga ttgggttccg	720
aatcctcttc ctgaaagtgg ccgggtttta tctgctcatg acgctgcggc tgtggtccag	780
ctga	784

<210> 60

<211> 784

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRAV8-4_TRAC

<400> 60

gccacccatgc tcctgctgct cgtcccagtg ctcgaggtga tttttaccct gggaggaacc	60
agagcccagt cggtgaccca gcttggcagc cacgtctctg tctctgaagg agccctggtt	120
ctgctgaggt gcaactactc atcgtctggt ccaccatata tcttctggta tgtgcaatac	180
cccaaccaag gactccagct tctcctgaag tacacatcag cggccaccct ggttaaaggc	240
atcaacgggt ttgaggctga atttaagaag agtgaaacct ccttccacct gacgaaaccc	300
tcagcccata tgagcgacgc ggctgagtag ttctgcagag accttgccgc cgcatagggtc	360
tcaccagaac cctgaccctg ccgtgtacca gctgagagac tctaaatcca gtgacaagtc	420
tgtctgccta ttcaccgatt ttgattctca aacaaatgtg tcacaaagta aggattctga	480
tgtgtatatc acagacaaaa ctgtgctaga catgaggtct atggacttca agagcaacag	540
tgctgtggcc tggagcaaca aatctgactt tgcattgtgca aacgccttca acaacagcat	600
tattccagag gacaccttct tccccagccc agaaagttcc tgtgatgtca agctggtcga	660
gaaaagcttt gaaacagata cgaacctaaa ctttcaaac ctgtcagtga ttgggttccg	720
aatcctctc ctgaaagtgg ccgggtttta tctgctcatg acgctgcggc tgtggtccag	780
ctga	784

<210> 61

<211> 784

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRAV8-6_TRAC

<400> 61

gccacccatgc tcctgctgct cgtcccagcg ttccaggtga tttttaccct gggaggaacc	60
agagcccagt ctgtgaccca gcttgacagc caagtcacctg tctttgaaga agccctgtg	120
gagctgaggt gcaactactc atcgtctggt tcagtgtatc tcttctggta tgtgcaatac	180
cccaaccaag gactccagct tctcctgaag tatttatcag gatccaccct ggttaaaggc	240
atcaacgggt ttgaggctga atttaacaag agtcaaaact ccttccactt gaggaaaccc	300
tcagtccata taagcgacac ggctgagtag ttctgcagag accttgccgc cgcatagggtc	360
tcaccagaac cctgaccctg ccgtgtacca gctgagagac tctaaatcca gtgacaagtc	420
tgtctgccta ttcaccgatt ttgattctca aacaaatgtg tcacaaagta aggattctga	480

tgtgtatatc acagacaaaa ctgtgctaga catgaggtct atggacttca agagcaacag 540
 tgctgtggcc tggagcaaca aatctgactt tgcattgtgca aacgccttca acaacagcat 600
 tattccagag gacaccttct tccccagccc agaaagttcc tgtgatgtca agctgggtcga 660
 gaaaagcttt gaaacagata cgaacctaaa ctttcaaaac ctgtcagtga ttgggttccg 720
 aatcctcctc ctgaaagtgg cggggtttaa tctgctcatg acgctgcggc tgtgggtccag 780
 ctga 784

<210> 62
 <211> 781
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRAV8-7_TRAC

<400> 62
 gccaccatgc tcttagtggt cattctgctg cttggaatgt tcttcacact gagaaccaga 60
 acccagtcgg tgaccagct tgatggccac atcactgtct ctgaagaagc ccctctggaa 120
 ctgaagtgc actattccta tagtggagtt ccttctctct tctgggtatgt ccaatactct 180
 agccaaagcc tccagcttct cctcaaagac ctaacagagg ccaccaggt taaaggcatc 240
 agaggttttg aggctgaatt taagaagagc gaaacctcct tctacctgag gaaaccatca 300
 acccatgtga gtgatgctgc tgagtacttc tgcagagacc ttgcggccgc ataggtctca 360
 ccagaaccct gaccctgccg tgtaccagct gagagactct aaatccagtg acaagtctgt 420
 ctgcctattc accgattttg attctcaaac aaatgtgtca caaagtaagg attctgatgt 480
 gtatatcaca gacaaaactg tgctagacat gaggtctatg gacttcaaga gcaacagtgc 540
 tgtggcctgg agcaacaaat ctgactttgc atgtgcaaac gccttcaaca acagcattat 600
 tccagaggac accttcttcc ccagcccaga aagttcctgt gatgtcaagc tggtcgagaa 660
 aagctttgaa acagatacga acctaaactt tcaaaacctg tcagtgattg ggttccgaat 720
 cctcctcctg aaagtggccg ggtttaatct gctcatgacg ctgcggctgt ggtccagctg 780
 a 781

<210> 63
 <211> 781
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRAV9-1_TRAC

<400> 63
 gccaccatga attcttctcc aggaccagcg attgcactat tcttaatggt tgggggaatc 60

aatggagatt cagtgggtcca gacagaaggc caagtgtctc cctctgaagg ggattccctg	120
attgtgaact gtccttatga aaccacacag tacccttccc ttttttggtg tgtccaatat	180
cctggagaag gtccacagct ccacctgaaa gccatgaagg ccaatgacaa gggaagggaac	240
aaagggttttg aagccatgta ccgtaaagaa accacttctt tccacttgga gaaagactca	300
gttcaagagt cagactccgc tgtgtacttc tgcagagacc ttgcggccgc ataggtctca	360
ccagaaccct gaccctgccg tgtaccagct gagagactct aaatccagtg acaagtctgt	420
ctgcctattc accgattttg attctcaaac aaatgtgtca caaagtaagg attctgatgt	480
gtatatcaca gacaaaactg tgctagacat gaggtctatg gacttcaaga gcaacagtgc	540
tgtggcctgg agcaacaaat ctgactttgc atgtgcaaac gccttcaaca acagcattat	600
tccagaggac accttcttcc ccagcccaga aagttcctgt gatgtcaagc tggtcgagaa	660
aagctttgaa acagatacga acctaaactt tcaaaacctg tcagtgattg gggtccgaat	720
cctcctcctg aaagtggccg ggtttaatct gctcatgacg ctgcggctgt ggtccagctg	780
a	781

<210> 64

<211> 781

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRAV9-2_TRAC

<400> 64

gccaccatga actattctcc aggttagta tctctgatac tcttactgct tggaagaacc	60
cgtggaaatt cagtgacca gatggaagg ccagtgactc tctcagaaga ggccttctg	120
actataaact gcacgtacac agccacagga tacccttccc ttttctggta tgtccaatat	180
cctggagaag gtctacagct cctcctgaaa gccacgaagg ctgatgacaa gggaagcaac	240
aaagggttttg aagccacata ccgtaaagaa accacttctt tccacttgga gaaaggctca	300
gttcaagtgt cagactcagc ggtgtacttc tgcagagacc ttgcggccgc ataggtctca	360
ccagaaccct gaccctgccg tgtaccagct gagagactct aaatccagtg acaagtctgt	420
ctgcctattc accgattttg attctcaaac aaatgtgtca caaagtaagg attctgatgt	480
gtatatcaca gacaaaactg tgctagacat gaggtctatg gacttcaaga gcaacagtgc	540
tgtggcctgg agcaacaaat ctgactttgc atgtgcaaac gccttcaaca acagcattat	600
tccagaggac accttcttcc ccagcccaga aagttcctgt gatgtcaagc tggtcgagaa	660
aagctttgaa acagatacga acctaaactt tcaaaacctg tcagtgattg gggtccgaat	720

cctcctcctg aaagtggccg ggtttaatct gctcatgacg ctgcggctgt ggtccagctg 780

a 781

<210> 65

<211> 787

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRAV10 TRAC

<400> 65

gccaccatga aaaagcatct gacgaccttc ttggtgattt tgtggcttta tttttatagg 60

gggaatggca aaaaccaagt ggagcagagt cctcagtccc tgatcatcct ggaggggaaag 120

aactgcactc ttcaatgcaa ttatacagtg agcccccttca gcaacttaag gtggtataag 180

caagatactg ggagaggtcc tgtttccctg acaatcatga ctttcagtga gaacacaaaag 240

tcgaacggaa gatatacagc aactctggat gcagacacaa agcaaagctc tctgcacatc 300

acagcctccc agctcagcga ttcagcctcc tacatctgca gagaccttgc ggccgcatag 360

gtctcaccag aaccctgacc ctgccgtgta ccagctgaga gactctaaat ccagtgacaa 420

gtctgtctgc ctattcaccg attttgattc tcaaacaaat gtgtcacaaa gtaaggattc 480

tgatgtgtat atcacagaca aaactgtgct agacatgagg tctatggact tcaagagcaa 540

cagtgtgtgtg gcctggagca acaaactctga ctttgcatgt gcaaacgcct tcaacaacag 600

cattattcca gaggacacct tcttccccag ccagaaaagt tcctgtgatg tcaagctggt 660

cgagaaaagc tttgaaacag atacgaacct aaactttcaa aacctgtcag tgattggggt 720

ccgaatcctc ctcttgaaag tggccggggt taatctgctc atgacgctgc ggctgtgggtc 780

cagctga 787

<210> 66

<211> 781

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRAV12-1_TRAC

<400> 66

gccaccatga tatccttgag agttttactg gtgatcctgt ggcttcagtt aagctggggt 60

tggagccaac ggaaggaggt ggagcaggat cctggaccct tcaatgttcc agagggagcc 120

actgtcgctt tcaactgtac ttacagcaac agtgcttctc agtctttctt ctggtacaga 180

caggattgca ggaagaacc taagttgctg atgtccgtat actccagtgg taatgaagat 240

ggaaggttta cagcacagct caatagagcc agccagtata tttccctgct catcagagac 300

tccaagctca gtgattcagc cacctacctc tgcagagacc ttgcggccgc ataggtctca	360
ccagaaccct gaccctgccg tgtaccagct gagagactct aaatccagtg acaagtctgt	420
ctgcctattc accgattttg attctcaaac aaatgtgtca caaagtaagg attctgatgt	480
gtatatcaca gacaaaactg tgctagacat gaggtctatg gacttcaaga gcaacagtgc	540
tgtggcctgg agcaacaaat ctgactttgc atgtgcaaac gccttcaaca acagcattat	600
tccagaggac accttcttcc ccagcccaga aagttcctgt gatgtcaagc tggtcgagaa	660
aagctttgaa acagatacga acctaaactt tcaaaacctg tcagtgattg ggttccgaat	720
cctcctcctg aaagtggccg ggtttaatct gctcatgacg ctgcggctgt ggtccagctg	780
a	781

<210> 67
 <211> 787
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRAV12-2_TRAC

<400> 67	
gccaccatga tgaaatcctt gagagtttta ctagtgatcc tgtggcttca gttgagctgg	60
gtttggagcc aacagaagga ggtggagcag aattctggac ccctcagtgt tccagaggga	120
gccattgcct ctctcaactg cacttacagt gaccgaggtt ccagtcctt cttctggtac	180
agacaatatt ctgggaaaag ccctgagttg ataatgttca tatactccaa tggtgacaaa	240
gaagatggaa ggtttacagc acagctcaat aaagccagcc agtatgtttc tctgctcatc	300
agagactccc agcccagtga ttcagccacc tacctctgca gagaccttgc ggccgcatag	360
gtctcaccag aaccctgacc ctgccgtgta ccagctgaga gactctaaat ccagtgacaa	420
gtctgtctgc ctattcaccg attttgattc tcaaacaaat gtgtcacaaa gtaaggattc	480
tgatgtgtat atcacagaca aaactgtgct agacatgagg tctatggact tcaagagcaa	540
cagtgtctgtg gcctggagca acaaactctga ctttgcattg gcaaacgcct tcaacaacag	600
cattattcca gaggacacct tcttccccag ccagaaaagt tcctgtgatg tcaagctggt	660
cgagaaaagc tttgaaacag atacgaacct aaactttcaa aacctgtcag tgattggggt	720
ccgaatcctc ctctgaaag tggccgggtt taatctgctc atgacgctgc ggctgtgggtc	780
cagctga	787

<210> 68
 <211> 787
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRAV12-3_TRAC

<400> 68

gccaccatga tgaaatcctt gagagtttta ctggtgatcc tgtggcttca gttaagctgg	60
gtttggagcc aacagaagga ggtggagcag gatcctggac cactcagtgt tccagagggg	120
gccattgttt ctctcaactg cacttacagc aacagtgtct ttcaatactt catgtgggtac	180
agacagtatt ccagaaaagg ccctgagttg ctgatgtaca catactccag tggtaacaaa	240
gaagatggaa ggtttacagc acaggtcgat aaatccagca agtatatctc cttgttcatc	300
agagactcac agcccagtga ttcagccacc tacctctgca gagaccttgc ggccgcatag	360
gtctcaccag aaccctgacc ctgccgtgta ccagctgaga gactctaaat ccagtgacaa	420
gtctgtctgc ctattcaccg attttgattc tcaaacaat gtgtcacaaa gtaaggattc	480
tgatgtgtat atcacagaca aaactgtgct agacatgagg tctatggact tcaagagcaa	540
cagtgtgtg gcctggagca acaaactctga ctttgcattg gcaaacgcct tcaacaacag	600
cattattcca gaggacacct tcttccccag ccagaaaagt tcctgtgatg tcaagctggt	660
cgagaaaagc tttgaaacag atacgaacct aaactttcaa aacctgtcag tgattggggt	720
ccgaatcctc ctctgaaag tggccgggtt taatctgctc atgacgctgc ggctgtggtc	780
cagctga	787

<210> 69

<211> 781

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRAV13-1_TRAC

<400> 69

gccaccatga catccattcg agctgtatct atattcctgt ggctgcagct ggacttgggtg	60
aatggagaga atgtggagca gcatccttca accctgagtg tccaggaggg agacagcgct	120
gttatcaagt gtacttattc agacagtgcc taaaactact tcccttggtg taagcaagaa	180
cttggaagag gacctcagct tattatagac attcgttcaa atgtgggcga aaagaaagac	240
caacgaattg ctgttacatt gaacaagaca gccaaacatt tctccctgca catcacagaa	300
acccaacctg aggactcggc tgtctacttc tgcagagacc ttgcggccgc ataggtctca	360
ccagaaccct gacctgccg tgtaccagct gagagactct aaatccagtg acaagtctgt	420
ctgcctattc accgattttg attctcaaac aaatgtgtca caaagtaagg attctgatgt	480
gtatatcaca gacaaaactg tgctagacat gaggtctatg gacttcaaga gcaacagtgc	540
tgtggcctgg agcaacaat ctgactttgc atgtgcaaac gccttcaaca acagcattat	600

tccagaggac accttcttcc ccagcccaga aagttcctgt gatgtcaagc tggtcgagaa 660
aagctttgaa acagatacga acctaaactt tcaaaacctg tcagtgattg gggtccgaat 720
cctcctcctg aaagtggccg ggtttaatct gctcatgacg ctgcggctgt ggtccagctg 780
a 781

<210> 70
<211> 784
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRAV13-2_TRAC

<400> 70
gccaccatgg caggcattcg agctttatct atgtacttgt ggctgcagct ggactgggtg 60
agcagaggag agagtgtggg gctgcatctt cctaccctga gtgtccagga gggtgacaac 120
tctattatca actgtgctta ttcaaacagc gcctcagact acttcatttg gtacaagcaa 180
gaatctggaa aaggtcctca attcattata gacattcgtt caaatatgga caaaaggcaa 240
ggccaaagag tcaccgtttt attgaataag acagtgaaac atctctctct gcaaattgca 300
gctactcaac ctggagactc agctgtctac ttctgcagag accttgccgc cgcataaggc 360
tcaccagaac cctgaccctg ccgtgtacca gctgagagac tctaaatcca gtgacaagtc 420
tgtctgccta ttcaccgatt ttgattctca aacaaatgtg tcacaaagta aggattctga 480
tgtgtatatc acagacaaaa ctgtgctaga catgagggtct atggacttca agagcaacag 540
tgctgtggcc tggagcaaca aatctgactt tgcattgtgca aacgccttca acaacagcat 600
tattccagag gacaccttct tccccagccc agaaagttcc tgtgatgtca agctggtcga 660
gaaaagcttt gaaacagata cgaacctaaa ctttcaaaac ctgtcagtga ttgggttccg 720
aatcctcctc ctgaaagtgg ccgggtttta tctgctcatg acgctgcggc tgtggtccag 780
ctga 784

<210> 71
<211> 790
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRAV14DV4_TRAC

<400> 71
gccaccatgt cactttctag cctgctgaag gtgggtcacag cttcactgtg gctaggacct 60
ggcattgccc agaagataac tcaaacccaa ccaggaatgt tcgtgcagga aaaggaggct 120
gtgactctgg actgcacata tgacaccagt gatcaaagtt atgggtctatt ctggtacaag 180

cagcccagca gtggggaaat gatttttctt atttatcagg ggtcttatga cgagcaaaaat 240
gcaacagaag gtcgctactc attgaatttc cagaaggcaa gaaaatccgc caaccttgct 300
atctccgctt cacaactggg ggactcagca atgtatttct gcagagacct tgcggccgca 360
taggtctcac cagaaccctg accctgccgt gtaccagctg agagactcta aatccagtga 420
caagtctgtc tgcctattca ccgattttga ttctcaaaca aatgtgtcac aaagtaagga 480
ttctgatgtg tatatcacag aaaaaactgt gctagacatg aggtctatgg acttcaagag 540
caacagtgtc gtggcctgga gcaacaaatc tgactttgca tgtgcaaacg ctttcaacaa 600
cagcattatt ccagaggaca ctttcttccc cagcccagaa agttcctgtg atgtcaagct 660
ggtcgagaaa agctttgaaa cagatacgaa cctaaacttt caaaacctgt cagtgattgg 720
gttccgaatc ctctctctga aagtggccgg gtttaatctg ctcatgacgc tgcggctgtg 780
gtccagctga 790

<210> 72
<211> 772
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRAV16 TRAC

<400> 72
gccaccatga agcccaccct catctcagtg cttgtgataa tatttatact cagaggaaca 60
agagcccaga gagtgactca gcccgagaag ctctctctctg tcttttaaagg ggccccagtg 120
gagctgaagt gcaactattc ctattctggg agtcctgaac tcttctggta tgtccagtac 180
tccagacaac gcctccagtt actcttgaga cacatctcta gagagagcat caaaggcttc 240
actgctgacc ttaacaaagg cgagacatct ttccacctga agaaaccatt tgctcaagag 300
gaagattcag ccatgtatta ctgcagagac cttgcggccg cataggtctc accagaaccc 360
tgaccctgcc gtgtaccagc tgagagactc taaatccagt gacaagtctg tctgcctatt 420
caccgatttt gattctcaaa caaatgtgtc acaaagtaag gattctgatg tgtatatcac 480
agacaaaact gtgctagaca tgaggtctat ggacttcaag agcaacagtg ctgtggcctg 540
gagcaacaaa tctgactttg catgtgcaaa cgccttcaac aacagcatta ttccagagga 600
caccttcttc ccagcccag aaagtccctg tgatgtcaag ctggtcgaga aaagctttga 660
aacagatacg aacctaaact ttcaaaacct gtcagtgatt gggttccgaa tcctcctcct 720
gaaagtggcc gggtttaatc tgctcatgac gctgcggctg tgggtccagct ga 772

<210> 73
<211> 781

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRAV17 TRAC

<400> 73

gccaccatgg aaactctcct gggagtgtct ttggtgattc tatggcttca actggctagg	60
gtgaacagtc aacagggaga agaggatcct caggccttga gcatccagga gggtgaaaat	120
gccaccatga actgcagtta caaaactagt ataaacaatt tacagtggta tagacaaaat	180
tcaggtagag gccttgtcca cctaatttta atacgttcaa atgaaagaga gaaacacagt	240
ggaagattaa gagtcacgct tgacacttcc aagaaaagca gttccttggt gatcacggct	300
tcccgggcag cagacactgc ttcttacttc tgcagagacc ttgcggccgc atagggtctca	360
ccagaaccct gaccctgccg tgtaccagct gagagactct aaatccagtg acaagtctgt	420
ctgcctattc accgattttg attctcaaac aaatgtgtca caaagtaagg attctgatgt	480
gtatatcaca gacaaaactg tgctagacat gaggtctatg gacttcaaga gcaacagtgc	540
tgtggcctgg agcaacaaat ctgactttgc atgtgcaaac gccttcaaca acagcattat	600
tccagaggac accttcttcc ccagcccaga aagttcctgt gatgtcaagc tggtcgagaa	660
aagctttgaa acagatacga acctaaactt tcaaaacctg tcagtgattg ggttccgaat	720
cctcctcctg aaagtggccg ggtttaatct gctcatgacg ctgcggctgt ggtccagctg	780
a	781

<210> 74

<211> 778

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRAV18 TRAC

<400> 74

gccaccatgc tgtctgcttc ctgctcagga cttgtgatct tgttgatatt cagaaggacc	60
agtggagact cggttaccca gacagaaggc ccagttaccc tccctgagag ggcagctctg	120
acattaaact gcacttatca gtccagctat tcaacttttc tattctggta tgtccagtat	180
ctaaacaaag agcctgagct cctcctgaaa agttcagaaa accaggagac ggacagcaga	240
ggttttcagg ccagtcctat caagagtgac agttccttcc acctggagaa gccctcgggtg	300
cagctgtcgg actctgccgt gtactactgc agagaccttg cgccgcata ggtctcacca	360
gaaccctgac cctgccgtgt accagctgag agactctaaa tccagtgaca agtctgtctg	420
cctattcacc gatthttgatt ctcaaacaaa tgtgtcacaa agtaaggatt ctgatgtgta	480

tatcacagac aaaactgtgc tagacatgag gtctatggac ttcaagagca acagtgtgtgt	540
ggcctggagc aacaaatctg actttgcatg tgcaaacgcc ttcaacaaca gcattattcc	600
agaggacacc ttcttcccca gccagaaaag ttctgtgat gtcaagctgg tcgagaaaag	660
ctttgaaaca gatacgaacc taaactttca aaacctgtca gtgattgggt tccgaatcct	720
cctcctgaaa gtggccgggt ttaatctgct catgacgctg cggctgtgggt ccagctga	778

<210> 75
 <211> 790
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRAV19 TRAC

<400> 75	
gccaccatgc tgactgccag cctgttgagg gcagtcatac cctccatctg tgttgatatcc	60
agcatggctc agaaggtaac tcaagcgcag actgaaattt ctgtggtgga gaaggaggat	120
gtgaccttgg actgtgtgta tgaaaccctg gatactactt attacttatt ctggtacaag	180
caaccaccaa gtggagaatt ggttttcctt attcgtcgga actcttttga tgagcaaaat	240
gaaataagtg gtcggtattc ttggaacttc cagaaatcca ccagttcctt caacttcacc	300
atcacagcct cacaagtcgt ggactcagca gtatacttct gcagagacct tgcggccgca	360
taggtctcac cagaaccctg accctgccgt gtaccagctg agagactcta aatccagtga	420
caagtctgtc tgcctattca ccgattttga ttctcaaaca aatgtgtcac aaagtaagga	480
ttctgatgtg tatatcacag aaaaaactgt gctagacatg aggtctatgg acttcaagag	540
caacagtgtc gtggcctgga gcaacaaatc tgactttgca tgtgcaaacg ccttcaacaa	600
cagcattatt ccagaggaca ccttcttccc cagcccagaa agttcctgtg atgtcaagct	660
ggtcgagaaa agctttgaaa cagatacgaa cctaaacttt caaaacctgt cagtgtattg	720
gttccgaatc ctctctctga aagtggccgg gtttaatctg ctcatgacgc tgcggctgtg	780
gtccagctga	790

<210> 76
 <211> 781
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRAV20 TRAC

<400> 76	
gccaccatgg agaaaatgtt ggagtgtgca ttcatagtct tgtggcttca gcttggctgg	60
ttgagtggag aggaccaggt gacgcagagt cccgaggccc tgagactcca ggagggagag	120

agtagcagtc ttaactgcag ttacacagtc agcggtttaa gagggctggt ctggtatagg 180
caagatcctg ggaaaggccc tgaattcctc ttcacctgt attcagctgg ggaagaaaag 240
gagaaagaaa ggctaaaagc cacattaaca aagaaggaaa gctttctgca catcacagcc 300
cctaaacctg aggactcagc cacttatctc tgcagagacc ttgcggccgc ataggtctca 360
ccagaaccct gacctgccg tgtaccagct gagagactct aaatccagtg acaagtctgt 420
ctgcctattc accgattttg attctcaaac aaatgtgtca caaagtaagg attctgatgt 480
gtatatcaca gacaaaactg tgctagacat gaggtctatg gacttcaaga gcaacagtgc 540
tgtggcctgg agcaacaaat ctgactttgc atgtgcaaac gccttcaaca acagcattat 600
tccagaggac accttcttcc ccagcccaga aagttcctgt gatgtcaagc tggtcgagaa 660
aagctttgaa acagatacga acctaaactt tcaaaacctg tcagtgattg gggtccgaat 720
cctcctcctg aaagtggccg ggtttaatct gctcatgacg ctgcggctgt ggtccagctg 780
a 781

<210> 77
<211> 781
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRAV21 TRAC

<400> 77
gccaccatgg agaccctctt gggcctgctt atcctttggc tgcagctgca atgggtgagc 60
agcaaacagg aggtgacgca gattcctgca gctctgagt tcccagaagg agaaaacttg 120
gttctcaact gcagtttcac tgatagcgt atttacaacc tccagtgggt taggcaggac 180
cctgggaaag gactcacatc tctgttgctt attcagtcaa gtcagagaga gcaacaagt 240
ggacgcctta atgcctcgt ggataaatca tcaggacgta gtactttata cattgcagct 300
tctcagcctg gtgactcagc cacctacctc tgcagagacc ttgcggccgc ataggtctca 360
ccagaaccct gacctgccg tgtaccagct gagagactct aaatccagtg acaagtctgt 420
ctgcctattc accgattttg attctcaaac aaatgtgtca caaagtaagg attctgatgt 480
gtatatcaca gacaaaactg tgctagacat gaggtctatg gacttcaaga gcaacagtgc 540
tgtggcctgg agcaacaaat ctgactttgc atgtgcaaac gccttcaaca acagcattat 600
tccagaggac accttcttcc ccagcccaga aagttcctgt gatgtcaagc tggtcgagaa 660
aagctttgaa acagatacga acctaaactt tcaaaacctg tcagtgattg gggtccgaat 720
cctcctcctg aaagtggccg ggtttaatct gctcatgacg ctgcggctgt ggtccagctg 780
a 781

<210> 78
 <211> 775
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRAV22 TRAC

<400> 78
 gccaccatga agaggatatt gggagctctg ctggggctct tgagtgccca ggtttgctgt 60
 gtgagaggaa tacaagtga gcagagtcct ccagacctga ttctccagga gggagccaat 120
 tccacgctgc ggtgcaattt ttctgactct gtgaacaatt tgcagtgggt tcatcaaaac 180
 ccttggggac agctcatcaa cctgttttac attccctcag ggacaaaaca gaatggaaga 240
 ttaagcgcca cgactgtcgc tacggaacgc tacagcttat tgtacatttc ctcttcccag 300
 accacagact caggcgttta tttctgcaga gaccttgccg ccgcataggt ctccaccagaa 360
 ccctgaccct gccgtgtacc agctgagaga ctctaaatcc agtgacaagt ctgtctgcct 420
 attcaccgat tttgattctc aaacaaatgt gtcacaaagt aaggattctg atgtgtatat 480
 cacagacaaa actgtgctag acatgaggtc tatggacttc aagagcaaca gtgctgtggc 540
 ctggagcaac aaatctgact ttgcatgtgc aaacgccttc aacaacagca ttattccaga 600
 ggacaccttc ttccccagcc cagaaagttc ctgtgatgtc aagctgggtcg agaaaagctt 660
 tgaaacagat acgaacctaa actttcaaaa cctgtcagtg attgggttcc gaatcctcct 720
 cctgaaagtg gccgggttta atctgctcat gacgctgcgg ctgtggtcca gctga 775

<210> 79
 <211> 808
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRAV23DV6 TRAC

<400> 79
 gccaccatgg acaagatctt aggagcatca tttttagttc tgtggcttca actatgctgg 60
 gtgagtggcc aacagaagga gaaaagtga cagcagcagg tgaaacaaag tcctcaatct 120
 ttgatagtcc agaaaggagg gatttcaatt ataaactgtg cttatgagaa cactgcgttt 180
 gactactttc catggtacca acaattccct gggaaaggcc ctgcattatt gatagccata 240
 cgtccagatg tgagtgaana gaaagaagga agattcaca tctccttcaa taaaagtgcc 300
 aagcagttct cattgcatat catggattcc cagcctggag actcagccac ctacttctgc 360
 agagaccttg cggccgcata ggtctcacca gaacctgac cctgccgtgt accagctgag 420
 agactctaaa tccagtgaac agtctgtctg cctattcacc gatatttgatt ctcaaacaaa 480

tgtgtcacaa agtaaggatt ctgatgtgta tatcacagac aaaactgtgc tagacatgag 540
 gtctatggac ttcaagagca acagtgtctgt ggcttgagc aacaaatctg actttgcatg 600
 tgcaaagcc ttcaacaaca gcattattcc agaggacacc ttcttcccca gccagaaaag 660
 ttctgtgat gtcaagctgg tcgagaaaag ctttgaaaca gatacgaacc taaactttca 720
 aaacctgtca gtgattgggt tccgaatcct cctcctgaaa gtggccgggt ttaatctgct 780
 catgacgctg cggctgtggt ccagctga 808

<210> 80
 <211> 790
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRAV24 TRAC

<400> 80
 gccaccatgg agaagaatcc tttggcagcc ccattactaa tcctctggtt tcatcttgac 60
 tgcgtgagca gcatactgaa cgtggaacaa agtcctcagt cactgcatgt tcaggaggga 120
 gacagcacca atttcacctg cagcttccct tccagcaatt tttatgcctt aactgggtac 180
 agatgggaaa ctgcaaaaag ccccgaggcc ttgtttgtaa tgactttaaa tggggatgaa 240
 aagaagaaag gacgaataag tgccactctt aataccaagg agggttacag ctatctgtac 300
 atcaaaggat cccagcctga agattcagcc acatacctct gcagagacct tgcggccgca 360
 taggtctcac cagaaccctg accctgccgt gtaccagctg agagactcta aatccagtga 420
 caagtctgtc tgcctattca ccgattttga ttctcaaaca aatgtgtcac aaagtaagga 480
 ttctgatgtg tatatcacag aaaaaactgt gctagacatg aggtctatgg acttcaagag 540
 caacagtgtc gtggcctgga gcaacaaatc tgactttgca tgtgcaaagc ccttcaacaa 600
 cagcattatt ccagaggaca ccttcttccc cagcccagaa agttcctgtg atgtcaagct 660
 ggtcgagaaa agctttgaaa cagatacgaa cctaaacttt caaaacctgt cagtgtatgg 720
 gttccgaatc ctctcctga aagtggccgg gtttaatctg ctcatgacgc tgcggctgtg 780
 gtccagctga 790

<210> 81
 <211> 775
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRAV25 TRAC

<400> 81
 gccaccatgc tactcatcac atcaatgttg gtcttatgga tgcaattgtc acaggtgaat 60

ggacaacagg taatgcaaat tcctcagtac cagcatgtac aagaaggaga ggacttcacc	120
acgtactgca attcctcaac tactttaagc aatatacagt ggtataagca aaggcctggt	180
ggacatcccg tattcttgat acagttagtg aagagtggag aagtgaagaa gcagaaaaga	240
ctgacatttc agtttgagaga agcaaaaaag aacagctccc tgcacatcac agccacccag	300
actacagatg taggaaccta cttctgcaga gaccttgccg ccgcataggt ctcaccagaa	360
ccctgaccct gccgtgtacc agctgagaga ctctaaatcc agtgacaagt ctgtctgcct	420
attcaccgat ttgattctc aaacaaatgt gtcacaaagt aaggattctg atgtgtatat	480
cacagacaaa actgtgctag acatgaggtc tatggacttc aagagcaaca gtgctgtggc	540
ctggagcaac aaatctgact ttgcatgtgc aaacgccttc aacaacagca ttattccaga	600
ggacaccttc ttccccagcc cagaaagttc ctgtgatgtc aagctggctg agaaaagctt	660
tgaaacagat acgaacctaa actttcaaaa cctgtcagtg attgggttcc gaatcctcct	720
cctgaaagtg gccgggttta atctgctcat gacgctgccg ctgtggtcca gctga	775

<210> 82
 <211> 769
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRAV26-1_TRAC

<400> 82	
gccaccatga ggctggtggc aagagtaact gtgtttctga cctttggaac tataattgat	60
gctaagacca cccagcccc ctccatggat tgcgctgaag gaagagctgc aaacctgcct	120
tgtaatcact ctaccatcag tggaaatgag tatgtgtatt ggtatcgaca gattcactcc	180
caggggccac agtatatcat tcatggtcta aaaaacaatg aaaccaatga aatggcctct	240
ctgatcatca cagaagatag aaagtccagc acctgatcc tgccccacgc tacgctgaga	300
gacactgctg tgtactactg cagagacctt gcggccgcat aggtctcacc agaaccctga	360
ccctgccgtg taccagctga gagactctaa atccagtgac aagtctgtct gcctattcac	420
cgattttgat tctcaaaca atgtgtcaca aagtaaggat tctgatgtgt atatcacaga	480
caaaactgtg ctagacatga ggtctatgga cttcaagagc aacagtgctg tggcctggag	540
caacaaatct gactttgcat gtgcaaacgc cttcaacaac agcattattc cagaggacac	600
cttcttcccc agcccagaaa gttcctgtga tgtcaagctg gtcgagaaaa gctttgaaac	660
agatacgaac ctaaactttc aaaacctgtc agtgattggg ttccgaatcc tcctcctgaa	720
agtggccggg tttaatctgc tcatgacgct gcggctgtgg tccagctga	769

<210> 83
 <211> 769
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRAV26-2_TRAC

<400> 83
 gccaccatga agttggtgac aagcattact gtactcctat ctttgggtat tatgggtgat 60
 gctaagacca cacagccaaa ttcaatggag agtaacgaag aagagcctgt tcacttgcct 120
 tgtaaccact ccacaatcag tggaactgat tacatacatt ggtatcgaca gcttccctcc 180
 caggggccag agtacgtgat tcatggtctt acaagcaatg tgaacaacag aatggcctct 240
 ctggcaatcg ctgaggacag aaagtccagt accttgatcc tgcaccgtgc taccttgaga 300
 gatgctgctg tgtactactg cagagacctt gcggccgcag aggtctcacc agaaccctga 360
 ccctgccgtg taccagctga gagactctaa atccagtgac aagtctgtct gcctattcac 420
 cgattttgat tctcaaacia atgtgtcaca aagtaaggat tctgatgtgt atatcacaga 480
 caaaactgtg ctagacatga ggtctatgga cttcaagagc aacagtgtgt tggcctggag 540
 caacaaatct gactttgcat gtgcaaacgc cttcaacaac agcattattc cagaggacac 600
 cttcttcccc agcccagaaa gttcctgtga tgtcaagctg gtcgagaaaa gctttgaaac 660
 agatacgaac ctaaactttc aaaacctgtc agtgattggg ttccgaatcc tcctcctgaa 720
 agtggccggg tttaatctgc tcatgacgct gcggctgtgg tccagctga 769

<210> 84
 <211> 775
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRAV27 TRAC

<400> 84
 gccaccatgg tcctgaaatt ctccgtgtcc attcttttga ttcagttggc atgggtgagc 60
 acccagctgc tggagcagag ccctcagttt ctaagcatcc aagagggaga aaatctcact 120
 gtgtactgca actcctcaag tgttttttcc agcttacaat ggtacagaca ggagcctggg 180
 gaaggtcctg tcctcctggt gacagtagtt acgggtggag aagtgaagaa gctgaagaga 240
 ctaacctttc agtttgggtga tgcaagaaag gacagttctc tccacatcac tgcagcccag 300
 cctgggtgata caggcctcta cctctgcaga gaccttgcgg ccgcataggt ctccaccagaa 360
 ccctgaccct gccgtgtacc agctgagaga ctctaaatcc agtgacaagt ctgtctgcct 420
 attcaccgat tttgattctc aaacaaatgt gtcacaaagt aaggattctg atgtgtatat 480

cacagacaaa actgtgctag acatgaggtc tatggacttc aagagcaaca gtgctgtggc 540
ctggagcaac aaatctgact ttgcatgtgc aaacgccttc aacaacagca ttattccaga 600
ggacaccttc ttccccagcc cagaaagttc ctgtgatgtc aagctgggtcg agaaaagctt 660
tgaaacagat acgaacctaa actttcaaaa cctgtcagtg attgggttcc gaatcctcct 720
cctgaaagtg gccgggttta atctgctcat gacgctgcgg ctgtggtcca gctga 775

<210> 85
<211> 802
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRAV29DV5 TRAC

<400> 85
gccaccatgg ccatgctcct gggggcatca gtgctgattc tgtggcttca gccagactgg 60
gtaaacagtc aacagaagaa tgatgaccag caagttaagc aaaattcacc atccctgagc 120
gtccaggaag gaagaatttc tattctgaac tgtgactata ctaacagcat gtttgattat 180
ttcctatggg aaaaaaata ccctgctgaa ggtcctacat tcctgatata tataagttcc 240
attaaggata aaaatgaaga tggaagattc actgttttct taaacaaaag tgccaagcac 300
ctctctctgc acattgtgcc ctcccagcct ggagactctg cagtgtactt ctgcagagac 360
cttgcgggcg cataggtctc accagaacct tgacctgcc gtgtaccagc tgagagactc 420
taaatccagt gacaagtctg tctgcctatt caccgatttt gattctcaaa caaatgtgtc 480
acaaagtaag gattctgatg tgtatatcac agacaaaact gtgctagaca tgagggtctat 540
ggacttcaag agcaacagtg ctgtggcctg gagcaacaaa tctgactttg catgtgcaaa 600
cgccttcaac aacagcatta ttccagagga caccttcttc ccagcccag aaagttcctg 660
tgatgtcaag ctgggtcgaga aaagctttga aacagatacg aacctaaact ttcaaacct 720
gtcagtgatt gggttccgaa tcctcctcct gaaagtggcc ggggtttaatc tgctcatgac 780
gctgcggctg tgggtccagct ga 802

<210> 86
<211> 781
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRAV30 TRAC

<400> 86
gccaccatgg agactctcct gaaagtgctt tcaggcacct tgttgtggca gttgacctgg 60
gtgagaagcc aacaaccagt gcagagtcct caagccgtga tcctccgaga aggggaagat 120

gctgtcatca actgcagttc ctccaaggct ttatatcttg tacactggta caggcagaag 180
catgggtgaag caccggtttt cctgatgata ttactgaagg gtggagaaca gaagggtcat 240
gaaaaaatat ctgcttcatt taatgaaaaa aagcagcaaa gctccctgta ccttacggcc 300
tcccagctca gttactcagg aacctacttc tgcagagacc ttgcggccgc ataggtctca 360
ccagaaccct gaccctgccg tgtaccagct gagagactct aaatccagtg acaagtctgt 420
ctgcctattc accgattttg attctcaaac aaatgtgtca caaagtaagg attctgatgt 480
gtatatcaca gacaaaactg tgctagacat gaggtctatg gacttcaaga gcaacagtgc 540
tgtggcctgg agcaacaaat ctgactttgc atgtgcaaac gccttcaaca acagcattat 600
tccagaggac accttcttcc ccagcccaga aagttcctgt gatgtcaagc tggtcgagaa 660
aagctttgaa acagatacga acctaaactt tcaaaacctg tcagtgattg gggtccgaat 720
cctcctcctg aaagtggccg ggtttaatct gctcatgacg ctgcggctgt ggtccagctg 780
a 781

<210> 87
<211> 781
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRAV34 TRAC

<400> 87
gccaccatgg agactgttct gcaagtactc ctagggatat tgggggttcca agcagcctgg 60
gtcagtagcc aagaactgga gcagagtcct cagtccttga tcgtccaaga gggaaagaat 120
ctcaccataa actgcacgtc atcaaagacg ttatatggct tatactggta taagcaaaaag 180
tatgggtgaag gtcttatctt cttgatgatg ctacagaaag gtggggaaga gaaaagtcat 240
gaaaagataa ctgccaaagt ggatgagaaa aagcagcaaa gttccctgca tatcacagcc 300
tcccagccca gccatgcagg catctacctc tgcagagacc ttgcggccgc ataggtctca 360
ccagaaccct gaccctgccg tgtaccagct gagagactct aaatccagtg acaagtctgt 420
ctgcctattc accgattttg attctcaaac aaatgtgtca caaagtaagg attctgatgt 480
gtatatcaca gacaaaactg tgctagacat gaggtctatg gacttcaaga gcaacagtgc 540
tgtggcctgg agcaacaaat ctgactttgc atgtgcaaac gccttcaaca acagcattat 600
tccagaggac accttcttcc ccagcccaga aagttcctgt gatgtcaagc tggtcgagaa 660
aagctttgaa acagatacga acctaaactt tcaaaacctg tcagtgattg gggtccgaat 720
cctcctcctg aaagtggccg ggtttaatct gctcatgacg ctgcggctgt ggtccagctg 780
a 781

<210> 88
 <211> 775
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRAV35 TRAC

<400> 88
 gccaccatgc tccttgaaca tttattaata atcttgtgga tgcagctgac atgggtcagt 60
 ggtcaacagc tgaatcagag tcctcaatct atgtttatcc aggaaggaga agatgtctcc 120
 atgaactgca cttcttcaag catatttaac acctggctat ggtacaagca ggaacctggg 180
 gaaggctctg tcctcttgat agccttatat aaggctggtg aattgacctc aaatggaagg 240
 ctgactgctc agtttggtat aaccagaaaag gacagcttcc tgaatatctc agcatccata 300
 cctagtgtatg taggcatcta cttctgcaga gaccttgagg ccgcataggt ctcaccagaa 360
 ccctgaccct gccgtgtacc agctgagaga ctctaaatcc agtgacaagt ctgtctgcct 420
 attcaccgat tttgattctc aaacaaatgt gtcacaaagt aaggattctg atgtgtatat 480
 cacagacaaa actgtgctag acatgaggtc tatggacttc aagagcaaca gtgctgtggc 540
 ctggagcaac aaatctgact ttgcatgtgc aaacgccttc aacaacagca ttattccaga 600
 ggacaccttc ttccccagcc cagaaagttc ctgtgatgtc aagctgggtcg agaaaagctt 660
 tgaaacagat acgaacctaa actttcaaaa cctgtcagtg attgggttcc gaatcctcct 720
 cctgaaagtg gccgggttta atctgctcat gacgctgcgg ctgtggtcca gctga 775

<210> 89
 <211> 784
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRAV36DV7 TRAC

<400> 89
 gccaccatga tgaagtgtcc acaggcttta ctagctatct tttggcttct actgagctgg 60
 gtgagcagtg aagataaggt ggtacaaagc cctctatctc tggttgtcca cgagggagac 120
 accgtaactc tcaattgcag ttatgaagtg actaactttc gaagcctact atggtacaag 180
 caggaaaaga aagctccac atttctatct atgctaactt caagtggat tgaaaagaag 240
 tcaggtagac taagtagcat attagataag aaagaacttt ccagcatcct gaacatcaca 300
 gccaccaga ccggagactc ggccatctac ctctgcagag accttgaggc cgcataggctc 360
 tcaccagaac cctgaccctg ccgtgtacca gctgagagac tctaaatcca gtgacaagtc 420
 tgtctgccta ttcaccgatt ttgattctca aacaaatgtg tcacaaagta aggattctga 480

tgtgtatatc acagacaaaa ctgtgctaga catgaggtct atggacttca agagcaacag	540
tgctgtggcc tggagcaaca aatctgactt tgcattgtgca aacgccttca acaacagcat	600
tattccagag gacaccttct tccccagccc agaaagttcc tgtgatgtca agctgggtcga	660
gaaaagcttt gaaacagata cgaacctaaa ctttcaaaac ctgtcagtga ttgggttccg	720
aatcctcctc ctgaaagtgg ccgggtttta tctgctcatg acgctgcggc tgtgggtccag	780
ctga	784

<210> 90

<211> 790

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRAV38-1_TRAC

<400> 90

gccaccatga cagcagttag cttgctgtgg gcagtcgtgg tcagtacctg tcttgaatcc	60
ggcatggccc agacagtcac tcagtctcaa ccagagatgt ctgtgcagga ggcagagact	120
gtgaccctga gttgcacata tgacaccagt gagaataatt attatttgtt ctggtacaag	180
cagcctccca gcaggcagat gattctcgtt attcgccaag aagcttataa gcaacagaat	240
gcaacggaga atcgtttctc tgtgaacttc cagaaagcag ccaaactcct cagtctcaag	300
atctcagact cacagctggg ggacactgcg atgtatttct gcagagacct tgcggccgca	360
taggtctcac cagaaccctg accctgccgt gtaccagctg agagactcta aatccagtga	420
caagtctgtc tgctatttca ccgattttga ttctcaaaca aatgtgtcac aaagtaagga	480
ttctgatgtg tatatcacag aaaaaactgt gctagacatg aggtctatgg acttcaagag	540
caacagtgtc gtggcctgga gcaacaaatc tgactttgca tgtgcaaacy ccttcaacaa	600
cagcattatt ccagaggaca ccttcttccc cagcccagaa agttcctgtg atgtcaagct	660
ggtcgagaaa agctttgaaa cagatacgaa cctaaacttt caaaacctgt cagtgattgg	720
gttccgaatc ctctcctga aagtggccgg gtttaatctg ctcatgacgc tgcggtctgtg	780
gtccagctga	790

<210> 91

<211> 790

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRAV38-2DV8_TRAC

<400> 91

gccaccatgg catgccctgg cttcctgtgg gcacttgtga tctccacctg tcttgaattt	60

agcatggctc agacagtcac tcagtctcaa ccagagatgt ctgtgcagga ggcagagacg	120
gtgaccctga gctgcacata tgacaccagt gagagtgatt attatattatt ctggtacaag	180
cagcctccca gcaggcagat gattctcgtt attcgccaag aagcttataa gcaacagaat	240
gcaacagaga atcgttttctc tgtgaacttc cagaaagcag ccaaatcctt cagtctcaag	300
atctcagact cacagctggg ggatgccgcg atgtattttct gcagagacct tgcggccgca	360
taggtctcac cagaaccctg accctgccgt gtaccagctg agagactcta aatccagtga	420
caagtctgtc tgcctattca ccgattttga ttctcaaaca aatgtgtcac aaagtaagga	480
ttctgatgtg tatatcacag aaaaaactgt gctagacatg aggtctatgg acttcaagag	540
caacagtgtc gtggcctgga gcaacaaatc tgactttgca tgtgcaaacg ccttcaacaa	600
cagcattatt ccagaggaca ctttcttccc cagccagaa agttcctgtg atgtcaagct	660
ggtcgagaaa agctttgaaa cagatacgaa cctaaacttt caaaacctgt cagtgtattg	720
gttccgaatc ctctctctga aagtggccgg gtttaatctg ctcatgacgc tgcggctgtg	780
gtccagctga	790

<210> 92

<211> 775

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRAV39 TRAC

<400> 92

gccaccatga agaagctact agcaatgatt ctgtggcttc aactagaccg gttaagtgga	60
gagctgaaag tggaacaaaa ccctctgttc ctgagcatgc aggagggaaa aaactatacc	120
atctactgca attattcaac cacttcagac agactgtatt ggtacaggca ggatcctggg	180
aaaagtctgg aatctctgtt tgtgttgcta tcaaattggag cagtgaagca ggagggacga	240
ttaatggcct cacttgatac caaagcccgt ctcagcacc cccacatcac agctgccgtg	300
catgacctct ctgccaccta cttctgcaga gaccttgccg ccgcataggt ctaccagaa	360
ccctgaccct gccgtgtacc agctgagaga ctctaaatcc agtgacaagt ctgtctgcct	420
attcaccgat tttgattctc aaacaaatgt gtcacaaagt aaggattctg atgtgtatat	480
cacagacaaa actgtgctag acatgaggtc tatggacttc aagagcaaca gtgctgtggc	540
ctggagcaac aaatctgact ttgcatgtgc aaacgccttc aacaacagca ttattccaga	600
ggacaccttc ttccccagcc cagaaagttc ctgtgatgtc aagctggctg agaaaagctt	660
tgaaacagat acgaacctaa actttcaaaa cctgtcagtg attgggttcc gaatcctcct	720

cctgaaagtg gccgggttta atctgctcat gacgctgcgg ctgtggtcca gctga 775

<210> 93

<211> 760

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRAV40 TRAC

<400> 93

gccaccatga actcctctct ggactttcta attctgatct taatgtttgg aggaaccagc 60

agcaattcag tcaagcagac gggccaaata accgtctcgg agggagcatc tgtgactatg 120

aactgcacat acacatccac ggggtaccct acccttttct ggtatgtgga ataccccagc 180

aaacctctgc agcttcttca gagagagaca atggaaaaca gcaaaaactt cggaggcgga 240

aatattaaag acaaaaactc cccatttggt aaatattcag tccaggtatc agactcagcc 300

gtgtactact gcagagacct tgcggccgca taggtctcac cagaaccctg accctgccgt 360

gtaccagctg agagactcta aatccagtga caagtctgtc tgcctattca ccgattttga 420

ttctcaaaca aatgtgtcac aaagtaagga ttctgatgtg tatatcacag acaaaactgt 480

gctagacatg aggtctatgg acttcaagag caacagtgtc gtggcctgga gcaacaaatc 540

tgactttgca tgtgcaaacg ctttcaacaa cagcattatt ccagaggaca ctttcttccc 600

cagcccagaa agttcctgtg atgtcaagct ggtcgagaaa agctttgaaa cagatacgaa 660

cctaaacttt caaaacctgt cagtgattgg gttccgaatc ctctcctga aagtggccgg 720

gtttaatctg ctcatgacgc tgcggctgtg gtccagctga 760

<210> 94

<211> 781

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRAV41 TRAC

<400> 94

gccaccatgg tgaagatccg gcaatTTTTg ttggctatTT tgtggcttca gctaagctgt 60

gtaagtgccg ccaaaaatga agtggagcag agtcctcaga acctgactgc ccaggaagga 120

gaatttatca caatcaactg cagttactcg gtaggaataa gtgccttaca ctggctgcaa 180

cagcatccag gaggaggcat tgtttccttg tttatgctga gctcagggaa gaagaagcat 240

ggaagattaa ttgccacaat aaacatacag gaaaagcaca gtcctctgca catcacagcc 300

tcccatccca gagactctgc cgtctacatc tgcagagacc ttgcggccgc ataggctctca 360

ccagaaccct gaccctgccg tgtaccagct gagagactct aaatccagtg acaagtctgt 420

ctgcctattc accgattttg attctcaaac aaatgtgtca caaagtaagg attctgatgt 480
gtatatcaca gacaaaactg tgctagacat gaggtctatg gacttcaaga gcaacagtgc 540
tgtggcctgg agcaacaaat ctgactttgc atgtgcaaac gccttcaaca acagcattat 600
tccagaggac accttcttcc ccagcccaga aagttcctgt gatgtcaagc tggtcgagaa 660
aagctttgaa acagatacga acctaaactt tcaaaacctg tcagtgattg gggtccgaat 720
cctcctcctg aaagtggccg gggttaatat gctcatgacg ctgcggtgtg ggtccagctg 780
a 781

<210> 95
<211> 53
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> TRAJ_receiving_F1

<400> 95
aattcgggtct cgaagtcttc tgcggccgct gaagacacta tccagtgaga ccc 53

<210> 96
<211> 53
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> TRAJ_receiving_R1

<400> 96
tcgaggggtct cactggatag tgtcttcagc ggccgcagaa gacttcgaga ccg 53

<210> 97
<211> 2308
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cadena principal del donante J

<400> 97
ctcgagctgg gcctcatggg ccttcgcgtc actgcccgtt ttccagtcgg gaaacctgtc 60
gtgccagctg cattaacatg gtcatactgt tttccttgcg tattgggcgc tctccgcttc 120
ctcgctcact gactcgctgc gctcggtcgt tcgggtaaag cctgggggtgc ctaatgagca 180
aaaggccagc aaaaggccag gaaccgtaaa aaggccgcgt tgctggcggt tttccatagg 240
ctccgcccc ctgacgagca tcacaaaaat cgacgctcaa gtcagaggtg gcgaaacccg 300
acaggactat aaagatacca ggcgtttccc cctggaagct ccctcgtagc ctctcctgtt 360
ccgaccctgc cgcttaccgg atacctgtcc gcctttctcc cttcgggaag cgtggcgctt 420
tctcatagct cagctgtag gtatctcagt tcggtgtagg tcgttcgctc caagctgggc 480

tgtgtgcacg aacccccgt tcagcccgac cgctgcgcct tatccggtaa ctatcgtctt	540
gagtccaacc cggtaagaca cgacttatcg ccaactggcag cagccactgg taacaggatt	600
agcagagcga ggtatgtagg cgggtgctaca gagttcttga agtggtggcc taactacggc	660
tacactagaa gaacagtatt tggatatctgc gctctgctga agccagttac cttcggaaaa	720
agagttggta gctcttgatc cggcaaacaa accaccgctg gtagcgggtgg tttttttgtt	780
tgcaagcagc agattacgcg cagaaaaaaaa ggatctcaag aagatccttt gatcttttct	840
acgggggtctg acgctcagtg gaacgaaaac tcacgttaag ggatttttgt catgagatta	900
tcaaaaagga tcttcaccta gatcctttta aattaaat gaagtttta atcaatctaa	960
agtatatatg agtaaacttg gtctgacagt tagaaaaatt cgtccagcat cagatgaaat	1020
tgcagtttgt tcatgtccgg gttatcaata ccatatttct ggaacagacg tttctgcagg	1080
ctcgggctaa attcaccag acaattccac agaattgcca gatcctgata acgatctgca	1140
ataccaacac gaccaacatc aatgcagcca atcagtttac cctcatcaaa aatcaggtta	1200
tccaggctaa aatcaccatg ggtaacaacg ctatccggac taaacggcag cagtttatgc	1260
atttctttcc aaacctgttc aacaggccaa ccattacgtt catcatcaaa atcgcttgca	1320
tcaaccagac cattattcat acggctctgt gcctgtgcca gacgaaaaac acgatcgcta	1380
ttaaacggac aattacaaac cggaatgcta tgcagacgac gcagaaaaac tgccagtgca	1440
tcaacaatat tttcgctga atccggatat tcttcagaa cctgaaatgc ggttttacc	1500
ggaattgcgg tggtcagcag ccatgcatca tccggtgtac gaataaaatg tttaatggtc	1560
ggcagcggca taaattcggc cagccaattc agacgaacca tttcatcggc cacatcat	1620
gcaacgctac ctttaccatg tttcagaaac agttccgggtg catccgggtt accatacaga	1680
cgataaatgg ttgcaccgct ctgaccaaca ttatcacgtg cccatttata gccatacaga	1740
tctgcatcca tattgctatt cagacgcgga cggctacagc tggtttcacg ctgaatatgg	1800
ctcatactct tcctttttca atattattga agcatttatc agggttattg tctcatgagc	1860
ggatacatat ttgaatgtat ttagaaaaat aaacaaatag gggttccgcg cacatttccc	1920
cgaaaagtgc cacctaaatt gtaagcgcta atattttgtt aaaattcgcg ttaaattttt	1980
gttaaatcag ctcatTTTTT aaccaatagg ccgaaatcgg caaaatccct tataaatcaa	2040
aagaatagac cgagataggg ttgagtggcc gctacagggc gctcccatc gccattcagg	2100
ctgcgcaact gttgggaagg gcgtttcggc gcgggcctct tcgctattac gccagctggc	2160
gaaaggggga tgtgctgcaa ggcgattaag ttgggtaacg ccagggtttt ccagtcacg	2220
acgttgtaaa acgacggcca gtgagcgcga cgtaatacga ctactatag ggcgaattgg	2280

cggaaggccg tcaaggccgc atgaattc 2308

<210> 98
 <211> 2355
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Vector del casete de recepción J de TRA

<400> 98

cgctattacg ccagctggcg aaagggggat gtgctgcaag gcgattaagt tgggtaacgc	60
cagggttttc ccagtcacga cgttgtaaaa cgacggccag tgagcgcgac gtaatacgac	120
tcactatagg gcgaattggc ggaaggccgt caaggccgca tgaattcggc ctcgaagtct	180
tctgcggccg ctgaagacac tatccagtga gaccctcgag ctgggcctca tgggccttcc	240
gctcactgcc cgctttccag tcgggaaacc tgtcgtgcc gctgcattaa catggtcata	300
gctgtttcct tgcgtattgg gcgctctccg ctctctcgct cactgactcg ctgcgctcgg	360
tcgttcgggt aaagcctggg gtgcctaata agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg	420
taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc cccctcgacg agcatcacia	480
aatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcggt	540
tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc ctgccgctta ccggatacct	600
gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct gtaggtatct	660
cagttcggtg taggtcggtc gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc	720
cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtc aaccggtaa gacacgactt	780
atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc	840
tacagagttc ttgaagtggg ggcctaacta cggctacact agaagaacag tatttggtat	900
ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa	960
acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa	1020
aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg tctgacgctc agtggaacga	1080
aaactcacgt taagggattt tggatcatgag attatcaaaa aggatcttca cctagatcct	1140
tttaaatata aatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata tatgagtaaa cttggtctga	1200
cagttagaaa aattcggtcca gcatcagatg aaattgcagt ttgttcatgt ccgggttatc	1260
aataccatat ttctggaaca gacgtttctg caggctcggg cttaaattcac ccagacaatt	1320
ccacagaatt gccagatcct gataacgatc tgcaatacca acacgaccaa catcaatgca	1380
gccaatcagt ttacctcat caaaaatcag gttatccagg ctaaaatcac catgggtaac	1440

aacgctatcc ggactaaacg gcagcagttt atgcatttct ttccaaacct gttcaacagg 1500
ccaaccatta cgttcatcat caaaatcgct tgcatacaacc agaccattat tcatacggct 1560
ctgtgcctgt gccagacgaa aaacacgatc gctattaaac ggacaattac aaaccggaat 1620
gctatgcaga cgacgcagaa aaactgccag tgcatacaaca atattttcgc ctgaatccgg 1680
atattcttcc agaacctgaa atgcgggtttt acccggaatt gcggtggtca gcagccatgc 1740
atcatccggg gtacgaataa aatgtttaat ggtcggcagc ggcataaatt cggtcagcca 1800
attcagacga accatttcat cggtcacatc atttgcaacg ctacctttac catgtttcag 1860
aaacagttcc ggtgcatccg gtttaccata cagacgataa atggttgac cgctctgacc 1920
aacattatca cgtgccatt tatagccata cagatctgca tccatattgc tattcagacg 1980
cggacggcta cagctggtt cacgctgaat atgggtcata ctcttccttt ttcaatatta 2040
ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gagcggatc atatttgaat gtatttagaa 2100
aaataaaca ataggggttc cgcgcacatt tccccgaaa gtgccaccta aattgtaagc 2160
gttaatat tttttaaatt cgcgttaa ttttgttaa tcagctcatt ttttaacaa 2220
taggccgaaa tcggcaaat cccttataa tcaaaagaat agaccgagat aggggtgagt 2280
ggccgctaca gggcgctccc attcgccatt caggtgcgc aactgttggg aagggcggtt 2340
cgggtgcgggc ctctt 2355

<210> 99
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ1*01_BB-S_F1

<400> 99
ctcgtttggc aaaggaacca gagtttccac ttctccca 39

<210> 100
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ2*01_BB-S_F1

<400> 100
ctcgtttggg aaagggaccc atgtattcat tatatctga 39

<210> 101
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ3*01_BB-S_F1

<400> 101

ctcgtttgga tcagggacca gactcagcat ccggccaaa

39

<210> 102

<211> 39

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ4*01_BB-S_F1

<400> 102

ctcgtttgga gcagggacca ggctggctgt acaccata

39

<210> 103

<211> 39

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ5*01_BB-S_F1

<400> 103

ctcgtttggg agtggaaaca gactccaagt gcaaccaa

39

<210> 104

<211> 39

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ6*01_BB-S_F1

<400> 104

ctcgtttgga agaggaacca gccttattgt tcatccgta

39

<210> 105

<211> 39

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ7*01_BB-S_F1

<400> 105

ctcgtttggg aaggggaacc aagtgggtgt cataccaa

39

<210> 106

<211> 39

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ8*01_BB-S_F1

<400> 106

ctcgtttgga actggcacc gacttctggt cagtccaa

39

<210> 107
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ9*01_BB-S_F1

 <400> 107
 ctcgttttggga gcaggaacaa gactatttgt taaagcaaa 39

 <210> 108
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ10*01_BB-S_F1

 <400> 108
 ctcgttttggg acaggcactc agctaaaagt ggaactcaa 39

 <210> 109
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ11*01_BB-S_F1

 <400> 109
 ctcgttttggg aaggggacta tgcttctagt ctctccaga 39

 <210> 110
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ12*01_BB-S_F1

 <400> 110
 ctcgttttggg agtgggacca gactgctggt caggcctga 39

 <210> 111
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ13*01_BB-S_F1

 <400> 111
 ctcgttttggga attggaacaa agctccaagt catcccaaa 39

 <210> 112
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRA J14*01_BB-S_F1

<400> 112
 ctcgtttggg agtgggacaa gattatcagt aaaacctga 39

<210> 113
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ15*01_BB-S_F1

<400> 113
 ctcgtttggg aagggaaccc acctatcagt gagttccaa 39

<210> 114
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ16*01_BB-S_F1

<400> 114
 ctcgtttgca aggggaacca tgttaaaggt ggatcttaa 39

<210> 115
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ17*01_BB-S_F1

<400> 115
 ctcgtttgga ggaggaacca ggggtgctagt taaaccaa 39

<210> 116
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ18*01_BB-S_F1

<400> 116
 ctcgtttgga agaggaactc agttgactgt ctggcctga 39

<210> 117
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ19*01_BB-S_F_1

<400> 117
 ctcgtttgga aagggatcca aacataatgt cactccaaa 39

<210> 118
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ20*01_BB-S_F1

 <400> 118
 ctcgttttggga gccggaacca cagtaactgt aagagcaaa 39

 <210> 119
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ21*01_BB-S_F1

 <400> 119
 ctcgttttggga tctgggacca aactcaatgt aaaaccaaa 39

 <210> 120
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ22*01_BB-S_F1

 <400> 120
 ctcgttttggga tctgggacac aattgactgt tttacctga 39

 <210> 121
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ23*01_BB-S_F1

 <400> 121
 ctcgttttggga cagggaacgg agttatctgt gaaacccaa 39

 <210> 122
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ24*01_BB-S_F1

 <400> 122
 ctcgttttggga gcagggaccc aggttggtggt caccaccaga 39

 <210> 123
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ25*01_BB-S_F1

<400> 123
 ctcgtttggg aaggggacaa ggctgcttgt caagccaaa 39

<210> 124
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ26*01_BB-S_F1

<400> 124
 ctcgtttggg cccggaacca gattgtccgt gctgcccta 39

<210> 125
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ27*01_BB-S_F1

<400> 125
 ctcgtttggg gatgggacta cgctcactgt gaagccaaa 39

<210> 126
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ28*01_BB-S_F1

<400> 126
 ctcgtttggg aaggggacca aactctcggg catacccaaa 39

<210> 127
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ29*01_BB-S_F1

<400> 127
 ctcgtttgga aagggcacia gactttctgt gattgcaaa 39

<210> 128
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ30*01_BB-S_F_1

<400> 128

ctcgttttggg aaagggacac gacttcatat tctccccaa 39

<210> 129
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ31*01_BB-S_F_1

<400> 129
 ctcgttttggg gatggaactc agctggtggt gaagcccaa 39

<210> 130
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ32*01_BB-S_F1

<400> 130
 ctcgttttggg actggcactc tgcttgctgt ccagccaaa 39

<210> 131
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ33*01_BB-S_F_1

<400> 131
 ctcgtggggc gctgggacca agctaattat aaagccaga 39

<210> 132
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ34*01_BB-S_F_1

<400> 132
 ctcgttttggg actgggacca gattacaagt ctttccaa 38

<210> 133
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ36*01_BB-S_F_1

<400> 133
 ctcgttttggg actggaacga gactcacgt tattcccta 39

<210> 134
 <211> 39
 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ37*01_BB-S_F_1

<400> 134
ctcgttttggg caagggacaa ctttacaagt aaaaccaga 39

<210> 135
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ38*01_BB-S_F_1

<400> 135
ctcgtgggga ttgggaacaa gcctggcagt aaatccgaa 39

<210> 136
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ39*01_BB-S_F_1

<400> 136
ctcgttttggg ggaggaacaa ggttaatggt caaacccca 39

<210> 137
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ40*01_BB-S_F1

<400> 137
ctcgttttggg acaggcacca ggctgaaggt tttagcaaa 39

<210> 138
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ41*01_BB-S_F1

<400> 138
ctcgttttggc aaaggcacct cgctgttggt cacacccca 39

<210> 139
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ42*01_BB-S_F1

<400> 139
ctcgttttggga aaaggcacta aactctctgt taaaccaaa 39

<210> 140
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ43*01_BB-S_F1

<400> 140
ctcgttttggga gcagggacca gactgacagt aaaaccaaa 39

<210> 141
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ44*01_BB-S_F1

<400> 141
ctcgttttggg actggaacaa gacttcaggt cacgctcga 39

<210> 142
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ45*01_BB-S_F1

<400> 142
ctcgttttggc aaagggactc atctaatacat ccagcccta 39

<210> 143
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ46*01_BB-S_F1

<400> 143
ctcgttttggg accgggactc gtttagcagt taggcccaa 39

<210> 144
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ47*01_BB-S_F1

<400> 144
ctcgttttggc gcaggaacca ttctgagagt caagtcccta 39

<210> 145
<211> 39

<212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ48*01_BB-S_F1

 <400> 145
 ctcgttttggg actggaacaa gactcaccat catacccaa 39

 <210> 146
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ49*01_BB-S_F1

 <400> 146
 ctcgttttggg acagggaacaa gtttgacggt cattccaaa 39

 <210> 147
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ50*01_BB-S_F1

 <400> 147
 ctcgttttggg ccagggaacaa gcttatcagt cattccaaa 39

 <210> 148
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ52*01_BB-S_F1

 <400> 148
 ctcgttttggg caagggaacca tcttgactgt ccatccaaa 39

 <210> 149
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ53*01_BB-S_F1

 <400> 149
 ctcgttttggg aaaggaactc tcttaaccgt gaatccaaa 39

 <210> 150
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ54*01_BB-S_F1

<400> 150
ctcgttttggc caaggaacca ggctgactat caacccaaa 39

<210> 151
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ56*01_BB-S_F1

<400> 151
ctcgttttggga aaaggaataa ctctgagtgt tagaccaga 39

<210> 152
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ57*01_BB-S_F1

<400> 152
ctcgttttggga aaggggaacga aactgacagt aaacccata 39

<210> 153
<211> 33
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ59*01_BB-S_F1

<400> 153
ctcgttttggga atgggggacgc aagtgagagt gaa 33

<210> 154
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ61*01_BB-S_F1

<400> 154
ctcgttttggga gccaaacta gaggaatcat gaaactcaa 39

<210> 155
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ1*01_BB-S_R1

<400> 155
gatatgggga gaagtggaaa ctctgggttc tttgccaaa 39

<210> 156

<211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ2*01_BB-S_R1

 <400> 156
 gatatcagat ataatgaata catgggtccc tttcccaaa 39

 <210> 157
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ3*01_BB-S_R1

 <400> 157
 gatatttggc cggatgctga gtctgggtccc tgatccaaa 39

 <210> 158
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ4*01_BB-S_R1

 <400> 158
 gatatatggg tgtacagcca gcctgggtccc tgctccaaa 39

 <210> 159
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ5*01_BB-S_R1

 <400> 159
 gatatttggg tgcacttgga gtcttggtcc actcccaaa 39

 <210> 160
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ6*01_BB-S_R1

 <400> 160
 gatatacgga tgaacaataa ggctgggttcc tcttccaaa 39

 <210> 161
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>

<223> TRAJ7*01_BB-S_R1

<400> 161

gatatttggt atgaccacca cttggttccc cttcccaaa

39

<210> 162

<211> 39

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ8*01_BB-S_R1

<400> 162

gatatttgga ctgaccagaa gtcgggtgcc agttccaaa

39

<210> 163

<211> 39

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ9*01_BB-S_R1

<400> 163

gatatttgct ttaacaaata gtcttggtcc tgctccaaa

39

<210> 164

<211> 39

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRA J10*01_BB-S_R1

<400> 164

gatattgagt tccactttta gctgagtgcc tgtcccaaa

39

<210> 165

<211> 39

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ11*01_BB-S_R1

<400> 165

gatatctgga gagactagaa gcatagtccc cttcccaaa

39

<210> 166

<211> 39

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ12*01_BB-S_R1

<400> 166

gatatcaggc ctgaccagca gtctggtccc actcccaaa

39

<210> 167
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ13*01_BB-S_R1

 <400> 167
 gatatttggg atgacttgga gctttgttcc aattccaaa 39

 <210> 168
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ14*01_BB-S_R1

 <400> 168
 gatatcaggt tttactgata atcttgtccc actcccaaa 39

 <210> 169
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRA J15*01_BB-S_R1

 <400> 169
 gatattggaa ctactgata ggtgggttcc cttcccaaa 39

 <210> 170
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ16*01_BB-S_R1

 <400> 170
 gatattaaga tccaccttta acatgggttcc ccttgcaaa 39

 <210> 171
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ17*01_BB-S_R1

 <400> 171
 gatatttggg ttaactagca ccctgggttcc tcctccaaa 39

 <210> 172
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ18*01_BB-S_R1

<400> 172
 gatatcaggc cagacagtca actgagttcc tcttcctaaa 39

<210> 173
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ19*01_BB-S_R1

<400> 173
 gatatttgga gtgacattat gtttggtacc ctttcctaaa 39

<210> 174
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ20*01_BB-S_R1

<400> 174
 gatatttgct cttacagtta ctgtggtacc ggctcctaaa 39

<210> 175
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ21*01_BB-S_R1

<400> 175
 gatatttggt ttacattga gtttggtccc agatcctaaa 39

<210> 176
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ22*01_BB-S_R1

<400> 176
 gatatcaggc aaaacagtca attgtgtccc agatcctaaa 39

<210> 177
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ23*01_BB-S_R1

<400> 177
 gatattgggt ttcacagata actccgttcc ctgtcctaaa 39

<210> 178
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ24*01_BB-S_R1

 <400> 178
 gatatctggg gtgaccacaa cctgggtccc tgctccaaa 39

 <210> 179
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ25*01_BB-S_R1

 <400> 179
 gatatttggc ttgacaagca gccttgtccc cttcccaaa 39

 <210> 180
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ26*01_BB-S_R1

 <400> 180
 gatatagggc agcacggaca atctggttcc gggaccaaa 39

 <210> 181
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ27*01_BB-S_R1

 <400> 181
 gatatttggc ttcacagtga gcgtagtccc atccccaaa 39

 <210> 182
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ28*01_BB-S_R1

 <400> 182
 gatatttggc atgaccgaga gtttgggtccc cttcccaaa 39

 <210> 183
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ29*01_BB-S_R1

<400> 183
 gatatttgca atcacagaaa gtcttgtgcc ctttccaaa 39

<210> 184
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ30*01_BB-S_R1

<400> 184
 gatattgggg agaatatgaa gtcgtgtccc ttttccaaa 39

<210> 185
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ31*01_BB-S_R1

<400> 185
 gatattgggc ttcaccacca gctgagttcc atctccaaa 39

<210> 186
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ32*01_BB-S_R1

<400> 186
 gatatttggc tggacagcaa gcagagtgcc agttccaaa 39

<210> 187
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ33*01_BB-S_R1

<400> 187
 gatatctggc tttataatta gcttggtccc agcgcccca 39

<210> 188
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ34*01_BB-S_R1

<400> 188

gatattttgga aagacttgta atctgggtccc agtccccaaa 39

<210> 189
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ36*01_BB-S_R1

<400> 189
 gatatagggga ataacggtga gtctcggttcc agtccccaaa 39

<210> 190
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ37*01_BB-S_R1

<400> 190
 gatattctggt tttacttgta aagttgtccc ttgccccaaa 39

<210> 191
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ38*01_BB-S_R1

<400> 191
 gatattcgga tttactgccca ggcttggttcc caatccccca 39

<210> 192
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ39*01_BB-S_R1

<400> 192
 gatatgggggt ttgaccatta accttggttcc tcctccaaa 39

<210> 193
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ40*01_BB-S_R1

<400> 193
 gatatttgct aaaaccttca gcctgggtgcc tgttccaaa 39

<210> 194
 <211> 39
 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ41*01_BB-S_R1

<400> 194
gatatggggt gtgaccaaca gcgagggtgcc tttgccaaa 39

<210> 195
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ42*01_BB-S_R1

<400> 195
gatatttggt ttaacagaga gtttagtgcc ttttccaaa 39

<210> 196
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ43*01_BB-S_R1

<400> 196
gatatttggt tttactgtca gtctgggtccc tgetccaaa 39

<210> 197
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ44*01_BB-S_R1

<400> 197
gatatcgagc gtgacctgaa gtcttggtcc agtccccaaa 39

<210> 198
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ45*01_BB-S_R1

<400> 198
gatatagggc tggatgatta gatgagtcctc tttgccaaa 39

<210> 199
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ46*01_BB-S_R1

<400> 199
gatattgggc ctaactgcta aacgagtccc ggtcccaaa 39

<210> 200
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ47*01_BB-S_R1

<400> 200
gatataggac ttgactctca gaatgggtcc tgcgccaaa 39

<210> 201
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ48*01_BB-S_R1

<400> 201
gatattgggt atgatgggtga gtcttggtcc agtcccaaa 39

<210> 202
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ49*01_BB-S_R1

<400> 202
gatatttgga atgaccgtca aacttggtccc tgtcccaaa 39

<210> 203
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ50*01_BB-S_R1

<400> 203
gatatttgga atgactgata agcttggtccc tggcccaaa 39

<210> 204
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ52*01_BB-S_R1

<400> 204
gatatttgga tggacagtca agatgggtccc ttgtccaaa 39

<210> 205
<211> 39

<212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ53*01_BB-S_R1

 <400> 205
 gatatttgga ttcacgggta agagagttcc ttttccaaa 39

 <210> 206
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ54*01_BB-S_R1

 <400> 206
 gatatttggg ttgatagtca gcctgggtcc ttggccaaa 39

 <210> 207
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ56*01_BB-S_R1

 <400> 207
 gatatctggg ctaacactca gagttattcc ttttccaaa 39

 <210> 208
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ57*01_BB-S_R1

 <400> 208
 gatatatggg tttactgtca gtttcggtcc ctttccaaa 39

 <210> 209
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ59*01_BB-S_R1

 <400> 209
 gatattcact ctcaacttgcg tccccattcc aaa 33

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

 <220>
 <223> TRAJ61*01_BB-S_R1

<400> 210
gatattgagt ttcatgattc ctctagtgtt ggctccaaa 39

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

<220>
<223> TRAJ1*01_BB-L_F_1

<400> 211
ctcgattacc tcccagttgc aatttggcaa aggaaccaga gtttccactt ctcccca 57

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

<220>
<223> TRAJ2*01_BB-L_F1

<400> 212
ctcgggaaca attgataaac tcacatttgg gaaagggacc catgtattca ttatatctga 60

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

<220>
<223> TRAJ3*01_BB-L_F1

<400> 213
ctcgagtgtc tccaagataa tctttggatc agggaccaga ctcagcatcc ggccaaa 57

<210> 214
<211> 57
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ4*01_BB-L_F1

<400> 214
ctcgggctac aataagctga tctttggagc agggaccagg ctggctgtac acccata 57

<210> 215
<211> 54
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ5*01_BB-L_F1

<400> 215
ctcgaggaga gcacttactt ttgggagtgg aacaagactc caagtgaac caaa 54

<210> 216

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

 <220>
 <223> TRA J6*01_BB-L_F_1

 <400> 216
 ctcgggaagc tacataccta catttggaag aggaaccagc cttattgttc atccgta 57

 <210> 217
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ7*01_BB-L_F1

 <400> 217
 ctcgaacaac agactcgctt ttgggaaggg gaaccaagtg gtggtcatac caaa 54

 <210> 218
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ8*01_BB-L_F1

 <400> 218
 ctcgtttcag aaacttgtat ttggaactgg caccgcactt ctggtcagtc caaa 54

 <210> 219
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ9*01_BB-L_F1

 <400> 219
 ctcgggcttc aaaactatct ttggagcagg aacaagacta tttgttaaag caaa 54

 <210> 220
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ10*01_BB-L_F1

 <400> 220
 ctcgggagga aacaaactca cctttgggac aggcaactcag ctaaaagtgg aactcaa 57

 <210> 221
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>

<223> TRAJ11*01_BB-L_F1

<400> 221

ctcgtacagc accctcacct ttgggaaggg gactatgctt ctagtctctc caga 54

<210> 222

<211> 54

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ12*01_BB-L_F1

<400> 222

ctcgagttat aaattgatct ttgggagtg gaccagactg ctggtcaggc ctga 54

<210> 223

<211> 57

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ13*01_BB-L_F_1

<400> 223

ctcgggttac cagaaagtta cctttggaat tggaacaaag ctccaagtca tcccaaa 57

<210> 224

<211> 45

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ14*01_BB-L_F1

<400> 224

ctcggttcac tttgggagtg ggacaagatt atcagtaaaa cctga 45

<210> 225

<211> 54

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ15*01_BB-L_F1

<400> 225

ctcgggaact gctctgatct ttgggaaggg aaccaccta tcagtgagtt ccaa 54

<210> 226

<211> 54

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ16*01_BB-L_F1

<400> 226

ctcgggacag aagctgctct ttgcaagggg aaccatgtta aagggtgatc ttaa 54

<210> 227
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRA J17*01_BB-L_F_1

 <400> 227
 ctcggcaggc aacaagctaa cttttggagg aggaaccagg gtgctagtta aaccaaa 57

 <210> 228
 <211> 60
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ18*01_BB-L_F_1

 <400> 228
 ctcgtcaacc ctggggaggc tatactttgg aagaggaact cagttgactg tctggcctga 60

 <210> 229
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ19*01_BB-L_F1

 <400> 229
 ctcgttctac aatttcacct ttggaaaggg atccaaacat aatgtcactc caaa 54

 <210> 230
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ20*01_BB-L_F1

 <400> 230
 ctcgtacaag ctcagctttg gagccggaac cacagtaact gtaagagcaa a 51

 <210> 231
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ21*01_BB-L_F1

 <400> 231
 ctcgaaattt tactttggat ctgggaccaa actcaatgta aaaccaa 48

 <210> 232
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ22*01_BB-L_F_1

<400> 232
 ctcgtctgca aggcaactga cctttggatc tgggacacaa ttgactgttt tacctga 57

<210> 233
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ23*01_BB-L_F_1

<400> 233
 ctcgcagggg ggaagctta tctttggaca gggaacggag ttatctgtga aacccaa 57

<210> 234
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ24*01_BB-L_F1

<400> 234
 ctcgagttgg ggtaaattgc agtttggagc agggacccag gttgtggtca cccaga 57

<210> 235
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ25*01_BB-L_F1

<400> 235
 ctcgggcttc tcctttatct ttgggaaggg gacaaggctg cttgtcaagc caaa 54

<210> 236
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ26*01_BB-L_F1

<400> 236
 ctcgggtcag aattttgtct ttggtcccgg aaccagattg tccgtgctgc ccta 54

<210> 237
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ27*01_BB-L_F_1

<400> 237
 ctcggcaggc aaatcaacct ttggggatgg gactacgctc actgtgaagc caaa 54

<210> 238
 <211> 60
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ28*01_BB-L_F_1

 <400> 238
 ctcggctggg agttaccaac tcacttttgg gaaggggacc aaactctcgg tcataccaaa 60

 <210> 239
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ29*01_BB-L_F1

 <400> 239
 ctcgaacaca cctcttgtct ttggaaaggg cacaagactt tctgtgattg caaa 54

 <210> 240
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ30*01_BB-L_F1

 <400> 240
 ctcggacaag atcatctttg gaaaaggggac acgacttcat attctcccca a 51

 <210> 241
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ31*01_BB-L_F1

 <400> 241
 ctcggccaga ctcatgtttg gagatggaac tcagctggtg gtgaagccca a 51

 <210> 242
 <211> 60
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ32*01_BB-L_F1

 <400> 242
 ctcgggtgct acaaacaagc tcacttttgg aactggcact ctgcttgctg tccagccaaa 60

 <210> 243
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ33*01_BB-L_F_1

<400> 243
 ctcgtatcag ttaatctggg gcgctgggac caagctaatt ataaagccag a 51

<210> 244
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ34*01_BB-L_F_1

<400> 244
 ctcggacaag ctcatctttg ggactgggac cagattacaa gtctttccaa a 51

<210> 245
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ36*01_BB-L_F1

<400> 245
 ctcggcaaac aacctcttct ttgggactgg aacgagactc accgttattc ccta 54

<210> 246
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ37*01_BB-L_F1

<400> 246
 ctcgaacaca ggcaaactaa tctttgggca agggacaact ttacaagtaa aaccaga 57

<210> 247
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ38*01_BB-L_F1

<400> 247
 ctcgaacaac cgtaagctga tttggggatt gggaacaagc ctggcagtaa atccgaa 57

<210> 248
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ39*01_BB-L_F_1

<400> 248

ctcggcaggc aacatgctca cctttggagg aggaacaagg ttaatggtca aacccca 57

<210> 249
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ40*01_BB-L_F1

<400> 249
 ctcgacctac aaatacatct ttggaacagg caccaggctg aaggttttag caaa 54

<210> 250
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ41*01_BB-L_F1

<400> 250
 ctcgtccggg tatgcactca actttggcaa aggcacctcg ctgttggtca cacccca 57

<210> 251
 <211> 60
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ42*01_BB-L_F1

<400> 251
 ctcgggaagc caaggaaatc tcattcttgg aaaaggcact aaactctctg ttaaaccaaa 60

<210> 252
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ43*01_BB-L_F1

<400> 252
 ctcggacatg cgctttggag cagggaccag actgacagta aaaccaaa 48

<210> 253
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ44*01_BB-L_F1

<400> 253
 ctcgactgcc agtaaactca cctttggggac tggaacaaga cttcaggtca cgctcga 57

<210> 254
 <211> 60
 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ45*01_BB-L_F1

<400> 254
ctcgggaggt gctgacggac tcacctttgg caaagggact catctaata tccagcccta 60

<210> 255
<211> 57
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ46*01_BB-L_F1

<400> 255
ctcgagcgga gacaagctga cttttgggac cgggactcgt ttagcagtta ggcccaa 57

<210> 256
<211> 51
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ47*01_BB-L_F1

<400> 256
ctcgaacaaa ctggtctttg gcgcaggaac cattctgaga gtcaagtcct a 51

<210> 257
<211> 57
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ48*01_BB-L_F1

<400> 257
ctcgggaaat gagaaattaa cttttgggac tggaacaaga ctcaccatca tacccaa 57

<210> 258
<211> 51
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ49*01_BB-L_F_1

<400> 258
ctcgaaccag ttctattttg ggacagggac aagtttgacg gtcattccaa a 51

<210> 259
<211> 54
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ50*01_BB-L_F1

<400> 259
ctcgtacgac aaggtgatat ttgggccagg gacaagctta tcagtcattc caaa 54

<210> 260
<211> 63
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ52*01_BB-L_F1

<400> 260
ctcgggtact agctatggaa agctgacatt tggacaaggg accatcttga ctgtccatcc 60

aaa 63

<210> 261
<211> 60
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ53*01_BB-L_F1

<400> 261
ctcgggtagc aactataaac tgacatttgg aaaaggaact ctcttaaccg tgaatccaaa 60

<210> 262
<211> 54
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ54*01_BB-L_F1

<400> 262
ctcggcccag aagctggtat ttggccaagg aaccaggctg actatcaacc caaa 54

<210> 263
<211> 57
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ56*01_BB-L_F_1

<400> 263
ctcggccaat agtaagctga catttggaaa aggaataact ctgagtgtta gaccaga 57

<210> 264
<211> 57
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ57*01_BB-L_F1

<400> 264
ctcgggatct gaaaagctgg tctttggaaa gggaacgaaa ctgacagtaa acccata 57

<210> 265
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ59*01_BB-L_F1

 <400> 265
 ctcgaacagg aaatttacat ttggaatggg gacgcaagtg agagtgaa 48

 <210> 266
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ61*01_BB-L_F1

 <400> 266
 ctcgaatagg aaactgacat ttggagccaa cactagagga atcatgaaac tcaa 54

 <210> 267
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ1*01_BB-L_R1

 <400> 267
 gatatgggga gaagtggaaa ctctggttcc tttgccaaat tgcaactggg aggtaat 57

 <210> 268
 <211> 60
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ2*01_BB-L_R1

 <400> 268
 gatatcagat ataatgaata catgggtccc tttcccaaatt gtgagtttat caattgttcc 60

 <210> 269
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ3*01_BB-L_R1

 <400> 269
 gatatttggc cggatgctga gtctggtccc tgatccaaag attatcttgg aagcact 57

 <210> 270
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ4*01_BB-L_R1

<400> 270
 gatatatggg tgtacagcca gcctgggtccc tgctccaaaa atcagcttat tgtagcc 57

<210> 271
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ5*01_BB-L_R1

<400> 271
 gatatttggt tgcacttgga gtcttggtcc actcccaaaa gtaagtgtc tcct 54

<210> 272
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ6*01_BB-L_R1

<400> 272
 gatatacgga tgaacaataa ggctgggttcc tcttccaaat gtaggtatgt agcttcc 57

<210> 273
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ7*01_BB-L_R1

<400> 273
 gatatttggt atgaccacca ctggtgtccc cttcccaaaa gcgagtctgt tggt 54

<210> 274
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ8*01_BB-L_R1

<400> 274
 gatatttgga ctgaccagaa gtcgggtgcc agttccaaat acaagtttct gaaa 54

<210> 275
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ9*01_BB-L_R1

<400> 275
 gatatttgct ttaacaaata gtcttggtcc tgctccaaag atagttttga agcc 54

<210> 276
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ10*01_BB-L_R1

 <400> 276
 gatattgagt tccactttta gctgagtgcc tgtcccaaag gtgagtttgt ttcctcc 57

 <210> 277
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ11*01_BB-L_R1

 <400> 277
 gatattctgga gagactagaa gcatagtccc cttcccaaag gtgaggggtgc tgta 54

 <210> 278
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ12*01_BB-L_R1

 <400> 278
 gatatcaggc ctgaccagca gtctgggtccc actcccaaag atcaatttat aact 54

 <210> 279
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ13*01_BB-L_R1

 <400> 279
 gatatttgagg atgacttgga gctttgttcc aattccaaag gtaactttct ggtaacc 57

 <210> 280
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ14*01_BB-L_R1

 <400> 280
 gatatcagggt tttactgata atcttgtccc actcccaaag atgaa 45

 <210> 281
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ15*01_BB-L_R1

<400> 281
 gatattggaa ctactgata ggtgggttcc cttcccaaag atcagagcag ttcc 54

<210> 282
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ16*01_BB-L_R1

<400> 282
 gatattaaga tccaccttta acatgggttcc ccttgcaaag agcagcttct gtcc 54

<210> 283
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ17*01_BB-L_R1

<400> 283
 gatatttggg ttaactagca ccctgggttcc tcttccaaaa gttagcttgt tgcctgc 57

<210> 284
 <211> 60
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ18*01_BB-L_R1

<400> 284
 gatatcaggc cagacagtca actgagttcc tcttccaaag tatagcctcc ccagggttga 60

<210> 285
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ19*01_BB-L_R1

<400> 285
 gatatttgga gtgacattat gtttggatcc ctttccaaag gtgaaattgt agaa 54

<210> 286
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ20*01_BB-L_R1

<400> 286

gatatttgct cttacagtta ctgtggttcc ggctccaaag ctgagcttgt a 51

<210> 287
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ21*01_BB-L_R1

<400> 287
 gatatttggt tttacattga gtttggtccc agatccaaag taaaattt 48

<210> 288
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ22*01_BB-L_R1

<400> 288
 gatatcaggt aaaacagtca atttgtgtccc agatccaaag gtcagttgcc ttgcaga 57

<210> 289
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ23*01_BB-L_R1

<400> 289
 gatattgggt ttcacagata actccgttcc ctgtccaaag ataagctttc ctccctg 57

<210> 290
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ24*01_BB-L_R1

<400> 290
 gatatctggg gtgaccacaa cctgggtccc tgctccaaac tgcaatttac cccaact 57

<210> 291
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ25*01_BB-L_R1

<400> 291
 gatatttggc ttgacaagca gccttggtccc cttcccaaag ataaaggaga agcc 54

<210> 292
 <211> 54
 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ26*01_BB-L_R1

<400> 292
gatatagggc agcacggaca atctggttcc gggaccaaag acaaaattct gacc 54

<210> 293
<211> 54
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ27*01_BB-L_R1

<400> 293
gatatttggc ttcacagtga gcgtagtccc atccccaaag gttgatttgc ctgc 54

<210> 294
<211> 60
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ28*01_BB-L_R1

<400> 294
gatatttggg atgaccgaga gtttgggtccc cttcccaaaa gtgagttggt aactcccagc 60

<210> 295
<211> 54
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ29*01_BB-L_R1

<400> 295
gatatttgca atcacagaaa gtcttgtgcc ctttccaaag acaagaggtg tggt 54

<210> 296
<211> 51
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ30*01_BB-L_R1

<400> 296
gatattgggg agaatatgaa gtcgtgtccc ttttccaaag atgatcttgt c 51

<210> 297
<211> 51
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRAJ31*01_BB-L_R1

<400> 297
gatattgggc ttcaccacca gctgagttcc atctccaaac atgagttctgg c 51

<210> 298
<211> 60
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ32*01_BB-L_R1

<400> 298
gatatttggc tggacagcaa gcagagtgcc agttccaaag atgagcttgt ttgtagcacc 60

<210> 299
<211> 51
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ33*01_BB-L_R1

<400> 299
gatattctggc tttataatta gcttggtccc agcgccccag attaactgat a 51

<210> 300
<211> 51
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ34*01_BB-L_R1

<400> 300
gatatttggga aagacttgta atctggtccc agtcccaaag atgagcttgt c 51

<210> 301
<211> 54
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ36*01_BB-L_R1

<400> 301
gatatagggga ataacggtga gtctcggtcc agtcccaaag aagaggttgt ttgc 54

<210> 302
<211> 57
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ37*01_BB-L_R1

<400> 302
gatattctggg tttacttgta aagttgtccc ttgccccaaag attagtttgc ctgtggt 57

<210> 303
<211> 57

<212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ38*01_BB-L_R1

 <400> 303
 gatattcgga tttactgcca ggcttggtcc caatcccaa atcagcttac ggttggt 57

 <210> 304
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ39*01_BB-L_R1

 <400> 304
 gatatggggt ttgaccatta accttggtcc tcctccaaag gtgagcatgt tgcctgc 57

 <210> 305
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ40*01_BB-L_R1

 <400> 305
 gatatttgct aaaaccttca gcctgggtgcc tgttccaaag atgtatttgt aggt 54

 <210> 306
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ41*01_BB-L_R1

 <400> 306
 gatatggggt gtgaccaaca gcgaggtgcc tttgccaaag ttgagtgcac acccgga 57

 <210> 307
 <211> 60
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ42*01_BB-L_R1

 <400> 307
 gatatttggt ttaacagaga gtttagtgcc ttttccaaag atgagatttc cttggcttcc 60

 <210> 308
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ43*01_BB-L_R1

<400> 308
gatatttggt tttactgtca gtctgggtccc tgcgccaaag cgcattgtc 48

<210> 309
<211> 57
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ44*01_BB-L_R1

<400> 309
gatatcgagc gtgacctgaa gtcttggtcc agtcccaaag gtgagtttac tggcagt 57

<210> 310
<211> 60
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ45*01_BB-L_R1

<400> 310
gatatagggc tggatgatta gatgagtcctc ttggccaaag gtgagtcctgt cagcacctcc 60

<210> 311
<211> 57
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ46*01_BB-L_R1

<400> 311
gatattgggc ctaactgcta aacgagtcctc ggtcccaaaa gtcagcttgt ctccgct 57

<210> 312
<211> 51
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ47*01_BB-L_R1

<400> 312
gatataggac ttgactctca gaatgggtcc tgcgccaaag accagtttgt t 51

<210> 313
<211> 57
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRAJ48*01_BB-L_R1

<400> 313
gatattgggt atgatgggtga gtcttggtcc agtcccaaag gtttaatttct catttcc 57

<210> 314

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

 <220>
 <223> TRAJ49*01_BB-L_R1

 <400> 314
 gatatttgga atgaccgtca aacttggtccc tgtcccaaaa tagaactggt t 51

 <210> 315
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ50*01_BB-L_R1

 <400> 315
 gatatttgga atgactgata agcttggtccc tggcccaaat atcaccttgt cgta 54

 <210> 316
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ52*01_BB-L_R1

 <400> 316
 gatatttgga tggacagtca agatgggtccc ttgtccaaat gtcagctttc catagctagt 60

 acc 63

 <210> 317
 <211> 60
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ53*01_BB-L_R1

 <400> 317
 gatatttgga ttcacggtta agagagttcc ttttccaaat gtcagtttat agttgctacc 60

 <210> 318
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRAJ54*01_BB-L_R1

 <400> 318
 gatatttggg ttgatagtca gcctgggtcc ttggcccaaat accagcttct g 51

 <210> 319
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ56*01_BB-L_R1

<400> 319
 gatatctggg ctaacactca gagttattcc ttttccaaat gtcagcttac tattggc 57

<210> 320
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ57*01_BB-L_R1

<400> 320
 gatatatggg tttactgtca gtttcggtcc ctttccaaag accagctttt cagatcc 57

<210> 321
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ59*01_BB-L_R1

<400> 321
 gatattcact ctcaacttgcg tccccattcc aaatgtaaatt ttcctggt 48

<210> 322
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRAJ61*01_BB-L_R1

<400> 322
 gatattgagt ttcattgattc ctctagtgtt gggtccaaat gtcagtttcc tatt 54

<210> 323
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ1

<400> 323
 ggtctcgttt ggcaaaggaa ccagagtttc cacttctccc catatccagt gagacc 56

<210> 324
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ2

<400> 324

ggtctcgttt gggaaaggga cccatgtatt cattatatct gatatccagt gagacc 56

<210> 325
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ3

<400> 325
 ggtctcgttt ggatcaggga ccagactcag catccggcca aatatccagt gagacc 56

<210> 326
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ4

<400> 326
 ggtctcgttt ggagcaggga ccaggctggc tgtacacca tatatccagt gagacc 56

<210> 327
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ5

<400> 327
 ggtctcgttt gggagtggaa caagactcca agtgcaacca aatatccagt gagacc 56

<210> 328
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ6

<400> 328
 ggtctcgttt ggaagaggaa ccagccttat tgttcatccg tatatccagt gagacc 56

<210> 329
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ7

<400> 329
 ggtctcgttt gggaagggga accaagtggg ggtcatacca aatatccagt gagacc 56

<210> 330
 <211> 56
 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Short_TRAJ8

<400> 330
 ggtctcggtt ggaactggca cccgacttct ggtcagtcca aatatccagt gagacc 56

<210> 331
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Short_TRAJ9

<400> 331
 ggtctcggtt ggagcaggaa caagactatt tggttaaagca aatatccagt gagacc 56

<210> 332
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Short_TRAJ10

<400> 332
 ggtctcggtt gggacaggca ctacagctaaa agtgggaactc aatatccagt gagacc 56

<210> 333
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Short_TRAJ11

<400> 333
 ggtctcggtt gggaagggga ctatgcttct agtctctcca gatatccagt gagacc 56

<210> 334
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Short_TRAJ12

<400> 334
 ggtctcggtt gggagtggga ccagactgct ggtcaggcct gatatccagt gagacc 56

<210> 335
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Short_TRAJ13

<400> 335
 ggtctcgttt ggaattggaa caaagctcca agtcatccca aatatccagt gagacc 56

<210> 336
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ14

<400> 336
 ggtctcgttt gggagtggga caagattatc agtaaacct gatatccagt gagacc 56

<210> 337
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ15

<400> 337
 ggtctcgttt gggaaggga cccacctatc agtgagttcc aatatccagt gagacc 56

<210> 338
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ16

<400> 338
 ggtctcgttt gcaaggggaa ccatgttaaa ggtggatctt aatatccagt gagacc 56

<210> 339
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ17

<400> 339
 ggtctcgttt ggaggaggaa ccaggggtgct agttaaacca aatatccagt gagacc 56

<210> 340
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ18

<400> 340
 ggtctcgttt ggaagaggaa ctcatgtgac tgtctggcct gatatccagt gagacc 56

<210> 341
 <211> 56

<212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ19

 <400> 341
 ggtctcggtt ggaaagggat ccaaacataa tgtcactcca aatatccagt gagacc 56

 <210> 342
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ20

 <400> 342
 ggtctcggtt ggagccggaa ccacagtaac tgtaagagca aatatccagt gagacc 56

 <210> 343
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ21

 <400> 343
 ggtctcggtt ggatctggga ccaaactcaa tgtaaaacca aatatccagt gagacc 56

 <210> 344
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ22

 <400> 344
 ggtctcggtt ggatctggga cacaattgac tggtttacct gatatccagt gagacc 56

 <210> 345
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ23

 <400> 345
 ggtctcggtt ggacagggaa cggagttatc tgtgaaaccc aatatccagt gagacc 56

 <210> 346
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ24

<400> 346
 ggtctcgttt ggagcagggg cccaggttgt ggtcacccca gatatccagt gagacc 56

<210> 347
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ25

<400> 347
 ggtctcgttt gggaagggga caaggctgct tgtcaagcca aatatccagt gagacc 56

<210> 348
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ26

<400> 348
 ggtctcgttt ggtcccggaa ccagattgtc cgtgctgccc tatatccagt gagacc 56

<210> 349
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ27

<400> 349
 ggtctcgttt ggggatggga ctacgtcac tgtgaagcca aatatccagt gagacc 56

<210> 350
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ28

<400> 350
 ggtctcgttt gggaagggga ccaaactctc ggtcatacca aatatccagt gagacc 56

<210> 351
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ29

<400> 351
 ggtctcgttt ggaaagggca caagactttc tgtgattgca aatatccagt gagacc 56

<210> 352

<211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ30

 <400> 352
 ggtctcggtt ggaaaaggga cacgacttca tttctcccc aatatccagt gagacc 56

 <210> 353
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ31

 <400> 353
 ggtctcggtt ggagatggaa ctgagctggt ggtgaagccc aatatccagt gagacc 56

 <210> 354
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ32

 <400> 354
 ggtctcggtt ggaactggca ctctgcttgc tgtccagcca aatatccagt gagacc 56

 <210> 355
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ33

 <400> 355
 ggtctcggtt ggcgctggga ccaagctaata tataaagcca gatataccagt gagacc 56

 <210> 356
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ34

 <400> 356
 ggtctcggtt gggactggga ccagattaca agtctttcca aatatccagt gagacc 56

 <210> 357
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>

<223> J Donor_Short_TRAJ36

<400> 357

ggtctcgttt gggactggaa cgagactcac cgttattccc tatatccagt gagacc 56

<210> 358

<211> 56

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Short_TRAJ37

<400> 358

ggtctcgttt gggcaaggga caactttaca agtaaaacca gatatccagt gagacc 56

<210> 359

<211> 56

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Short_TRAJ38

<400> 359

ggtctcgtgg ggattgggaa caagcctggc agtaaaccg aatatccagt gagacc 56

<210> 360

<211> 56

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Short_TRAJ39

<400> 360

ggtctcgttt ggaggaggaa caagggttaat ggtcaaacc catatccagt gagacc 56

<210> 361

<211> 56

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Short_TRAJ40

<400> 361

ggtctcgttt ggaacaggca ccaggctgaa ggttttagca aatatccagt gagacc 56

<210> 362

<211> 56

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Short_TRAJ41

<400> 362

ggtctcgttt ggcaaaggca cctcgtgtt ggtcacacc catatccagt gagacc 56

<210> 363
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ42

 <400> 363
 ggtctcggtt ggaaaaggca ctaaactctc tgttaaacca aatatccagt gagacc 56

 <210> 364
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ43

 <400> 364
 ggtctcggtt ggagcaggga ccagactgac agtaaaacca aatatccagt gagacc 56

 <210> 365
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ44

 <400> 365
 ggtctcggtt gggactggaa caagacttca ggtcacgctc gatatccagt gagacc 56

 <210> 366
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ45

 <400> 366
 ggtctcggtt ggcaaaggga ctcatctaata catccagccc tatatccagt gagacc 56

 <210> 367
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ46

 <400> 367
 ggtctcggtt gggaccggga ctcgtttagc agttaggccc aatatccagt gagacc 56

 <210> 368
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ47

<400> 368
 ggtctcgttt ggcgcaggaa ccattctgag agtcaagtcc tatatccagt gagacc 56

<210> 369
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ48

<400> 369
 ggtctcgttt gggactggaa caagactcac catcataccc aatatccagt gagacc 56

<210> 370
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ49

<400> 370
 ggtctcgttt gggacaggga caagtttgac ggtcattcca aatatccagt gagacc 56

<210> 371
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ50

<400> 371
 ggtctcgttt gggccaggga caagcttatc agtcattcca aatatccagt gagacc 56

<210> 372
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ52

<400> 372
 ggtctcgttt ggacaaggga ccatcttgac tgtccatcca aatatccagt gagacc 56

<210> 373
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ53

<400> 373
 ggtctcgttt ggaaaaggaa ctctcttaac cgtgaatcca aatatccagt gagacc 56

<210> 374
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ54

 <400> 374
 ggtctcggtt ggccaaggaa ccaggctgac tatcaacca aatatccagt gagacc 56

 <210> 375
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ56

 <400> 375
 ggtctcggtt ggaaaaggaa taactctgag tgtagacca gatataccagt gagacc 56

 <210> 376
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ57

 <400> 376
 ggtctcggtt ggaaaggga cgaaactgac agtaaacca tatataccagt gagacc 56

 <210> 377
 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ59

 <400> 377
 ggtctcggtt ggaatgggga cgcaagtgag agtgaatata cagtgagacc 50

 <210> 378
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_TRAJ61

 <400> 378
 ggtctcggtt ggagccaaca ctagaggaat catgaaactc aatatccagt gagacc 56

 <210> 379
 <211> 74
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ1

<400> 379
 ggtctcgatt acctcccagt tgcaatttgg caaaggaacc agagtttcca cttctcccca 60
 tatccagtga gacc 74

<210> 380
 <211> 77
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ2

<400> 380
 ggtctcggga acaattgata aactcacatt tgggaaaggg acccatgtat tcattatatc 60
 tgatatccag tgagacc 77

<210> 381
 <211> 74
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ3

<400> 381
 ggtctcgagt gtttccaaga taatctttgg atcagggacc agactcagca tccggccaaa 60
 tatccagtga gacc 74

<210> 382
 <211> 74
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ4

<400> 382
 ggtctcgggc tacaataagc tgatctttgg agcagggacc aggctggctg tacacccata 60
 tatccagtga gacc 74

<210> 383
 <211> 71
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ5

<400> 383
 ggtctcgagg agagcactta cttttgggag tggaacaaga ctccaagtgc aaccaaatat 60
 ccagtgagac c 71

<210> 384
 <211> 74
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ6

 <400> 384
 ggtctcggga agctacatac ctacatttgg aagaggaacc agccttattg ttcattccgta 60
 tatccagtga gacc 74

 <210> 385
 <211> 71
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ7

 <400> 385
 ggtctcgaac aacagactcg cttttgggaa ggggaaccaa gtggtggtca taccaaatat 60
 ccagtgagac c 71

 <210> 386
 <211> 71
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ8

 <400> 386
 ggtctcggtt cagaaacttg tatttgggaa tggcaccoga cttctggtca gtccaaatat 60
 ccagtgagac c 71

 <210> 387
 <211> 71
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ9

 <400> 387
 ggtctcgggc ttcaaaacta tctttgggagc aggaacaaga ctatttggtta aagcaaatat 60
 ccagtgagac c 71

 <210> 388
 <211> 74
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ10

<400> 388
 ggtctcggga ggaaacaaac tcacctttgg gacaggcact cagctaaaag tggaactcaa 60
 tatccagtga gacc 74

<210> 389
 <211> 71
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ11

<400> 389
 ggtctcgtac agcaccctca cctttgggaa ggggactatg cttctagtct ctccagatat 60
 ccagtgagac c 71

<210> 390
 <211> 71
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ12

<400> 390
 ggtctcgagt tataaattga tctttgggag tgggaccaga ctgctgggtca ggcctgatat 60
 ccagtgagac c 71

<210> 391
 <211> 74
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ13

<400> 391
 ggtctcgggt taccagaaag ttacctttgg aattggaaca aagctccaag tcatcccaaa 60
 tatccagtga gacc 74

<210> 392
 <211> 62
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ14

<400> 392
 ggtctcggtc atctttggga gtgggacaag attatcagta aaacctgata tccagtgaga 60
 cc 62

<210> 393
 <211> 71

<212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ15

 <400> 393
 ggtctcggga actgctctga tctttgggaa gggaaccac ctatcagtga gttccaatat 60
 ccagtgagac c 71

 <210> 394
 <211> 71
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ16

 <400> 394
 ggtctcggga cagaagctgc tctttgcaag gggaaccatg ttaaagggtg atcttaatat 60
 ccagtgagac c 71

 <210> 395
 <211> 74
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ17

 <400> 395
 ggtctcggca ggcaacaagc taacttttgg aggaggaacc aggggtgctag ttaaaccaaa 60
 tatccagtga gacc 74

 <210> 396
 <211> 77
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ18

 <400> 396
 ggtctcgtca accctgggga ggctatactt tggaagagga actcagttga ctgtctggcc 60
 tgatatccag tgagacc 77

 <210> 397
 <211> 71
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ19

 <400> 397
 ggtctcggtc tacaatttca cctttggaaa gggatccaaa cataatgtca ctccaaatat 60

ccagtgagac c 71

<210> 398
 <211> 68
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ20

<400> 398
 ggtctcgtac aagctcagct ttggagccgg aaccacagta actgtaagag caaatatcca 60

gtgagacc 68

<210> 399
 <211> 65
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ21

<400> 399
 ggtctcgaaa ttttactttg gatctgggac caaactcaat gtaaaaccaa atatccagtg 60

agacc 65

<210> 400
 <211> 74
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ22

<400> 400
 ggtctcgtct gcaaggcaac tgacctttgg atctgggaca caattgactg ttttacctga 60

tatccagtga gacc 74

<210> 401
 <211> 74
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ23

<400> 401
 ggtctcgcag ggaggaaagc ttatctttgg acagggaacg gagttatctg tgaaacccaa 60

tatccagtga gacc 74

<210> 402
 <211> 74
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ24

<400> 402
 ggtctcgagt tggggtaaata tgcagtttgg agcagggacc caggttgtgg tcaccccaga 60
 tatccagtga gacc 74

<210> 403
 <211> 71
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ25

<400> 403
 ggtctcgggc ttctccttta tctttgggaa ggggacaagg ctgcttgtca agccaaatat 60
 ccagtgagac c 71

<210> 404
 <211> 71
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ26

<400> 404
 ggtctcgggt cagaattttg tctttgggtcc cggaaccaga ttgtccgtgc tgccctatat 60
 ccagtgagac c 71

<210> 405
 <211> 71
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ27

<400> 405
 ggtctcggca ggcaaatcaa cctttgggga tgggactacg ctcaactgtga agccaaatat 60
 ccagtgagac c 71

<210> 406
 <211> 77
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ28

<400> 406
 ggtctcggct gggagttacc aactcacttt tgggaagggg accaaactct cggtcatacc 60
 aaatatccag tgagacc 77

<210> 407
 <211> 71
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ29

 <400> 407
 ggtctcgaac acacctcttg tctttggaaa gggcacaaga ctttctgtga ttgcaaata 60
 ccagtgaagac c 71

 <210> 408
 <211> 68
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ30

 <400> 408
 ggtctcggac aagatcatct ttggaaaagg gacacgactt catattctcc ccaatatcca 60
 gtgagacc 68

 <210> 409
 <211> 68
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ31

 <400> 409
 ggtctcggcc agactcatgt ttggagatgg aactcagctg gtggtgaagc ccaatatcca 60
 gtgagacc 68

 <210> 410
 <211> 77
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ32

 <400> 410
 ggtctcgggt gctacaaaca agctcatctt tggaactggc actctgcttg ctgtccagcc 60
 aaatatccag tgagacc 77

 <210> 411
 <211> 68
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ33

<400> 411
 ggtctcgtat cagttaatct ggggcgctgg gaccaagcta attataaagc cagatatcca 60
 gtgagacc 68

<210> 412
 <211> 68
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ34

<400> 412
 ggtctcggac aagctcatct ttgggactgg gaccagatta caagtctttc caaatatcca 60
 gtgagacc 68

<210> 413
 <211> 71
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ36

<400> 413
 ggtctcggca aacaacctct tctttgggac tggaacgaga ctcaccgta ttccctatat 60
 ccagtgagac c 71

<210> 414
 <211> 74
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ37

<400> 414
 ggtctcgaac acaggcaaac taatctttgg gcaagggaca actttacaag taaaaccaga 60
 tatccagtga gacc 74

<210> 415
 <211> 74
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ38

<400> 415
 ggtctcgaac aaccgtaagc tgatttgggg attgggaaca agcctggcag taaatccgaa 60
 tatccagtga gacc 74

<210> 416
 <211> 74
 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Long_TRAJ39

<400> 416
 ggtctcggca ggcaacatgc tcacctttgg aggaggaaca aggttaatgg tcaaacccca 60
 tatccagtga gacc 74

<210> 417
 <211> 71
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Long_TRAJ40

<400> 417
 ggtctcgacc tacaaatata tctttggaac aggcaccagg ctgaagggtt tagcaaatat 60
 ccagtgagac c 71

<210> 418
 <211> 74
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Long_TRAJ41

<400> 418
 ggtctcgtcc gggatatgcac tcaactttgg caaaggcacc tcgctggttg tcacacccca 60
 tatccagtga gacc 74

<210> 419
 <211> 77
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Long_TRAJ42

<400> 419
 ggtctcggga agccaaggaa atctcatctt tggaaaaggc actaaactct ctgttaaacc 60
 aaatatccag tgagacc 77

<210> 420
 <211> 65
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Long_TRAJ43

<400> 420
 ggtctcggac atgcgctttg gagcagggac cagactgaca gtaaaaccaa atatccagtg 60

agacc	65
<210> 421	
<211> 74	
<212> ADN	
<213> Homo sapiens	
<220>	
<223> J Donor_Long_TRAJ44	
<400> 421	
ggtctcgact gccagtaaac tcacctttgg gactggaaca agacttcagg tcacgctcga	60
tatccagtga gacc	74
<210> 422	
<211> 77	
<212> ADN	
<213> Homo sapiens	
<220>	
<223> J Donor_Long_TRAJ45	
<400> 422	
ggtctcggga ggtgctgacg gactcacctt tggcaaaggg actcatctaa tcatccagcc	60
ctatatccag tgagacc	77
<210> 423	
<211> 74	
<212> ADN	
<213> Homo sapiens	
<220>	
<223> J Donor_Long_TRAJ46	
<400> 423	
ggtctcgagc ggagacaagc tgacttttgg gaccgggact cgttttagcag ttaggcccaa	60
tatccagtga gacc	74
<210> 424	
<211> 68	
<212> ADN	
<213> Homo sapiens	
<220>	
<223> J Donor_Long_TRAJ47	
<400> 424	
ggtctcgaac aaactggtct ttggcgcagg aaccattctg agagtcaagt cctatatcca	60
gtgagacc	68
<210> 425	
<211> 74	
<212> ADN	
<213> Homo sapiens	
<220>	

<223> J Donor_Long_TRAJ48

<400> 425

ggtctcggga aatgagaaat taacctttgg gactggaaca agactcacca tcatacccaa 60

tatccagtga gacc 74

<210> 426

<211> 68

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Long_TRAJ49

<400> 426

ggtctcgaac cagttctatt ttgggacagg gacaagtttg acggtcattc caaatatcca 60

gtgagacc 68

<210> 427

<211> 71

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Long_TRAJ50

<400> 427

ggtctcgtac gacaaggtga tatttggggc agggacaagc ttatcagtca ttccaaatat 60

ccagtgagac c 71

<210> 428

<211> 80

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Long_TRAJ52

<400> 428

ggtctcgggt actagctatg gaaagctgac atttggacaa gggaccatct tgactgtcca 60

tcctaatatc cagtgagacc 80

<210> 429

<211> 77

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Long_TRAJ53

<400> 429

ggtctcgggt agcaactata aactgacatt tggaaaagga actctcttaa ccgtgaatcc 60

aaatatccag tgagacc 77

<210> 430

<211> 71
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ54

 <400> 430
 ggtctcggcc cagaagctgg tatttggcca aggaaccagg ctgactatca acccaaatat 60
 ccagtgagac c 71

 <210> 431
 <211> 74
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ56

 <400> 431
 ggtctcggcc aatagtaagc tgacatttgg aaaaggaata actctgagtg ttagaccaga 60
 tatccagtga gacc 74

 <210> 432
 <211> 74
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ57

 <400> 432
 ggtctcggga tctgaaaagc tggcttttgg aaagggaacg aaactgacag taaaccata 60
 tatccagtga gacc 74

 <210> 433
 <211> 65
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ59

 <400> 433
 ggtctcgaac aggaaattta catttgggaat ggggacgcaa gtgagagtga atatccagtg 60
 agacc 65

 <210> 434
 <211> 71
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_TRAJ61

 <400> 434

ggctctgaat aggaaactga catttggagc caacactaga ggaatcatga aactcaatat 60
ccagtgaagac c 71

<210> 435
<211> 414
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRBV2_BB_1

<400> 435
gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccaccat ggatacctgg ctctgtatgct 60
gggcaatttt tagtctcttg aaagcaggac tcacagaacc tgaagtcacc cagactccca 120
gccatcaggt cacacagatg ggacaggaag tgatcttgcg ctgtgtcccc atctctaatac 180
acttatactt ctattggtac agacaaatct tggggcagaa agtcgagttt ctggtttcct 240
tttataataa tgaaatctca gagaagtctg aaatatctga tgatcaattc tcagttgaaa 300
ggcctgatgg atcaaatttc actctgaaga tccgggtccac aaagctggag gactcagcca 360
tgtacttttg cagagacctt gcggccgtgt cttccgacgc tgacagtgtgata gata 414

<210> 436
<211> 411
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRBV3-1_BB_1

<400> 436
gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccaccat gggctgcagg ctctctgtgct 60
gtgtggtctt ttgcctcttc caagcaggtc ccttggacac agctgtttcc cagactccaa 120
aatacctggt cacacagatg ggaaacgaca agtccattaa atgtgaacaa aatctgggcc 180
atgatactat gtattggtat aaacaggact ctaagaaatt tctgaagata atgttttagct 240
acaataataa ggagctcatt ataaatgaaa cagttccaaa tcgcttctca cctaaatctc 300
cagacaaagc tcaacttaaat cttcacatca attccctgga gcttggtgac tctgctgtgt 360
atttttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a 411

<210> 437
<211> 411
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRBV4-1_BB_1

<400> 437
gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccaccat gggctgcagg ctgctctgct 60

gtgcggttct ctgtctcctg ggagcagttc ccatagacac tgaagttacc cagacaccaa	120
aacacctggg catgggaatg acaaataaga agtctttgaa atgtgaacaa catatggggc	180
acagggctat gtattggtac aagcagaaag ctaagaagcc accggagctc atgtttgtct	240
acagctatga gaaactctct ataaatgaaa gtgtgccaag tcgcttctca cctgaatgcc	300
ccaacagctc tctcttaaac cttcacctac acgccctgca gccagaagat tcagccctgt	360
atctttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a	411

<210> 438

<211> 411

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV4-2_BB_1

<400> 438

gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccacccat gggctgcagg ctgctctgct	60
gtgcggttct ctgtctcctg ggagcggtcc ccatggaaac gggagttacg cagacaccaa	120
gacacctggg catgggaatg acaaataaga agtctttgaa atgtgaacaa catctggggc	180
ataacgctat gtattggtac aagcaaagtg ctaagaagcc actggagctc atgtttgtct	240
acaactttta agaacagact gaaaacaaca gtgtgccaag tcgcttctca cctgaatgcc	300
ccaacagctc tcacttattc cttcacctac acaccctgca gccagaagat tcggccctgt	360
atctttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a	411

<210> 439

<211> 411

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV4-3_BB_1

<400> 439

gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccacccat gggctgcagg ctgctctgct	60
gtgcggttct ctgtctcctg ggagcggtcc ccatggaaac gggagttacg cagacaccaa	120
gacacctggg catgggaatg acaaataaga agtctttgaa atgtgaacaa catctgggtc	180
ataacgctat gtattggtac aagcaaagtg ctaagaagcc actggagctc atgtttgtct	240
acagtcttga agaacggggt gaaaacaaca gtgtgccaag tcgcttctca cctgaatgcc	300
ccaacagctc tcacttattc cttcacctac acaccctgca gccagaagat tcggccctgt	360
atctttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a	411

<210> 440

<211> 411
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRBV5-1_BB_1

<400> 440
 gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccacccat gggctccagg ctgctctgtt 60
 ggggtgctgct ttgtctcctg ggagcaggcc cagtaaaggc tggagtcact caaactccaa 120
 gatctctgat caaaacgaga ggacagcaag tgacactgag ctgctccctt atctctgggc 180
 ataggagtgt atcctggtac caacagaccc caggacaggc ccttcagtgc ctctttgaat 240
 acttcagtga gacacagaga aacaaaggaa acttcctcgg tcgattctca gggcgccagt 300
 tctctaactc tcgctctgag atgaatgtga gcaccttgga gctgggggac tcggcccttt 360
 atctttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a 411

<210> 441
 <211> 411
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRBV5-4_BB_1

<400> 441
 gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccacccat gggccctggg ctccctctgct 60
 ggggtgctgct ttgtctcctg ggagcaggct cagtggagac tggagtcacc caaagtccca 120
 cacacctgat caaaacgaga ggacagcaag tgactctgag atgctcttct cagtctgggc 180
 acaacactgt gtctctgtac caacaggccc tgggtcaggc gcccagttt atctttcagt 240
 attataggga ggaagagaat ggcagaggaa acttcctcct tagattctca ggactccagt 300
 tccctaatta tagctctgag ctgaatgtga acgccttgga gctggacgac tcggccctgt 360
 atctttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a 411

<210> 442
 <211> 411
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRBV5-5_BB_1

<400> 442
 gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccacccat gggccctggg ctccctctgct 60
 ggggtgctgct ttgtctcctg ggagcaggcc cagtggacgc tggagtcacc caaagtccca 120
 cacacctgat caaaacgaga ggacagcaag tgactctgag atgctctcct atctctgggc 180

acaagagtgt gtcctggtac caacaggtcc tgggtcaggg gccccagttt atctttcagt 240
 attatgagaa agaagagaga ggaagaggaa acttccctga tgcattctca gtcgccagt 300
 tccctaacta tagctctgag ctgaatgtga acgccttggt gctgggggac tcggccctgt 360
 atctttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a 411

<210> 443

<211> 411

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV5-6_BB_1

<400> 443

gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccaccat gggccccggg ctctctgct 60
 gggcactgct ttgtctcctg ggagcaggct tagtggacgc tggagtcacc caaagtccca 120
 cacacctgat caaaacgaga ggacagcaag tgactctgag atgctctcct aagtctgggc 180
 atgacactgt gtcctggtac caacaggccc tgggtcaggg gccccagttt atctttcagt 240
 attatgagga ggaagagaga cagagaggca acttccctga tgcattctca ggtcaccagt 300
 tccctaacta tagctctgag ctgaatgtga acgccttggt gctgggggac tcggccctct 360
 atctttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a 411

<210> 444

<211> 411

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV5-7_BB_1

<400> 444

gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccaccat gggccccggg ctctctgct 60
 ggggtgctgct ttgtccccta ggagaaggcc cagtggacgc tggagtcacc caaagtccca 120
 cacacctgat caaaacgaga ggacagcacg tgactctgag atgctctcct atctctgggc 180
 acaccagtgt gtcctcgtac caacaggccc tgggtcaggg gccccagttt atctttcagt 240
 attatgagaa agaagagaga ggaagaggaa acttccctga tcaattctca ggtcaccagt 300
 tccctaacta tagctctgag ctgaatgtga acgccttggt gctaggggac tcggccctct 360
 atctttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a 411

<210> 445

<211> 411

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV5-8_BB_1

<400> 445

gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccaccat gggacccagg ctcctcttct	60
gggcactgct ttgtctcctc ggaacaggcc cagtggaggc tggagtcaca caaagtccca	120
cacacctgat caaaacgaga ggacagcaag cgactctgag atgctctcct atctctgggc	180
acaccagtgt gtactggtac caacaggccc tgggtctggg cctccagttc ctccttttgt	240
atgacgaggg tgaagagaga aacagaggaa acttccctcc tagattttca ggctgccagt	300
tccctaatta tagctctgag ctgaatgtga acgccttgga gctggaggac tcggccctgt	360
atctttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a	411

<210> 446

<211> 411

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV6-1_BB_1

<400> 446

gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccaccat gagcatcggg ctcctgtgct	60
gtgtggcctt ttctctcctg tgggcaagtc cagtgaatgc tgggtgcact cagaccccaa	120
aattccaggt cctgaaaaca ggacagagca tgacactgca gtgtgccag gatatgaacc	180
ataactccat gtactggtat cgacaagacc caggcatggg actgaggctg atttattact	240
cagcttctga gggtagcact gacaaaggag aagtcccaaa tggctacaat gtctccagat	300
taaacaaacg ggagttctcg cttaggctgg agtcggctgc tccctcccag acatctgtgt	360
acttttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a	411

<210> 447

<211> 411

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV6-3_BB_1

<400> 447

gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccaccat gagcctcggg ctcctgtgct	60
gtggggtctt ttctctcctg tgggcaggtc cagtgaatgc tgggtgcact cagaccccaa	120
aattccgggt cctgaaaaca ggacagagca tgacactgct gtgtgccag gatatgaacc	180
atgaatacat gtactggtat cgacaagacc caggcatggg gctgaggctg attcattact	240
cagttggtga gggtagaact gccaaaggag aggtccctga tggctacaat gtctccagat	300
taaaaaaaca gaatttcctg ctgggggttg agtcggctgc tccctcccaa acatctgtgt	360

acttttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a 411

<210> 448

<211> 411

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV6-4_BB_1

<400> 448

gttcgaagct ggcattgacac gaagacttgt acgccacccat gagaatcagg ctccctgtgct 60

gtgtggcctt ttctctcctg tgggcaggct cagtgtattgc tgggatcacc caggcaccaa 120

catctcagat cctggcagca ggacggcgca tgacactgag atgtaccag gatatgagac 180

ataatgccat gtactggtat agacaagatc taggactggg gctaaggctc atccattatt 240

caaatactgc aggtaccact ggcaaaggag aagtccctga tggttatagt gtctccagag 300

caaacacaga tgatttcccc ctacggttgg cgtctgtctgt accctctcag acatctgtgt 360

acttttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a 411

<210> 449

<211> 411

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV6-5_BB_1

<400> 449

gttcgaagct ggcattgacac gaagacttgt acgccacccat gagcatcggc ctccctgtgct 60

gtgcagcctt gtctctcctg tgggcaggct cagtgaatgc tgggtgcact cagaccccaa 120

aattccaggt cctgaaaaca ggacagagca tgacactgca gtgtgcccag gatatgaacc 180

atgaatacat gtcctggtat cgacaagacc caggcatggg gctgaggctg attcattact 240

cagttggtgc tgggtatcact gaccaaggag aagtccccaa tgggtacaat gtctccagat 300

caaccacaga ggatttcccg ctacaggtgc tgtcggtgc tccctcccag acatctgtgt 360

acttttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a 411

<210> 450

<211> 411

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV6-6_BB_1

<400> 450

gttcgaagct ggcattgacac gaagacttgt acgccacccat gagcatcagc ctccctgtgct 60

gtgcagcctt tcctctcctg tgggcaggtc cagtgaatgc tgggtgtcact cagaccccaa 120
aattccgcat cctgaagata ggacagagca tgacactgca gtgtaccag gatatgaacc 180
ataactacat gtactggtat cgacaagacc caggcatggg gctgaagctg atttattatt 240
cagttggtgc tggatatcact gataaaggag aagtcccgaa tggctacaac gtctccagat 300
caaccacaga ggatttcccg ctccaggctgg agttggctgc tccctcccag acatctgtgt 360
acttttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a 411

<210> 451

<211> 408

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV6-8_BB_1

<400> 451

gttcgaagct ggcattgacac gaagacttgt acgccacat gagcctcggg ctctgtgtgt 60

gtgcggcctt ttctctcctg tgggcaggtc ccgtgaatgc tgggtgtcact cagaccccaa 120

aattccacat cctgaaaaca ggacagagca tgacactgca gtgtgcccag gatatgaacc 180

atggatacat gtctggtat cgacaagacc caggcatggg gctgagactg atttactact 240

cagctgctgc tgggtactact gacaaagaag tccccaatgg ctacaatgtc tctagattaa 300

acacagagga tttccactc aggttgggtgt cggctgtctc ctcccagaca tctgtgtacc 360

tttgcagaga ccttgccggc gtgtcttccg acgctgacag tgtagata 408

<210> 452

<211> 411

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV6-9_BB_1

<400> 452

gttcgaagct ggcattgacac gaagacttgt acgccacat gagcatcggg ctctgtgtgt 60

gtgtggcctt ttctctcctg tgggcaggtc cagtgaatgc tgggtgtcact cagaccccaa 120

aattccacat cctgaaaaca ggacagagca tgacactgca gtgtgcccag gatatgaacc 180

atggatactt gtctggtat cgacaagacc caggcatggg gctgaggcgc attcattact 240

cagttgctgc tggatatcact gacaaaggag aagtccccga tggctacaat gtatccagat 300

caaacacaga ggatttcccg ctccaggctgg agtcagctgc tccctcccag acatctgtat 360

acttttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a 411

<210> 453

<211> 414

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV7-2_BB_1

<400> 453

gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccaccat gggcaccagg ctcctcttct	60
gggtggcctt ctgtctcctg ggggcagatc acacaggagc tggagtctcc cagtcccca	120
gtaacaaggt cacagagaag ggaaaggatg tagagctcag gtgtgatcca atttcagggtc	180
atactgccct ttactggtac cgacagagcc tggggcaggg cctggagttt ttaatttact	240
tccaaggcaa cagtgcacca gacaaatcag ggctgccag tgatcgcttc tctgcagaga	300
ggactggggg atccgtctcc actctgacga tccagcgac acagcaggag gactcggccg	360
tgtatctttg cagagacctt gcggccgtgt cttccgacgc tgacagtgtg gata	414

<210> 454

<211> 414

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV7-3_BB_1

<400> 454

gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccaccat gggcaccagg ctcctctgct	60
gggcagccct gtgcctcctg ggggcagatc acacagggtgc tggagtctcc cagaccccca	120
gtaacaaggt cacagagaag ggaaaatatg tagagctcag gtgtgatcca atttcagggtc	180
atactgccct ttactggtac cgacaaagcc tggggcaggg cccagagttt ctaatttact	240
tccaaggcac gggtgcggca gatgactcag ggctgccaa cgatcggttc tttgcagtca	300
ggcctgaggg atccgtctct actctgaaga tccagcgac agagcggggg gactcagccg	360
tgtatctttg cagagacctt gcggccgtgt cttccgacgc tgacagtgtg gata	414

<210> 455

<211> 414

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV7 - 6_BB_1

<400> 455

gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccaccat gggcaccagt ctcctatgct	60
gggtggtcct gggtttccta gggacagatc acacagggtgc tggagtctcc cagtctccca	120
ggtacaaagt cacaaagagg ggacaggatg tagctctcag gtgtgatcca atttcgggtc	180
atgtatccct ttattggtac cgacaggccc tggggcaggg cccagagttt ctgacttact	240

tcaattatga agcccaacaa gacaaatcag ggctgcccac tgatcggttc tctgcagaga 300
ggcctgaggg atccatctcc actctgacga tccagcgcac agagcagcgg gactcggcca 360
tgtatcggtg cagagacctt gcggccgtgt cttccgacgc tgacagtgtg gata 414

<210> 456
<211> 414
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRBV7-7_BB_1

<400> 456
gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccaccat gggtagcagt ctcctatgct 60
gggtggctcct gggtttccta gggacagatc acacaggtgc tggagtctcc cagtctccca 120
ggtacaaagt cacaaagagg ggacaggatg taactctcag gtgtgatcca atttcgagtc 180
atgcaaccct ttattggtat caacaggccc tggggcaggg cccagagttt ctgacttact 240
tcaattatga agctcaacca gacaaatcag ggctgcccag tgatcggttc tctgcagaga 300
ggcctgaggg atccatctcc actctgacga tccagcgcac agagcagcgg gactcagcca 360
tgtatcggtg cagagacctt gcggccgtgt cttccgacgc tgacagtgtg gata 414

<210> 457
<211> 414
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRBV7-8_BB_1

<400> 457
gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccaccat gggcaccagg ctcctctgct 60
gggtggctcct gggtttccta gggacagatc acacaggtgc tggagtctcc cagtccccta 120
ggtacaaagt cgcaaagaga ggacaggatg tagctctcag gtgtgatcca atttcgggtc 180
atgtatccct tttttggtac caacaggccc tggggcaggg gccagagttt ctgacttatt 240
tccagaatga agctcaacta gacaaatcgg ggctgcccag tgatcgcttc tttgcagaaa 300
ggcctgaggg atccgtctcc actctgaaga tccagcgcac acagcaggag gactccgccg 360
tgtatctttg cagagacctt gcggccgtgt cttccgacgc tgacagtgtg gata 414

<210> 458
<211> 414
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRBV7 - 9_BB_1

<400> 458
 gttcgaagct ggcacatgacac gaagacttgt acgccaccat gggcaccagc ctccctctgct 60
 ggatggccct gtgtctcctg ggggcagatc acgcagatac tggagtctcc cagaacccca 120
 gacacaagat cacaagagg ggacagaatg taactttcag gtgtgatcca atttctgaac 180
 acaaccgcct ttattggtac cgacagaccc tggggcaggg cccagagttt ctgacttact 240
 tccagaatga agctcaacta gaaaaatcaa ggctgctcag tgatcggttc tctgcagaga 300
 ggcctaaggg atctttctcc accttgaga tccagcgcac agagcagggg gactcggcca 360
 tgtatctttg cagagacctt gcggccgtgt cttccgacgc tgacagtgtg gata 414

<210> 459
 <211> 411
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRBV9_BB_1

<400> 459
 gttcgaagct ggcacatgacac gaagacttgt acgccaccat gggcttcagg ctccctctgct 60
 gtgtggcctt ttgtctcctg ggagcaggcc cagtggattc tggagtcaca caaaccccaa 120
 agcacctgat cacagcaact ggacagcgag tgacgctgag atgctcccct aggtctggtg 180
 acctctctgt gtactggtac caacagagcc tggaccaggg cctccagttc ctcatctcagt 240
 attataatgg agaagagaga gcaaaaggaa acattcttga acgattctcc gcacaacagt 300
 tccctgactt gcaacttgaa ctaaacctga gctctctgga gctggggggac tcagctttgt 360
 acttttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a 411

<210> 460
 <211> 411
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRBV10-1_BB_1

<400> 460
 gttcgaagct ggcacatgacac gaagacttgt acgccaccat gggcacgagg ctcttcttct 60
 atgtggccct ttgtctgctg tgggcaggac acagggatgc tgaaatcacc cagagcccaa 120
 gacacaagat cacagagaca ggaaggcagg tgaccttggc gtgtcaccag acttggaacc 180
 acaacaatat gttctggtat cgacaagacc tgggacatgg gctgaggctg atccattact 240
 catatggtgt tcaagacact aacaaaggag aagtctcaga tggctacagt gtctctagat 300
 caaacacaga ggacctcccc ctcaactctgg agtctgctgc ctctcccag acatctgtat 360

acttttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a 411

<210> 461

<211> 411

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV10-2_BB_1

<400> 461

gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccacccat gggcaccagg ctcttcttct 60

atgtggccct ttgtctgctg tgggcaggac acagggatgc tggaaacacc cagagcccaa 120

gatacaagat cacagagaca ggaaggcagg tgaccttgat gtgtcaccag acttgagacc 180

acagctatat gttctggtat cgacaagacc tgggacatgg gctgaggctg atctattact 240

cagcagctgc tgatattaca gataaaggag aagtccccga tggctatgtt gtctccagat 300

ccaagacaga gaatttcccc ctcaactctgg agtcagctac ccgctcccag acatctgtgt 360

acttttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a 411

<210> 462

<211> 411

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV10-3_BB_1

<400> 462

gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccacccat gggcacaagg ttgttcttct 60

atgtggccct ttgtctcctg tggacaggac acatggatgc tggaaacacc cagagcccaa 120

gacacaaggt cacagagaca ggaacaccag tgactctgag atgtcaccag actgagaacc 180

accgctatat gtactggtat cgacaagacc cggggcatgg gctgaggctg atccattact 240

catatggtgt taaagatact gacaaaggag aagtctcaga tggctatagt gtctctagat 300

caaagacaga ggatttcctc ctcaactctgg agtcagctac cagctcccag acatctgtgt 360

acttttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a 411

<210> 463

<211> 414

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV11-1_BB_1

<400> 463

gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccacccat gagcaccagg cttctctgct 60

ggatggccct ctgtctcctg ggggcagAAC tctcagaagc tgaagttgcc cagtccccca 120

gatataagat tacagagaaa agccaggctg tggctttttg gtgtgatcct atttctggcc 180
atgctaccct ttactggtac cggcagatcc tgggacaggg cccggagctt ctggttcaat 240
ttcaggatga gagtgtagta gatgattcac agttgcctaa ggatcgattt tctgcagaga 300
ggctcaaagg agtagactcc actctcaaga tccagcctgc agagcttggg gactcggcca 360
tgtatctttg cagagacctt gcggccgtgt cttccgacgc tgacagtgtg gata 414

<210> 464

<211> 414

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV11-2_BB_1

<400> 464

gttcgaagct ggcattgacac gaagacttgt acgccaccat gggcaccagg ctccctctgct 60
gggaggccct ctgtctcctg ggagcagaac tcacagaagc tggagttgcc cagtctccca 120
gatataagat tatagagaaa aggcagagtg tggctttttg gtgcaatcct atatctggcc 180
atgctaccct ttactggtac cagcagatcc tgggacaggg cccaaagctt ctgattcagt 240
ttcagaataa cgggtgtagt gatgattcac agttgcctaa ggatcgattt tctgcagaga 300
ggctcaaagg agtagactcc actctcaaga tccagcctgc aaagcttgag gactcggccg 360
tgtatctttg cagagacctt gcggccgtgt cttccgacgc tgacagtgtg gata 414

<210> 465

<211> 414

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV11-3_BB_1

<400> 465

gttcgaagct ggcattgacac gaagacttgt acgccaccat ggggtaccagg ctccctctgct 60
gggtggcctt ctgtctcctg gtggaagaac tcatagaagc tggagtgggt cagtctccca 120
gatataagat tatagagaaa aaacagcctg tggctttttg gtgcaatcct atttctggcc 180
acaataccct ttactggtac ctgcagaact tgggacaggg cccggagctt ctgattcgat 240
atgagaatga ggaagcagta gacgattcac agttgcctaa ggatcgattt tctgcagaga 300
ggctcaaagg agtagactcc actctcaaga tccagcctgc agagcttggg gactcggccg 360
tgtatctttg cagagacctt gcggccgtgt cttccgacgc tgacagtgtg gata 414

<210> 466

<211> 414

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV12-3_BB_1

<400> 466

gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccaccat ggactcctgg accttctgct	60
gtgtgtccct ttgcatcctg gtagcgaagc atacagatgc tggagttatc cagtcacccc	120
gccatgaggt gacagagatg ggacaagaag tgactctgag atgtaaacca atttcaggcc	180
acaactccct tttctggtac agacagacca tgatgcgggg actggagttg ctcatcttact	240
ttaacaacaa cgttccgata gatgattcag ggatgcccgga ggatcgattc tcagctaaga	300
tgcctaatagc atcattctcc actctgaaga tccagccctc agaaccagg gactcagctg	360
tgtacttttg cagagacctt gcggccgtgt cttccgacgc tgacagtgtg gata	414

<210> 467

<211> 414

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV12-4_BB_1

<400> 467

gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccaccat ggactcctgg accctctgct	60
gtgtgtccct ttgcatcctg gtagcaaagc acacagatgc tggagttatc cagtcacccc	120
ggcacgaggt gacagagatg ggacaagaag tgactctgag atgtaaacca atttcaggac	180
acgactacct tttctggtac agacagacca tgatgcgggg actggagttg ctcatcttact	240
ttaacaacaa cgttccgata gatgattcag ggatgcccgga ggatcgattc tcagctaaga	300
tgcctaatagc atcattctcc actctgaaga tccagccctc agaaccagg gactcagctg	360
tgtacttttg cagagacctt gcggccgtgt cttccgacgc tgacagtgtg gata	414

<210> 468

<211> 414

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV12-5_BB_1

<400> 468

gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccaccat ggccaccagg ctccctctgct	60
gtgtgggttct ttgtctcctg ggagaagagc ttatagatgc tagagtcacc cagacaccaa	120
ggcacaaggt gacagagatg ggacaagaag taacaatgag atgtcagcca attttaggcc	180
acaatactgt tttctggtac agacagacca tgatgcaagg actggagttg ctggcttact	240

tccgcaaccg ggctcctcta gatgattcgg ggatgccgaa ggatcgattc tcagcagaga 300
 tgcctgatgc aacttttagcc actctgaaga tccagccctc agaaccagg gactcagctg 360
 tgtacttttg cagagacctt gcggccgtgt cttccgacgc tgacagtgtg gata 414

<210> 469
 <211> 441
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRBV13_BB_1

<400> 469
 gttcgaagct ggcatgacac gaagacttgt acgccaccat gcttagtcct gacctgcctg 60
 actctgcctg gaacaccagg ctctctgcc atgtcatgct ttgtctcctg ggagcagttt 120
 cagtggctgc tggagtcac cagtcccaa gacatctgat caaagaaaag agggaacag 180
 ccactctgaa atgctatcct atccctagac acgacactgt ctactggtac cagcagggtc 240
 caggtcagga ccccgagttc ctcatctcgt tttatgaaaa gatgcagagc gataaaggaa 300
 gcatccctga tcgattctca gctcaacagt tcagtgacta tcattctgaa ctgaacatga 360
 gctccttgga gctgggggac tcagccctgt acttttgag agaccttgcg gccgtgtctt 420
 ccgacgctga cagtgtagat a 441

<210> 470
 <211> 414
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRBV14_BB_1

<400> 470
 gttcgaagct ggcatgacac gaagacttgt acgccaccat gggttccagg cttctcagtt 60
 tagtgtccct ttgtctcctg ggagcaaagc acatagaagc tggagttact cagttcccca 120
 gccacagcgt aatagagaag ggccagactg tgactctgag atgtgaccca atttctggac 180
 atgataatct ttattggtat cgacgtgtta tgggaaaaga aataaaattt ctgttacatt 240
 ttgtgaaaga gtctaaacag gatgagtcgg gtatgcccaa caatcgattc ttagctgaaa 300
 ggactggagg gacgtattct actctgaagg tgcagcctgc agaactggag gattctggag 360
 ttacttttg cagagacctt gcggccgtgt cttccgacgc tgacagtgtg gata 414

<210> 471
 <211> 411
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV15_BB_1

<400> 471

gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccaccat gggtcctggg cttctccact	60
ggatggccct ttgtctcctt ggaacaggct atggggatgc catgggtcatc cagaacccaa	120
gataccaggt taccagttt ggaaagccag tgacctgag ttgttctcag actttgaacc	180
ataacgtcat gtactggtac cagcagaagt caagtcaggc cccaaagctg ctgttccact	240
actatgacaa agattttaac aatgaagcag acacctga taacttcaa tccaggaggc	300
cgaacacttc tttctgcttt cttgacatcc gctcaccagg cctgggggac acagccatgt	360
acctttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgtga cagtgtatg a	411

<210> 472

<211> 414

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV16_BB_1

<400> 472

gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccaccat gagcccaata ttcacctgca	60
tcacaatcct ttgtctgctg gctgcagggt ctctgtgtga agaagtcgcc cagactccaa	120
aacatcttgt cagaggggaa ggacagaaag caaaattata ttgtgcccc aataaaggac	180
acagttatgt tttttggtac caacagggtc tgaaaaacga gttcaagttc ttgatttcct	240
tccagaatga aaatgtcttt gatgaaacag gtatgcccc ggaaagattt tcagctaagt	300
gcctccaaa ttcacctgt agccttgaga tccagggtac gaagcttgag gattcagcag	360
tgtacttttg cagagacctt gcggccgtgt cttccgacgc tgacagtga gata	414

<210> 473

<211> 414

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV18_BB_1

<400> 473

gttcgaagct ggcacgacac gaagacttgt acgccaccat ggacaccaga gtactctgct	60
gtgcggtcat ctgccttctg ggggcaggac tctcaaatgc cggcgtcatg cagaacccaa	120
gacacctggt caggaggagg ggacaggagg caagactgag atgcagccca atgaaaggac	180
acagtcatgt ttactggtat cggcagctcc cagaggaagg tctgaaattc atggtttatc	240
tccagaaaga aaatatcata gatgagtcag gaatgccaaa ggaacgattt tctgctgaat	300
ttcccaaaga gggccccagc atcctgagga tccagcagggt agtgcgagga gattcggcag	360

cttacttttg cagagacctt gcggccgtgt cttccgacgc tgacagtgtgata gata 414

<210> 474

<211> 411

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV19_BB_1

<400> 474

gttcgaagct ggcacatgacac gaagacttgt acgccaccat gagcaaccag gtgctctgct 60

gtgtggtcct ttgtttcctg ggagcaaaca ccgtggatgg tggaatcact cagtcccca 120

agtacctgtt cagaaaggaa ggacagaatg tgacctgag ttgtgaacag aatttgaacc 180

acgatgccat gtactggtac cgacaggacc cagggcaagg gctgagattg atctactact 240

cacagatagt aaatgacttt cagaaaggag atatagctga aggttacagc gtctctcggg 300

agaagaagga atcctttcct ctactgtga catcgcccca aaagaaccgc acagctttct 360

atctttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a 411

<210> 475

<211> 405

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV20-1_BB_1

<400> 475

gttcgaagct ggcacatgacac gaagacttgt acgccaccat gctgctgctt ctgctgcttc 60

tggggccagg ctccgggctt ggtgctgtcg tctctcaaca tccgagctgg gttatctgta 120

agagtggaaac ctctgtgaag atcgagtgc gttccctgga ctttcaggcc acaactatgt 180

tttggtatcg tcagttcccg aaacagagtc tcatgctgat ggcaacttcc aatgagggct 240

ccaaggccac atacgagcaa ggcgtcgaga aggacaagtt tctcatcaac catgcaagcc 300

tgaccttgtc cactctgaca gtgaccagtg cccatcctga agatagcagc ttctacattt 360

gcagagacct tgcggccgtg tcttccgacg ctgacagtgt agata 405

<210> 476

<211> 411

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV24-1_BB_1

<400> 476

gttcgaagct ggcacatgacac gaagacttgt acgccaccat ggccctccctg ctcttcttct 60

gtggggcctt ttatctcctg ggaacagggt ccatggatgc tgatgttacc cagaccccaa 120
 ggaataggat cacaagaca ggaaagagga ttatgctgga atgttctcag actaagggtc 180
 atgatagaat gtactggtat cgacaagacc caggactggg cctacggttg atctattact 240
 cctttgatgt caaagatata aacaaaggag agatctctga tggatacagt gtctctcgac 300
 aggcacaggc taaattctcc ctgtccctag agtctgccat cccaaccag acagctcttt 360
 acttttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a 411

<210> 477

<211> 411

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV25-1_BB_1

<400> 477

gttcgaagct ggcattgacac gaagacttgt acgccacat gactatcagg ctccctctgct 60
 acatgggctt ttatcttctg ggggcaggcc tcatggaagc tgacatctac cagaccccaa 120
 gataccttgt tatagggaca ggaaagaaga tcactctgga atgttctcaa accatgggccc 180
 atgacaaaat gtactggtat caacaagatc caggaatgga actacacctc atccactatt 240
 cctatggagt taattccaca gagaaggag atctttcctc tgagtcaaca gtctccagaa 300
 taaggacgga gcattttccc ctgacctgg agtctgccag gccctcacat acctctcagt 360
 acctttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a 411

<210> 478

<211> 411

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV27_BB_1

<400> 478

gttcgaagct ggcattgacac gaagacttgt acgccacat gggccccag ctcccttggt 60
 atgtggtcct ttgccttcta ggagcaggcc ccctggaagc ccaagtgacc cagaacccaa 120
 gatacctcat cacagtgact ggaaagaagt taacagtgac ttgttctcag aatatgaacc 180
 atgagtatat gtcctggtat cgacaagacc cagggtctggg ctttaaggcag atctactatt 240
 caatgaatgt tgagggtgact gataaggag atgttctctga aggttacaaa gtctctcgaa 300
 aagagaagag gaatttcccc ctgatcctgg agtcgcccag cccaaccag acctctctgt 360
 acttttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtagat a 411

<210> 479

<211> 411

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV28_BB_1

<400> 479

gttcgaagct ggcacatgacac gaagacttgt acgccaccat gggaatcagg ctcctctgtc	60
gtgtggcctt ttgtttcctg gctgtaggcc tcgtagatgt gaaagtaacc cagagctcga	120
gatattctagt caaaaggacg ggagagaaaag tttttctgga atgtgtccag gatattggacc	180
atgaaaatat gttctggtat cgacaagacc caggctctggg gctacggctg atctatttct	240
catatgatgt taaaatgaaa gaaaaaggag atattcctga ggggtacagt gtctctagag	300
agaagaagga gcgcttctcc ctgattctgg agtccgccag caccaaccag acatctatgt	360
acctttgcag agaccttgcg gccgtgtctt ccgacgctga cagtgtatagat a	411

<210> 480

<211> 405

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV29-1_BB_1

<400> 480

gttcgaagct ggcacatgacac gaagacttgt acgccaccat gctgagtcta ctgctccttc	60
tcctgggact aggctctgtg ttcagtgtgtg tcattctctca aaagccaagc agggatatct	120
gtcaacgtgg aacctccctg acgatccagt gtcaagtcga tagccaagtc accatgatgt	180
tctgggtaccg tcagcaacct ggacagagcc tgacactgat cgcaactgca aatcagggtc	240
ctgaggccac atatgagagt ggatttgtca ttgacaagtt tcccatcagc cgcccaaacc	300
taacattctc aactctgact gtgagcaaca tgagccctga agatagcagc atatattctt	360
gcagagacct tgcggccgtg tcttccgacg ctgacagtgt agata	405

<210> 481

<211> 405

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBV3_0_BB_1

<400> 481

gttcgaagct ggcacatgacac gaagacttgt acgccaccat gctctgtctc ctccttgccc	60
ttctcctggg cactttcttt ggggtcagat ctgagactat tcattcaatgg ccagcgaccc	120
tggtgcagcc tgtgggcagc ccgctctctc tggagtgcac tgtggaggga acatcaaacc	180
ccaacctata ctggtaccga caggctgcag gcaggggcct ccagctgctc ttctactccg	240

ttggtattgg ccagatcagc tctgaggtgc cccagaatct ctcagcctcc agaccccagc	300
accggcagtt catcctgagt tctaagaagc tccttctcag tgactctggc ttctatcttt	360
gcagagacct tgcggccgtg tcttccgacg ctgacagtgt agata	405

<210> 482

<211> 595

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Fragmento de clonación TRBC1

<400> 482

cagcactcgt atgatcagag gaagactagg ccgcataggt ctcagtgttc ccacccgagg	60
tcgctgtgtt tgagccatca gaagcagaga tctcccacac ccaaaaggcc aactggtgt	120
gcctggccac aggcttcttc cccgaccacg tggagctgag ctggtgggtg aatgggaagg	180
aggtgcacag tggggtcagc acagaccgc agccctcaa ggagcagccc gccctcaatg	240
actccagata ctgcctgagc agccgcctga ggggtgtcggc caccttctgg cagaaccccc	300
gcaaccactt ccgctgtcaa gtccagttct acgggctctc ggagaatgac gagtggaccc	360
aggatagggc caaaccgctc acccagatcg tcagcgccga ggcctggggt agagcagact	420
gtggctttac ctcggtgtcc taccagcaag gggctctgtc tgccaccatc ctctatgaga	480
tcctgctagg gaaggccacc ctgtatgctg tgctggtcag cggccttggt ttgatggcca	540
tgggtcaagag aaaggatttc tgactaggtg tcttcgctac actgatccga tggtc	595

<210> 483

<211> 601

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Fragmento de clonación TRBC2

<400> 483

cagcactcgt atgatcagag gaagactagg ccgcataggt ctcagtgttc ccacccgagg	60
tcgctgtgtt tgagccatca gaagcagaga tctcccacac ccaaaaggcc aactggtat	120
gcctggccac aggcttctac cccgaccacg tggagctgag ctggtgggtg aatgggaagg	180
aggtgcacag tggggtcagc acagaccgc agccctcaa ggagcagccc gccctcaatg	240
actccagata ctgcctgagc agccgcctga ggggtgtcggc caccttctgg cagaaccccc	300
gcaaccactt ccgctgtcaa gtccagttct acgggctctc ggagaatgac gagtggaccc	360
aggatagggc caaaccgctc acccagatcg tcagcgccga ggcctggggt agagcagact	420
gtggcttcac ctccgagtct taccagcaag gggctctgtc tgccaccatc ctctatgaga	480

tcttgctagg gaaggccacc ttgtatgccg tgctggtcag tgccctcgtg ctgatggcca 540
 tgggtcaagag aaaggattcc agaggctagc taggtgtcct cgctacactg atccgatggg 600
 c 601

<210> 484
 <211> 891
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRBV2 TRBC2

<400> 484
 gccaccatgg atacctggct cgtatgctgg gcaatTTTTA gtctcttgaa agcaggactc 60
 acagaacctg aagtcaccca gactccagc catcaggtca cacagatggg acaggaagtg 120
 atcttgcgct gtgtcccat ctctaatac ttatacttct attggtacag acaaatcttg 180
 gggcagaaag tcgagtttct ggtttccttt tataataatg aaatctcaga gaagtctgaa 240
 atattcgatg atcaattctc agttgaaagg cctgatggat caaatctcac tctgaagatc 300
 cgggtccaaa agctggagga ctgagccatg tacttttgca gagaccttgc ggccgcatag 360
 gtctcagtgt tcccaccga ggtcgctgtg ttgagccat cagaagcaga gatctccac 420
 acccaaaagg ccacactggg atgcctggcc acaggcttct accccgacca cgtggagctg 480
 agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtgggggtca gcacagaccc gcagcccctc 540
 aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg 600
 gccaccttct ggcagaacct ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc 660
 tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaaccg tcaccagat cgtcagcgcc 720
 gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttc acctccgagt cttaccagca aggggtcctg 780
 tctgccacca tcctctatga gatcttgcta gggaaggcca ccttgtatgc cgtgctggtc 840
 agtgcctcgt tgctgatggc catggtcaag agaaaggatt ccagaggcta g 891

<210> 485
 <211> 888
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRBV3-1_TRBC2

<400> 485
 gccaccatgg gctgcaggct cctctgctgt gtgggtcttt gcctcctcca agcagggtccc 60
 ttggacacag ctgtttccca gactccaaaa tacctgggtca cacagatggg aaacgacaag 120
 tccattaaat gtgaacaaaa tctgggcat gatactatgt attggtataa acaggactct 180

aagaaatttc tgaagataat gtttagctac aataataagg agctcattat aaatgaaaca	240
gttccaaatc gcttctcacc taaatctcca gacaaagctc acttaaactct tcacatcaat	300
tccctggagc ttggtgactc tgctgtgtat ttttgcagag accttgcggc cgcataggtc	360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagaccgcga gccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgcttgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccctca cccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt	840
gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag	888

<210> 486

<211> 888

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV4-1_TRBC2

<400> 486

gccaccatgg gctgcaggct gctctgctgt gcggttctct gtctcctggg agcagttccc	60
atagacactg aagttaccca gacacaaaa cacctggtca tgggaatgac aaataagaag	120
tctttgaaat gtgaacaaca tatggggcac agggctatgt attggtacaa gcagaaagct	180
aagaagccac cggagctcat gtttgtctac agctatgaga aactctctat aaatgaaagt	240
gtgccaagtc gcttctcacc tgaatgcccc aacagctctc tcttaaacct tcacctacac	300
gccctgcagc cagaagattc agccctgtat ctttgcagag accttgcggc cgcataggtc	360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagaccgcga gccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgcttgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccctca cccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct	780

gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt 840

gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag 888

<210> 487

<211> 888

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV4-2_TRBC2

<400> 487

gccaccatgg gctgcaggct gctctgctgt gcggttctct gtctcctggg agcggtcccc 60

atggaaacgg gagttacgca gacaccaaga cacctggtca tgggaatgac aaataagaag 120

tctttgaaat gtgaacaaca tctggggcat aacgctatgt attggtacaa gcaaagtgtc 180

aagaagccac tggagctcat gtttgtctac aactttaag aacagactga aaacaacagt 240

gtgccaagtc gcttctcacc tgaatgcccc aacagctctc acttattcct tcacctacac 300

accctgcagc cagaagattc ggccctgtat ctttgcagag accttgcggc cgcataaggtc 360

tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc 420

caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc 480

tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagaccgca gccctcaag 540

gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgcttgagca gccgcctgag ggtgtcggcc 600

accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660

gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccgtca ccagatcgt cagcgccgag 720

gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct 780

gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt 840

gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag 888

<210> 488

<211> 888

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV4-3_TRBC2

<400> 488

gccaccatgg gctgcaggct gctctgctgt gcggttctct gtctcctggg agcggtcccc 60

atggaaacgg gagttacgca gacaccaaga cacctggtca tgggaatgac aaataagaag 120

tctttgaaat gtgaacaaca tctgggtcat aacgctatgt attggtacaa gcaaagtgtc 180

aagaagccac tggagctcat gtttgtctac agtcttgaag aacgggttga aaacaacagt 240

gtgccaagtc gcttctcacc tgaatgcccc aacagctctc acttattcct tcacctacac	300
accctgcagc cagaagattc ggccctgtat ctttgcagag accttgcggc cgcataggtc	360
tcagtgttcc cacccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gcccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgcttgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccctca cccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt	840
gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag	888

<210> 489

<211> 888

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV5-1_TRBC2

<400> 489

gccaccatgg gctccaggct gctctgttgg gtgctgcttt gtctcctggg agcaggccca	60
gtaaaggctg gagtcaactca aactccaaga tatctgatca aaacgagagg acagcaagtg	120
acactgagct gctcccctat ctctgggcat aggagtgtat cctggtacca acagacccca	180
ggacagggcc ttcagttcct ctttgaatac ttcagtgaga cacagagaaa caaaggaaac	240
ttccctggtc gattctcagg gcgccagttc tctaactctc gctctgagat gaatgtgagc	300
accttgagc tgggggactc ggccctttat ctttgcagag accttgcggc cgcataggtc	360
tcagtgttcc cacccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gcccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgcttgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccctca cccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt	840
gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag	888

<210> 490
 <211> 888
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRBV5-4_TRBC2

<400> 490
 gccaccatgg gccctgggct cctctgctgg gtgctgcttt gtctcctggg agcagggtca 60
 gtggagactg gagtaccca aagtcccaca cacctgatca aaacgagagg acagcaagtg 120
 actctgagat gctcttctca gtctgggcac aacactgtgt cctggtacca acaggccctg 180
 ggtcaggggc cccagtttat ctttcagtat tatagggagg aagagaatgg cagaggaaac 240
 ttccctccta gattctcagg actccagttc cctaattata gctctgagct gaatgtgaac 300
 gccttggagc tggacgactc ggccctgtat ctttgcagag accttgcggc cgcataggctc 360
 tcagtgttcc cacccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc 420
 caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc 480
 tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gccctcaag 540
 gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc 600
 accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660
 gagaatgacg agtggacca ggatagggcc aaaccgtca ccagatcgt cagcgccgag 720
 gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct 780
 gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt 840
 gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag 888

<210> 491
 <211> 888
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRBV5-5_TRBC2

<400> 491
 gccaccatgg gccctgggct cctctgctgg gtgctgcttt gtctcctggg agcaggccca 60
 gtggacgctg gagtaccca aagtcccaca cacctgatca aaacgagagg acagcaagtg 120
 actctgagat gctctcctat ctctgggcac aagagtgtgt cctggtacca acaggtcctg 180
 ggtcaggggc cccagtttat ctttcagtat tatgagaaag aagagagagg aagaggaaac 240
 ttccctgacg gattctcagc tcgccagttc cctaactata gctctgagct gaatgtgaac 300
 gccttgttgc tgggggactc ggccctgtat ctttgcagag accttgcggc cgcataggctc 360

tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gcccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgcctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaacccgtca cccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt	840
gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag	888

<210> 492

<211> 888

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV5-6_TRBC2

<400> 492

gccaccatgg gccccgggct cctctgctgg gcaactgcttt gtctcctggg agcaggctta	60
gtggacgctg gagtaccca aagtcccaca cacctgatca aaacgagagg acagcaagtg	120
actctgagat gctctcctaa gtctgggcat gacactgtgt cctggtacca acaggccctg	180
ggtcaggggc cccagtttat ctttcagtat tatgaggagg aagagagaca gagaggcaac	240
ttccctgatc gattctcagg tcaccagttc cctaactata gctctgagct gaatgtgaac	300
gccttggtgc tgggggactc ggccctctat ctttgcagag accttgcggc cgcataggtc	360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gcccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgcctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaacccgtca cccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt	840
gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag	888

<210> 493

<211> 888

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV5-7_TRBC2

<400> 493

gccaccatgg gccccgggct cctctgctgg gtgctgcttt gtcccctagg agaaggccca	60
gtggacgctg gagtcaccca aagtcccaca cacctgatca aaacgagagg acagcacgtg	120
actctgagat gctctcctat ctctgggcac accagtgtgt cctcgtacca acaggccctg	180
ggtcaggggc cccagtttat ctttcagtat tatgagaaag aagagagagg aagaggaaac	240
ttccctgatc aattctcagg tcaccagttc cctaactata gctctgagct gaatgtgaac	300
gccttggtgc taggggactc ggccctctat ctttgagag accttgcggc cgcataggctc	360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaacccgtca ccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggttccacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt	840
gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag	888

<210> 494

<211> 888

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV5-8_TRBC2

<400> 494

gccaccatgg gaccaggt cctcttctgg gcactgcttt gtctcctcgg aacaggccca	60
gtggaggctg gagtcacaca aagtcccaca cacctgatca aaacgagagg acagcaagcg	120
actctgagat gctctcctat ctctgggcac accagtgtgt actggtacca acaggccctg	180
ggctctgggc tccagttcct cctttggtat gacgaggggtg aagagagaaa cagaggaaac	240
ttccctccta gattttcagg tcgccagttc cctaattata gctctgagct gaatgtgaac	300
gccttgagc tggaggactc ggccctgtat ctttgagag accttgcggc cgcataggctc	360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420

caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagaccgca gccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgcttgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccgtca ccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt	840
gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag	888

<210> 495

<211> 888

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV6-1_TRBC2

<400> 495

gccaccatga gcatcgggct cctgtgctgt gtggcctttt ctctcctgtg ggcaagtcca	60
gtgaatgctg gtgtcactca gacccccaaa ttccaggtcc tgaaaacagg acagagcatg	120
acactgcagt gtgcccagga tatgaaccat aactccatgt actggtatcg acaagaccca	180
ggcatgggac tgaggctgat ttattactca gcttctgagg gtaccactga caaaggagaa	240
gtccccaatg gctacaatgt ctccagatta aacaaacggg agttctcgct caggctggag	300
tcggctgctc cctcccagac atctgtgtac ttttgagag accttgcggc cgcataggctc	360
tcagtgttcc caccgagggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagaccgca gccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgcttgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccgtca ccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt	840
gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag	888

<210> 496

<211> 888

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV6-3_TRBC2

<400> 496

gccaccatga gcctcgggct cctgtgctgt ggggtctttt ctctcctgtg ggcagggtcca	60
gtgaatgctg gtgtcactca gacccccaaa ttccgggtcc tgaaaacagg acagagcatg	120
acactgctgt gtgccagga tatgaaccat gaatacatgt actggtatcg acaagaccca	180
ggcatggggc tgaggctgat tcattactca gttggtgagg gtacaactgc caaaggagag	240
gtccctgatg gctacaatgt ctccagatta aaaaaacaga atttcctgct ggggttgag	300
tcggctgctc cctcccaaac atctgtgtac ttttgcagag accttgcggc cgcataggtc	360
tcagtgttcc caccgagggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gcccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccctgca ccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggttctacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt	840
gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag	888

<210> 497

<211> 888

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV6-4_TRBC2

<400> 497

gccaccatga gaatcaggct cctgtgctgt gtggcctttt ctctcctgtg ggcagggtcca	60
gtgattgctg ggatcaccca ggcaccaaca tctcagatcc tggcagcagg acggcgcatg	120
acactgagat gtaccagga tatgagacat aatgccatgt actggtatag acaagatcta	180
ggactggggc taaggctcat ccattattca aatactgcag gtaccactgg caaaggagaa	240
gtccctgatg gttatagtgt ctccagagca aacacagatg atttccccct cacgttggcg	300
tctgctgtac cctctcagac atctgtgtac ttttgcagag accttgcggc cgcataggtc	360
tcagtgttcc caccgagggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gcccctcaag	540

gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc 600
 accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660
 gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccogtca cccagatcgt cagcgccgag 720
 gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct 780
 gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt 840
 gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag 888

<210> 498

<211> 888

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV6-5_TRBC2

<400> 498

gccaccatga gcatcggcct cctgtgctgt gcagccttgt ctctcctgtg ggcagggtcca 60
 gtgaatgctg gtgtcactca gacccccaaa ttccagggtcc tgaaaacagg acagagcatg 120
 aactgcagt gtgccagga tatgaaccat gaatacatgt cctgggtatcg acaagaccca 180
 ggcatggggc tgaggctgat tcattactca gttgggtgctg gtatcactga ccaaggagaa 240
 gtccccaatg gctacaatgt ctccagatca accacagagg atttcccgct caggctgctg 300
 tcggctgctc cctccagac atctgtgtac ttttgagag accttgcggc cgcataggtc 360
 tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc 420
 caaaaggcca cactgggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc 480
 tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gccctcaag 540
 gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc 600
 accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660
 gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccogtca cccagatcgt cagcgccgag 720
 gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct 780
 gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt 840
 gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag 888

<210> 499

<211> 888

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV6-6_TRBC2

<400> 499

gccaccatga gcatcagcct cctgtgctgt gcagcctttc ctctcctgtg ggcaggtcca	60
gtgaatgctg gtgtcactca gacccccaaa ttccgcatcc tgaagatagg acagagcatg	120
acactgcagt gtaccagga tatgaaccat aactacatgt actggtatcg acaagaccca	180
ggcatggggc tgaagctgat ttattattca gttggtgctg gtatcactga taaaggagaa	240
gtcccgaatg gctacaacgt ctccagatca accacagagg atttcccgtc caggctggag	300
ttggctgctc cctcccagac atctgtgtac ttttgagag accttgcggc cgcataaggtc	360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccgtca ccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt	840
gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag	888

<210> 500

<211> 885

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV6-8_TRBC2

<400> 500

gccaccatga gcctcgggct cctgtgctgt gcggcctttt ctctcctgtg ggcaggtccc	60
gtgaatgctg gtgtcactca gacccccaaa ttccacatcc tgaaaacagg acagagcatg	120
acactgcagt gtgccagga tatgaaccat ggatacatgt cctggtatcg acaagaccca	180
ggcatggggc tgagactgat ttactactca gctgctgctg gtactactga caaagaagtc	240
cccaatggct acaatgtctc tagattaaac acagaggatt tcccactcag gctggtgtcg	300
gctgctccct ccagacatc tgtgtacctt tgcagagacc ttgcggccgc ataggtctca	360
gtgttccac ccgaggctgc tgtgtttgag ccatcagaag cagagatctc ccacacccaa	420
aaggccacac tggatgcct ggccacaggc ttctaccccg accacgtgga gctgagctgg	480
tgggtgaatg ggaaggaggt gcacagtggg gtcagcacag acccgagcc cctcaaggag	540
cagcccgccc tcaatgactc cagatactgc ctgagcagcc gcctgagggg gtcggccacc	600

ttctggcaga acccccgcaa ccacttccgc tgtcaagtcc agttctacgg gctctcggag 660
aatgacgagt ggaccagga tagggccaaa cccgtcacc agatcgtcag cgccgaggcc 720
tggggtagag cagactgtgg cttcacctcc gagtcttacc agcaaggggt cctgtctgcc 780
accatcctct atgagatctt gctaggggaag gccaccttgt atgccgtgct ggtcagtgcc 840
ctcgtgctga tggccatggg caagagaaag gattccagag gctag 885

<210> 501

<211> 888

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV6-9_TRBC2

<400> 501

gccaccatga gcatcgggct cctgtgctgt gtggcctttt ctctcctgtg ggcagggtcca 60
gtgaatgctg gtgtcactca gaccccaaaa ttccacatcc tgaaaacagg acagagcatg 120
aactgcatgt gtgccagga tatgaaccat ggatacttgt cctgggtatcg acaagaccca 180
ggcatggggc tgaggcgcat tcattactca gttgctgctg gtatcactga caaaggagaa 240
gtccccgatg gctacaatgt atccagatca aacacagagg atttcccgtc caggctggag 300
tcagctgctc cctcccagac atctgtatac ttttgagag accttgcggc cgcataggtc 360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc 420
caaaaggcca cactgggatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc 480
tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gccctcaag 540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc 600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaacccgtca ccagatcgt cagcgccgag 720
gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct 780
gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt 840
gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag 888

<210> 502

<211> 891

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV7-2_TRBC2

<400> 502

gccaccatgg gcaccaggct cctcttctgg gtggccttct gtctcctggg ggcagatcac 60

acaggagctg	gagtcctcca	gtccccagct	aacaaggtca	cagagaaggg	aaaggatgta	120
gagctcaggt	gtgatccaat	ttcaggtcat	actgcccttt	actggtaccg	acagagcctg	180
gggcagggcc	tggagttttt	aattttacttc	caaggcaaca	gtgcaccaga	caaatacagg	240
ctgcccagtg	atcgcttctc	tgcagagagg	actgggggat	ccgtctccac	tctgacgatc	300
cagcgcacac	agcaggagga	ctcgcccgctg	tatctttgca	gagaccttgc	ggccgcatag	360
gtctcagtg	tcccacccga	ggtcgctgtg	tttgagccat	cagaagcaga	gatctccac	420
acccaaaagg	ccacactggt	atgcctggcc	acaggcttct	accccgacca	cgtggagctg	480
agctggtggg	tgaatgggaa	ggaggtgcac	agtgggggtca	gcacagaccc	gcagcccctc	540
aaggagcagc	ccgccctcaa	tgactccaga	tactgcctga	gcagccgcct	gaggggtgtcg	600
gccaccttct	ggcagaaccc	ccgcaaccac	ttccgctgtc	aagtccagtt	ctacgggctc	660
tcggagaatg	acgagtggac	ccaggatagg	gccaaaccgg	tcaccagat	cgtcagcgcc	720
gaggcctggg	gtagagcaga	ctgtggcttc	acctccgagt	cttaccagca	aggggtcctg	780
tctgccacca	tcctctatga	gatcttgcta	gggaaggcca	ccttgtatgc	cgtgctggtc	840
agtgcctcgt	tgctgatggc	catggtcaag	agaaaggatt	ccagaggcta	g	891

<210> 503

<211> 891

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV7-3_TRBC2

<400> 503

gccaccatgg	gcaccaggct	cctctgctgg	gcagccctgt	gcctcctggg	ggcagatcac	60
acagggtgctg	gagtcctcca	gacccccagct	aacaaggtca	cagagaaggg	aaaatatgta	120
gagctcaggt	gtgatccaat	ttcaggtcat	actgcccttt	actggtaccg	aaaagcctg	180
gggcagggcc	cagagtctct	aattttacttc	caaggcacgg	gtgcggcaga	tgactcaggg	240
ctgcccacg	atcggttctt	tgcagtcagg	cctgagggat	ccgtctctac	tctgaagatc	300
cagcgcacag	agcgggggga	ctcagccgtg	tatctttgca	gagaccttgc	ggccgcatag	360
gtctcagtg	tcccacccga	ggtcgctgtg	tttgagccat	cagaagcaga	gatctccac	420
acccaaaagg	ccacactggt	atgcctggcc	acaggcttct	accccgacca	cgtggagctg	480
agctggtggg	tgaatgggaa	ggaggtgcac	agtgggggtca	gcacagaccc	gcagcccctc	540
aaggagcagc	ccgccctcaa	tgactccaga	tactgcctga	gcagccgcct	gaggggtgtcg	600
gccaccttct	ggcagaaccc	ccgcaaccac	ttccgctgtc	aagtccagtt	ctacgggctc	660
tcggagaatg	acgagtggac	ccaggatagg	gccaaaccgg	tcaccagat	cgtcagcgcc	720

gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttc acctccgagt cttaccagca aggggtcctg 780
tctgccacca tcctctatga gatcttgcta gggaaggcca ccttgtatgc cgtgctggtc 840
agtgcctcgt tgctgatggc catggtcaag agaaaggatt ccagaggcta g 891

<210> 504

<211> 891

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV7-6_TRBC2

<400> 504

gccaccatgg gcaccagtct cctatgctgg gtggctcctgg gtttcctagg gacagatcac 60
acaggtgctg gagtctccca gtctcccagg taaaaagtca caaagagggg acaggatgta 120
gctctcaggt gtgatccaat ttcggtcat gtatcccttt attggtaccg acaggccctg 180
gggcagggcc cagagtttct gacttacttc aattatgaag cccaacaaga caaatcaggg 240
ctgccaatg atcggttctc tgcagagagg cctgagggat ccatctccac tctgacgatc 300
cagcgcacag agcagcggga ctcgccatg tatcggtgca gagaccttgc ggccgcatag 360
gtctcagtgt tcccaccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac 420
acccaaaagg ccacactggt atgcctggcc acaggcttct accccgacca cgtggagctg 480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtggggtca gcacagacc gcagcccctc 540
aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg 600
gccaccttct ggcagaacct ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc 660
tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaaccg tcaccagat cgtcagcgcc 720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttc acctccgagt cttaccagca aggggtcctg 780
tctgccacca tcctctatga gatcttgcta gggaaggcca ccttgtatgc cgtgctggtc 840
agtgcctcgt tgctgatggc catggtcaag agaaaggatt ccagaggcta g 891

<210> 505

<211> 891

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV7-7_TRBC2

<400> 505

gccaccatgg gtaccagtct cctatgctgg gtggctcctgg gtttcctagg gacagatcac 60
acaggtgctg gagtctccca gtctcccagg taaaaagtca caaagagggg acaggatgta 120
actctcaggt gtgatccaat ttcgagtcac gcaacccttt attggtatca acaggccctg 180

gggcagggcc cagagtttct gacttacttc aattatgaag ctcaaccaga caaatcaggg 240
ctgcccagtg atcggttctc tgcagagagg cctgagggat ccatctccac tctgacgatt 300
cagcgcacag agcagcggga ctcagccatg tatcgttgca gagaccttgc ggccgcatag 360
gtctcagtgt tcccacccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac 420
acccaaaagg ccacactggg atgcctggcc acaggcttct accccgacca cgtggagctg 480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtgggggtca gcacagaccc gcagcccctc 540
aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg 600
gccaccttct ggcagaaccc ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc 660
tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaaccgc tcaccagat cgtcagcgcc 720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttc acctccgagt cttaccagca aggggtcctg 780
tctgccacca tcctctatga gatcttgcta gggaaggcca ccttgtatgc cgtgctggtc 840
agtgcctctg tgctgatggc catggtcaag agaaaggatt ccagaggcta g 891

<210> 506

<211> 891

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV7-8_TRBC2

<400> 506

gccaccatgg gcaccaggct cctctgctgg gtggctcctgg gtttcctagg gacagatcac 60
acagggtgctg gagtctccca gtcccctagg taaaaagtcg caaagagagg acaggatgta 120
gctctcaggt gtgatccaat ttccgggtcat gtatcccttt tttggtacca acaggccctg 180
gggcaggggc cagagtttct gacttatttc cagaatgaag ctcaactaga caaatcgggg 240
ctgcccagtg atcgcttctt tgcagaaagg cctgagggat ccgtctccac tctgaagatc 300
cagcgcacac agcaggagga ctccgccgtg tatctttgca gagaccttgc ggccgcatag 360
gtctcagtgt tcccacccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac 420
acccaaaagg ccacactggg atgcctggcc acaggcttct accccgacca cgtggagctg 480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtgggggtca gcacagaccc gcagcccctc 540
aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg 600
gccaccttct ggcagaaccc ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc 660
tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaaccgc tcaccagat cgtcagcgcc 720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttc acctccgagt cttaccagca aggggtcctg 780

tctgccacca tcctctatga gatcttgcta gggaaggcca ccttgtatgc cgtgctggtc 840
 agtgcctcg tgctgatggc catggtcaag agaaaggatt ccagaggcta g 891

<210> 507
 <211> 891
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRBV7-9_TRBC2

<400> 507
 gccaccatgg gcaccagcct cctctgctgg atggccctgt gtctcctggg ggcagatcac 60
 gcagatactg gagtctccca gaaccccaga cacaagatca caaagagggg acagaatgta 120
 actttcaggt gtgatccaat ttctgaacac aaccgccttt attggtaccg acagaccctg 180
 gggcagggcc cagagtttct gacttacttc cagaatgaag ctcaactaga aaaatcaagg 240
 ctgctcagtg atcggttctc tgcagagagg cctaagggat ctttctccac cttggagatc 300
 cagcgcacag agcaggggga ctcgcccatg tatctttgca gagaccttgc ggccgcatag 360
 gtctcagtgt tcccaccga ggctcgtgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac 420
 acccaaaagg ccacactggt atgcctggcc acaggcttct accccgacca cgtggagctg 480
 agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtggggtca gcacagaccc gcagcccctc 540
 aaggagcagc ccgcctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtc 600
 gccaccttct ggcagaaccc ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc 660
 tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaaccog tcaccagat cgtcagcgcc 720
 gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttc acctccgagt cttaccagca aggggtcctg 780
 tctgccacca tcctctatga gatcttgcta gggaaggcca ccttgtatgc cgtgctggtc 840
 agtgcctcg tgctgatggc catggtcaag agaaaggatt ccagaggcta g 891

<210> 508
 <211> 888
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRBV9 TRBC2

<400> 508
 gccaccatgg gcttcaggct cctctgctgt gtggcctttt gtctcctggg agcaggccca 60
 gtggattctg gagtcacaca aaccccaaag cacctgatca cagcaactgg acagcgagt 120
 acgctgagat gctcccctag gtctggtgac ctctctgtgt actggtacca acagagcctg 180
 gaccagggcc tccagttcct cattcagtat tataatggag aagagagagc aaaaggaaac 240

attcttgaac gattctccgc acaacagttc cctgacttgc actctgaact aaacctgagc	300
tctctggagc tgggggactc agctttgtac ttttgcagag accttgccgc cgcataaggc	360
tcagtgttcc cacccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gcccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccctca cccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt	840
gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag	888

<210> 509

<211> 888

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV10-1_TRBC2

<400> 509

gccaccatgg gcacgaggct cttcttctat gtggcccttt gtctgctgtg ggcaggacac	60
agggatgctg aaatcaccca gagcccaaga cacaagatca cagagacagg aaggcagggtg	120
accttggcgt gtcaccagac ttggaaccac aacaatatgt tctggatatcg acaagacctg	180
ggacatgggc tgaggctgat ccattactca tatggtgttc aagacactaa caaaggagaa	240
gtctcagatg gctacagtgt ctctagatca aacacagagg acctccccct cactctggag	300
tctgctgcct cctcccagac atctgtatac ttttgcagag accttgccgc cgcataaggc	360
tcagtgttcc cacccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gcccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccctca cccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt	840
gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag	888

<210> 510
 <211> 888
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRBV10-2_TRBC2

<400> 510
 gccaccatgg gcaccaggct cttcttctat gtggcccttt gtctgctgtg ggcaggacac 60
 agggatgctg gaatcaccca gagcccaaga tacaagatca cagagacagg aaggcagggtg 120
 accttgatgt gtcaccagac ttggagccac agctatatgt tctggtatcg acaagacctg 180
 ggacatgggc tgaggctgat ctattactca gcagctgctg atattacaga taaaggagaa 240
 gtccccgatg gctatgttgt ctccagatcc aagacagaga atttccccct cactctggag 300
 tcagctaccc gctcccagac atctgtgtac ttttgcagag accttgcggc cgcatagggtc 360
 tcagtgttcc cacccgagggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc 420
 caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc 480
 tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gccctcaag 540
 gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc 600
 accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660
 gagaatgacg agtggacca ggatagggcc aaacccgtca ccagatcgt cagcgccgag 720
 gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct 780
 gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt 840
 gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag 888

<210> 511
 <211> 888
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRBV10-3_TRBC2

<400> 511
 gccaccatgg gcacaagggt gttcttctat gtggcccttt gtctcctgtg gacaggacac 60
 atggatgctg gaatcaccca gagcccaaga cacaagggtca cagagacagg aacaccagtg 120
 actctgagat gtcaccagac tgagaaccac cgctatatgt actggtatcg acaagacccg 180
 gggcatgggc tgaggctgat ccattactca tatggtgtta aagatactga caaaggagaa 240
 gtctcagatg gctatagtgt ctctagatca aagacagagg atttcctcct cactctggag 300
 tccgctacca gctcccagac atctgtgtac ttttgcagag accttgcggc cgcatagggtc 360

tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgtt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgcctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaacccgtca ccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt	840
gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag	888

<210> 512

<211> 891

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV11-1_TRBC2

<400> 512

gccaccatga gcaccaggct tctctgctgg atggccctct gtctcctggg ggcagaactc	60
tcagaagctg aagttgccca gtccccaga tataagatta cagagaaaag ccaggctgtg	120
gctttttggt gtgatcctat ttctggccat gctacccttt actggtaccg gcagatcctg	180
ggacagggcc cggagcttct ggttcaattt caggatgaga gtgtagtaga tgattcacag	240
ttgcctaagg atcgattttc tgcagagagg ctcaaaggag tagactccac tctcaagatc	300
cagcctgcag agcttgggga ctggccatg tatctttgca gagaccttgc ggccgcatag	360
gtctcagtgt tcccaccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac	420
acccaaaagg ccacactggt atgcctggcc acaggcttct accccgacca cgtggagctg	480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtggggtca gcacagaccc gcagcccctc	540
aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg	600
gccaccttct ggcagaaccc ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc	660
tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaacccg tcaccagat cgtcagcgcc	720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttc acctccgagt cttaccagca aggggtcctg	780
tctgccacca tctctatga gatcttgcta gggaaggcca ccttgtatgc cgtgctggtc	840
agtgcctcgt tgctgatggc catggtcaag agaaaggatt ccagaggcta g	891

<210> 513

<211> 891

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV11-2_TRBC2

<400> 513

```
gccaccatgg gcaccaggct cctctgctgg gcggccctct gtctcctggg agcagaactc      60
acagaagctg gagttgccca gtctcccaga tataagatta tagagaaaag gcagagtgtg      120
gcttttttgg gcaatcctat atctggccat gctacccttt actggtacca gcagatcctg      180
ggacagggcc caaagcttct gattcagttt cagaataacg gtgtagtgga tgattcacag      240
ttgcctaagg atcgattttc tgcagagagg ctcaaaggag tagactccac tctcaagatc      300
cagcctgcaa agcttgagga ctcggccgtg tatctttgca gagaccttgc ggccgcatag      360
gtctcagtgt tcccaccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac      420
acccaaaagg ccacactggt atgcctggcc acaggcttct accccgacca cgtggagctg      480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtgggggtca gcacagaccc gcagcccctc      540
aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg      600
gccaccttct ggcagaaccc ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc      660
tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaacccg tcaccagat cgtcagcgcc      720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttc acctccgagt cttaccagca aggggtcctg      780
tctgccacca tcctctatga gatcttgcta gggaaggcca ccttgtatgc cgtgctggtc      840
agtgcctcgt tgctgatggc catggtcaag agaaaggatt ccagaggcta g      891
```

<210> 514

<211> 891

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV11-3_TRBC2

<400> 514

```
gccaccatgg gtaccaggct cctctgctgg gtggccttct gtctcctggg ggaagaactc      60
atagaagctg gagtggttca gtctcccaga tataagatta tagagaaaaa acagcctgtg      120
gcttttttgg gcaatcctat ttctggccac aatacccttt actggtacct gcagaacttg      180
ggacagggcc cggagcttct gattcgatat gagaatgagg aagcagtaga cgattcacag      240
ttgcctaagg atcgattttc tgcagagagg ctcaaaggag tagactccac tctcaagatc      300
cagcctgcag agcttgggga ctcggccgtg tatctttgca gagaccttgc ggccgcatag      360
gtctcagtgt tcccaccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac      420
```

acccaaaagg ccacactggt atgcctggcc acaggcttct accccgacca cgtggagctg	480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtggggtca gcacagaccc gcagcccctc	540
aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg	600
gccaccttct ggcagaaccc ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc	660
tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaaccgc tcaccagat cgtcagcgcc	720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttc acctccgagt cttaccagca aggggtcctg	780
tctgccacca tcctctatga gatcttgcta gggaaggcca ccttgtatgc cgtgctggtc	840
agtgcctcgc tgctgatggc catggtcaag agaaaggatt ccagaggcta g	891

<210> 515

<211> 891

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV12-3_TRBC2

<400> 515

gccaccatgg actcctggac cttctgctgt gtgtcccttt gcatcctggg agcgaagcat	60
acagatgctg gagttatcca gtcacccgcg catgaggtga cagagatggg acaagaagtg	120
actctgagat gtaaaccaat ttcaggccac aactcccttt tctggtacag acagaccatg	180
atgcggggac tggagttgct catttacttt aacaacaacg ttccgataga tgattcaggg	240
atgcccaggg atcgattctc agctaagatg cctaattgcat cattctccac tctgaagatc	300
cagccctcag aaccagggga ctcagctgtg tacttttgca gagaccttgc ggccgcatag	360
gtctcagtgt tcccaccgga ggtcgtgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac	420
acccaaaagg ccacactggt atgcctggcc acaggcttct accccgacca cgtggagctg	480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtggggtca gcacagaccc gcagcccctc	540
aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg	600
gccaccttct ggcagaaccc ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc	660
tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaaccgc tcaccagat cgtcagcgcc	720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttc acctccgagt cttaccagca aggggtcctg	780
tctgccacca tcctctatga gatcttgcta gggaaggcca ccttgtatgc cgtgctggtc	840
agtgcctcgc tgctgatggc catggtcaag agaaaggatt ccagaggcta g	891

<210> 516

<211> 891

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV12-4_TRBC2

<400> 516

```
gccaccatgg actcctggac cctctgctgt gtgtcccttt gcatcctggt agcaaagcac      60
acagatgctg gagttatcca gtcaccccg gacgaggtga cagagatggg acaagaagtg      120
actctgagat gtaaaccaat ttcaggacac gactaccttt tctggtacag acagaccatg      180
atgcgggggac tggagttgct catttacttt aacaacaacg ttccgataga tgattcaggg      240
atgcccgagg atcgattctc agctaagatg cctaatacat cattctccac tctgaagatc      300
cagccctcag aaccagggga ctgagctgtg tacttttgca gagaccttgc ggccgcatag      360
gtctcagtgt tcccaccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctcccac      420
acccaaaagg ccacactggt atgcctggcc acaggcttct accccgacca cgtggagctg      480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtggggtca gcacagaccc gcagcccctc      540
aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg      600
gccaccttct ggcagaaccc ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc      660
tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaaccgg tcaccagat cgtcagcgcc      720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttc acctccgagt cttaccagca aggggtcctg      780
tctgccacca tcctctatga gatcttgcta ggggaaggcca ccttgtatgc cgtgctggtc      840
agtgcctcgt tgctgatggc catggtcaag agaaaggatt ccagaggcta g      891
```

<210> 517

<211> 891

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV12-5_TRBC2

<400> 517

```
gccaccatgg ccaccaggct cctctgctgt gtgggttcttt gtctcctggg agaagagctt      60
atagatgcta gagtcaccca gacaccaagg cacaaggtga cagagatggg acaagaagta      120
acaatgagat gtcagccaat tttaggccac aatactgttt tctggtacag acagaccatg      180
atgcaaggac tggagttgct ggcttacttc cgcaaccggg ctctctaga tgattcgggg      240
atgccgaagg atcgattctc agcagagatg cctgatgcaa ctttagccac tctgaagatc      300
cagccctcag aaccagggga ctgagctgtg tacttttgca gagaccttgc ggccgcatag      360
gtctcagtgt tcccaccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctcccac      420
acccaaaagg ccacactggt atgcctggcc acaggcttct accccgacca cgtggagctg      480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtggggtca gcacagaccc gcagcccctc      540
```

aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg 600
gccaccttct ggcagaacct ccgcaaccac ttccgctgtc aagtcagtt ctacgggctc 660
tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaacctg tcacccagat cgtcagcgcc 720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttc acctccgagt cttaccagca aggggtcctg 780
tctgccacca tcctctatga gatcttgcta gggaaggcca ccttgtatgc cgtgctggtc 840
agtgcctctg tgctgatggc catggtcaag agaaaggatt ccagaggcta g 891

<210> 518

<211> 918

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV13_TRBC2

<400> 518

gccaccatgc ttagtcctga cctgcctgac tctgcctgga acaccaggct cctctgccat 60
gtcatgcttt gtctcctggg agcagtttca gtggctgctg gagtcatcca gtccccaaga 120
catctgatca aagaaaagag ggaaacagcc actctgaaat gctatcctat ccctagacac 180
gacactgtct actggtacca gcagggtcca ggtcaggacc ccagttcct catttcgttt 240
tatgaaaaga tgcagagcga taaaggaagc atccctgatc gattctcagc tcaacagttc 300
agtgactatc attctgaact gaacatgagc tccttgaggc tgggggactc agccctgtac 360
ttttgcagag accttgccgc cgcataggtc tcagtgttcc cacccgaggt cgctgtgttt 420
gagccatcag aagcagagat ctccacaccc caaaaggcca cactggtatg cctggccaca 480
ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt 540
ggggtcagca cagacctgca gccctcaag gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac 600
tgcctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc accttctggc agaacccccg caaccacttc 660
cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc 720
aaacctgtca ccagatcgt cagcgccgag gcctggggta gagcagactg tggttccacc 780
tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg 840
aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga 900
aaggattcca gaggctag 918

<210> 519

<211> 891

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV14_TRBC2

<400> 519

gccaccatgg tttccaggct tctcagttta gtgtcccttt gtctcctggg agcaaagcac	60
atagaagctg gagttactca gttccccagc cacagcgtaa tagagaaggg ccagactgtg	120
actctgagat gtgacccaat ttctggacat gataatcttt attggtatcg acgtgttatg	180
ggaaaagaaa taaaatttct gttacatttt gtgaaagagt ctaaacagga tgagtccggt	240
atgcccaaca atcgattctt agctgaaagg actggaggga cgtattctac tctgaagggtg	300
cagcctgcag aactggagga ttctggagtt tacttttgca gagaccttgc ggccgcatag	360
gtctcagtgt tcccaccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac	420
acccaaaagg ccacactggt atgcctggcc acaggcttct accccgacca cgtggagctg	480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtggggtca gcacagaccc gcagcccctc	540
aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg	600
gccaccttct ggcagaaccc ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc	660
tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaaccgg tcaccagat cgtcagcgcc	720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttc acctccgagt cttaccagca aggggtcctg	780
tctgccacca tcctctatga gatcttgcta gggaaaggcca ccttgtatgc cgtgctggtc	840
agtgcctctg tgctgatggc catggtcaag agaaaggatt ccagaggcta g	891

<210> 520

<211> 888

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV15_TRBC2

<400> 520

gccaccatgg gtcctgggct tctccactgg atggcccttt gtctccttgg aacagggtcat	60
ggggatgcca tgggtcatcca gaaccacaaga taccaggtta ccagtttgg aaagccagtg	120
accctgagtt gttctcagac tttgaaccat aacgtcatgt actggtacca gcagaagtca	180
agtcaggccc caaagctgct gttccactac tatgacaaag attttaacaa tgaagcagac	240
accctgata acttccaatc caggaggccg aacacttctt tctgctttct tgacatccgc	300
tcaccaggcc tgggggacac agccatgtac ctttgagag accttgccgc cgcataggtc	360
tcagtgttcc caccgagggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gccctcaag	540

gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc 600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaacccgtca cccagatcgt cagcgccgag 720
gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct 780
gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt 840
gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag 888

<210> 521

<211> 891

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV16_TRBC2

<400> 521

gccaccatga gcccaatatt cacctgcata acaatccttt gtctgctggc tgcaggttct 60
cctggtgaag aagtcgcca gactccaaa catcttgtca gaggggaagg acagaaagca 120
aaattatatt gtgcccgaat aaaaggacac agttatgttt tttggtacca acaggctcctg 180
aaaaacgagt tcaagttctt gatttccttc cagaatgaaa atgtctttga tgaaacaggt 240
atgcccgaag aaagatcttc agctaagtgc ctcccaaatt caccctgtag ccttgagatc 300
caggctacga agcttgagga ttcagcagtg tacttttgca gagaccttgc ggccgcatag 360
gtctcagtgt tcccaccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac 420
acccaaaagg ccacactggt atgcctggcc acaggcttct accccgacca cgtggagctg 480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtggggtca gcacagaccc gcagcccctc 540
aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg 600
gccaccttct ggcagaaccc ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc 660
tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaaccog tcaccagat cgtcagcgcc 720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttc acctccgagt cttaccagca aggggtcctg 780
tctgccacca tcctctatga gatcttgcta ggaaggcca ccttgtatgc cgtgctggtc 840
agtgcctcgt tgctgatggc catggtcaag agaaaggatt ccagaggcta g 891

<210> 522

<211> 891

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV18_TRBC2

<400> 522

gccaccatgg acaccagagt actctgctgt gcggtcatct gccttctggg ggcaggactc 60
tcaaatgccg gcgtcatgca gaacccaaga cacctggtca ggaggagggg acaggaggca 120
agactgagat gcagcccaat gaaaggacac agtcatgttt actggtatcg gcagctccca 180
gaggaaggtc tgaaattcat ggtttatctc cagaaagaaa atatcataga tgagttagga 240
atgccaaagg aacgattttc tgctgaattt cccaaagagg gccccagcat cctgaggatc 300
cagcaggtag tgcgaggaga ttcggcagct tacttttgca gagaccttgc ggccgcatag 360
gtctcagtgt tcccaccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac 420
acccaaaagg ccacactggt atgcctggcc acaggcttct accccgacca cgtggagctg 480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtggggtca gcacagaccc gcagcccctc 540
aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg 600
gccaccttct ggcagaaccc ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc 660
tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaaccog tcaccagat cgtcagcgcc 720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttc acctccgagt cttaccagca aggggtcctg 780
tctgccacca tcctctatga gatcttgcta gggaaggcca ccttgtatgc cgtgctggtc 840
agtgcctcgt tgctgatggc catggtcaag agaaaggatt ccagaggcta g 891

<210> 523

<211> 888

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV19_TRBC2

<400> 523

gccaccatga gcaaccaggt gctctgctgt gtggctccttt gtttcctggg agcaaacacc 60
gtggatggtg gaatcactca gtccccaag tactgttca gaaaggaagg acagaatgtg 120
acctgagtt gtgaacagaa tttgaaccac gatgccatgt actggtaccg acaggaccca 180
gggcaagggc tgagattgat ctactactca cagatagtaa atgactttca gaaaggagat 240
atagctgaag ggtacagcgt ctctcgggag aagaaggaat cctttcctct cactgtgaca 300
tcggcccaa agaaccgac agctttctat ctttgagag accttgcggc cgcataggtc 360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc 420
caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc 480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagaccgca gcccctcaag 540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc 600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660

gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaacccgtca cccagatcgt cagcgccgag 720
gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct 780
gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt 840
gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag 888

<210> 524
<211> 882
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRBV20-1_TRBC2

<400> 524
gccaccatgc tgctgcttct gctgcttctg gggccaggct ccgggcttgg tgctgtcgtc 60
tctcaacatc cgagctgggt tatctgtaag agtggaaacct ctgtgaagat cgagtgccgt 120
tccttgact ttcaggccac aactatgttt tggatcgtc agttcccgaa acagagtctc 180
atgctgatgg caacttccaa tgagggctcc aaggccacat acgagcaagg cgtcgagaag 240
gacaagtttc tcatcaacca tgcaagcctg accttggtcca ctctgacagt gaccagtgcc 300
catcctgaag atagcagctt ctacatttgc agagaccttg cgcccgcata ggtctcagtg 360
ttcccacccg aggtcgtgtg gtttgagcca tcagaagcag agatctcca caccaaaag 420
gccacactgg tatgcctggc cacaggcttc taccocgacc acgtggagct gagctggtgg 480
gtgaatggga aggaggtgca cagtggggtc agcacagacc cgagccccct caaggagcag 540
ccgcccctca atgactccag atactgctg agcagccgcc tgaggggtgc ggccaccttc 600
tggcagaacc cccgcaacca cttccgctgt caagtccagt tctacgggct ctcgagaaat 660
gacgagtgga cccaggatag ggccaaacct gtcaccaga tcgtcagcgc cgaggcctgg 720
ggtagagcag actgtggctt cacctccgag tcttaccagc aaggggtcct gtctgccacc 780
atcctctatg agatcttgct agggaaggcc accttgatg ccgtgctggg cagtgccctc 840
gtgctgatgg ccatggtcaa gagaaaggat tccagaggct ag 882

<210> 525
<211> 888
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRBV24-1_TRBC2

<400> 525
gccaccatgg cctccctgct cttcttctgt ggggcctttt atctcctggg aacagggtcc 60
atggatgctg atgttaccca gacccaagg aataggatca caaagacagg aaagaggatt 120

atgctggaat gttctcagac taagggtcat gatagaatgt actggtatcg acaagaccca	180
ggactggggc tacggttgat ctattactcc tttgatgtca aagatataaa caaaggagag	240
atctctgatg gatacagtgt ctctcgacag gcacaggcta aattctccct gtccctagag	300
tctgccatcc ccaaccagac agctctttac ttttgcagag accttgcggc cgcataaggctc	360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagaccgca gccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccgtca ccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt	840
gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag	888

<210> 526

<211> 888

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV25-1_TRBC2

<400> 526

gccaccatga ctatcaggct cctctgctac atgggctttt attttctggg ggcaggcctc	60
atggaagctg acatctacca gaccccaaga taccttggtta tagggacagg aaagaagatc	120
actctggaat gttctcaaac catgggccat gacaaaatgt actggtatca acaagatcca	180
ggaatggaac tacacctcat ccactattcc tatggagtta attccacaga gaaggagat	240
ctttcctctg agtcaacagt ctccagaata aggacggagc attttcccct gaccctggag	300
tctgccaggc cctcacatac ctctcagtac ctttgcagag accttgcggc cgcataaggctc	360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagaccgca gccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccgtca ccagatcgt cagcgccgag	720

gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct 780
gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt 840
gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag 888

<210> 527
<211> 888
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRBV27_TRBC2

<400> 527
gccaccatgg gccccagct ccttggtat gtggctcttt gccttctagg agcaggcccc 60
ctggaagccc aagtgaccca gaacccaaga tacctcatca cagtgactgg aaagaagtta 120
acagtgactt gttctcagaa tatgaacct gagtatatgt cctggatatcg acaagaccca 180
gggctgggct taaggcagat ctactattca atgaatgttg aggtgactga taaggagat 240
gttcctgaag ggtacaaagt ctctcgaaaa gagaagagga atttccccct gatcctggag 300
tcgcccagcc ccaaccagac ctctctgtac ttttgcagag accttgccggc cgcataaggctc 360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc 420
caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc 480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagaccgca gccctcaag 540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc 600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccgctca ccagatcgt cagcgccgag 720
gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct 780
gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt 840
gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag 888

<210> 528
<211> 888
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRBV28_TRBC2

<400> 528
gccaccatgg gaatcaggct cctctgtcgt gtggcctttt gtttctggc tgtaggcctc 60
gtagatgtga aagtaaccca gagctcgaga tatctagtca aaaggacggg agagaaagtt 120
tttctggaat gtgtccagga tatggacct gaaaatatgt tctggatatcg acaagaccca 180

ggtctggggc tacggctgat ctatttctca tatgatgtta aaatgaaaga aaaaggagat 240
 attcctgagg ggtacagtgt ctctagagag aagaaggagc gcttctccct gattctggag 300
 tccgccagca ccaaccagac atctatgtac ctttgcagag accttgccgc cgcataggtc 360
 tcagtgttcc cacccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc 420
 caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc 480
 tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gccctcaag 540
 gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc 600
 accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660
 gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccgtca ccagatcgt cagcgccgag 720
 gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct 780
 gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt 840
 gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag 888

<210> 529

<211> 882

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV29-1_TRBC2

<400> 529

gccaccatgc tgagtctact gctccttctc ctgggactag gctctgtgtt cagtgtgtgc 60
 atctctcaaa agccaagcag ggatatctgt caacgtggaa cctccctgac gatccagtgt 120
 caagtgcata gccaagtcac catgatgttc tggtagcgtc agcaacctgg acagagcctg 180
 aactgatcg caactgcaaa tcagggctct gagggccat atgagagtgg atttgtcatt 240
 gacaagtttc ccatcagccg cccaaacctc acattctcaa ctctgactgt gagcaacatg 300
 agccctgaag atagcagcat atatctttgc agagaccttg cggccgcata ggtctcagtg 360
 ttcccacccg aggtcgtgtg gtttgagcca tcagaagcag agatctcca caccctaaag 420
 gccacactgg tatgcctggc cacaggcttc taccocgacc acgtggagct gagctgggtg 480
 gtgaatggga aggaggtgca cagtggggtc agcacagacc cgcagcccct caaggagcag 540
 cccgccctca atgactccag atactgcctg agcagccgcc tgaggggtgtc ggccaccttc 600
 tggcagaacc cccgcaacca cttccgctgt caagtccagt tctacgggct ctcgagagaat 660
 gacgagtgga ccaggatag ggccaaacct gtcaccacga tcgtcagcgc cgaggcctgg 720
 ggtagagcag actgtggctt cacctccgag tcttaccagc aaggggtcct gtctgccacc 780
 atcctctatg agatcttgct aggggaaggcc accttgtatg ccgtgctggg cagtgccctc 840

gtgctgatgg ccatgggtcaa gagaaaggat tccagaggct ag 882

<210> 530

<211> 882

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV30_TRBC2

<400> 530

gccaccatgc tctgctctct ccttgccctt ctcttgggca ctttcttttg ggtcagatct 60

cagactattc atcaatggcc agcgaccctg gtgcagcctg tgggcagccc gctctctctg 120

gagtgcactg tggagggaac atcaaaccac aacctatact ggtaccgaca ggctgcaggc 180

aggggcctcc agctgctctt ctactccgtt ggtattggcc agatcagctc tgagggtgcc 240

cagaatctct cagcctccag accccaggac cggcagttca tcctgagttc taagaagctc 300

cttctcagtg actctggctt ctatctttgc agagaccttg cggccgcata ggtctcagtg 360

ttcccaccgc aggtcgctgt gtttgagcca tcagaagcag agatctccca caccctaaag 420

gccacactgg tatgcctggc cacaggcttc taccocgacc acgtggagct gagctggtgg 480

gtgaatggga aggaggtgca cagtggggtc agcacagacc cgcagccctt caaggagcag 540

cccgccttca atgactccag atactgcctg agcagccgcc tgagggtgtc ggccaccttc 600

tggcagaacc cccgcaacca cttccgctgt caagtccagt tctacgggct ctcgagaaat 660

gacgagtgga cccaggatag ggccaaaccg gtcaccacaga tcgtcagcgc cgaggcctgg 720

ggtagagcag actgtggctt cacctccgag tcttaccagc aagggtcct gtctgccacc 780

atcctctatg agatcttgct aggggaaggc accttgatg ccgtgctggt cagtgccttc 840

gtgctgatgg ccatgggtcaa gagaaaggat tccagaggct ag 882

<210> 531

<211> 885

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV2 TRBC1

<400> 531

gccaccatgg atacctggct cgtatgctgg gcaattttta gtctcttgaa agcaggactc 60

acagaacctg aagtcaccca gactccagc catcaggtca cacagatggg acaggaagtg 120

atcttgcgct gtgtcccat ctctaatac ttatacttct attggtacag acaaatcttg 180

gggcagaaag tcgagtttct ggtttccttt tataataatg aaatctcaga gaagtctgaa 240

atattcgatg atcaattctc agttgaaagg cctgatggat caaatttcac tctgaagatc 300

cgggtccacaa agctggagga ctgagccatg tactttttgca gagaccttgc ggccgcatag 360
 gtctcagtgt tcccacccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac 420
 acccaaaagg ccacactggg gtgcctggcc acaggcttct tccccgacca cgtggagctg 480
 agctgggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtgggggtca gcacagaccc gcagcccctc 540
 aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg 600
 gccaccttct ggcagaaccc ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc 660
 tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaacccg tcaccagat cgtcagcgcc 720
 gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttt acctcggtgt cctaccagca aggggtcctg 780
 tctgccacca tcctctatga gatcctgcta gggaaggcca ccctgtatgc tgtgtgtgtc 840
 agcgcccttg tgttgatggc catggtcaag agaaaggatt tctga 885

<210> 532

<211> 882

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV3-1_TRBC1

<400> 532

gccaccatgg gctgcaggct cctctgctgt gtgggtctttt gcctcctcca agcagggtccc 60
 ttggacacag ctgtttccca gactccaaaa tacctggtca cacagatggg aaacgacaag 120
 tccattaaat gtgaacaaaa tctgggccat gatactatgt attggtataa acaggactct 180
 aagaaatttc tgaagataat gtttagctac aataataagg agctcattat aaatgaaaca 240
 gttccaaatc gcttctcacc taaatctcca gacaaagctc acttaaattct tcacatcaat 300
 tccttgagagc ttggtgactc tgctgtgtat ttttgagag accttgcggc cgcataggctc 360
 tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc 420
 caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc 480
 tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagaccgca gccctcaag 540
 gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc 600
 accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660
 gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaacccgtca ccagatcgt cagcgccgag 720
 gcctggggta gagcagactg tggctttacc tcgggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct 780
 gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc 840
 gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga 882

<210> 533
 <211> 882
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRBV4-1_TRBC1

<400> 533
 gccacatgg gctgcaggct gctctgctgt gcggttctct gtctcctggg agcagttccc 60
 atagacactg aagttaccca gacacaaaa cacctggtca tgggaatgac aaataagaag 120
 tctttgaaat gtgaacaaca tatggggcac agggctatgt attggtacaa gcagaaagct 180
 aagaagccac cggagctcat gtttgtctac agctatgaga aactctctat aaatgaaagt 240
 gtgccaagtc gcttctcacc tgaatgcccc aacagctctc tcttaaacct tcacctacac 300
 gccctgcagc cagaagattc agccctgtat ctttgcagag accttgcggc cgcataggctc 360
 tcagtgttcc caccggaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc 420
 caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc 480
 tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gcccctcaag 540
 gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc 600
 accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660
 gagaatgacg agtggacca ggatagggcc aaaccgtca ccagatcgt cagcgccgag 720
 gcctggggta gagcagactg tggctttacc tcgggtgtct accagcaagg ggtcctgtct 780
 gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc 840
 gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga 882

<210> 534
 <211> 882
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRBV4-2_TRBC1

<400> 534
 gccacatgg gctgcaggct gctctgctgt gcggttctct gtctcctggg agcgggtccc 60
 atggaaacgg gagttacgca gacaccaaga cacctggtca tgggaatgac aaataagaag 120
 tctttgaaat gtgaacaaca tctggggcat aacgctatgt attggtacaa gcaaagtgtc 180
 aagaagccac tggagctcat gtttgtctac aactttaaag aacagactga aaacaacagt 240
 gtgccaagtc gcttctcacc tgaatgcccc aacagctctc acttattcct tcacctacac 300
 acctgcagc cagaagattc ggccctgtat ctttgcagag accttgcggc cgcataggctc 360

tcaagtgttcc cacccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactgggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gcccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgcttgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaacccgtca ccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggctttacc tcggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc	840
gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga	882

<210> 535

<211> 882

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV4-3_TRBC1

<400> 535

gccaccatgg gctgcaggct gctctgctgt gcggttctct gtctcctggg agcgggtcccc	60
atggaaacgg gagttacgca gacaccaaga cacctggtca tgggaatgac aaataagaag	120
tctttgaaat gtgaacaaca tctgggtcat aacgctatgt attggtacaa gcaaagtgtc	180
aagaagccac tggagctcat gtttgtctac agtcttgaag aacgggttga aaacaacagt	240
gtgccaagtc gcttctcacc tgaatgcccc aacagctctc acttattcct tcacctacac	300
accctgcagc cagaagattc ggccctgtat ctttgagag accttgccgc cgcataagtc	360
tcaagtgttcc cacccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactgggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gcccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgcttgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaacccgtca ccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggctttacc tcggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc	840
gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga	882

<210> 536

<211> 882

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV5-1_TRBC1

<400> 536

```
gccacatgg gctccaggct gctctgttgg gtgctgcttt gtctcctggg agcaggccca      60
gtaaaggctg gagtcactca aactccaaga tatctgatca aaacgagagg acagcaagtg      120
acactgagct gctcccctat ctctgggcat aggagtgtat cctggtacca acagacccca      180
ggacagggcc ttcagttcct ctttgaatac ttcagtgaga cacagagaaa caaaggaaac      240
ttccctggtc gattctcagg ggcgcagttc tctaactctc gctctgagat gaatgtgagc      300
accttgagc tgggggactc ggccctttat ctttgcagag accttgcggc cgcataggctc      360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc      420
caaaaggcca cactgggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc      480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagaccgca gccctcaag      540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc      600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg      660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccgctca ccagatcgt cagcgccgag      720
gcctggggta gagcagactg tggctttacc tcggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct      780
gccacatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc      840
gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga                        882
```

<210> 537

<211> 882

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV5-4_TRBC1

<400> 537

```
gccacatgg gccctgggct cctctgctgg gtgctgcttt gtctcctggg agcaggctca      60
gtggagactg gagtcaccca aagtcccaca cacctgatca aaacgagagg acagcaagtg      120
actctgagat gctcttctca gtctgggcac aacactgtgt cctggtacca acaggccctg      180
ggtcaggggc ccagttttat ctttcagtat tatagggagg aagagaatgg cagaggaaac      240
ttccctccta gattctcagg actccagttc cctaattata gctctgagct gaatgtgaac      300
gccttgagc tggacgactc ggccctgtat ctttgcagag accttgcggc cgcataggctc      360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc      420
caaaaggcca cactgggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc      480
```

tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaacccgtca cccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggctttacc tcggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc	840
gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga	882

<210> 538

<211> 882

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV5-5_TRBC1

<400> 538

gccaccatgg gccctgggct cctctgctgg gtgctgcttt gtctcctggg agcaggccca	60
gtggacgctg gagtcaccca aagtcccaca cacctgatca aaacgagagg acagcaagtg	120
actctgagat gctctcctat ctctgggcac aagagtgtgt cctggtacca acaggctctg	180
ggtcaggggc cccagtttat ctttcagtat tatgagaaag aagagagagg aagaggaaac	240
ttccctgatc gattctcagc tcgccagttc cctaactata gctctgagct gaatgtgaac	300
gccttggtgc tgggggactc ggccctgtat ctttgagag accttgcggc cgcataggctc	360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaacccgtca cccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggctttacc tcggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc	840
gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga	882

<210> 539

<211> 882

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV5-6_TRBC1

<400> 539

gccaccatgg gccccgggct cctctgctgg gcactgcttt gtctcctggg agcaggctta	60
gtggacgctg gaggcaccca aagtccaca cacctgatca aaacgagagg acagcaagtg	120
actctgagat gctctcctaa gtctgggcat gacactgtgt cctggtacca acaggccctg	180
ggtcaggggc cccagtttat ctttcagtat tatgaggagg aagagagaca gagaggcaac	240
ttccctgata gattctcagg tcaccagttc cctaactata gctctgagct gaatgtgaac	300
gccttggtgc tgggggactc ggccctctat ctttgagag accttgcggc cgcataggtc	360
tcagtgttcc caccgagggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggacca ggatagggcc aaaccgtca cccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggttttacc tcggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc	840
gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga	882

<210> 540

<211> 882

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV5-7_TRBC1

<400> 540

gccaccatgg gccccgggct cctctgctgg gtgctgcttt gtcccctagg agaaggccca	60
gtggacgctg gaggcaccca aagtccaca cacctgatca aaacgagagg acagcacgtg	120
actctgagat gctctcctat ctctgggcat accagtgtgt cctcgtacca acaggccctg	180
ggtcaggggc cccagtttat ctttcagtat tatgagaaag aagagagagg aagaggaaac	240
ttccctgata aattctcagg tcaccagttc cctaactata gctctgagct gaatgtgaac	300
gccttggtgc taggggactc ggccctctat ctttgagag accttgcggc cgcataggtc	360
tcagtgttcc caccgagggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gccctcaag	540

gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc 600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaacccgtca cccagatcgt cagcgccgag 720
gcctggggta gagcagactg tggctttacc tcggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct 780
gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc 840
gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga 882

<210> 541

<211> 882

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV5-8_TRBC1

<400> 541

gccaccatgg gaccaggtc cctcttctgg gcaactgttt gtctcctcgg aacaggccca 60
gtggaggctg gagtacaca aagtccaca cacctgatca aaacgagagg acagcaagcg 120
actctgagat gctctcctat ctctgggcac accagtgtgt actggtacca acaggccctg 180
ggtctggggc tccagttcct cctttggtat gacgaggggtg aagagagaaa cagaggaaac 240
ttccctccta gatcttcagg tcgccagttc cctaattata gctctgagct gaatgtgaac 300
gccttgagc tggaggactc ggccctgtat ctttgacagag accttgccgc cgcataggtc 360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctccacacc 420
caaaaggcca cactgggtgt cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc 480
tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagaccgca gccctcaag 540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc 600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaacccgtca cccagatcgt cagcgccgag 720
gcctggggta gagcagactg tggctttacc tcggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct 780
gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc 840
gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga 882

<210> 542

<211> 882

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV6-1_TRBC1

<400> 542

gccaccatga gcatcgggct cctgtgctgt gtggcctttt ctctcctgtg ggcaagtcca 60
 gtgaatgctg gtgtcactca gacccccaaa ttccagggtcc tgaaaacagg acagagcatg 120
 aactgctggt gtgcccagga tatgaaccat aactccatgt actggtatcg acaagaccca 180
 ggcatgggac tgaggctgat ttattactca gcttctgagg gtaccactga caaaggagaa 240
 gtccccaatg gctacaatgt ctccagatta aacaaacggg agttctcgct caggctggag 300
 tcggctgctc cctcccagac atctgtgtac ttttgcagag accttgccgc cgcataaggtc 360
 tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc 420
 caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc 480
 tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagaccgcga gcccctcaag 540
 gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc 600
 accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660
 gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccgtca ccagatcgt cagcgccgag 720
 gcctggggta gagcagactg tggctttacc tcgggtgtct accagcaagg ggtcctgtct 780
 gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc 840
 gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga 882

<210> 543

<211> 882

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV6-3_TRBC1

<400> 543

gccaccatga gcctcgggct cctgtgctgt ggggtctttt ctctcctgtg ggcagggtcca 60
 gtgaatgctg gtgtcactca gacccccaaa ttccgggtcc tgaaaacagg acagagcatg 120
 aactgctggt gtgcccagga tatgaaccat gaatacatgt actggtatcg acaagaccca 180
 ggcatggggc tgaggctgat tcattactca gttggtgagg gtacaactgc caaaggagag 240
 gtccctgatg gctacaatgt ctccagatta aaaaaacaga atttcctgct ggggttggag 300
 tcggctgctc cctcccaaac atctgtgtac ttttgcagag accttgccgc cgcataaggtc 360
 tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc 420
 caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc 480
 tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagaccgcga gcccctcaag 540
 gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc 600
 accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660

gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccogtca cccagatcgt cagcgccgag 720
gcctggggta gagcagactg tggctttacc tcggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct 780
gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc 840
gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga 882

<210> 544
<211> 882
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRBV6-4_TRBC1

<400> 544
gccaccatga gaatcaggct cctgtgctgt gtggcctttt ctctcctgtg ggcagggtcca 60
gtgattgctg ggatcaccca ggcaccaaca tctcagatcc tggcagcagg acggcgcatg 120
aactgagat gtaccagga tatgagacat aatgccatgt actggtatag acaagatcta 180
ggactggggc taaggctcat ccattattca aatactgcag gtaccactgg caaaggagaa 240
gtccctgatg gttatagtgt ctccagagca aacacagatg atttccccct cacgttggcg 300
tctgctgtac cctctcagac atctgtgtac ttttgcagag accttgcggc cgcataggtc 360
tcagtgttcc cacccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctccacacc 420
caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc 480
tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gcccctcaag 540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc 600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccogtca cccagatcgt cagcgccgag 720
gcctggggta gagcagactg tggctttacc tcggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct 780
gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc 840
gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga 882

<210> 545
<211> 882
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRBV6-5_TRBC1

<400> 545
gccaccatga gcatcggcct cctgtgctgt gcagccttgt ctctcctgtg ggcagggtcca 60
gtgaatgctg gtgtcactca gacccccaaa ttccagggtcc tgaaaacagg acagagcatg 120

acactgcagt gtgccagga tatgaaccat gaatacatgt cctggatatcg acaagaccca	180
ggcatggggc tgaggctgat tcattactca gttggtgctg gtatcactga ccaaggagaa	240
gtccccaatg gctacaatgt ctccagatca accacagagg atttcccgct caggctgctg	300
tcggctgctc cctcccagac atctgtgtac ttttgcagag accttgcggc cgcataggctc	360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gcccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccgtca ccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggctttacc tcgggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc	840
gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga	882

<210> 546

<211> 882

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV6-6_TRBC1

<400> 546

gccaccatga gcatcagcct cctgtgctgt gcagccttct ctctcctgtg ggcagggtcca	60
gtgaatgctg gtgtcactca gacccccaaa ttccgcatcc tgaagatagg acagagcatg	120
acactgcagt gtaccagga tatgaaccat aactacatgt actggatatcg acaagaccca	180
ggcatggggc tgaagctgat ttattattca gttggtgctg gtatcactga taaaggagaa	240
gtcccgaaatg gctacaacgt ctccagatca accacagagg atttcccgct caggctggag	300
ttggctgctc cctcccagac atctgtgtac ttttgcagag accttgcggc cgcataggctc	360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gcccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccgtca ccagatcgt cagcgccgag	720

gcctggggta gagcagactg tggctttacc tcggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct 780
gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc 840
gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga 882

<210> 547
<211> 879
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRBV6-8_TRBC1

<400> 547
gccaccatga gcctcgggct cctgtgctgt gcggcctttt ctctcctgtg ggcagggtccc 60
gtgaatgctg gtgtcactca gacccccaaa ttccacatcc tgaaaacagg acagagcatg 120
acactgcagt gtgccagga tatgaacct ggatacatgt cctggatatcg acaagaccca 180
ggcatggggc tgagactgat ttactactca gctgctgctg gtactactga caaagaagtc 240
ccaatggct acaatgtctc tagattaaac acagaggatt tcccactcag gctgggtgtcg 300
gctgctccct cccagacatc tgtgtacctt tgcagagacc ttgcggccgc atagggtctca 360
gtgttccac ccgagggtcg tgtgtttgag ccatcagaag cagagatctc ccacacccaa 420
aaggccacac tgggtgtgct gccacaggc ttcttccccg accacgtgga gctgagctgg 480
tgggtgaatg ggaaggaggt gcacagtggg gtcagcacag acccgagcc cctcaaggag 540
cagcccgcct tcaatgactc cagatactgc ctgagcagcc gcctgagggt gtcggccacc 600
ttctggcaga accccgcaa ccacttcgc tgtcaagtcc agttctacgg gctctcggag 660
aatgacgagt ggaccagga tagggccaaa ccggtcacc agatcgtcag cgccgaggcc 720
tggggtagag cagactgtgg ctttacctcg gtgtcctacc agcaaggggt cctgtctgcc 780
accatcctct atgagatcct gctagggag gccaccctgt atgctgtgct ggtcagcgcc 840
cttgtgttga tggccatgg caagagaaag gatttctga 879

<210> 548
<211> 882
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRBV6-9_TRBC1

<400> 548
gccaccatga gcatcgggct cctgtgctgt gtggcctttt ctctcctgtg ggcagggtcca 60
gtgaatgctg gtgtcactca gacccccaaa ttccacatcc tgaaaacagg acagagcatg 120
acactgcagt gtgccagga tatgaacct ggatacttgt cctggatatcg acaagaccca 180

ggcatggggc tgaggcgcat tcattactca gttgctgctg gtatcactga caaaggagaa 240
gtccccgatg gctacaatgt atccagatca aacacagagg atttcccgt caggctggag 300
tcagctgctc cctcccagac atctgtatac ttttgcagag accttgcggc cgcataggtc 360
tcagtgttcc cacccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc 420
caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc 480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gccctcaag 540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgctgagca gccgctgag ggtgtcggcc 600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660
gagaatgacg agtggacca ggatagggcc aaaccgtca ccagatcgt cagcgccgag 720
gcctggggtga gagcagactg tggttttacc tcggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct 780
gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc 840
gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga 882

<210> 549

<211> 885

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV7-2_TRBC1

<400> 549

gccaccatgg gcaccaggct cctcttctgg gtggccttct gtctcctggg ggcagatcac 60
acaggagctg gagtctccca gtccccagt aacaaggcca cagagaaggg aaaggatgta 120
gagctcaggt gtgatccaat ttcaggatcat actgcccttt actggtaccg acagagcctg 180
gggcagggcc tggagttttt aatttacttc caaggcaaca gtgcaccaga caaatcaggg 240
ctgccagtg atcgcttctc tgcagagagg actgggggat ccgtctccac tctgacgatc 300
cagcgcacac agcaggagga ctcgccgtg tatctttgca gagaccttgc ggccgcatag 360
gtctcagtgt tcccaccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac 420
acccaaaagg ccacactggt gtgcctggcc acaggcttct tccccacca cgtggagctg 480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtggggtca gcacagacc gcagcccctc 540
aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg 600
gccaccttct ggcagaacct ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc 660
tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaacccg tcaccagat cgtcagcgcc 720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttt acctcggtgt cctaccagca aggggtcctg 780
tctgccacca tcctctatga gatcctgcta gggaaggcca ccctgtatgc tgtgctggtc 840

agcgcccttg tgttgatggc catggtcaag agaaaggatt tctga 885

<210> 550

<211> 885

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV7-3_TRBC1

<400> 550

gccaccatgg gcaccaggct cctctgctgg gcagccctgt gcctcctggg ggcagatcac 60

acaggtgctg gagtctccca gacccccagt aacaagggtca cagagaaggg aaaatatgta 120

gagctcaggt gtgatccaat ttcagggtcat actgcccttt actggtaccg acaaagcctg 180

gggcagggcc cagagtttct aatttacttc caaggcacgg gtgcggcaga tgactcaggg 240

ctgcccaacg atcggttctt tgcagtcagg cctgagggat ccgtctctac tctgaagatc 300

cagcgcacag agcgggggga ctcagccgtg tatctttgca gagaccttgc ggccgcatag 360

gtctcagtggt tcccaccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac 420

acccaaaagg ccacactggt gtgcctggcc acaggcttct tccccgacca cgtggagctg 480

agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtgggggtca gcacagacc gcagcccctc 540

aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg 600

gccaccttct ggcagaacct ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc 660

tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaacctg tcacctcagat cgtcagcgcc 720

gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttt acctcggtgt cctaccagca aggggtcctg 780

tctgccacca tctctatga gatcctgcta gggaaggcca ccctgtatgc tgtgctggtc 840

agcgcccttg tgttgatggc catggtcaag agaaaggatt tctga 885

<210> 551

<211> 885

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV7-6_TRBC1

<400> 551

gccaccatgg gcaccagtct cctatgctgg gtggctcctgg gtttcctagg gacagatcac 60

acaggtgctg gagtctccca gtctcccagg taaaaagtca caaagagggg acaggatgta 120

gctctcaggt gtgatccaat ttcgggtcat gtatcccttt attggtaccg acaggccctg 180

gggcagggcc cagagtttct gacttacttc aattatgaag cccaacaaga caaatcaggg 240

ctgcccaatg atcggttctc tgcagagagg cctgagggat ccatctccac tctgacgac 300

cagcgcacag agcagcggga ctcgccatg tatcgttgca gagaccttgc ggccgcatag 360
gtctcagtgt tcccacccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac 420
acccaaaagg ccacactggg gtgcctggcc acaggcttct tccccgacca cgtggagctg 480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtgggggtca gcacagaccc gcagcccctc 540
aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg 600
gccaccttct ggcagaaccc ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc 660
tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaacccg tcacccagat cgtcagcgcc 720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttt acctcggtgt cctaccagca aggggtcctg 780
tctgccacca tcctctatga gatcctgcta gggaaggcca ccctgtatgc tgtgctggtc 840
agcgcccttg tgttgatggc catggtcaag agaaaggatt tctga 885

<210> 552

<211> 885

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV7-7_TRBC1

<400> 552

gccaccatgg gtaccagtct cctatgctgg gtggctcctgg gtttcctagg gacagatcac 60
acagggtgtg gagtctccca gtctcccagg taaaaagtca caaagagggg acaggatgta 120
actctcaggt gtgatccaat ttcgagtcac gcaacccttt attggtatca acaggccctg 180
gggcagggcc cagagtttct gacttacttc aattatgaag ctcaaccaga caaatcaggg 240
ctgcccagtg atcggttctc tgcagagagg cctgagggat ccattctccac tctgacgatt 300
cagcgcacag agcagcggga ctcagccatg tatcgttgca gagaccttgc ggccgcatag 360
gtctcagtgt tcccacccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac 420
acccaaaagg ccacactggg gtgcctggcc acaggcttct tccccgacca cgtggagctg 480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtgggggtca gcacagaccc gcagcccctc 540
aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg 600
gccaccttct ggcagaaccc ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc 660
tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaacccg tcacccagat cgtcagcgcc 720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttt acctcggtgt cctaccagca aggggtcctg 780
tctgccacca tcctctatga gatcctgcta gggaaggcca ccctgtatgc tgtgctggtc 840
agcgcccttg tgttgatggc catggtcaag agaaaggatt tctga 885

<210> 553
 <211> 885
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRBV7-8_TRBC1

<400> 553
 gccacatgg gcaccaggct cctctgctgg gtggctcctgg gtttcctagg gacagatcac 60
 acagggtgctg gagtctccca gtcccctagg tacaaagtcg caaagagagg acaggatgta 120
 gctctcaggt gtgatccaat ttccgggtcat gtatcccttt tttggtacca acaggccctg 180
 gggcaggggc cagagtttct gacttatttc cagaatgaag ctcaactaga caaatcgggg 240
 ctgccagtg atcgcttctt tgcagaaagg cctgagggat ccgtctccac tctgaagatc 300
 cagcgcacac agcaggagga ctccgccgtg tatctttgca gagaccttgc ggccgcatag 360
 gtctcagtg tcccaccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac 420
 acccaaaagg ccacactggt gtgcctggcc acaggcttct tccccgacca cgtggagctg 480
 agctgggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtgggggtca gcacagaccc gcagcccctc 540
 aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg 600
 gccaccttct ggcagaaccc ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc 660
 tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaaccog tcaccagat cgtcagcgcc 720
 gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttt acctcggtgt cctaccagca aggggtcctg 780
 tctgccacca tcctctatga gatcctgcta gggaaggcca ccctgtatgc tgtgctggtc 840
 agcgcccttg tgttgatggc catggtcaag agaaaggatt tctga 885

<210> 554
 <211> 885
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Entrada V-C TRBV7-9_TRBC1

<400> 554
 gccacatgg gcaccagcct cctctgctgg atggccctgt gtctcctggg ggcagatcac 60
 gcagatactg gagtctccca gaaccccaaga cacaagatca caaagagggg acagaatgta 120
 actttcaggt gtgatccaat ttctgaacac aaccgccttt attggtaccg acagaccctg 180
 gggcaggggc cagagtttct gacttacttc cagaatgaag ctcaactaga aaaatcaagg 240
 ctgctcagtg atcggttctc tgcagagagg cctaagggat ctttctccac cttggagatc 300
 cagcgcacag agcaggggga ctcgcccatg tatctttgca gagaccttgc ggccgcatag 360

gtctcagtgt tcccacccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctcccac 420
 acccaaaagg ccacactggt gtgcctggcc acaggcttct tccccgacca cgtggagctg 480
 agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtgggggtca gcacagaccc gcagcccctc 540
 aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg 600
 gccaccttct ggcagaaccc ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc 660
 tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaacccg tcaccagat cgtcagcgcc 720
 gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttt acctcggtgt cctaccagca aggggtcctg 780
 tctgccacca tcctctatga gatcctgcta gggaaggcca ccctgtatgc tgtgctggtc 840
 agcgcccttg tgttgatggc catggtcaag agaaaggatt tctga 885

<210> 555

<211> 882

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV9 TRBC1

<400> 555

gccaccatgg gcttcaggct cctctgctgt gtggcctttt gtctcctggg agcaggccca 60
 gtggattctg gagtacaca aaccccaaag cacctgatca cagcaactgg acagcgagtg 120
 acgtgagat gctcccctag gtctggtgac ctctctgtgt actggtacca acagagcctg 180
 gaccagggcc tccagttcct cattcagtat tataatggag aagagagagc aaaaggaaac 240
 attcttgaac gattctccgc acaacagttc cctgacttgc actctgaact aaacctgagc 300
 tctctggagc tgggggactc agctttgtac ttttgagag accttgcggc cgcataggtc 360
 tcagtgttcc cacccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc 420
 caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc 480
 tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gcccctcaag 540
 gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc 600
 accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660
 gagaatgacg agtggacca ggatagggcc aaacccgtca ccagatcgt cagcgccgag 720
 gcctggggta gagcagactg tggttttacc tcggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct 780
 gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc 840
 gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga 882

<210> 556

<211> 882

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV10-1_TRBC1

<400> 556

gccacatg	gcacgaggct	cttcttctat	gtggcccttt	gtctgctgtg	ggcaggacac	60
agggatgctg	aatcaccca	gagcccaaga	cacaagatca	cagagacagg	aaggcaggtg	120
accttggcgt	gtcaccagac	ttggaaccac	aacaatatgt	tctggtatcg	acaagacctg	180
ggacatgggc	tgaggctgat	ccattactca	tatggtgttc	aagacactaa	caaaggagaa	240
gtctcagatg	gctacagtgt	ctctagatca	aacacagagg	acctccccct	cactctggag	300
tctgctgcct	cctccagac	atctgtatac	ttttgcagag	accttgcggc	cgcataggtc	360
tcagtgttcc	cacccgaggt	cgctgtgttt	gagccatcag	aagcagagat	ctccacacc	420
caaaaggcca	cactggtgtg	cctggccaca	ggcttcttcc	ccgaccacgt	ggagctgagc	480
tggtgggtga	atgggaagga	ggtgcacagt	ggggtcagca	cagacccgca	gccctcaag	540
gagcagcccg	ccctcaatga	ctccagatac	tgctgagca	gccgcctgag	ggtgtcggcc	600
accttctggc	agaacccccg	caaccacttc	cgctgtcaag	tccagttcta	cgggctctcg	660
gagaatgacg	agtggaccca	ggatagggcc	aaacccgtca	cccagatcgt	cagcgccgag	720
gcctggggta	gagcagactg	tggctttacc	tcggtgtcct	accagcaagg	ggtcctgtct	780
gccaccatcc	tctatgagat	cctgctaggg	aaggccaccc	tgtatgctgt	gctggtcagc	840
gcccttgtgt	tgatggccat	ggtcaagaga	aaggatttct	ga		882

<210> 557

<211> 882

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV10-2_TRBC1

<400> 557

gccacatg	gcaccaggct	cttcttctat	gtggcccttt	gtctgctgtg	ggcaggacac	60
agggatgctg	gaatcaccca	gagcccaaga	tacaagatca	cagagacagg	aaggcaggtg	120
accttgatgt	gtcaccagac	ttggagccac	agctatatgt	tctggtatcg	acaagacctg	180
ggacatgggc	tgaggctgat	ctattactca	gcagctgctg	atattacaga	taaaggagaa	240
gtccccgatg	gctatgttgt	ctccagatcc	aagacagaga	atttccccct	cactctggag	300
tcagctaccc	gctccagac	atctgtgtac	ttttgcagag	accttgcggc	cgcataggtc	360
tcagtgttcc	cacccgaggt	cgctgtgttt	gagccatcag	aagcagagat	ctccacacc	420
caaaaggcca	cactggtgtg	cctggccaca	ggcttcttcc	ccgaccacgt	ggagctgagc	480

tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaacccgtca cccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggctttacc tcggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc	840
gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga	882

<210> 558

<211> 882

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV10-3_TRBC1

<400> 558

gccaccatgg gcacaagggt gttcttctat gtggcccttt gtctcctgtg gacaggacac	60
atggatgctg gaatcaccca gagcccaaga cacaagggtca cagagacagg aacaccagtg	120
actctgagat gtcaccagac tgagaaccac cgctatatgt actggtatcg acaagacccg	180
gggcatgggc tgaggctgat ccattactca tatggtgtta aagatactga caaaggagaa	240
gtctcagatg gctatagtgt ctctagatca aagacagagg atttcctcct cactctggag	300
tccgctacca gctcccagac atctgtgtac ttttgagag accttgccgc cgcataggctc	360
tcagtgttcc caccgagggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaacccgtca cccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggctttacc tcggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc	840
gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga	882

<210> 559

<211> 885

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV11-1_TRBC1

<400> 559

gccaccatga gcaccaggct tctctgctgg atggccctct gtctcctggg ggcagaactc	60
tcagaagctg aagttgcca gtccccaga tataagatta cagagaaaag ccaggctgtg	120
gctttttggt gtgatcctat ttctggccat gctacccttt actggtaccg gcagatcctg	180
ggacagggcc cggagcttct ggttcaattt caggatgaga gtgtagtaga tgattcacag	240
ttgcctaagg atcgattttc tgcagagagg ctcaaaggag tagactccac tctcaagatc	300
cagcctgcag agcttgggga ctcgcccatg tatctttgca gagaccttgc ggccgcatag	360
gtctcagtgt tcccaccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac	420
acccaaaagg ccacactggt gtgcctggcc acaggcttct tccccacca cgtggagctg	480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtggggtca gcacagaccc gcagcccctc	540
aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgctt gagggtgtcg	600
gccaccttct ggcagaaccc ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc	660
tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaaccgg tcaccagat cgtcagcgcc	720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttt acctcggtgt cctaccagca aggggtcctg	780
tctgccacca tcctctatga gatcctgcta ggaaggcca ccctgtatgc tgtgctggtc	840
agcgcccttg tgttgatggc catggtcaag agaaaggatt tctga	885

<210> 560

<211> 885

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV11-2_TRBC1

<400> 560

gccaccatgg gcaccaggct cctctgctgg gcggccctct gtctcctggg agcagaactc	60
acagaagctg gagttgcca gtctcccaga tataagatta tagagaaaag gcagagtgtg	120
gctttttggt gcaatcctat atctggccat gctacccttt actggtacca gcagatcctg	180
ggacagggcc caaagcttct gattcagttt cagaataacg gtgtagtgga tgattcacag	240
ttgcctaagg atcgattttc tgcagagagg ctcaaaggag tagactccac tctcaagatc	300
cagcctgcaa agcttgagga ctcgccctg tatctttgca gagaccttgc ggccgcatag	360
gtctcagtgt tcccaccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac	420
acccaaaagg ccacactggt gtgcctggcc acaggcttct tccccacca cgtggagctg	480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtggggtca gcacagaccc gcagcccctc	540

ES 2 897 202 T3

aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg 600
gccaccttct ggcagaacct ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc 660
tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaacccg tcacccagat cgtcagcgcc 720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttt acctcggtgt cctaccagca aggggtcctg 780
tctgccacca tcctctatga gatcctgcta gggaaggcca ccctgtatgc tgtgctggtc 840
agcgcccttg tgttgatggc catggtcaag agaaaggatt tctga 885

<210> 561

<211> 885

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV11-3_TRBC1

<400> 561

gccaccatgg gtaccaggct cctctgctgg gtggccttct gtctcctggg ggaagaactc 60
atagaagctg gagtgggttca gtctcccaga tataagatta tagagaaaaa acagcctgtg 120
gcttttttggg gcaatcctat ttctggccac aatacccttt actggtacct gcagaacttg 180
ggacagggcc cggagcttct gattcgatat gagaatgagg aagcagtaga cgattcacag 240
ttgcctaagg atcgattttc tgcagagagg ctcaaaggag tagactccac tctcaagatc 300
cagcctgcag agcttgggga ctcgccctg tctctttgca gagaccttgc ggccgcatag 360
gtctcagtgt tcccaccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctcccac 420
acccaaaagg ccacactggg gtgcctggcc acaggcttct tccccgacca cgtggagctg 480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtgggggtca gcacagacct gcagcccctc 540
aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg 600
gccaccttct ggcagaacct ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc 660
tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaacccg tcacccagat cgtcagcgcc 720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttt acctcggtgt cctaccagca aggggtcctg 780
tctgccacca tcctctatga gatcctgcta gggaaggcca ccctgtatgc tgtgctggtc 840
agcgcccttg tgttgatggc catggtcaag agaaaggatt tctga 885

<210> 562

<211> 885

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV12-3_TRBC1

<400> 562

gccaccatgg actcctggac cttctgctgt gtgtcccttt gcatcctggt agcgaagcat 60
acagatgctg gagttatcca gtcaccccg cagaggtga cagagatggg acaagaagtg 120
actctgagat gtaaaccaat ttcaggccac aactcccttt tctggtacag acagaccatg 180
atgcggggac tggagttgct catttacttt aacaacaacg ttccgataga tgattcaggg 240
atgcccagg atcgattctc agctaagatg cctaatacat cattctccac tctgaagatc 300
cagccctcag aaccaggga ctgagctgtg tacttttgca gagaccttgc ggccgcatag 360
gtctcagtgt tcccaccga ggtcgctgtg tttaggccat cagaagcaga gatctccac 420
acccaaaagg ccacactggt gtgcctggcc acaggcttct tccccgacca cgtggagctg 480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtggggtca gcacagacc gcagcccctc 540
aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg 600
gccaccttct ggcagaacct ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc 660
tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaaccg tcaccagat cgtcagcgcc 720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttt acctcggtgt cctaccagca aggggtcctg 780
tctgccacca tcctctatga gatcctgcta gggaaggcca ccctgtatgc tgtgctggtc 840
agcgcccttg tgttgatggc catggtcaag agaaaggatt tctga 885

<210> 563

<211> 885

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV12-4_TRBC1

<400> 563

gccaccatgg actcctggac cctctgctgt gtgtcccttt gcatcctggt agcaaagcac 60
acagatgctg gagttatcca gtcaccccg cagaggtga cagagatggg acaagaagtg 120
actctgagat gtaaaccaat ttcaggacac gactaccttt tctggtacag acagaccatg 180
atgcggggac tggagttgct catttacttt aacaacaacg ttccgataga tgattcaggg 240
atgcccagg atcgattctc agctaagatg cctaatacat cattctccac tctgaagatc 300
cagccctcag aaccaggga ctgagctgtg tacttttgca gagaccttgc ggccgcatag 360
gtctcagtgt tcccaccga ggtcgctgtg tttaggccat cagaagcaga gatctccac 420
acccaaaagg ccacactggt gtgcctggcc acaggcttct tccccgacca cgtggagctg 480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtggggtca gcacagacc gcagcccctc 540
aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg 600
gccaccttct ggcagaacct ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc 660

tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaacccg tcacccagat cgtcagcgcc 720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttt acctcggtgt cctaccagca aggggtcctg 780
tctgccacca tcctctatga gatcctgcta gggaaggcca ccctgtatgc tgtgctggtc 840
agcgcccttg tgttgatggc catggtcaag agaaaggatt tctga 885

<210> 564
<211> 885
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRBV12-5_TRBC1

<400> 564
gccaccatgg ccaccaggct cctctgctgt gtggttcttt gtctcctggg agaagagctt 60
atagatgcta gagtaccca gacaccaagg cacaaggtag cagagatggg acaagaagta 120
acaatgagat gtcagccaat tttaggccac aatactgttt tctggtacag acagaccatg 180
atgcaaggac tggagttgct ggcttacttc cgcaaccggg ctctctaga tgattcgggg 240
atgccgaagg atcgattctc agcagagatg cctgatgcaa ctttagccac tctgaagatc 300
cagccctcag aaccaggga ctgagctgtg tacttttgca gagaccttgc ggccgcatag 360
gtctcagtgt tcccaccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac 420
acccaaaagg ccacactggt gtgcctggcc acaggcttct tccccgacca cgtggagctg 480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtggggtca gcacagaccc gcagcccctc 540
aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgctt gaggggtgtc 600
gccaccttct ggcagaaccc ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc 660
tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaacccg tcacccagat cgtcagcgcc 720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttt acctcggtgt cctaccagca aggggtcctg 780
tctgccacca tcctctatga gatcctgcta gggaaggcca ccctgtatgc tgtgctggtc 840
agcgcccttg tgttgatggc catggtcaag agaaaggatt tctga 885

<210> 565
<211> 912
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRBV13_TRBC1

<400> 565
gccaccatgc ttagtcctga cctgcctgac tctgcctgga acaccaggct cctctgccat 60
gtcatgcttt gtctcctggg agcagtttca gtggctgctg gagtcatcca gtccccaaga 120

catctgatca aagaaaagag ggaaacagcc actctgaaat gctatcctat ccctagacac	180
gacactgtct actggtacca gcaggggtcca ggtcaggacc cccagttcct catttcgttt	240
tatgaaaaga tgcagagcga taaaggaagc atccctgatc gattctcagc tcaacagttc	300
agtgactatc attctgaact gaacatgagc tccttgagc tgggggactc agccctgtac	360
ttttgcagag accttgccgc cgcataggtc tcagtgttcc caccgcagggt cgctgtgttt	420
gagccatcag aagcagagat ctcccacacc caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca	480
ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt	540
ggggtcagca cagaccgcga gccctcaag gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac	600
tgcctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc accttctggc agaacccccg caaccacttc	660
cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg gagaatgacg agtggacca ggatagggcc	720
aaaccgbcga cccagatcgt cagcgccgag gcctggggta gagcagactg tggctttacc	780
tcggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg	840
aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga	900
aaggatttct ga	912

<210> 566

<211> 885

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV14_TRBC1

<400> 566

gccaccatgg tttccaggct tctcagttta gtgtcccttt gtctcctggg agcaaagcac	60
atagaagctg gagttactca gttccccagc cacagcgtaa tagagaaggg ccagactgtg	120
actctgagat gtgacccaat ttctggacat gataatcttt attggtatcg acgtgttatg	180
ggaaaagaaa taaaatttct gttacatttt gtgaaagagt ctaaacagga tgagtccggt	240
atgcccaaca atcgattctt agctgaaagg actggaggga cgtattctac tctgaagggtg	300
cagcctgcag aactggagga ttctggagtt tacttttgca gagaccttgc ggccgcatag	360
gtctcagtgt tcccaccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac	420
acccaaaagg ccacactggt gtgcctggcc acaggcttct tccccgacca cgtggagctg	480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtggggtca gcacagaccc gcagcccctc	540
aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg	600
gccaccttct ggcagaaccc ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc	660

tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaacccg tcacccagat cgtcagcgcc 720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttt acctcggtgt cctaccagca aggggtcctg 780
tctgccacca tcctctatga gatcctgcta gggaaggcca ccctgtatgc tgtgctggtc 840
agcgcccttg tgttgatggc catggtcaag agaaaggatt tctga 885

<210> 567
<211> 882
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRBV15_TRBC1

<400> 567
gccaccatgg gtctctgggt tctccactgg atggcccttt gtctccttgg aacagggtcat 60
ggggatgcca tgggtcatcca gaacccaaga taccaggtta ccagtttgg aaagccagtg 120
accctgagtt gttctcagac tttgaacat aacgtcatgt actggtacca gcagaagtca 180
agtcaggccc caaagctgct gttccactac tatgacaaag attttaacaa tgaagcagac 240
accctgata acttccaatc caggaggccg aacacttctt tctgctttct tgacatccgc 300
tcaccaggcc tgggggacac agccatgtac ctttgagag accttgcggc cgcataggtc 360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctccacacc 420
caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc 480
tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gcccctcaag 540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgcttgagca gccgcctgag ggtgtcggcc 600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccgtca ccagatcgt cagcgccgag 720
gcctggggta gagcagactg tggctttacc tcggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct 780
gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc 840
gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga 882

<210> 568
<211> 885
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRBV16_TRBC1

<400> 568
gccaccatga gcccaatatt cacctgcac acaatccttt gtctgctggc tgcaggttct 60
cctggtgaag aagtcgcca gactccaaaa catcttgtca gaggggaagg acagaaagca 120

aaattatatt gtgcccgaat aaaaggacac agttatgttt tttggtacca acaggtcctg 180
 aaaaacgagb tcaagttctt gatttccttc cagaatgaaa atgtctttga tgaaacaggt 240
 atgcccgaag aaagattttc agctaagtgc ctcccaaatt caccctgtag ccttgagatc 300
 caggctacga agcttgagga ttcagcagtg tactttttgca gagaccttgc ggccgcatag 360
 gtctcagtgt tcccacccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac 420
 acccaaaagg ccacactggt gtgcctggcc acaggcttct tccccgacca cgtggagctg 480
 agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtggggtca gcacagaccc gcagcccctc 540
 aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg 600
 gccaccttct ggcagaaccc ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc 660
 tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaaccgc tcaccagat cgtcagcgcc 720
 gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttt acctcggtgt cctaccagca aggggtcctg 780
 tctgccacca tcctctatga gatcctgcta gggaaggcca ccctgtatgc tgtgctggtc 840
 agcgcccttg tgttgatggc catggtcaag agaaaggatt tctga 885

<210> 569

<211> 885

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV18_TRBC1

<400> 569

gccaccatgg acaccagagt actctgctgt gcggtcatct gccttctggg ggcaggactc 60
 tcaaatgccg gcgtcatgca gaacccaaga cacctggtca ggaggagggg acaggaggca 120
 agactgagat gcagcccaat gaaaggacac agtcatgttt actggtatcg gcagctccca 180
 gaggaaggtc tgaaattcat ggtttatctc cagaaagaaa atatcataga tgagtcagga 240
 atgccaaagg aacgattttc tgctgaattt cccaaagagg gccccagcat cctgaggatc 300
 cagcaggtag tgcgaggaga ttccggcagct tactttttgca gagaccttgc ggccgcatag 360
 gtctcagtgt tcccacccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac 420
 acccaaaagg ccacactggt gtgcctggcc acaggcttct tccccgacca cgtggagctg 480
 agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtggggtca gcacagaccc gcagcccctc 540
 aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg 600
 gccaccttct ggcagaaccc ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc 660
 tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaaccgc tcaccagat cgtcagcgcc 720
 gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttt acctcggtgt cctaccagca aggggtcctg 780

tctgccacca tcctctatga gatcctgcta gggaaggcca ccctgtatgc tgtgctggtc 840
agcgcccttg tgttgatggc catgggtcaag agaaaggatt tctga 885

<210> 570
<211> 882
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRBV19_TRBC1

<400> 570
gccaccatga gcaaccaggt gctctgctgt gtgggtccttt gtttcctggg agcaaacacc 60
gtggatgggtg gaatcactca gtccccaag tacctgttca gaaaggaagg acagaatgtg 120
accctgagtt gtgaacagaa tttgaaccac gatgccatgt actgggtaccg acaggaccca 180
gggcaagggc tgagattgat ctactactca cagatagtaa atgactttca gaaaggagat 240
atagctgaag ggtacagcgt ctctcgggag aagaaggaaat cctttcctct cactgtgaca 300
tcggcccaaa agaaccgcac agctttctat ctttgcagag accttgccggc cgcataaggtc 360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctccacacacc 420
caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc 480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagaccgcga gccctcaag 540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc 600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccgtca ccagatcgt cagcgccgag 720
gcctggggta gagcagactg tggctttacc tcgggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct 780
gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc 840
gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga 882

<210> 571
<211> 876
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Entrada V-C TRBV20-1_TRBC1

<400> 571
gccaccatgc tgctgcttct gctgcttctg gggccaggct ccgggcttgg tgctgtcgtc 60
tctcaacatc cgagctgggt tatctgtaag agtggaaact ctgtgaagat cgagtccgt 120
tcctggact ttcaggccac aactatgttt tggatcgtc agttcccgaa acagagtctc 180
atgctgatgg caacttccaa tgagggctcc aaggccacat acgagcaagg cgtcgagaag 240

gacaagtttc tcatcaacca tgcaagcctg accttgtcca ctctgacagt gaccagtgcc 300
catcctgaag atagcagctt ctacatttgc agagaccttg cgcccgcata ggtctcagtg 360
ttcccacccg aggtcgctgt gtttgagcca tcagaagcag agatctccca caccctaaaag 420
gccacactgg tgtgcctggc cacaggcttc ttccccgacc acgtggagct gagctggtgg 480
gtgaatggga aggaggtgca cagtggggtc agcacagacc cgcagcccct caaggagcag 540
cccgccctca atgactccag atactgctg agcagccgcc tgagggtgtc ggccaccttc 600
tggcagaacc cccgcaacca cttccgctgt caagtccagt tctacgggct ctcggagaat 660
gacgagtgga cccaggatag ggccaaaccc gtcaccacaga tcgtcagcgc cgaggcctgg 720
ggbagagcag actgtggctt tacctcggtg tcctaccagc aaggggtcct gtctgccacc 780
atcctctatg agatcctgct aggggaaggcc accctgtatg ctgtgctggt cagcgccctt 840
gtgttgatgg ccatgggtcaa gagaaaggat ttctga 876

<210> 572

<211> 882

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV24-1_TRBC1

<400> 572

gccaccatgg cctccctgct cttcttctgt ggggcctttt atctcctggg aacaggggtcc 60
atggatgctg atgttaccca gacccaagg aataggatca caaagacagg aaagaggatt 120
atgctggaat gttctcagac taagggtcat gatagaatgt actggtatcg acaagaccca 180
ggactgggccc tacggttgat ctattactcc tttgatgtca aagatataaa caaaggagag 240
atctctgatg gatacagtgt ctctcgacag gcacaggcta aattctccct gtccctagag 300
tctgccatcc ccaaccagac agctctttac ttttgacagag accttgcggc cgcatagggtc 360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc 420
caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc 480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gccctcaag 540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc 600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccgtca cccagatcgt cagcgccgag 720
gcctggggta gagcagactg tggctttacc tcgggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct 780
gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc 840

gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga 882

<210> 573

<211> 882

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV25-1_TRBC1

<400> 573

gccaccatga ctatcaggct cctctgctac atgggctttt attttctggg ggcaggcctc 60

atggaagctg acatctacca gacccaaga taccttgta tagggacagg aaagaagatc 120

actctggaat gttctcaaac catgggcat gacaaaatgt actggtatca acaagatcca 180

ggaatggaac tacacctcat ccactattcc tatggagtta attccacaga gaaggagat 240

ctttcctctg agtcaacagt ctccagaata aggacggagc attttcccct gacctggag 300

tctgccaggc cctcacatac ctctcagta ctttgcagag accttgcggc cgcataggtc 360

tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc 420

caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc 480

tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagaccgca gccctcaag 540

gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgctgagca gccgctgag ggtgtcggcc 600

accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660

gagaatgacg agtggacca ggatagggcc aaaccgtca ccagatcgt cagcgccgag 720

gcctggggta gagcagactg tggctttacc tcggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct 780

gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc 840

gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga 882

<210> 574

<211> 882

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV27_TRBC1

<400> 574

gccaccatgg gccccagct ccttggctat gtggctcctt gccttctagg agcaggcccc 60

ctggaagccc aagtgacca gaaccaaga tacctcatca cagtgactgg aaagaagtta 120

acagtgactt gttctcagaa tatgaacct gagtatatgt cctggtatcg acaagaccca 180

gggctgggct taaggcagat ctactattca atgaatgttg aggtgactga taaggagat 240

gttcctgaag ggtacaaagt ctctcgaaaa gagaagagga atttcccct gatcctggag 300

tcgcccagcc ccaaccagac ctctctgtac ttttgcagag accttgcggc cgcataggtc	360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gcccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaacccgtca ccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggttttacc tcggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc	840
gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga	882

<210> 575

<211> 882

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV28_TRBC1

<400> 575

gccaccatgg gaatcaggct cctctgtcgt gtggcctttt gtttcctggc tgtaggcctc	60
gtagatgtga aagtaacca gagctcgaga tatctagtca aaaggacggg agagaaagtt	120
tttctggaat gtgtccagga tatggacat gaaaatatgt tctggatatcg acaagaccca	180
ggtctggggc tacggctgat ctatttctca tatgatgtta aaatgaaaga aaaaggagat	240
attcctgagg ggtacagtgt ctctagagag aagaaggagc gcttctccct gattctggag	300
tccgccagca ccaaccagac atctatgtac ctttgcagag accttgcggc cgcataggtc	360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gcccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaacccgtca ccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggttttacc tcggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc	840
gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga	882

<210> 576

<211> 876

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV29-1_TRBC1

<400> 576

gccaccatgc tgagtctact gctccttctc ctgggactag gctctgtgtt cagtgtgtgc	60
atctctcaaa agccaagcag ggatatctgt caacgtggaa cctccctgac gatccagtgt	120
caagtcgata gccaaagtcac catgatgttc tggtagcgtc agcaacctgg acagagcctg	180
acactgatcg caactgcaaa tcagggctct gaggccacat atgagagtgg atttgtcatt	240
gacaagtttc ccatcagccg cccaaacctc acattctcaa ctctgactgt gagcaacatg	300
agccctgaag atagcagcat atatctttgc agagaccttg cgcccgcata ggtctcagt	360
ttcccacccg aggtcgctgt gtttgagcca tcagaagcag agatctccca caccctaaaag	420
gccacactgg tgtgcctggc cacaggcttc ttcccgcacc acgtggagct gagctggtgg	480
gtgaatggga aggaggtgca cagtggggtc agcacagacc cgcagcccct caaggagcag	540
cccgcctca atgactccag atactgcctg agcagccgcc tgagggtgtc ggccaccttc	600
tggcagaacc cccgcaacca cttccgctgt caagtccagt tctacgggct ctcgagaaat	660
gacgagtgga cccaggatag ggccaaacct gtcacctaga tcgtcagcgc cgaggcctgg	720
ggtagagcag actgtggctt tacctcggtg tcctaccagc aaggggtcct gtctgccacc	780
atcctctatg agatcctgct aggggaaggcc accctgtatg ctgtgctggt cagcgccctt	840
gtgttgatgg ccatgggtcaa gagaaaggat ttctga	876

<210> 577

<211> 876

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Entrada V-C TRBV30_TRBC1

<400> 577

gccaccatgc tctgctctct ccttgccctt ctctgggca ctttctttgg ggtcagatct	60
cagactattc atcaatggcc agcgacctg gtgcagcctg tgggcagccc gctctctctg	120
gagtgcactg tggagggaac atcaaacccc aacctatact ggtaccgaca ggctgcaggc	180
aggggcctcc agctgctctt ctactccgtt ggtattggcc agatcagctc tgagggtccc	240
cagaatctct cagcctccag accccaggac cggcagttca tcctgagttc taagaagctc	300
cttctcagtg actctggctt ctatctttgc agagaccttg cgcccgcata ggtctcagt	360
ttcccacccg aggtcgctgt gtttgagcca tcagaagcag agatctccca caccctaaaag	420

gccacactgg tgtgcctggc cacaggcttc ttccccgacc acgtggagct gagctggtgg 480
 gtgaatggga aggaggtgca cagtgggggtc agcacagacc cgcagcccct caaggagcag 540
 cccgccctca atgactccag atactgcctg agcagccgcc tgagggtgtc ggccaccttc 600
 tggcagaacc cccgcaacca ctcccgctgt caagtccagt tctacgggct ctccggagaat 660
 gacgagtgga cccaggatag ggccaaaccc gtcaccacaga tcgtcagcgc cgaggcctgg 720
 ggtagagcag actgtggctt tacctcggtg tcctaccagc aaggggtcct gtctgccacc 780
 atcctctatg agatcctgct aggggaaggcc accctgtatg ctgtgctggt cagcgccttc 840
 gtgttgatgg ccatggtcaa gagaaaggat ttctga 876

<210> 578
 <211> 64
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> TRBJ-C1_receiving_F1

<400> 578
 aattcgggtct cgaagtcttc tgcggccgct gaagacacag gacctgaaca aggtgttgag 60
 accc 64

<210> 579
 <211> 64
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> TRBJ-C2_receiving_F1

<400> 579
 aattcgggtct cgaagtcttc tgcggccgct gaagacacag gacctgaaa acgtgttgag 60
 accc 64

<210> 580
 <211> 64
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> TRBJ-C1_receiving_R1

<400> 580
 tcgagggtct caacaccttg ttcaggctct gtgtcttcag cggccgcaga agacttcgag 60
 accg 64

<210> 581
 <211> 64
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> TRBJ-C2_receiving_R1

<400> 581

tcgagggtct caacacgttt ttcaggtcct gtgtcttcag cggccgcaga agacttcgag	60
accg	64

<210> 582

<211> 2366

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> TRB J_C1 vector de casete de recepción

<400> 582

gccagggttt tcccagtcac gacgttgtaa aacgacggcc agtgagcgcg acgtaatacg	60
actcactata gggcgaattg gcggaaggcc gtcaaggccg catgaattcg gtctcgaagt	120
cttctgcggc cgctgaagac acaggacctg aacaagggtgt tgagaccctc gagctggggc	180
tcatgggcct tccgctcact gcccgctttc cagtcgggaa acctgtcgtg ccagctgcat	240
taacatggtc atagctgttt ccttgcgat tgggcgctct ccgcttcctc gctcactgac	300
tcgctgcgct cggtcgttcg ggtaaagcct ggggtgccta atgagcaaaa ggccagcaaa	360
aggccaggaa ccgtaaaaag gccgcgttgc tggcgttttt ccataggctc cgccccctg	420
acgagcatca caaaaatcga cgctcaagtc agagggtggcg aaacccgaca ggactataaa	480
gataccaggc gtttccccct ggaagctccc tcgtgcgctc tcctgttccg accctgccgc	540
ttaccggata cctgtccgcc tttctccctt cgggaagcgt ggcgctttct catagctcac	600
gctgtaggta tctcagttcg gtgtaggtcg ttcgctccaa gctgggctgt gtgcacgaac	660
ccccggttca gcccgaccgc tgcgccttat ccggtaaacta tcgtcttgag tccaacccgg	720
taagacacga cttatcgcca ctggcagcag cactggtaa caggattagc agagcgaggt	780
atgtaggcgg tgctacagag ttcttgaagt ggtggcctaa ctacggctac actagaagaa	840
cagtatttgg tatctgcgct ctgctgaagc cagttacctt cggaaaaaga gttggtagct	900
cttgatccgg caaacaacc accgctggta gcggtggttt ttttgtttgc aagcagcaga	960
ttacgcgcag aaaaaaagga tctcaagaag atcctttgat cttttctacg gggctctgacg	1020
ctcagtgga cgaaaactca cgttaaggga ttttggtcat gagattatca aaaaggatct	1080
tcacctagat ctttttaaat taaaaatgaa gttttaaatc aatctaaagt atatatgagt	1140
aaacttggtc tgacagttag aaaaattcgt ccagcatcag atgaaattgc agtttggttca	1200
tgtccgggtt atcaatacca ttttctgga acagacgttt ctgcaggctc gggctaaatt	1260

cacccagaca attccacaga attgccagat cctgataacg atctgcaata ccaacacgac	1320
caacatcaat gcagccaatc agtttacct catcaaaaat caggttatcc aggctaaaat	1380
caccatgggt aacaacgcta tccggactaa acggcagcag tttatgcatt tctttccaaa	1440
cctgttcaac aggccaacca ttacgttcat catcaaaatc gcttgcacat accagacat	1500
tattcatatc gctctgtgcc tgtgccagac gaaaaacacg atcgctatta aacggacaat	1560
tacaaaccgg aatgctatgc agacgacgca gaaaaactgc cagtgcacat acaatatttt	1620
cgctgaatc cggatattct tccagaacct gaaatgcggt tttaccgga attgcggtgg	1680
tcagcagcca tgcacatcc ggtgtacgaa taaaatgttt aatggtcggc agcggcataa	1740
attcggtcag ccaattcaga cgaaccattt catcggtcac atcatttgca acgctacctt	1800
taccatgttt cagaaacagt tccggtgcat ccggtttacc atacagacga taaatggttg	1860
caccgctctg accaacatta tcacgtgcc atttatagcc atacagatct gcatccatat	1920
tgctattcag acgcggacgg ctacagctgg tttcacgctg aatatggctc atactcttcc	1980
tttttcaata ttattgaagc atttatcagg gttattgtct catgagcggg tacatatttg	2040
aatgtattta gaaaaataaa caaatagggg ttccgcgcac atttccccga aaagtgccac	2100
ctaaattgta agcgttaata ttttggttaa attcgcgtta aatttttggt aaatcagctc	2160
attttttaac caataggccg aaatcgga aatcccttat aaatcaaaag aatagaccga	2220
gatagggttg agtggccgct acagggcgct ccattcgcc attcaggctg cgcaactgtt	2280
gggaagggcg tttcgggtgcg ggcctcttcg ctattacgcc agctggcgaa aggggggatgt	2340
gctgcaaggc gattaagttg ggtaac	2366

<210> 583

<211> 2366

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> TRB J_C2 vector de casete de recepción

<400> 583

gccaggggtt tcccagtcac gacgttgtaa aacgacggcc agtgagcgcg acgtaatacg	60
actcactata gggcgaattg gcggaaggcc gtcaaggccg catgaattcg gtctcgaagt	120
cttctgcggc cgctgaagac acaggacctg aaaaacgtgt tgagaccctc gagctgggcc	180
tcattgggct tccgctcact gcccgctttc cagtcgggaa acctgtcgtg ccagctgcat	240
taacatggtc atagctgttt ccttgcgat tgggcgctct ccgcttcctc gctcactgac	300
tcgctgcgct cggtcgttcg ggtaaacgct ggggtgccta atgagcaaaa ggccagcaaa	360
aggccaggaa ccgtaaaaag gccgcgttgc tggcggtttt ccataggctc cgccccctg	420

acgagcatca	caaaaatcga	cgctcaagtc	agaggtggcg	aaacccgaca	ggactataaa	480
gataccaggc	gtttccccct	ggaagctccc	tcgtgcgctc	tcctgttcog	accctgccgc	540
ttaccggata	cctgtccgcc	tttctccctt	cgggaagcgt	ggcgctttct	catagctcac	600
gctgtaggta	tctcagttcg	gtgtaggtcg	ttcgctccaa	gctgggctgt	gtgcacgaac	660
cccccgttca	gcccgaaccgc	tgcgccttat	ccggtaaacta	tcgtcttgag	tccaacccgg	720
taagacacga	cttatcgcca	ctggcagcag	ccactggtaa	caggattagc	agagcgagggt	780
atgtaggcgg	tgctacagag	ttcttgaagt	ggtggcctaa	ctacggctac	actagaagaa	840
cagtatttgg	tatctgcgct	ctgctgaagc	cagttacctt	cggaaaaaga	gttggttagct	900
cttgatccgg	caaacaaacc	accgctggta	gcggtggttt	ttttgtttgc	aagcagcaga	960
ttacgcgcag	aaaaaaagga	tctcaagaag	atcctttgat	cttttctacg	gggtctgacg	1020
ctcagtggaa	cgaaaactca	cgttaaggga	ttttggtcat	gagattatca	aaaaggatct	1080
tcacctagat	ccttttaaat	taaaaatgaa	gttttaaatc	aatctaaagt	atatatgagt	1140
aaacttggtc	tgacagttag	aaaaattcgt	ccagcatcag	atgaaattgc	agtttgttca	1200
tgtccgggtt	atcaatacca	tatttctgga	acagacgttt	ctgcaggctc	gggctaaatt	1260
caccagaca	attccacaga	attgccagat	cctgataacg	atctgcaata	ccaacacgac	1320
caacatcaat	gcagccaatc	agtttacctt	catcaaaaat	caggttatcc	aggctaaaat	1380
caccatgggt	aacaacgcta	tccggactaa	acggcagcag	tttatgcatt	tctttccaaa	1440
cctgttcaac	aggccaacca	ttacgttcat	catcaaaatc	gcttgcatca	accagaccat	1500
tattcatacg	gctctgtgcc	tgtgccagac	gaaaaacacg	atcgctatta	aacggacaat	1560
tacaaaccgg	aatgctatgc	agacgacgca	gaaaaactgc	cagtgcacat	acaatatattt	1620
cgctgaatc	cggatattct	tccagaacct	gaaatgcggt	tttaccogga	attgcggtgg	1680
tcagcagcca	tgcatcatcc	ggtgtacgaa	taaaatgttt	aatggtcggc	agcggcataa	1740
attcggtcag	ccaattcaga	cgaaccattt	catcggtcac	atcatttgca	acgctacctt	1800
taccatgttt	cagaaacagt	tccggtgcat	ccggtttacc	atacagacga	taaatggttg	1860
caccgctctg	accaacatta	tcacgtgcc	atttatagcc	atacagatct	gcacccatat	1920
tgctattcag	acgcggacgg	ctacagctgg	tttcacgctg	aatatggctc	atactcttcc	1980
tttttcaata	ttattgaagc	atttatcagg	gttattgtct	catgagcgga	tacatatattg	2040
aatgtattta	gaaaaataaa	caaatagggg	ttccgcgcac	atttccccga	aaagtgccac	2100
ctaaattgta	agcgtaata	ttttgttaaa	attcgcgtta	aatttttggt	aaatcagctc	2160
attttttaac	caataggccg	aaatcggcaa	aatcccttat	aaatcaaaag	aatagaccga	2220

gataggggttg agtggccgct acagggcgct cccattcgcc attcaggctg cgcaactgtt 2280

gggaagggcg tttcgggtgcg ggcctcttcg ctattacgcc agctggcgaa aggggggatgt 2340

gctgcaaggc gattaagttg ggtaac 2366

<210> 584
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRBJ1-1*01_BB-S_F1

<400> 584
 ctcgtttgga caaggcacca gactcacagt tgtag 35

<210> 585
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRBJ1-2*01_BB-S_F1

<400> 585
 ctcgtttggt tcggggacca ggttaaccgt tgtag 35

<210> 586
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRBJ1-3*01_BB-S_F1

<400> 586
 ctcgtttgga gagggaagtt ggctcactgt tgtag 35

<210> 587
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRBJ1-4*01_BB-S_F1

<400> 587
 ctcgtttggc agtggaaccc agctctctgt cttgg 35

<210> 588
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRBJ1-5*01_BB-S_F1

<400> 588

ctcgttttggg gatgggactc gactctccat cctag 35

<210> 589
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRBJ1-6*01_BB-S_F1

<400> 589
 ctcgttttggg aacgggacca ggctcactgt gacag 35

<210> 590
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRBJ2-1*01_BB-S_F1

<400> 590
 ctcgttttggg ccagggacac ggctcaccgt gctag 35

<210> 591
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRBJ2-2*01_BB-S_F1

<400> 591
 ctcgttttggg gaaggctcta ggctgaccgt actgg 35

<210> 592
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRBJ2-3*01_BB-S_F1

<400> 592
 ctcgttttggc ccaggcaccc ggctgacagt gctcg 35

<210> 593
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRBJ2-4*01_BB-S_F1

<400> 593
 ctcgttttggc gccgggaccc ggctctcagt gctgg 35

<210> 594
 <211> 35
 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBJ2-5*01_BB-S_F1

<400> 594
ctcgtttggg ccaggcacgc ggctcctggt gctcg 35

<210> 595
<211> 35
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBJ2 - 6*01_BB-S_F1

<400> 595
ctcgtttggg gccggcagca ggctgaccgt gctgg 35

<210> 596
<211> 35
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBJ2-7*01_BB-S_F1

<400> 596
ctcgtttggg ccgggcacca ggctcacggt cacag 35

<210> 597
<211> 35
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBJ1-1*01_BB-S_R1

<400> 597
tcctctacaa ctgtgagtct ggtgccttgt ccaaa 35

<210> 598
<211> 35
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBJ1-2*01_BB-S_R1

<400> 598
tcctctacaa cggttaacct ggtccccgaa ccaaa 35

<210> 599
<211> 35
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBJ1-3*01_BB-S_R1

<400> 599
tcctctacaa cagtgcgcca acttccctct ccaaa 35

<210> 600
<211> 35
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRBJ1-4*01_BB-S_R1

<400> 600
tcctccaaga cagagagctg ggttccactg ccaaa 35

<210> 601
<211> 35
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRBJ1-5*01_BB-S_R1

<400> 601
tcctctagga tggagagtcg agtcccatca ccaaa 35

<210> 602
<211> 35
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRBJ1-6*01_BB-S_R1

<400> 602
tcctctgtca cagtgcgcct ggtcccgttc ccaaa 35

<210> 603
<211> 35
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRBJ2-1*01_BB-S_R1

<400> 603
tcctctagca cggtagagccg tgtccctggc ccaaa 35

<210> 604
<211> 35
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRBJ2-2*01_BB-S_R1

<400> 604
tcctccagta cggtagcct agagccttct ccaaa 35

<210> 605
<211> 35

<212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRBJ2-3*01_BB-S_R1

 <400> 605
 tcctcgagca ctgtcagccg ggtgcctggg ccaaa 35

 <210> 606
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRBJ2-4*01_BB-S_R1

 <400> 606
 tcctccagca ctgagagccg ggtcccggcg ccaaa 35

 <210> 607
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRBJ2-5*01_BB-S_R1

 <400> 607
 tcctcgagca ccaggagccg cgtgcctggc ccaaa 35

 <210> 608
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRBJ2 - 6*01_BB-S_R1

 <400> 608
 tcctccagca cggtcagcct gctgccggcc ccaaa 35

 <210> 609
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRBJ2-7*01_BB-S_R1

 <400> 609
 tcctctgtga ccgtgagcct ggtgcccggc ccaaa 35

 <210> 610
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRBJ1-1*01_BB-L_F1

<400> 610
ctcgggaagct ttctttggac aaggcaccag actcacagtt gtag 44

<210> 611
<211> 44
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRBJ1-2*01_BB-L_F1

<400> 611
ctcgggctac acctttgggt cggggaccag gttaaccgtt gtag 44

<210> 612
<211> 44
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRBJ1-3*01_BB-L_F1

<400> 612
ctcgaccata tattttggag aggggaagttg gctcactgtt gtag 44

<210> 613
<211> 47
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRBJ1-4*01_BB-L_F1

<400> 613
ctcggaaaag ctgttctttg gcagtggaac ccagctctct gtcttgg 47

<210> 614
<211> 44
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRBJ1-5*01_BB-L_F1

<400> 614
ctcgccccag cattttggtg atgggactcg actctccatc ctag 44

<210> 615
<211> 47
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRBJ1-6*01_BB-L_F1

<400> 615
ctcgtcaccc ctccactttg ggaacgggac caggctcact gtgacag 47

<210> 616

<211> 44
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRB J Parte del segmento largo

 <400> 616
 ctcgagcag ttctttgggc caggacacg gctcacgtg ctag 44

 <210> 617
 <211> 47
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRB J Parte del segmento largo

 <400> 617
 ctcgaggag ctgttctttg gagaaggctc taggctgacc gtactgg 47

 <210> 618
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRB J Parte del segmento largo

 <400> 618
 ctcgacgcag tattttggcc caggcacccg gctgacagtg ctcg 44

 <210> 619
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRB J Parte del segmento largo

 <400> 619
 ctcgattcag tactttggcg ccgggacccg gctctcagtg ctgg 44

 <210> 620
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRB J Parte del segmento largo

 <400> 620
 ctcgaccag tactttgggc caggcacgcg gctcctggtg ctcg 44

 <210> 621
 <211> 47
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>

<223> TRB J Parte del segmento largo

<400> 621

ctcgaacgtc ctgacttttg gggccggcag caggctgacc gtgctgg

47

<210> 622

<211> 41

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRB J Parte del segmento largo

<400> 622

ctcgagtagc ttggggccgg gcaccaggct cagggtcaca g

41

<210> 623

<211> 44

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBJ1-1*01_BB-L_R1

<400> 623

tcctctacaa ctgtgagtct ggtgccttgt ccaaagaaag cttc

44

<210> 624

<211> 44

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBJ1-2*01_BB-L_R1

<400> 624

tcctctacaa cgggtaacct ggtccccgaa ccaaagggtg agcc

44

<210> 625

<211> 44

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBJ1-3*01_BB-L_R1

<400> 625

tcctctacaa cagttagcca acttcctct ccaaaatata tggt

44

<210> 626

<211> 47

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRBJ1-4*01_BB-L_R1

<400> 626

tcctccaaga cagagagctg ggttccactg ccaaagaaca gcttttc

47

<210> 627
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRBJ1-5*01_BB-L_R1

 <400> 627
 tcctctagga tggagagtcg agtcccatca ccaaaatgct gggg 44

 <210> 628
 <211> 47
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRBJ1-6*01_BB-L_R1

 <400> 628
 tcctctgtca cagtgagcct ggtcccggtc ccaaagtga ggggtga 47

 <210> 629
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRBJ2-1*01_BB-L_R1

 <400> 629
 tcctctagca cggtgagccg tgtccctggc ccaaagaact gctc 44

 <210> 630
 <211> 47
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRBJ2-2*01_BB-L_R1

 <400> 630
 tcctccagta cggtcagcct agagccttct ccaaagaaca gctcccc 47

 <210> 631
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRBJ2-3*01_BB-L_R1

 <400> 631
 tcctcgagca ctgtcagccg ggtgcctggg caaaataact gcgt 44

 <210> 632
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRBJ2-4*01_BB-L_R1

<400> 632
 tcctccagca ctgagagccg ggtcccggcg ccaaagtact gaat 44

<210> 633
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRBJ2-5*01_BB-L_R1

<400> 633
 tcctcgagca ccaggagccg cgtgcctggc ccaaagtact gggt 44

<210> 634
 <211> 47
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRBJ2 - 6*01_BB-L_R1

<400> 634
 tcctccagca cggtcagcct gctgccggcc ccaaaagtca ggacgtt 47

<210> 635
 <211> 41
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRBJ2-7*01_BB-L_R1

<400> 635
 tcctctgtga ccgtgagcct ggtgcccggc ccaaagtact g 41

<210> 636
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_C1 TRBJ1-1

<400> 636
 ggtctcgttt ggacaaggca ccagactcac agttgtagag gacctgaaca aggtgttgag 60

acc 63

<210> 637
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_C1 TRBJ1-2

<400> 637
 ggtctcgttt gggtcgggga ccagggttaac cggtgtagag gacctgaaca aggtgttgag 60
 acc 63

<210> 638
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_C1 TRBJ1-3

<400> 638
 ggtctcgttt ggagagggaa gttggctcac tgtttagag gacctgaaca aggtgttgag 60
 acc 63

<210> 639
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_C1 TRBJ1-4

<400> 639
 ggtctcgttt ggcagtggaa cccagctctc tgtcttgag gacctgaaca aggtgttgag 60
 acc 63

<210> 640
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_C1 TRBJ1-5

<400> 640
 ggtctcgttt ggtgatggga ctcgactctc catcctagag gacctgaaca aggtgttgag 60
 acc 63

<210> 641
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_C1 TRBJ1-6

<400> 641
 ggtctcgttt gggaacggga ccaggctcac tgtgacagag gacctgaaca aggtgttgag 60
 acc 63

<210> 642
 <211> 63
 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Short_C1_TRBJ2-1

<400> 642

ggtctcgttt gggccaggga cacggctcac cgtgctagag gacctgaaca aggtgttgag 60

acc 63

<210> 643

<211> 63

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Short_C1_TRBJ2-2

<400> 643

ggtctcgttt ggagaaggct ctaggctgac cgtactggag gacctgaaca aggtgttgag 60

acc 63

<210> 644

<211> 63

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Short_C1_TRBJ2-3

<400> 644

ggtctcgttt ggcccaggca cccggctgac agtgctcgag gacctgaaca aggtgttgag 60

acc 63

<210> 645

<211> 63

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Short_C1_TRBJ2-4

<400> 645

ggtctcgttt ggcgcggga cccggctctc agtgctggag gacctgaaca aggtgttgag 60

acc 63

<210> 646

<211> 63

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Short_C1_TRBJ2-5

<400> 646

ggtctcgttt gggccaggca cgcggctcct ggtgctcgag gacctgaaca aggtgttgag 60

acc 63

<210> 647
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_C1_TRBJ2-6

<400> 647
 ggtctcggtt ggggccggca gcaggctgac cgtgctggag gacctgaaca aggtgttgag 60

acc 63

<210> 648
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_C1_TRBJ2-7

<400> 648
 ggtctcggtt gggccgggca ccaggctcac gggtcacagag gacctgaaca aggtgttgag 60

acc 63

<210> 649
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_C2 TRBJ1-1

<400> 649
 ggtctcggtt ggacaaggca ccagactcac agttgtagag gacctgaaaa acgtgttgag 60

acc 63

<210> 650
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Short_C2_TRBJ1-2

<400> 650
 ggtctcggtt gggtcgggga ccagggttaac cggtgtagag gacctgaaaa acgtgttgag 60

acc 63

<210> 651
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Short_C2 TRBJ1-3

<400> 651

ggtctcgttt ggagagggaa gttggctcac tgtttagag gacctgaaa acgtgttgag 60

acc 63

<210> 652

<211> 63

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Short_C2 TRBJ1-4

<400> 652

ggtctcgttt ggcagtggaa cccagctctc tgtcttgag gacctgaaa acgtgttgag 60

acc 63

<210> 653

<211> 63

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Short_C2 TRBJ1-5

<400> 653

ggtctcgttt ggtgatggga ctgactctc catcctagag gacctgaaa acgtgttgag 60

acc 63

<210> 654

<211> 63

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Short_C2 TRBJ1-6

<400> 654

ggtctcgttt gggaacggga ccaggctcac tgtgacagag gacctgaaa acgtgttgag 60

acc 63

<210> 655

<211> 63

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> J Donor_Short_C2 TRBJ2-1

<400> 655

ggtctcgttt gggccaggga cacggctcac cgtgctagag gacctgaaa acgtgttgag 60

acc 63

<210> 656

<211> 63
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_C2_TRBJ2-2

 <400> 656
 ggtctcggtt ggagaaggct ctaggctgac cgtactggag gacctgaaaa acgtgttgag 60
 acc 63

 <210> 657
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_C2_TRBJ2-3

 <400> 657
 ggtctcggtt ggcccaggca cccggctgac agtgctcgag gacctgaaaa acgtgttgag 60
 acc 63

 <210> 658
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_C2_TRBJ2-4

 <400> 658
 ggtctcggtt ggcgccggga cccggctctc agtgctggag gacctgaaaa acgtgttgag 60
 acc 63

 <210> 659
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Short_C2_TRBJ2-5

 <400> 659
 ggtctcggtt gggccaggca cgcggctcct ggtgctcgag gacctgaaaa acgtgttgag 60
 acc 63

 <210> 660
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRB C2 J Vector donante corto

 <400> 660

ggtctcgttt ggggccggca gcaggctgac cgtgctggag gacctgaaaa acgtgttgag 60
acc 63

<210> 661
<211> 63
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> J Donor_Short_C2_TRBJ2-7

<400> 661
ggtctcgttt gggccgggca ccaggctcac ggtcacagag gacctgaaaa acgtgttgag 60
acc 63

<210> 662
<211> 72
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> J Donor_Long_C1_TRBJ1-1

<400> 662
ggtctcgga gctttctttg gacaaggcac cagactcaca gttgtagagg acctgaacaa 60
ggtgttgaga cc 72

<210> 663
<211> 72
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> J Donor_Long_C1_TRBJ1-2

<400> 663
ggtctcgggc tacacctttg gttcggggac cagggttaacc gttgtagagg acctgaacaa 60
ggtgttgaga cc 72

<210> 664
<211> 72
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> J Donor_Long_C1_TRBJ1-3

<400> 664
ggtctcgacc atatattttg gagaggggaag ttggctcact gttgtagagg acctgaacaa 60
ggtgttgaga cc 72

<210> 665
<211> 75
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_C1_TRBJ1-4

<400> 665
 ggtctcggaa aagctgttct ttggcagtgg aaccagctc tctgtcttgg aggacctgaa 60
 caaggtggtg agacc 75

<210> 666
 <211> 72
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_C1_TRBJ1-5

<400> 666
 ggtctcgccc cagcattttg gtgatgggac tcgactctcc atcctagagg acctgaacaa 60
 ggtggttgaga cc 72

<210> 667
 <211> 75
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_C1_TRBJ1-6

<400> 667
 ggtctcgtca cccctccact ttgggaacgg gaccaggctc actgtgacag aggacctgaa 60
 caaggtggtg agacc 75

<210> 668
 <211> 72
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_C1_TRBJ2-1

<400> 668
 ggtctcggag cagttctttg ggccagggac acggctcacc gtgctagagg acctgaacaa 60
 ggtggttgaga cc 72

<210> 669
 <211> 75
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_C1_TRBJ2-2

<400> 669
 ggtctcgggg gagctgttct ttggagaagg ctctaggctg accgtactgg aggacctgaa 60
 caaggtggtg agacc 75

<210> 670
 <211> 72
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_C1_TRBJ2-3

 <400> 670
 ggtctcgacg cagtattttg gcccaggcac ccggtcgaca gtgctcgagg acctgaacaa 60
 ggtgttgaga cc 72

 <210> 671
 <211> 72
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_C1_TRBJ2-4

 <400> 671
 ggtctcgatt cagtactttg gcgccgggac ccggtctca gtgctggagg acctgaacaa 60
 ggtgttgaga cc 72

 <210> 672
 <211> 72
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_C1_TRBJ2-5

 <400> 672
 ggtctcgacc cagtactttg ggccaggcac gcggtcctg gtgctcgagg acctgaacaa 60
 ggtgttgaga cc 72

 <210> 673
 <211> 75
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_C1_TRBJ2-6

 <400> 673
 ggtctcgaac gtcctgactt ttggggccgg cagcaggctg accgtgctgg aggacctgaa 60
 caagggtgttg agacc 75

 <210> 674
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> J Donor_Long_C1_TRBJ2-7

<400> 674
 ggtctcgcag tactttgggc cgggcaccag gctcacggtc acagaggacc tgaacaaggt 60
 gttgagacc 69

<210> 675
 <211> 72
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_C2_

<400> 675
 ggtctcggaa gctttctttg gacaaggcac cagactcaca gttgtagagg acctgaaaaa 60
 cgtggttgaga cc 72

<210> 676
 <211> 72
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_C2_TRBJ1-2

<400> 676
 ggtctcgggc tacacctttg gttcggggac cagggttaacc gttgtagagg acctgaaaaa 60
 cgtggttgaga cc 72

<210> 677
 <211> 72
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_C2_TRBJ1-3

<400> 677
 ggtctcgacc atatattttg gagagggaag ttggctcact gttgtagagg acctgaaaaa 60
 cgtggttgaga cc 72

<210> 678
 <211> 75
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_C2_TRBJ1-4

<400> 678
 ggtctcggaa aagctgttct ttggcagtgg aaccagctc tctgtcttgg aggacctgaa 60
 aaacgtgttg agacc 75

<210> 679
 <211> 72

<212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_C2_TRBJ1-5

<400> 679
 ggtctcgccc cagcattttg gtgatgggac tcgactctcc atcctagagg acctgaaaaa 60
 cgtggttgaga cc 72

<210> 680
 <211> 75
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_C2_TRBJ1-6

<400> 680
 ggtctcgtca cccctccact ttgggaacgg gaccaggctc actgtgacag aggacctgaa 60
 aaacgtgttg agacc 75

<210> 681
 <211> 72
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_C2_TRBJ2-1

<400> 681
 ggtctcggag cagttctttg ggccagggac acggctcacc gtgctagagg acctgaaaaa 60
 cgtggttgaga cc 72

<210> 682
 <211> 75
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_C2_TRBJ2-2

<400> 682
 ggtctcgggg gagctgttct ttggagaagg ctctaggctg accgtactgg aggacctgaa 60
 aaacgtgttg agacc 75

<210> 683
 <211> 72
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_C2_TRBJ2-3

<400> 683
 ggtctcgacg cagtattttg gccagggcac ccggctgaca gtgctcgagg acctgaaaaa 60

cgtgttgaga cc 72

<210> 684
 <211> 72
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_C2_TRBJ2-4

<400> 684
 ggtctcgatt cagtactttg gcgccgggac ccggctctca gtgctggagg acctgaaaaa 60

cgtgttgaga cc 72

<210> 685
 <211> 72
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_C2_TRBJ2-5

<400> 685
 ggtctcgacc cagtactttg ggccaggcac gcggctcctg gtgctcgagg acctgaaaaa 60

cgtgttgaga cc 72

<210> 686
 <211> 75
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_C2_TRBJ2-6

<400> 686
 ggtctcgaac gtcttgactt ttggggccgg cagcaggctg accgtgctgg aggacctgaa 60

aaacgtgttg agacc 75

<210> 687
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> J Donor_Long_C2_TRBJ2-7

<400> 687
 ggtctcgag tactttgggc cgggcaccag gctcacggtc acagaggacc tgaaaaacgt 60

gttgagacc 69

<210> 688
 <211> 2471
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena principal de entrada V-C F14/F15

<400> 688

tctagacgaa gttcctattc cgaagttcct attccttatag gagtatagga acttcctcga	60
gctgggcctc atgggccttc cgctcactgc ccgctttcca gtcgggaaac ctgtcgtgcc	120
agctgcatta acatgggcat agctgtttcc ttgcgtattg ggcgctctcc gcttcctcgc	180
tcactgactc gctgcgctcg gtcgttcggg taaagcctgg ggtgcctaata gagcaaaagg	240
ccagcaaaag gccaggaacc gtaaaaaggc cgcgttgctg gcgtttttcc ataggctccg	300
ccccctgac gagcatcaca aaaatcgacg ctcaagtcag aggtggcgaa acccgacagg	360
actataaaga taccaggcgt ttccccctgg aagctccctc gtgcgctctc ctgttccgac	420
cctgccgctt accggatacc tgtccgcctt tctcccttcg ggaagcgtgg cgctttctca	480
tagctcacgc tgtaggtatc tcagttcggg ttaggtcgtt cgctccaagc tgggctgtgt	540
gcacgaaccc cccgttcagc ccgaccgctg cgccttatcc ggtaactatc gtcttgagtc	600
caaccggta agacacgact tatcgccact ggcagcagcc actggtaaca ggattagcag	660
agcgaggtat gtaggcgggtg ctacagagtt cttgaagtgg tggcctaact acggctacac	720
tagaagaaca gtatttggtg tctgcgctct gctgaagcca gttaccttcg gaaaaagagt	780
tggtagctct tgatccggca aacaaaccac cgctggtagc ggtgggtttt ttgtttgcaa	840
gcagcagatt acgcgcagaa aaaaaggatc tcaagaagat cctttgatct tttctacggg	900
gtctgacgct cagtggaaacg aaaactcacg ttaagggatt ttggatcatga gattatcaaa	960
aaggatcttc acctagatcc ttttaaatta aaaatgaagt tttaaatcaa tctaaagtat	1020
atatgagtaa acttgggtctg acagttacca atgcttaatc agtgaggcac ctatctcagc	1080
gatctgtcta tttcgttcat ccatagttgc ctgactcccc gtcgtgtaga taactacgat	1140
acgggagggc ttaccatctg gccccagtgc tgcaatgata ccgcgagaaac cacgctcacc	1200
ggctccagat ttatcagcaa taaaccagcc agccggaagg gccgagcgca gaagtgggtcc	1260
tgcaacttta tccgcctcca tccagtctat taattgttgc cgggaagcta gagtaagtag	1320
ttcgccagtt aatagtttgc gcaacgttgt tgccattgct acaggcatcg tgggtgtcacg	1380
ctcgtcgttt ggtatggctt cattcagctc cggttcccaa cgatcaaggc gagttacatg	1440
atcccccatg ttgtgcaaaa aagcgggttag ctcccttcggt cctccgatcg ttgtcagaag	1500
taagttggcc gcagtgttat cactcatggg tatggcagca ctgcataatt ctcttactgt	1560
catgccatcc gtaagatgct tttctgtgac tgggtgagtac tcaaccaagt cattctgaga	1620
atagtgtatg cggcgaccga gttgctcttg cccggcgctca atacgggata ataccgcgcc	1680

acatagcaga actttaaaag tgctcatcat tggaaaacgt tcttcggggc gaaaactctc	1740
aaggatctta ccgctgttga gatccagttc gatgtaaccc actcgtgcac ccaactgatc	1800
ttcagcatct tttactttca ccagcgtttc tgggtgagca aaaacaggaa ggcaaaatgc	1860
cgcaaaaaag ggaataaggg cgacacggaa atgttgaata ctcatactct tcctttttca	1920
atattattga agcatttatc agggttattg tctcatgagc ggatacatat ttgaatgtat	1980
ttagaaaaat aaacaaatag gggttccgcg cacatttccc cgaaaagtgc cacctaaatt	2040
gtaagcgtaa atattttgtt aaaattcgcg ttaaattttt gttaaatcag ctcatTTTTT	2100
aaccaatagg ccgaaatcgg caaaatccct tataaatcaa aagaatagac cgagataggg	2160
ttgagtggcc gctacagggc gctcccatc gccattcagg ctgcgcaact gttgggaagg	2220
gcgtttcggg gcgggcctct tcgctattac gccagctggc gaaaggggga tgtgctgcaa	2280
ggcgattaag ttgggtaacg ccagggtttt ccagtcacg acgttgtaa acgacggcca	2340
gtgagcgca cgtaatacga ctactatag ggcgaattgg cggaaggccg tcaaggccgc	2400
atgaattcgc taccgggaag ttctattcc gaagttccta ttctatcaga agtataggaa	2460
cttcaggtac c	2471

<210> 689

<211> 2471

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena principal de entrada V-C FRT/F3

<400> 689

tctagacgaa gttcctattc cgaagttcct attcttcaaa tagtatagga acttcctcga	60
gctgggcctc atgggccttc cgctcactgc ccgctttcca gtcgggaaac ctgtcgtgcc	120
agctgcatta acatggatcat agctgtttcc ttgcgtattg ggcgctctcc gcttcctcgc	180
tcactgactc gctgcgctcg gtcgttcggg taaagcctgg ggtgcctaata gagcaaaagg	240
ccagcaaaag gccaggaacc gtaaaaaggc cgcgttgctg gcgtttttcc ataggctccg	300
ccccctgac gagcatcaca aaaatcgacg ctcaagtcag aggtggcgaa acccgacagg	360
actataaaga taccaggcgt ttccccctgg aagctccctc gtgcgctctc ctgttccgac	420
cctgccgctt accggatacc tgtccgcctt tctcccttcg ggaagcgtgg cgctttctca	480
tagctcacgc tgtaggtatc tcagttcggg gtaggtcgtt cgctccaagc tgggctgtgt	540
gcacgaaccc cccgttcagc ccgaccgctg cgccttatcc ggtaactatc gtcttgagtc	600
caaccggbba agacacgact tatcgccact ggcagcagcc actggttaaca ggattagcag	660
agcgaggtat gtaggcgggtg ctacagagtt cttgaagtgg tggcctaact acggctacac	720

tagaagaaca gtatttggtat tctgcgctct gctgaagcca gttaccttcg gaaaaagagt	780
tggtagctct tgatccggca aacaaaccac cgctggtagc ggtgggttttt ttgtttgcaa	840
gcagcagatt acgcgcagaa aaaaaggatc tcaagaagat cctttgatct tttctacggg	900
gtctgacgct cagtggaacg aaaactcacg ttaagggatt ttggtcatga gattatcaaa	960
aaggatcttc acctagatcc ttttaaatta aaaatgaagt tttaaatcaa tctaaagtat	1020
atatgagtaa acttggtctg acagttacca atgcttaatc agtgaggcac ctatctcagc	1080
gatctgtcta tttcgttcat ccatagttgc ctgactcccc gtcgtgtaga taactacgat	1140
acgggagggc ttaccatctg gccccagtgc tgcaatgata ccgcgagAAC cagctcacc	1200
ggctccagat ttatcagcaa taaaccagcc agccggaagg gccgagcgcA gaagtgggtcc	1260
tgcaacttta tccgcctcca tccagtctat taattgttgc cgggaagcta gagtaagtag	1320
ttcgccagtt aatagtttgc gcaacgttgt tgccattgct acaggcatcg tgggtgcacg	1380
ctcgctgttt ggtatggctt cattcagctc cggttcccaa cgatcaaggc gagttacatg	1440
atcccccatg ttgtgcaaaa aagcgggttag ctccctcggt cctccgatcg ttgtcagaag	1500
taagttggcc gcagtgttat cactcatggt tatggcagca ctgcataatt ctcttactgt	1560
catgccatcc gtaagatgct tttctgtgac tggtgagtac tcaaccaagt cattctgaga	1620
atagtgtatg cggcgaccga gttgctcttg cccggcgtca atacgggata ataccgcgcc	1680
acatagcaga actttaaaag tgctcatcat tggaaaacgt tcttcggggc gaaaactctc	1740
aaggatctta ccgctgttga gatccagttc gatgtaaccc actcgtgcac ccaactgatc	1800
ttcagcatct tttactttca ccagcgtttc tgggtgagca aaaacaggaa ggcaaaatgc	1860
cgcaaaaaag ggaataaggc cgacacggaa atgttgaata ctcatactct tcctttttca	1920
atattattga agcatttatc agggttattg tctcatgagc ggatacatat ttgaatgtat	1980
ttagaaaaat aaacaaatag gggttccgcg cacatttccc cgaaaagtgc cacctaaatt	2040
gtaagcgtaa atattttgtt aaaattcgcg ttaaattttt gttaaatacag ctattttttt	2100
aaccaatagg ccgaaatcgg caaaatccct tataaatcaa aagaatagac cgagataggg	2160
ttgagtggcc gctacagggc gctccattc gccattcagg ctgcgcaact gttgggaagg	2220
gcgtttcggg gcgggcctct tcgctattac gccagctggc gaaaggggga tgtgctgcaa	2280
ggcgattaag ttgggtaacg ccagggtttt ccagtcacg acgttgtaaa acgacggcca	2340
gtgagcgcga cgtaatacga ctcaatatag ggcgaattgg cggaaggccg tcaaggccgc	2400
atgaattcgc taccgggaag ttcctattcc gaagttccta ttctctagaa agtataggaa	2460
cttcaggtac c	2471

```

<210> 690
<211> 38
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento de clonación V genérico (parte izquierda)

<220>

<221> misc_feature

<222> 38
<223> /note= "El último nucleótido de la SEQ ID 690 está unido al primer
nucleótido de XNn (descrito en la memoria descriptiva) y el último nucleótido
de XNn se une entonces al primer nucleótido de la SEQ ID 745".

<400> 690
gtcagataact ccatgagcac gaagacttgt acgccacc                                38

<210> 691
<211> 44
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Generic C cloning fragment (left part)

<220>

<221> misc_feature

<222> 44
<223> /note= "El último nucleótido de la SEQ ID 691 está unido al primer
nucleótido de YNn (descrito en la memoria descriptiva), y el último
nucleótido de YNn se une después al primer nucleótido de la SEQ ID 746".

<400> 691
gtgcactcct atgactaacg gaagactagg ccgcataggt ctca                            44

<210> 692
<211> 592
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Vector de entrada V-C transitorio genérico (parte izquierda)

<220>

<221> misc_feature

<222> 592
<223> /note= "El último nucleótido de la SEQ ID 692 está unido al primer
nucleótido de XNn (descrito en la memoria descriptiva) y el último nucleótido
de XNn se une entonces al primer nucleótido de la SEQ ID 747".

<400> 692
atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc gcgttacata        60

```

```

acttacggtta aatggccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat tgacgtcaat      120
aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc aatgggtgga      180
gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc caagtacgcc      240
ccctattgac gtcaatgacg gtaaattggc cgcctggcat tatgcccagt acatgacctt      300
atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta ccatggtgat      360
gcggttttgg cagtacatca atgggcgtgg atagcggttt gactcacggg gatttccaag      420
tctccacccc attgacgtca atgggagttt gttttggcac caaatcaac gggactttcc      480
aaaatgtcgt aacaactccg cccattgac gcaaattggc ggtaggcgtg tacggtggga      540
ggtctatata agcagagctg gtttagtgaa ccgtcagatc aggtacgcca cc              592

```

<210> 693

<211> 60

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Vector de entrada F14-F15 V-C genérico (parte izquierda)

<220>

<221> misc_feature

<222> 60

<223> /note= "El último nucleótido de la SEQ ID 693 está unido al primer nucleótido de XNn (descrito en la memoria descriptiva) y el último nucleótido de XNn se une entonces al primer nucleótido de la SEQ ID 749".

<400> 693

```
gaagttccta ttccgaagtt cctattctat cagaagtata ggaacttcag gtacgccacc      60
```

<210> 694

<211> 60

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Vector de entrada V-C FRT-F3 genérico (parte izquierda)

<220>

<221> misc_feature

<222> 60

<223> /note= "El último nucleótido de la SEQ ID 694 está unido al primer nucleótido de XNn (descrito en la memoria descriptiva) y el último nucleótido de XNn se une entonces al primer nucleótido de la SEQ ID 751".

<400> 694

```
gaagttccta ttccgaagtt cctattctct agaaagtata ggaacttcag gtacgccacc      60
```

<210> 695

```

<211> 38
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Casete de recepción J genérico F (parte izquierda)

<220>

<221> misc_feature

<222> 38
<223> /note= "El último nucleótido de la SEQ ID 695 está unido al primer
nucleótido de Yâ\ 200\ 231 Nn (descrito en la memoria descriptiva), y el
último nucleótido de Yâ\ 200\ 231 Nn se une entonces al primer nucleótido de
TGAGACCC".

<400> 695
aatcgggtct cgaagtcttc tgcggccgct gaagacac
38

<210> 696
<211> 12
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Casete de recepción J genérico R (parte izquierda)

<220>

<221> misc_feature

<222> 12
<223> /note= "El último nucleótido de la SEQ ID 696 está unido al primer
nucleótido de Yâ\ 200\ 231 Nn (descrito en la memoria descriptiva), y el
último nucleótido de Yâ\ 200\ 231 Nn se une entonces al primer nucleótido de
la SEQ ID 753."

<400> 696
tcgagggtct ca
12

<210> 697
<211> 38
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Vector del casete de recepción J genérico (parte izquierda)

<220>

<221> misc_feature

<222> 38
<223> /note= "El último nucleótido de la SEQ ID 697 está unido al primer
nucleótido de Yâ\ 200\ 231 Nn (descrito en la memoria descriptiva), y el
último nucleótido de Yâ\ 200\ 231 Nn se une entonces al primer nucleótido de
la SEQ ID 754."

<400> 697

```

aattcgggtct cgaagtcttc tgcggccgct gaagacac 38

<210> 698
 <211> 10
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Segmento J genérico F (ficticio, véase la memoria descriptiva para descripción)

<400> 698
 aaaaaaaaaa 10

<210> 699
 <211> 10
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Segmento J genérico R (ficticio, véase la memoria descriptiva para la descripción)

<400> 699
 aaaaaaaaaa 10

<210> 700
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Vector donante J genérico (parte izquierda)

<220>

<221> misc_feature

<222> 13
 <223> /note= "El último nucleótido de la SEQ ID 700 está unido al primer nucleótido de ZNnYâ\ 200\ 231 Nn (descrito en la memoria descriptiva), y el último nucleótido de ZNnYâ\ 200\ 231 Nn se une entonces al primer nucleótido de la SEQ ID 755".

<400> 700
 gaattcggtc tcg 13

<210> 701
 <211> 816
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> JG9 TRA FL

<400> 701
 atgctccttg aacatttatt aataatcttg tggatgcagc tgacatgggt cagtgggtcaa 60

cagctgaatc agagtcctca atctatgttt atccaggaag gagaagatgt ctccatgaac 120

tgcacttctt caagcatatt taacacctgg ctatggtaca agcaggaccc tggggaaggt	180
cctgtcctct tgatagcctt atataaggct ggtgaattga cctcaaagg aagactgact	240
gctcagtttg gtataaccag aaaggacagc ttctgaata tctcagcatc catacccagt	300
gatgtaggca tctacttctg tgctggaccc atgaaaacct cctacgacaa ggtgatattt	360
gggccaggga caagcttata agtcattcca aatatccaga accctgaccc tgccgtgtac	420
cagctgagag actctaaatc cagtgacaag tctgtctgcc tattcaccga ttttgattct	480
caaacaaatg tgtcacaag taaggattct gatgtgtata tcacagacaa aactgtgcta	540
gacatgaggt ctatggactt caagagcaac agtgctgtgg cctggagcaa caaatctgac	600
tttgcagtgt caaacgcctt caacaacagc attattccag aagacacctt cttccccagc	660
ccagaaagtt cctgtgatgt caagctggtc gagaaaagct ttgaaacaga tacgaaccta	720
aactttcaaa acctgtcagt gattgggttc cgaatcctcc tcctgaaagt ggccgggttt	780
aatctgctca tgacgctgcg gctgtggtcc agctga	816

<210> 702

<211> 927

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> JG9 TRB FL

<400> 702

atggactcct ggaccttctg ctgtgtgtcc ctttgcaccc tggtagcaaa gcacacagat	60
gctggagtta tccagtcacc ccggcacgag gtgacagaga tgggacaaga agtgactctg	120
agatgtaaac caatttcagg acacgactac cttttctggt acagacagac catgatgcgg	180
ggactggagt tgctcattta ctttaacaac aacgttccga tagatgattc agggatgccc	240
gaggatcgat tctcagctaa gatgcctaata gcatcattct ccactctgaa gatccagccc	300
tcagaacca gggactcagc tgtgtacttc tgtgccagca gttcggcaaa ctatggctac	360
accttcggtt cggggaccag gttaaccgtt gtagaggacc tgaacaaggt gttcccaccc	420
gaggtcgctg tgtttgagcc atcagaagca gagatctccc acacccaaaa ggccacactg	480
gtgtgcctgg ccacaggctt cttccctgac cacgtggagc tgagctggtg ggtgaatggg	540
aaggaggtgc acagtggggt cagcacggac ccgcagcccc tcaaggagca gcccgccctc	600
aatgactcca gatactgcct gagcagccgc ctgagggctc cgccacactt ctggcagaac	660
ccccgcaacc acttcgctg tcaagtccag ttctacgggc tctcgagaa tgacgagtgg	720
accagcata gggccaaacc cgtcaccag atcgtcagcg ccgaggcctg gggtagagca	780
gactgtggct ttacctcggt gtcctaccag caaggggtcc tgtctgccac catcctctat	840

gagatcctgc tagggaaggc caccctgtat gctgtgctgg tcagcgccct tgtgttgatg 900

gccatggtca agagaaagga tttctga 927

<210> 703
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> JG9 TRA odeCDR3 F

<400> 703
 ctgcgctgga cccatgaaaa cctcctacga caaggtgata 40

<210> 704
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> JG9 TRA odeCDR3 R

<400> 704
 caaatatcac cttgtcgtag gaggttttca tgggtccagc 40

<210> 705
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> JG9 TRB odeCDR3 F

<400> 705
 ttgcgccagc agttccgcaa actatggcta cacc 34

<210> 706
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> JG9 TRB odeCDR3 R

<400> 706
 caaaggtgta gccatagttt gcggaactgc tggc 34

<210> 707
 <211> 257
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRA HBD4.1.S9-1.D5.a

<400> 707
 gaagacagaa agtccagcac cttgatcctg cccacgcta cgctgagaga cactgctgtg 60

tactattgca tcgtcagga tcgttataac accggttaacc agttctatatt tgggacaggg 120
acaagtttga cggtcattcc aaatatccag aacctgacc ctgccgtgta ccagctgaga 180
gactctaaat ccagtgacaa gtctgtctgc ctattcaccg attttgattc tcaaacaat 240
gtgtcacaaa gtaagga 257

<210> 708
<211> 257
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRB HBD4.1.S9-1.D5.b

<400> 708
cagggttttc ccagtcacga ctagaaaaga gaagaggaat ttccccctga tcctggagtc 60
gccagcccc aaccagacct ctctgtactt ctgtgccagc agtttgggcc caagctccta 120
cgagcagtac ttccggccgg gcaccaggct caccgtcaca gaggacctga aaaacgtgtt 180
cccacccgag gtcgctgtgt ttgagccatc agaagcagag atcttccaca cccaaaaggc 240
cacactggtg tgcctgg 257

<210> 709
<211> 298
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRA HBD4.1.S9-2.A6.a

<400> 709
gttttcccag tcacgactcc agaaggcaag aaaatccgcc aaccttgtca tctccgcttc 60
acaactgggg gactcagcaa tgtattttctg tgcaatgaga gagggcatgg atagcagcta 120
taaattgatc ttccgggagtg ggaccagact gctggtcagg cctgatatcc agaacctga 180
ccctgccgtg taccagctga gagactctaa atccagtgac aagtctgtct gcctattcac 240
cgattttgat tctcaaaca atgtgtcaca aagtaaggat tctgtactga gtgagtat 298

<210> 710
<211> 235
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> TRA HBD4.1.S9-2.A6.a

<400> 710
ctttctccac tttggagatc cagcgcacag agcaggggga ctccggccatg tatctctgtg 60
ccagcagttt gcacgaccgg ggggcgcgga ctgaagcttt ctttggacaa ggcaccagac 120
tcacagttgt agaggacctg aacaaggtgt tcccaccga ggtcgctgtg tttgagccat 180

cagaagcaga gatctccac acccaaaagg ccacactggt gtgcctggcc acagg 235

<210> 711
 <211> 273
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRA HBD4.1.S9-3.A1.a

<400> 711
 cgacactaac ctttcagttt ggtgatgcaa gaaaggacag ttctctccac atcactgcag 60
 cccagcctgg tgatacaggc ctctacctct gtgcaggagc tcgaggaggc ttcaaaacta 120
 tctttggagc aggaacaaga ctatttgta aagcaaatac ccagaaccct gaccctgccg 180
 tgtaccagct gagagactct aaatccagtg acaagtctgt ctgcctattc accgattttg 240
 attctcaaac aaatgtgtca caaagtaagg att 273

<210> 712
 <211> 221
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRB HBD4.1.S9-3.A1.b

<400> 712
 cccctgatc ctggagtcgc ccaaccccaa ccaagcctct ctgtacttct gtgccagcar 60
 wttatcacca tctactggga actatggcta caccttcggt tcggggacca ggttaaccgt 120
 tgtagaggac ctgaacaagg tgttcccacc cgaggtcgct gtgtttgagc catcagaagc 180
 agagatctcc cacacccaaa aggcccacca ctggtgkgcc t 221

<210> 713
 <211> 286
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRA HBD4.1.S9-7.E5.a

<400> 713
 aaggcaagaa aatccgcaa ccttgtcatm tccgcttcac aactggggga ctcagcaatg 60
 tatttctgtg caatgaggcc ttatactgga ggcttcaaaa ctatctttgg agcaggaaca 120
 agactatttg ttaaagcaaa tatccagaac cctgaccctg ccgtgtacca gctgagagac 180
 tctaaatcca gtgacaagtc tgtctgcta ttcaccgatt ttgattctca aacaaatgtg 240
 tcacaaagta aggattctga tgtgtatatc acagacaaaa ctktgc 286

<210> 714
 <211> 238

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRA HBD4.1.S9-7.E5.a

<400> 714

cgaaaagaga agaggaattt ccccmgtatc ctggagtcgc ccagccccaw ccagacctct 60

ctgtacttct gtgccagcts cactagcccc tcgmcagctc gctatggcta cwccttcggt 120

tcggggacca ggttaaccgt tgtagaggac ctgaacaagg tgttcccacc cgaggtcgct 180

gtgtttgagc catcagaagc agmswtctcc cacacccaaa aggccacact gagkgkgc 238

<210> 715

<211> 306

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRA HBD4.1.S9-7.C5.a

<400> 715

tttgaaccgc aatttaacaa gacacaaacc tccttcccc tgaagaaacc atctgccctt 60

gtgagcgatt ccgctttgta cttctgtgct gtgagatccc ggatggatag cagctataaa 120

ttgatcttcg ggagtgggac cagactactg gtcaggcctg atatccagaa ccctgaccct 180

gccgtgtacc agctgagaga ctctaaatcc agtgacaagt ctgtctgcct attcaccgat 240

tttgattctc aaacaaatgt gtcacaaagt aaggattctg atgtgtatat cacagacaaa 300

actgtg 306

<210> 716

<211> 251

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRB HBD4.1.S9-7.C5.b

<400> 716

acgacctcca gggttttcta agggatgttt ctccaccttg aagatccagc gcacagagca 60

gggggactcg gccatgtatc tctgtgccag cagccccccc gacgcggcct acaatgagca 120

gttcttcggg ccagggacac ggctcaccgt gctagaggac ctgaaaaacg tgttcccacc 180

cgaggtcgct gtgtttgagc catcagaagc agagatctcc cacacccaaa aggccacact 240

ggtgtgcctg g 251

<210> 717

<211> 319

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRA HBD4.1.S9-5. E3.a

<400> 717

aggggttttcc cagtcacgac ttaagagtca cgcttgacac ttccaagaaa agcagttcct	60
tggtgatcac ggcttcccgg gcagcagaca ctgcttctta cttctgtgct acggagctcc	120
ggatggatag cagctataaa ttgatcttcg ggagtgggac cagactgctg gtcaggcctg	180
atatccagaa ccctgaccct gccgtgtacc agctgagaga ctctaaatcc agtgacaagt	240
ctgtctgcct attcaccgat tttgattctc aaacaaatgt gtcacaaagt aaggattctg	300
atgtgtatat cacagacaa	319

<210> 718

<211> 270

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRA HBD4.1.S9-5.E3.b

<400> 718

aggggttttcc cagtcacgac ctccagagag gcctaaggga tgtttctcca ctttggagat	60
ccagcgcaca gagcaggggg actcggccat gtatctctgt gccagcagct taagggaagg	120
acgactccca gagaccagct acttcggggc aggcacgcgg ctcttggtgc tcgaggacct	180
gaaaaacgtg ttcccaccg aggtcgctgt gtttgagcca tcagaagcag agatctccca	240
cacccaaaag gccacactgg tgtgcctggc	270

<210> 719

<211> 43

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRA HBD4.1.S9-1.D5 directo

<400> 719

ctgcatcgtc agggatcggt ataacaccgg taaccagttc tat	43

<210> 720

<211> 43

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRA HBD4.1.S9-1.D5 inverso

<400> 720

caaaatagaa ctggttaccg gtgttataac gatccctgac gat	43

<210> 721

<211> 40

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TRA HBD4.1.S9-1.D5 directo

<400> 721
 ttgcccagc agtttgggcc caagctccta cgagcagtac 40

<210> 722
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>

<223> TRB HBD4.1.S9-1.D5 inverso

<400> 722
 caaagtactg ctcgtaggag cttgggcca aactgctggc 40

<210> 723
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>

<223> TRA HBD4.1.S9-2.A6 directo

<400> 723
 ctgcgcaatg agagagggca tggatagcag ctataaattg atc 43

<210> 724
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>

<223> TRA HBD4.1.S9-2.A6 inverso

<400> 724
 caaagatcaa tttatagctg ctatccatgc cctctctcat tgc 43

<210> 725
 <211> 46
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>

<223> TRA HBD4.1.S9-2.A6 directo

<400> 725
 ttgcccagc agtttgcacg accgtggtgc gcggaactgaa gctttc 46

<210> 726
 <211> 46
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>

<223> TRB HBD4.1.S9-2.A6 inverso

<400> 726
 caaagaaagc ttcagtcgac gcaccacggt cgtgcaaact gctggc 46

<210> 727
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRA HBD4.1.S9-3.A1 directo

<400> 727
 ctgctgcagga gctcgaggag gcttcaaaac tatc 34

<210> 728
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRA HBD4.1.S9-3.A1 inverso

<400> 728
 caaagatagt tttgaagcct cctcgagctc ctgc 34

<210> 729
 <211> 46
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRA HBD4.1.S9-3.A1 directo

<400> 729
 ttgcgcagc agtttatcac catctactgg gaactatggc tacacc 46

<210> 730
 <211> 46
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRB HBD4.1.S9-3.A1 inverso

<400> 730
 caaaggtgta gccatagttc ccagtagatg gtgataaact gctggc 46

<210> 731
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRA HBD4.1.S9-7.E5 directo

<400> 731
 ctgctgcaatg aggccttata ctggaggctt caaaactatc 40

<210> 732
 <211> 40

<212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRA HBD4.1.S9-7.E5 inverso

 <400> 732
 caaagatagt tttgaagcct ccagtataag gcctcattgc 40

 <210> 733
 <211> 46
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRB HBD4.1.S9-7.E5 directo

 <400> 733
 ttgcgccagc tccactagcc cctcgacagc tcgctatggc tacacc 46

 <210> 734
 <211> 46
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRB HBD4.1.S9-7.E5 inverso

 <400> 734
 caaaggbgba gccatagcga gctgtcgagg ggctagtgga gctggc 46

 <210> 735
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRA HBD4.1.S9-7.C5 directo

 <400> 735
 ctgcgctgtg agatcccga tggatagcag ctataaattg atc 43

 <210> 736
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> HBD4.1.S9-7.C5 inverso

 <400> 736
 caaagatcaa tttatagctg ctatccatcc gggatctcac age 43

 <210> 737
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> TRA HBD4.1.S9-7.C5 directo

<400> 737
 ttgcgccagc agccctcctg acgcggccta caatgagcag ttc 43

<210> 738
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRB HBD4.1.S9-7.C5 inverso

<400> 738
 caaagaactg ctcattgtag gccgcgtcag gagggctgct ggc 43

<210> 739
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRA HBD4.1.S9-5.E3 directo

<400> 739
 ctgcgctacg gagctccgga tggatagcag ctataaattg atc 43

<210> 740
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> HBD4.1.S9-5.E3 inverso

<400> 740
 caaagatcaa tttatagctg ctatccatcc ggagctccgt agc 43

<210> 741
 <211> 46
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRA HBD4.1.S9-5.E3 directo

<400> 741
 ttgcgccagc agcttaaggg aaggacgact cccagagaca cagtac 46

<210> 742
 <211> 46
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TRB HBD4.1.S9-5.E3 inverso

<400> 742
 caaagtactg tgtctctggg agtcgtcctt cccttaagct gctggc 46

<210> 743


```

<211> 40
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> OdeCDR3 TRA directo - 3 posiciones degeneradas

<220>

<221> misc_feature

<222> 15
<223> /note= "n = a, t, c o g"

<220>

<221> misc_feature

<222> 20
<223> /note= "n = a, t, c o g"

<220>

<221> misc_feature

<222> 26
<223> /note= "n = a, t, c o g"

<400> 743
ctgcgctgga cccangaaan cctccnacga caaggtgata

<210> 744
<211> 40
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> OdeCDR3 TRA inverso - 3 posiciones degeneradas

<220>

<221> misc_feature

<222> 19
<223> /note= "n = a, t, c o g"

<220>

<221> misc_feature

<222> 25
<223> /note= "n = a, t, c o g"

<220>

<221> misc_feature

<222> 30
<223> /note= "n = a, t, c o g"

```

40

<400> 744
 caaatatcac cttgtcgtng gagnttttcn tgggtccagc 40

<210> 745
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Fragmento de clonación V genérico (parte derecha)

<220>

<221> misc_feature

<222> 1
 <223> /note= "El primer nucleótido de la SEQ ID 745 está unido al último nucleótido de XNn (descrito en la memoria descriptiva) y el primer nucleótido de XNn se une entonces al último nucleótido de la SEQ ID 690."

<400> 745
 agagaccttg cggccgtgtc ttcgactagt agctcaccta cga 43

<210> 746
 <211> 32
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Fragmento de clonación C genérico (parte derecha)

<220>

<221> misc_feature

<222> 1
 <223> /note= "El primer nucleótido de la SEQ ID 746 está unido al último nucleótido de YNn (descrito en la memoria descriptiva), y el primer nucleótido de YNn se une entonces al último nucleótido de la SEQ ID 691".

<400> 746
 ctagtgtct tccctatgct gaatcgatgg tc 32

<210> 747
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Vector de entrada V-C transitorio genérico (parte media)

<220>

<221> misc_feature

<222> 1
 <223> /note= "El primer nucleótido de la SEQ ID 747 está unido al último nucleótido de XNn (descrito en la memoria descriptiva) y el primer nucleótido de XNn se une entonces al último nucleótido de la SEQ ID 692."

<220>

<221> misc_feature

<222> 27

<223> /note= "El último nucleótido de la SEQ ID 747 está unido al primer nucleótido de YNn (descrito en la memoria descriptiva), y el último nucleótido de YNn se une entonces al primer nucleótido de la SEQ ID 748".

<400> 747

agagaccttg cggccgcata ggtctca

27

<210> 748

<211> 2622

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Vector de entrada V-C transitorio genérico (parte derecha)

<220>

<221> misc_feature

<222> 1

<223> /note= "El primer nucleótido de la SEQ ID 748 está unido al último nucleótido de YNn (descrito en la memoria descriptiva), y el primer nucleótido de YNn se une entonces al último nucleótido de la SEQ ID 747."

<400> 748

ctagacctga tcataatcaa gccatatcac atctgtagag gtttacttgc tttaaaaaac	60
ctccacacct cccctgaac ctgaaacata aaatgaatgc aattgttgtt gttaacttgt	120
ttattgcagc ttataatggt tacaataaaa gcaatagcat cacaaatttc acaataaaag	180
catttttttc actgcattct agttgtggtt tgtccaaact catcaatgta tcttatcatg	240
tctggatctg cggatccaat ctcgagctgg gcctcatggg ccttccgctc actgcccgct	300
ttccagtcgg gaaacctgtc gtgccagctg cattaacatg gtcatagctg tttccttgcg	360
tattgggctc tctccgcttc ctcgctcact gactcgctgc gtcggtcgt tcgggtaaag	420
cctggggctc ctaatgagca aaaggccagc aaaaggccag gaaccgtaaa aaggccgcgt	480
tgctggcggt tttccatagg ctccgcccc ctgacgagca tcacaaaaat cgacgctcaa	540
gtcagaggtg gcgaaacccg acaggactat aaagatacca ggcgtttccc cctggaagct	600
ccctcgtgcg ctctcctggt ccgaccctgc cgcttaccgg atacctgtcc gcctttctcc	660
cttcgggaag cgtggcgctt tctcatagct cacgctgtag gtatctcagt tcgggtgtagg	720
tcgttcgctc caagctgggc tgtgtgcacg aacccccgt tcagcccgac cgctgcgcct	780
tatccggtaa ctatcgtctt gagtccaacc cggtgaagaca cgacttatcg ccaactggcag	840
cagccactgg taacaggatt agcagagcga ggtatgtagg cggtgctaca gagttcttga	900

agtgggtggcc taactacggc tacactagaa gaacagtatt tggatatctgc gctctgctga	960
agccagttac cttcggaaaa agagttggta gctcttgatc cggcaaacaa accaccgctg	1020
gtagcgggtgg tttttttggt tgcaagcagc agattacgcg cagaaaaaaa ggatctcaag	1080
aagatccttt gatcttttct acgggggtctg acgctcagtg gaacgaaaac tcacgttaag	1140
ggattttggt catgagatta tcaaaaagga tcttcaccta gatcctttta aattaaat	1200
gaagttttta atcaatctaa agtatatatg agtaaacttg gtctgacagt taccaatgct	1260
taatcagtga ggcacctatc tcagcgatct gtctatttcg ttcattccata gttgcctgac	1320
tccccgtcgt gtagataact acgatacggg agggcttacc atctggcccc agtgctgcaa	1380
tgataccgcg agaaccacgc tcaccggctc cagatttatc agcaataaac cagccagccg	1440
gaagggccga gcgcagaagt ggtcctgcaa ctttatccgc ctccatccag tctattaatt	1500
gttgccggga agctagagta agtagttcgc cagttaatag tttgcgcaac gttgttgcca	1560
ttgctacagg catcgtggtg tcacgctcgt cgtttggtat ggcttcattc agctccggtt	1620
cccaacgatc aaggcgagtt acatgatccc ccatgttgtg caaaaaagcg gttagctcct	1680
tcggtcctcc gatcgttgtc agaagtaagt tggccgcagt gttatcactc atggttatgg	1740
cagcactgca taattctctt actgtcatgc catccgtaag atgcttttct gtgactggtg	1800
agtactcaac caagtcattc tgagaatagt gtatgcggcg accgagttgc tcttgcccgg	1860
cgtcaatacg ggataatacc gcgccacata gcagaacttt aaaagtgtc atcattggaa	1920
aacgttcttc ggggcgaaaa ctctcaagga tcttaccgct gttgagatcc agttcgatgt	1980
aaccactcg tgcacccaac tgatcttcag catcttttac tttcaccagc gtttctgggt	2040
gagcaaaaac aggaaggcaa aatgccgcaa aaaagggaat aagggcgaca cggaaatgtt	2100
gaatactcat actcttcctt tttcaatatt attgaagcat ttatcagggt tattgtctca	2160
tgagcggata catatttgaa tgtatttaga aaaataaaca aataggggtt ccgcgcacat	2220
ttccccgaaa agtgccacct aaattgtaag cgtaaatatt ttgttaaaat tcgcgttaaa	2280
tttttgttaa atcagctcat tttttaacca ataggccgaa atcggcacaaa tcccttataa	2340
atcaaaagaa tagaccgaga tagggttgag tggccgctac agggcgctcc cattcgccat	2400
tcaggctgcg caactgttg gaagggcggt tcgggtgcggg cctcttcgct attacgccag	2460
ctggcgaaaag ggggatgtgc tgcaaggcga ttaagttggg taacgccagg gttttcccag	2520
tcacgacgtt gtaaaacgac ggccagttag cgcgacgtaa tacgactcac tatagggcga	2580
attggcggaa ggccgtcaag gccgcatgaa ttcgctaccg gt	2622

<210> 749

<211> 27

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Vector de entrada de V-C F14-F15 genérico (parte media)

<220>

<221> misc_feature

<222> 1
 <223> /note= "El primer nucleótido de la SEQ ID 749 está unido al último nucleótido de XNn (descrito en la memoria descriptiva) y el primer nucleótido de XNn se une entonces al último nucleótido de la SEQ ID 693".

<220>

<221> misc_feature

<222> 27
 <223> /note= "El último nucleótido de la SEQ ID 749 está unido al primer nucleótido de YNn (descrito en la memoria descriptiva), y el último nucleótido de YNn se une entonces al primer nucleótido de la SEQ ID 750".

<400> 749
 agagaccttg cggccgcata ggtctca 27

<210> 750
 <211> 2415
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Vector de entrada de V-C F14-F15 genérico (parte derecha)

<220>

<221> misc_feature

<222> 1
 <223> /note= "El primer nucleótido de la SEQ ID 750 está unido al último nucleótido de YNn (descrito en la memoria descriptiva), y el primer nucleótido de YNn se une entonces al último nucleótido de la SEQ ID 749".

<400> 750
 ctagacgaag ttctattcc gaagttccta ttcttatagg agtataggaa cttcctcgag 60
 ctgggcctca tgggccttcc gctcactgcc cgctttccag tcgggaaacc tgctgtgcca 120
 gctgcattaa catggtcata gctgtttcct tgcgtattgg gcgctctccg cttcctcgct 180
 cactgactcg ctgcgctcgg tcgttcgggt aaagcctggg gtgcctaatag agcaaaaggc 240
 cagcaaaagg ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc 300
 cccctgacg agcatcacia aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa ccgcacagga 360
 ctataaagat accaggcgtt tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tggtccgacc 420
 ctgccgctta ccggatacct gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat 480

agctcacgct gtaggtatct cagttcgggtg taggtcggtc gctccaagct gggctgtgtg	540
cacgaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtc	600
aacccggtaa gacacgactt atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga	660
gcgaggtatg taggcgggtgc tacagagttc ttgaagtggg ggcctaacta cggctacact	720
agaagaacag tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt	780
ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag	840
cagcagatta cgcgagaaa aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg	900
tctgacgctc agtggaacga aaactcacgt taagggattt tggcatgag attatcaaaa	960
aggatcttca cctagatcct tttaaattaa aaatgaagtt ttaaataaat ctaaagtata	1020
tatgagtaaa cttgggtctga cagttaccaaa tgcttaataca gtgaggcacc tatctcagcg	1080
atctgtctat ttcggttcac catagttgcc tgactccccg tcgtgtagat aactacgata	1140
cgggagggct taccatctgg cccagtgct gcaatgatac cgcgagaacc acgctcaccg	1200
gctccagatt tatcagcaat aaaccagcca gccggaaggc ccgagcgagc aagtggctcct	1260
gcaactttat ccgcctccat ccagttctatt aattggtgcc gggaagctag agtaagtagt	1320
tcgccagtta atagtttgcg caacgttggt gccattgcta caggcatcgt ggtgtcacgc	1380
tcgtcgtttg gtatggcttc attcagctcc ggttcccaac gatcaaggcg agttacatga	1440
tccccatgt tgtgcaaaaa agcgggttagc tccttcgggtc ctccgatcgt tgtcagaagt	1500
aagttggccg cagtgttatc actcatgggt atggcagcac tgcataattc tcttactgtc	1560
atgccatccg taagatgctt ttctgtgact ggtgagtact caaccaagtc attctgagaa	1620
tagtgtatgc ggcgaccgag ttgctcttgc ccggcgctcaa tacgggataa taccgcgcca	1680
catagcagaa ctttaaaagt gctcatcatt ggaaaacgtt cttcggggcg aaaactctca	1740
aggatcttac cgctgttgag atccagttcg atgtaaccca ctcggtgcacc caactgatct	1800
tcagcatctt ttactttcac cagcgtttct gggtgagcaa aaacaggaag gcaaaatgcc	1860
gcaaaaaagg gaataagggc gacacggaaa tgttgaatac tcatactctt cctttttcaa	1920
tattattgaa gcatttatca gggttattgt ctcatgagcg gatacatatt tgaatgtatt	1980
tagaaaaata aacaaatagg ggttccgcgc acatttcccc gaaaagtgcc acctaaattg	2040
taagcgtaa tattttgtta aaattcgcgt taaatttttg ttaaatacagc tcatttttta	2100
accaataggc cgaaatcggc aaaatccctt ataaatcaaa agaatagacc gagatagggt	2160
tgagtggccg ctacagggcg ctccattcgc ccattcaggc tgcgcaactg ttgggaaggg	2220
cgtttcgggtg cgggcctctt cgctattacg ccagctggcg aaagggggat gtgctgcaag	2280

```

gcgattaagt tgggtaacgc cagggttttc ccagtcacga cgttgtaaaa cgacggccag      2340
tgagcgcgac gtaatacgac tcactatagg gcgaattggc ggaaggccgt caaggccgca      2400
tgaattcgct accggg                                                         2415

<210> 751
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Vector de entrada de V-C FRT-F3 genérico (parte media)

<220>

<221> misc_feature

<222> 1
<223> /note= "El primer nucleótido de la SEQ ID 751 está unido al último
nucleótido de XNn (descrito en la memoria descriptiva) y el primer nucleótido
de XNn se une entonces al último nucleótido de la SEQ ID 694".

<220>

<221> misc_feature

<222> 27
<223> /note= "El último nucleótido de la SEQ ID 751 está unido al primer
nucleótido de YNn (descrito en la memoria descriptiva), y el último
nucleótido de YNn se une entonces al primer nucleótido de la SEQ ID 752".

<400> 751
agagaccttg cggccgcata ggtctca                                           27

<210> 752
<211> 2415
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Vector de entrada de V-C FRT-F3 genérico (parte media)

<220>

<221> misc_feature

<222> 1
<223> /note= "El primer nucleótido de la SEQ ID 752 está unido al último
nucleótido de YNn (descrito en la memoria descriptiva), y el primer
nucleótido de YNn se une entonces al último nucleótido de la SEQ ID 751".

<400> 752
ctagacgaag ttctatttcc gaagttccta ttcttcaaat agtataggaa cttcctcgag      60
ctgggcctca tgggccttcc gctcactgcc cgctttccag tcgggaaacc tgctcgtgcc      120
gctgcattaa catggtcata gctgtttcct tgcgtattgg gcgctctccg cttcctcgct      180

```

cactgactcg ctgcgctcgg tcgttcgggt aaagcctggg gtgcctaatag agcaaaaaggc	240
cagcaaaaagg ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc	300
ccccctgacg agcatcacaa aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga	360
ctataaagat accaggcgtt tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc	420
ctgccgctta ccggatacct gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat	480
agctcacgct gtaggtatct cagttcgggt taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg	540
cacgaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc	600
aacccggtaa gacacgactt atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga	660
gcgaggtatg taggcggtgc tacagagttc ttgaagtggg ggcctaacta cggctacact	720
agaagaacag tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt	780
ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg gtgggtttttt tgtttgcaag	840
cagcagatta cgcgagaaa aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg	900
tctgacgctc agtggaaacga aaactcacgt taagggattt tggatcatgag attatcaaaa	960
aggatcttca cctagatcct tttaaattaa aaatgaagtt ttaaataaat ctaaagtata	1020
tatgagtaaa cttgggtctga cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg	1080
atctgtctat ttcgttcac ccatagttgcc tgactccccg tcgtgtagat aactacgata	1140
cgggagggct taccatctgg cccagtgct gcaatgatac cgcgagaacc acgctcaccg	1200
gctccagatt tatcagcaat aaaccagcca gccggaaggg ccgagcgcag aagtggctct	1260
gcaactttat ccgcctccat ccagtctatt aattgttgcc gggaagctag agtaagtagt	1320
tcgccagtta atagtttgcg caacgttggt gccattgcta caggcatcgt ggtgtcacgc	1380
tcgtcgtttg gtatggcttc attcagctcc ggttcccaac gatcaaggcg agttacatga	1440
tcccccatgt tgtgcaaaaa agcgggttagc tccttcgggtc ctccgatcgt tgtcagaagt	1500
aagttggccg cagtgttatc actcatggtt atggcagcac tgcataattc tcttactgtc	1560
atgccatccg taagatgctt ttctgtgact ggtgagtact caaccaagtc attctgagaa	1620
tagtgtatgc ggcgaccgag ttgctcttgc ccggcgtcaa tacgggataa taccgcgcca	1680
catagcagaa ctttaaaagt gctcatcatt ggaaaacgtt cttcggggcg aaaactctca	1740
aggatcttac cgctgttgag atccagttcg atgtaaccca ctcgtagcacc caactgatct	1800
tcagcatctt ttactttcac cagcgtttct gggtaggcaa aaacaggaag gcaaaatgcc	1860
gcaaaaaagg gaataagggc gacacggaaa tgttgaatac tcataactctt cttttttcaa	1920
tattattgaa gcatttatca gggttattgt ctcatgagcg gatacatatt tgaatgtatt	1980

tagaaaaata aacaaatagg ggttccgcgc acatttcccc gaaaagtgcc acctaaattg	2040
taagcgttaa tattttgtta aaattcgcgt taaatttttg ttaaatacagc tcatttttta	2100
accaataggc cgaaatcggc aaaatccctt ataaatcaaa agaatagacc gagatagggt	2160
tgagtggccg ctacagggcg ctcccattcg ccattcaggc tgcgcaactg ttgggaagg	2220
cgtttcgggtg cgggcctctt cgctattacg ccagctggcg aaagggggat gtgctgcaag	2280
gcgattaagt tgggtaacgc cagggttttc ccagtcacga cgttgtaaaa cgacggccag	2340
tgagcgcgac gtaatacgac tcactatagg gcgaattggc ggaaggccgt caaggccgca	2400
tgaattcgct accgg	2415

<210> 753

<211> 34

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Casete de recepción J genérico R (parte derecha)

<220>

<221> misc_feature

<222> 1

<223> /note= "El primer nucleótido de la SEQ ID 753 está unido al último nucleótido de Yâ\ 200\ 231 Nn (descrito en la memoria descriptiva), y el primer nucleótido de Yâ\ 200\ 231 Nn se une entonces al último nucleótido de la SEQ ID 696".

<400> 753

gtgtcttcag cggccgcaga agacttcgag accg	34

<210> 754

<211> 2310

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Vector del casete de recepción J genérico (parte derecha)

<220>

<221> misc_feature

<222> 1

<223> /note= "El primer nucleótido de la SEQ ID 754 se une al último nucleótido de Yâ\ 200\ 231 Nn (descrito en la memoria descriptiva), y el primer nucleótido de Yâ\ 200\ 231 Nn se une entonces al último nucleótido de la SEQ ID 697".

<400> 754

tgagaccctc gagctgggcc tcatgggcct tccgctcact gcccgccttc cagtcgggaa	60

acctgtcgtg ccagctgcat taacatgggc atagctgttt ccttgcgat tgggcgctct	120

ccgcttcctc gctcactgac tcgctgcgct cggtcggttcg ggtaaagcct ggggtgccta	180
atgagcaaaa ggccagcaaa aggccaggaa ccgtaaaaag gccgcgttgc tggcgttttt	240
ccataggctc cgccccctg acgagcatca caaaaatcga cgctcaagtc agagggtggcg	300
aaacccgaca ggactataaa gataccaggc gtttccccct ggaagctccc tcgtgcgctc	360
tcctgttccg accctgccgc ttaccggata cctgtccgcc tttctccctt cgggaagcgt	420
ggcgctttct catagctcac gctgtaggta tctcagttcg gtgtaggtcg ttcgctccaa	480
gctgggctgt gtgcacgaac cccccgttca gcccgaccgc tgcgccttat ccggtaaacta	540
tcgtcttgag tccaaccgg taagacacga cttatcgcca ctggcagcag ccaactggtaa	600
caggattagc agagcgagggt atgtaggcgg tgctacagag ttcttgaagt ggtggcctaa	660
ctacggctac actagaagaa cagtatttgg tatctgcgct ctgctgaagc cagttacctt	720
cggaaaaaga gttggtagct cttgatccgg caaacaacc accgctggta gcggtggttt	780
ttttgtttgc aagcagcaga ttacgcgcag aaaaaagga tctcaagaag atcctttgat	840
cttttctacg gggctcgacg ctcagtggaa cgaaaactca cgttaaggga ttttggtcat	900
gagattatca aaaaggatct tcacctagat ctttttaaata taaaaatgaa gttttaaatc	960
aatctaaagt atatatgagt aaacttggtc tgacagttag aaaaattcgt ccagcatcag	1020
atgaaattgc agtttgttca tgtccgggtt atcaatacca tatttctgga acagacgttt	1080
ctgcaggctc gggctaaatt caccagaca attccacaga attgccagat cctgataacg	1140
atctgcaata ccaacacgac caacatcaat gcagccaatc agtttaccct catcaaaaat	1200
caggttatcc aggctaaaat caccatgggt aacaacgcta tccggactaa acggcagcag	1260
tttatgcatt tctttccaaa cctgttcaac aggccaaacca ttacgttcat catcaaaatc	1320
gcttgcatca accagaccat tattcatacg gctctgtgcc tgtgccagac gaaaaacacg	1380
atcgctatta aacggacaat tacaaaccgg aatgctatgc agacgacgca gaaaaactgc	1440
cagtgcacat acaatatttt cgctgaatc cggatattct tccagaacct gaaatgcggt	1500
tttaccgga attgcggtgg tcagcagcca tgcacatcc ggtgtacgaa taaaatgttt	1560
aatggtcggc agcggcataa attcggtcag ccaattcaga cgaaccattt catcggtcac	1620
atcatttgca acgctacctt taccatgttt cagaaacagt tccggtgcat ccggtttacc	1680
atacagacga taaatggttg caccgctctg accaacatta tcacgtgccc atttatagcc	1740
atacagatct gcatccatat tgctattcag acgcggacgg ctacagctgg tttcacgctg	1800
aatatggctc atactcttcc tttttcaata ttattgaagc atttatcagg gttattgtct	1860
catgagcgga tacatatttg aatgtattta gaaaaataaa caaatagggg ttccgcgcac	1920

atttccccga aaagtgccac ctaaattgta agcgtaata ttttgtaaa attcgcgtta	1980
aatTTTTgtt aaatcagctc atTTTTtaac caataggccg aaatcggcaa aatcccttat	2040
aaatcaaaag aatagaccga gatagggttg agtggccgct acagggcgct cccattcgcc	2100
attcaggctg cgcaactgtt gggaagggcg tttcgggtgcg ggcctcttcg ctattacgcc	2160
agctggcgaa agggggatgt gctgcaaggc gattaagttg ggtaacgcca gggTTTTccc	2220
agtcacgacg ttgtaaaacg acggccagtg agcgcgacgt aatacgactc actatagggc	2280
gaattggcgg aaggccgtca aggccgcatg	2310

<210> 755

<211> 2309

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Vector donante J genérico (parte derecha)

<220>

<221> misc_feature

<222> 1

<223> /note= "El primer nucleótido de la SEQ ID 755 está unido al último nucleótido de ZNnYâ\ 200\ 231 Nn (descrito en la memoria descriptiva), y el primer nucleótido de ZNnYâ\ 200\ 231 Nn se une entonces al último nucleótido de la SEQ ID 700".

<400> 755

tgagaccctc gagctgggcc tcatgggcct tccgctcact gcccgccttc cagtcgggaa	60
acctgtcgtg ccagctgcat taacatggtc atagctgttt ccttgcgtat tgggcgctct	120
ccgcttcttc gctcactgac tcgctgcgct cggtcgttcg ggtaaagcct ggggtgccta	180
atgagcaaaa ggccagcaaa aggccaggaa ccgtaaaaag gccgcgttgc tggcgTTTT	240
ccataggctc cgccccctg acgagcatca caaaaatcga cgctcaagtc agaggTggcg	300
aaaccgcaca ggactataaa gataccaggc gtttccccct ggaagctccc tcgtgcgctc	360
tcctgttccg accctgccgc ttaccggata cctgtccgcc tttctccctt cgggaagcgt	420
ggcgctttct catagctcac gctgtaggta tctcagttcg gtgtaggtcg ttcgctccaa	480
gctgggctgt gtgcacgaac cccccgttca gcccgaccgc tgcgccttat ccggtaaacta	540
tcgtcttgag tccaaccgg taagacacga cttatcgcca ctggcagcag ccaactggtaa	600
caggattagc agagcgaggc atgtaggcgg tgctacagag ttcttgaagt ggtggcctaa	660
ctacggctac actagaagaa cagtatttgg tatctgcgct ctgctgaagc cagttacctt	720
cggaaaaaga gttggtagct cttgatccgg caaacaacc accgctggta gcggtggttt	780

ttttgtttgc aagcagcaga ttacgcgcag aaaaaaagga tctcaagaag atcctttgat	840
cttttctacg gggctctgacg ctcaagtggaa cgaaaactca cgttaaggga ttttgggtcat	900
gagattatca aaaaggatct tcacctagat cctttttaaat taaaaatgaa gtttttaaatc	960
aatctaaagt atatatgagt aaacttggtc tgacagttag aaaaattcgt ccagcatcag	1020
atgaaattgc agtttgttca tgtccgggtt atcaatacca tatttctgga acagacgttt	1080
ctgcaggctc gggctaaatt caccagaca attccacaga attgccagat cctgataacg	1140
atctgcaata ccaacacgac caacatcaat gcagccaatc agtttaccct catcaaaaat	1200
caggttatcc aggctaaaat caccatgggt aacaacgcta tccggactaa acggcagcag	1260
tttatgcatt tctttccaaa cctgttcaac aggccaacca ttacgttcat catcaaaatc	1320
gcttgcacat accagacat tattcatacg gctctgtgcc tgtgccagac gaaaaacacg	1380
atcgctatta aacggacaat tacaaaccgg aatgctatgc agacgacgca gaaaaactgc	1440
cagtgcacat acaatatttt cgctgaatc cggatattct tccagaacct gaaatgcggt	1500
tttaccgga attgcggtgg tcagcagcca tgcacatcc ggtgtacgaa taaatgttt	1560
aatggctcggc agcggcataa attcggtcag ccaattcaga cgaaccattt catcggtcac	1620
atcatttgca acgctacctt taccatgttt cagaaacagt tccggtgcat ccggtttacc	1680
atacagacga taaatggttg caccgctctg accaacatta tcacgtgcc atttatagcc	1740
atacagatct gcatccatat tgctattcag acgcggacgg ctacagctgg tttcacgctg	1800
aatatggctc atactcttcc tttttcaata ttattgaagc atttatcagg gttattgtct	1860
catgagcggg tacatatttg aatgtattta gaaaaataaa caaatagggg ttccgcgcac	1920
atttccccga aaagtgccac cttaaattgta agcgtaata ttttgttaaa attcgcgtta	1980
aatttttgtt aaatcagctc attttttaac caataggccg aaatcgcaa aatcccttat	2040
aaatcaaaag aatagaccga gatagggttg agtggccgct acagggcgct cccattcgcc	2100
attcaggctg cgcaactgtt gggaagggcg tttcgggtgcg ggcctcttcg ctattacgcc	2160
agctggcgaa agggggatgt gctgcaaggc gattaagttg ggtaacgcca gggttttccc	2220
agtcacgacg ttgtaaaacg acggccagtg agcgcgacgt aatacgactc actatagggc	2280
gaattggcgg aaggccgtca aggccgcat	2309

<210> 756

<211> 2510

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena principal de entrada V-Ca FRT/F3

<400> 756

ctagctagag acgttgctga catcgtctct tacctagacg aagttcctat tccgaagttc	60
ctattcttca aatagtatag gaacttcctc gagctgggcc tcatgggcct tccgctcact	120
gcccgctttc cagtcgggaa acctgtcgtg ccagctgcat taacatggtc atagctgttt	180
ccttgcgat tgggcgctct ccgcttcctc gctcactgac tcgctgcgct cggtcggttcg	240
ggtaaagcct ggggtgccta atgagcaaaa ggccagcaaa aggccaggaa ccgtaaaaag	300
gccgcgttgc tggcgttttt ccataggctc cgccccctg acgagcatca caaaaatcga	360
cgctcaagtc agaggtggcg aaacccgaca ggactataaa gataccaggc gtttccccct	420
ggaagctccc tcgtgcgctc tcctgttccg accctgccgc ttaccggata cctgtccgcc	480
tttctccctt cgggaagcgt ggcgctttct catagctcac gctgtaggta tctcagttcg	540
gtgtaggtcg ttcgctccaa gctgggctgt gtgcacgaac ccccggttca gcccgaccgc	600
tgcgccttat ccggaacta tcgtcttgag tccaacccgg taagacacga cttatcgcca	660
ctggcagcag cactggtaa caggattagc agagcgaggc atgtaggcgg tgctacagag	720
ttcttgaagt ggtggcctaa ctacggctac actagaagaa cagtatttgg tatctgcgct	780
ctgctgaagc cagttacctt cggaaaaaga gttggtagct cttgatccgg caaacaacc	840
accgctggta gcggtggttt ttttggttgc aagcagcaga ttacgcgcag aaaaaagga	900
tctcaagaag atcctttgat cttttctacg gggctcgacg ctcaagtggaa cgaaaactca	960
cgttaaggga ttttggtcat gagattatca aaaaggatct tcacctagat ctttttaa	1020
taaaaatgaa gttttaaatc aatctaaagt atatatgagt aaacttggtc tgacagttac	1080
caatgcttaa tcagtgggc acctatctca gcgatctgtc tatttcgttc atccatagtt	1140
gcctgactcc ccgtcgtgta gataactacg atacgggagg gcttaccatc tggccccagt	1200
gctgcaatga taccgcgaga accacgctca ccggctccag atttatcagc aataaaccag	1260
ccagccggaa gggccgagcg cagaagtggc cctgcaactt tatccgcctc catccagtct	1320
attaattgtt gccgggaagc tagagtaagt agttcgccag ttaatagttt gcgcaacgtt	1380
gttgccattg ctacaggcat cgtggtgtca cgctcgtcgt ttggtatggc ttcattcagc	1440
tccggttccc aacgatcaag gcgagttaca tgatcccca tgttggtgcaa aaaagcggtt	1500
agctccttcg gtcctccgat cgttgctcaga agtaagttgg ccgcagtggt atcactcatg	1560
gttatggcag cactgcataa ttctcttact gtcatgccat ccgtaagatg cttttctgtg	1620
actggtgagt actcaaccaa gtcattctga gaatagtgtg tgccggcgacc gagttgctct	1680
tgcccggcgt caatacggga taataccgcg ccacatagca gaactttaaa agtgctcatc	1740
attggaaaac gttcttcggg gcgaaaactc tcaaggatct taccgctgtt gagatccagt	1800

tcgatgtaac ccactcgtgc acccaactga tcttcagcat cttttacttt caccagcgtt	1860
tctgggtgag caaaaacagg aaggcaaaat gccgcaaaaa agggaataag ggcgacacgg	1920
aatgttgaa tactcatact cttccttttt caatattatt gaagcattta tcagggttat	1980
tgtctcatga gcggatacat atttgaatgt atttagaaaa ataaacaaat aggggttccg	2040
cgcacatttc cccgaaaagt gccacctaaa ttgtaagcgt taatattttg ttaaaattcg	2100
cgttaaattt ttgttaaata agctcatttt ttaaccaata ggccgaaatc ggcaaaatcc	2160
cttataaatc aaaagaatag accgagatag ggttgagtgg ccgctacagg gcgctcccat	2220
tcgccattca ggctgcgcaa ctggtgggaa gggcgtttcg gtgcgggcct cttcgctatt	2280
acgccagctg gcgaaagggg gatgtgctgc aaggcgatta agttgggtaa cgccagggtt	2340
ttccagtcga cgacgttgta aaacgacggc cagtgcgcgc gacgtaatac gactcactat	2400
agggcgaaatt ggcggaaggc cgtcaaggcc gcatgaattc gctaccggga agttcctatt	2460
ccgaagttcc tattctctag aaagtatagg aacttcaggt actcaggtac	2510

<210> 757

<211> 785

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Entrada V-C TRAV7 TRAC_FRT-F3

<400> 757

gccaccatgg agaagatgcg tagacctgtc ctaattatat tttgtctatg tcttggtcgg	60
gcaaatggag aaaaccagggt ggagcacagc cctcattttc tgggacccca gcaggagat	120
gttgctcca tgagctgcac gtactctgtc agtcgtttta acaatttgca gtggtacagg	180
caaaatacag ggatgggtcc caaacaccta ttatccatgt attcagctgg atatgagaag	240
cagaaaggaa ggctaaatgc tacattactg aagaatggaa gcagcttgta cattacagcc	300
gtgcagcctg aagattcagc cacctatttc tgcagagacc ttgcggccgc ataggtctca	360
ccagaaccct gaccctgccg tgtaccagct gagagactct aaatccagtg acaagtctgt	420
ctgcctattc accgattttg attctcaaac aaatgtgtca caaagtaagg attctgatgt	480
gtatatcaca gacaaaactg tgctagacat gaggtctatg gacttcaaga gcaacagtgc	540
tgtggcctgg agcaacaaat ctgactttgc atgtgcaaac gccttcaaca acagcattat	600
tccagaggac accttcttcc ccagcccaga aagttcctgt gatgtcaagc tggtcgagaa	660
aagctttgaa acagatacga acctaaactt tcaaaacctg tcagtgattg ggttccgaat	720
cctcctcctg aaagtggccg ggtttaatct gctcatgacg ctgcggctgt ggtccagctg	780

actag 785

<210> 758

<211> 788

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Entrada V-C TRAV8-2 TRAC_FRT-F3

<400> 758

gccaccatgc tcctgctgct cgtcccagtg ctcgaggtga tttttactct gggaggaacc 60

agagcccagt cggtgaccca gcttgacagc cacgtttctg tctctgaagg aaccccgggtg 120

ctgctgaggt gcaactactc atcttcttat tcaccatctc tcttctggta tgtgcaacac 180

cccaacaaag gactccagct tctcctgaag tacacatcag cggccaccct ggttaaaggc 240

atcaacgggt ttgaggctga atttaagaag agtgaaacct ccttccacct gacgaaaccc 300

tcagcccata tgagcgacgc ggctgagtag ttctgcagag accttgccgc cgcataaggctc 360

tcaccagaac cctgaccctg ccgtgtacca gctgagagac tctaaatcca gtgacaagtc 420

tgtctgccta ttcaccgatt ttgattctca aacaaatgtg tcacaaagta aggattctga 480

tgtgtatatc acagacaaaa ctgtgctaga catgaggtct atggacttca agagcaacag 540

tgctgtggcc tggagcaaca aatctgactt tgcattgtga aacgccttca acaacagcat 600

tattccagag gacaccttct tccccagccc agaaagttcc tgtgatgtca agctgggtcga 660

gaaaagcttt gaaacagata cgaacctaaa ctttcaaac ctgtcagtga ttgggttccg 720

aatcctctc ctgaaagtgg ccgggtttta tctgctcatg acgctgcggc tgtggtccag 780

ctgactag 788

<210> 759

<211> 784

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Entrada V-C TRAV8-4 TRAC_FRT-F3

<400> 759

gccaccatgc tcctgctgct cgtcccagtg ctcgaggtga tttttaccct gggaggaacc 60

agagcccagt cggtgaccca gcttggcagc cacgtttctg tctctgaagg agccctgggtt 120

ctgctgaggt gcaactactc atcgtctgtt ccaccatata tcttctggta tgtgcaatac 180

cccaaccaag gactccagct tctcctgaag tacacatcag cggccaccct ggttaaaggc 240

atcaacgggt ttgaggctga atttaagaag agtgaaacct ccttccacct gacgaaaccc 300

tcagcccata tgagcgacgc ggctgagtag ttctgcagag accttgccgc cgcataaggctc 360

tcaccagaac cctgaccctg ccgtgtacca gctgagagac tctaaatcca gtgacaagtc	420
tgtctgccta ttcaccgatt ttgattctca aacaaatgtg tcacaaagta aggattctga	480
tgtgtatatc acagacaaaa ctgtgctaga catgaggtct atggacttca agagcaacag	540
tgctgtggcc tggagcaaca aatctgactt tgcattgtgca aacgccttca acaacagcat	600
tattccagag gacaccttct tccccagccc agaaagttcc tgtgatgtca agctgggtcga	660
gaaaagcttt gaaacagata cgaacctaaa ctttcaaaac ctgtcagtga ttgggttccg	720
aatcctcctc ctgaaagtgg ccgggtttta tctgctcatg acgtgcggc tgtgggtccag	780
ctga	784

<210> 760

<211> 778

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Entrada V-C TRAV18 TRAC_FRT-F3

<400> 760

gccaccatgc tgtctgcttc ctgctcagga cttgtgatct tgttgatatt cagaaggacc	60
agtggagact cggttaccca gacagaaggc ccagttaccc tccctgagag ggcagctctg	120
acattaaact gcacttatca gtccagctat tcaacttttc tattctggta tgtccagtat	180
ctaaacaaag agcctgagct cctcctgaaa agttcagaaa accaggagac tgacagcaga	240
ggttttcagg ccagtcctat caagagtgc agttccttcc acctggagaa gccctcggtg	300
cagctgtcgg actctgccgt gtactactgc agagaccttg cgcccgcata ggtctcacca	360
gaaccctgac cctgccgtgt accagctgag agactctaaa tccagtgcga agtctgtctg	420
cctattcacc gatatttgatt ctcaaacaaa tgtgtcacaa agtaaggatt ctgatgtgta	480
tatcacagac aaaactgtgc tagacatgag gtctatggac ttcaagagca acagtgtctgt	540
ggcctggagc aacaaatctg actttgcatg tgcaaacgcc ttcaacaaca gcattattcc	600
agaggacacc ttcttcccca gccagaaaag ttccctgtgat gtcaagctgg tcgagaaaag	660
ctttgaaaca gatacgaacc taaactttca aaacctgtca gtgattgggt tccgaatcct	720
cctcctgaaa gtggccgggt ttaatctgct catgacgctg cggctgtggt ccagctga	778

<210> 761

<211> 790

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Entrada V-C TRAV38-2DV8_TRAC_FRT-F3

<400> 761

gccaccatgg catgccctgg ctccctgtgg gcacttgtga tctccacctg tcttgaattt 60
 agcatggctc agacagtcac tcagtctcaa ccagagatgt ctgtgcagga ggcagaaacg 120
 gtgaccctga gctgcacata tgacaccagt gagagtgtatt attattttatt ctgggtacaag 180
 cagcctccca gcaggcagat gattctcgtt attcgccaag aagcttataa gcaacagaat 240
 gcaacagaga atcgtttctc tgtgaacttc cagaaagcag ccaaatacctt cagtctcaag 300
 atctcagact cacagctggg ggatgccgag atgtatttct gcagagacct tgcggccgca 360
 taggtctcac cagaaccctg accctgccgt gtaccagctg agagactcta aatccagtga 420
 caagtctgtc tgcctattca ccgattttga ttctcaaaca aatgtgtcac aaagtaagga 480
 ttctgatgtg tatatcacag acaaaactgt gctagacatg aggtctatgg acttcaagag 540
 caacagtgtc gtggcctgga gcaacaaatc tgactttgca tgtgcaaacg ccttcaacaa 600
 cagcattatt ccagaggaca ccttcttccc cagcccagaa agttcctgtg atgtcaagct 660
 ggtcgagaaa agctttgaaa cagatacgaa cctaaacttt caaacctgt cagtgtattg 720
 gttccgaatc ctccctctga aagtggccgg gtttaatctg ctcatgacgc tgcggctgtg 780
 gtccagctga 790

<210> 762

<211> 775

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Entrada V-C TRAV39 TRAC_FRT-F3

<400> 762

gccaccatga agaagctact agcaatgatt ctgtggcttc aactagaccg gttaagtgga 60
 gagctgaaag tggaacaaaa ccctctgttc ctgagcatgc aggagggaaa aaactatacc 120
 atctactgca attattcaac cacttcagac agactgtatt ggtacaggca ggatcctggg 180
 aaaagtctgg aatctctgtt tgtgttgcta tcaaattggag cagtgaagca ggagggacga 240
 ttaatggcct cacttgatac caaagcccga ctcagcacc cccacatcac agctgccgtg 300
 catgacctct ctgccaccta cttctgcaga gaccttgagg ccgcataggt ctaccagaa 360
 ccctgaccct gccgtgtacc agctgagaga ctctaaatcc agtgacaagt ctgtctgcct 420
 attcaccgat tttgattctc aaacaaatgt gtcacaaagt aaggattctg atgtgtatat 480
 cacagacaaa actgtgctag acatgaggtc tatggacttc aagagcaaca gtgctgtggc 540
 ctggagcaac aaatctgact ttgcatgtgc aaacgccttc aacaacagca ttattccaga 600
 ggacaccttc ttccccagcc cagaaagttc ctgtgatgtc aagctgggtc agaaaagctt 660
 tgaaacagat acgaacctaa actttcaaaa cctgtcagtg attgggttcc gaatcctcct 720

cctgaaagtg gccgggttta atctgctcat gacgctgcgg ctgtggtcca gctga 775

<210> 763

<211> 760

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Entrada V-C TRAV40 TRAC_FRT-F3

<400> 763

gccaccatga actcctctct ggacttttcta attctgatct taatgtttgg aggaaccagc 60

agcaattcag tcaagcagac gggccaaata accgtatcgg agggagcatc tgtgactatg 120

aactgcacat acacatccac ggggtaccct acccttttct ggtatgtgga ataccccagc 180

aaacctctgc agcttcttca gagagagaca atggaaaaca gcaaaaactt cggaggcgga 240

aatattaaag acaaaaactc cccattgtg aaatattcag tccaggtatc agactcagcc 300

gtgtactact gcagagacct tgcggccgca taggtctcac cagaaccctg accctgccgt 360

gtaccagctg agagactcta aatccagtga caagtctgtc tgcctattca ccgattttga 420

ttctcaaaca aatgtgtcac aaagtaagga ttctgatgtg tatatcacag acaaaaactgt 480

gctagacatg aggtctatgg acttcaagag caacagtgtc gtggcctgga gcaacaaatc 540

tgactttgca tgtgcaaacg ccttcaacaa cagcattatt ccagaggaca ccttcttccc 600

cagcccagaa agttcctgtg atgtcaagct ggtcgagaaa agctttgaaa cagatacgaa 660

cctaaacttt caaaacctgt cagtgattgg gttccgaatc ctctcctga aagtggccgg 720

gtttaatctg ctcatgacgc tgcggctgtg gtccagctga 760

<210> 764

<211> 2501

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena principal de entrada V-Cb F14/F15

<400> 764

ctagacctgg agacgacgcg tctagacgaa gttcctattc cgaagttcct attcttatag 60

gagtatagga acttcctcga gctgggcctc atgggccttc cgctcactgc ccgctttcca 120

gtcgggaaac ctgtcgtgcc agctgcatta acatggatcat agctgtttcc ttgcgtattg 180

ggcgctctcc gcttcctcgc tcaactgactc gctgcgctcg gtcgttcggg taaagcctgg 240

ggtgcctaata gagcaaaagg ccagcaaaag gccaggaacc gtaaaaaggc cgcgttgctg 300

gcgtttttcc ataggctccg cccccctgac gagcatcaca aaaatcgacg ctcaagtcag 360

aggtggcgaa acccgacagg actataaaga taccaggcgt ttccccctgg aagctccctc 420

gtgcgctctc ctgttccgac cctgccgctt accggatacc tgtccgcctt tctcccttcg	480
ggaagcgtgg cgctttctca tagctcacgc tgtaggtatc tcagttcggg gtaggtcgtt	540
cgctccaagc tgggctgtgt gcacgaaccc cccgttcagc ccgaccgctg cgccttatcc	600
ggtaactatc gtcttgagtc caaccggta agacacgact tatcgccact ggcagcagcc	660
actggtaaca ggattagcag agcgaggtat gtaggcgggtg ctacagagtt cttgaagtgg	720
tggcctaact acggctacac tagaagaaca gtatttggtta tctgcgctct gctgaagcca	780
gttaccttcg gaaaaagagt tggtagctct tgatccggca aacaaaccac cgctggtagc	840
ggtggttttt ttgtttgcaa gcagcagatt acgcgcagaa aaaaaggatc tcaagaagat	900
cctttgatct tttctacggg gtctgacgct cagtggaaacg aaaactcacg ttaagggatt	960
ttggtcatga gattatcaaa aaggatcttc acctagatcc ttttaaatta aaaatgaagt	1020
tttaaataca tctaaagtat atatgagtaa acttggtctg acagttacca atgcttaatc	1080
agtgaggcac ctatctcagc gatctgtcta tttcgttcat ccatagttgc ctgactcccc	1140
gtcgtgtaga taactacgat acgggagggc ttaccatctg gccccagtgc tgcaatgata	1200
ccgcgagaac cacgctcacc ggctccagat ttatcagcaa taaaccagcc agccggaagg	1260
gccgagcgca gaagtgggtc tgcaacttta tccgcctcca tccagtctat taattgttgc	1320
cggaagcta gagtaagtag ttcgccagtt aatagtttgc gcaacgttgt tgccattgct	1380
acaggcatcg tgggtgcacg ctcgctggtt ggtatggctt cattcagctc cggttcccaa	1440
cgatcaaggc gagttacatg atccccatg ttgtgcaaaa aagcgggttag ctccctcggg	1500
cctccgatcg ttgtcagaag taagttggcc gcagtgttat cactcatggg tatggcagca	1560
ctgcataatt ctcttactgt catgccatcc gtaagatgct tttctgtgac tggtgagtac	1620
tcaaccaagt cattctgaga atagtgtatg cggcgaccga gttgctcttg cccggcgctca	1680
atacgggata ataccgcgcc acatagcaga actttaaaag tgctcatcat tggaaaacgt	1740
tcttcggggc gaaaactctc aaggatctta ccgctgttga gatccagttc gatgtaaccc	1800
actcgtgcac ccaactgatc ttcagcatct tttactttca ccagcgtttc tgggtgagca	1860
aaaacaggaa ggcaaatgc cgcaaaaaag ggaataaggg cgacacggaa atgttgaata	1920
ctcatactct tcctttttca atattattga agcatttatc agggttattg tctcatgagc	1980
ggatacatat ttgaatgtat ttagaaaaat aaacaaatag gggttccgcg cacatttccc	2040
cgaaaagtgc cacctaaatt gtaagcgtta atattttggt aaaattcgcg ttaaattttt	2100
gttaaatacag ctcatTTTTT aaccaatagg ccgaaatcgg caaaatccct tataaatcaa	2160
aagaatagac cgagataggg ttgagtggcc gctacagggc gctcccatc gccattcagg	2220

ctgcgcaact gttgggaagg gcgtttcggt gcgggcctct tcgctattac gccagctggc 2280
gaaaggggga tgtgctgcaa ggcgattaag ttgggtaacg ccagggtttt cccagtcacg 2340
acgttgtaaa acgacggcca gtgagcgcgga cgtaatacga ctactatag ggcgaattgg 2400
cggaaggccg tcaaggccgc atgaattcgc taccgggaag ttcctattcc gaagttccta 2460
ttctatcaga agtataggaa cttcaggtac gtctcaggta c 2501

<210> 765
<211> 888
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> V-Cb entry TRBV6-6_TRBC2_F14-F15

<400> 765
gccaccatga gcatcagcct cctgtgctgt gcagcctttc ctctcctgtg ggcagggtcca 60
gtgaatgctg gtgtcactca gacccccaaa ttccgcatcc tgaagatagg acagagcatg 120
aactgacagt gtaccagga tatgaaccat aactacatgt actggtatcg acaagaccca 180
ggcatggggc tgaagctgat ttattattca gttgggtgctg gtatcactga taaaggagaa 240
gtcccgaatg gctacaacgt gtccagatca accacagagg atttcccgtc caggctggag 300
ttggctgctc cctcccagac atctgtgtac ttttgagag accttgccgc cgcataggtc 360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc 420
caaaaggcca cactgggatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc 480
tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gccctcaag 540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc 600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaacccgtca cccagatcgt cagcgccgag 720
gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct 780
gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt 840
gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag 888

<210> 766
<211> 891
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> V-Cb entry TRBV7-2_TRBC2_F14-F15

<400> 766
gccaccatgg gcaccaggct cctcttctgg gtggccttct gtctcctggg ggcagatcac 60

acaggagctg	gagctctcca	gtccccagct	aacaagggtca	cagagaaggg	aaaggatgta	120
gagctcaggt	gtgatccaat	ttcagggtcat	actgcccttt	actggtaccg	acagagcctg	180
gggcagggcc	tggagttttt	aattttacttc	caaggcaaca	gtgcaccaga	caaatacagg	240
ctgcccagtg	atcgcttctc	tgcagagagg	actgggggat	ccgtgtccac	tctgacgatc	300
cagcgcacac	agcaggagga	ctcgcccgctg	tatctttgca	gagaccttgc	ggccgcatag	360
gtctcagtg	tcccacccga	ggtcgctgtg	tttgagccat	cagaagcaga	gatctcccac	420
acccaaaagg	ccacactggt	atgcctggcc	acaggcttct	accccgacca	cgtggagctg	480
agctggtggg	tgaatgggaa	ggagggtgcac	agtgggggtca	gcacagaccc	gcagcccctc	540
aaggagcagc	ccgccctcaa	tgactccaga	tactgcctga	gcagccgcct	gaggggtgtcg	600
gccaccttct	ggcagaacct	ccgcaaccac	ttccgctgtc	aagtccagtt	ctacgggctc	660
tcggagaatg	acgagtggac	ccaggatagg	gccaaacctcg	tcacccagat	cgtcagcgcc	720
gaggcctggg	gtagagcaga	ctgtggcttc	acctccgagt	cttaccagca	aggggtcctg	780
tctgccacca	tcctctatga	gatcttgcta	gggaaggcca	ccttgtatgc	cgtgctggtc	840
agtgcctctg	tgctgatggc	catggtcaag	agaaaggatt	ccagaggcta	g	891

<210> 767

<211> 891

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> V-Cb entry TRBV7-3_TRBC2_F14-F15

<400> 767

gccaccatgg	gcaccaggct	cctctgctgg	gcagccctgt	gcctcctggg	ggcagatcac	60
acagggtgctg	gagctctcca	gacccccagct	aacaagggtca	cagagaaggg	aaaatatgta	120
gagctcaggt	gtgatccaat	ttcagggtcat	actgcccttt	actggtaccg	aaaagcctg	180
gggcagggcc	cagagtttct	aattttacttc	caaggcacgg	gtgcggcaga	tgactcaggg	240
ctgcccacg	atcggttctt	tgcagtcagg	cctgagggat	ccgtgtctac	tctgaagatc	300
cagcgcacag	agcgggggga	ctcagccgtg	tatctttgca	gagaccttgc	ggccgcatag	360
gtctcagtg	tcccacccga	ggtcgctgtg	tttgagccat	cagaagcaga	gatctcccac	420
acccaaaagg	ccacactggt	atgcctggcc	acaggcttct	accccgacca	cgtggagctg	480
agctggtggg	tgaatgggaa	ggagggtgcac	agtgggggtca	gcacagaccc	gcagcccctc	540
aaggagcagc	ccgccctcaa	tgactccaga	tactgcctga	gcagccgcct	gaggggtgtcg	600
gccaccttct	ggcagaacct	ccgcaaccac	ttccgctgtc	aagtccagtt	ctacgggctc	660

ES 2 897 202 T3

tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaaccog tcacccagat cgtcagcgcc	720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttc acctccgagt cttaccagca aggggtcctg	780
tctgccacca tcctctatga gatcttgcta gggaaggcca ccttgatatgc cgtgctggtc	840
agtgcctcgt tgctgatggc catggtcaag agaaaggatt ccagaggcta g	891

<210> 768
 <211> 891
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> V-Cb entry TRBV7-8_TRBC2_F14-F15

<400> 768	
gccaccatgg gcaccaggct cctctgctgg gtggctcctgg gtttcctagg gacagatcac	60
acagggtgctg gagtctccca gtcccctagg taaaaagtcg caaagagagg acaggatgta	120
gctctcaggt gtgatccaat ttccgggtcat gtatcccttt tttggtacca acaggccctg	180
gggcaggggc cagagtttct gacttatctc cagaatgaag ctcaactaga caaatcgggg	240
ctgcccagtg atcgcttctt tgcagaaagg cctgagggat ctgtctccac tctgaagatc	300
cagcgcacac agcaggagga ctccgccgtg tatctttgca gagaccttgc ggccgcatag	360
gtctcagtg tcccaccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac	420
acccaaaagg ccacactggt atgcctggcc acaggcttct accccgacca cgtggagctg	480
agctggtggg tgaatgggaa ggagggtgcac agtgggggtca gcacagacc gcagcccctc	540
aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgctg	600
gccaccttct ggcagaacct ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc	660
tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaaccog tcacccagat cgtcagcgcc	720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttc acctccgagt cttaccagca aggggtcctg	780
tctgccacca tcctctatga gatcttgcta gggaaggcca ccttgatatgc cgtgctggtc	840
agtgcctcgt tgctgatggc catggtcaag agaaaggatt ccagaggcta g	891

<210> 769
 <211> 888
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> V-Cb entry TRBV19_TRBC2_F14-F15

<400> 769	
gccaccatga gcaaccagggt gctctgctgt gtggctccttt gtttcctggg agcaaacc	60
gtggatggtg gaatcactca gtccccaag tacctgttca gaaaggaagg acagaatgtg	120

accctgagtt gtgaacagaa tttgaaccac gatgccatgt actggtaccg acaggaccca	180
gggcaagggc tgagattgat ctactactca cagatagtaa atgactttca gaaaggagat	240
atagctgaag ggtacagcgt gtctcgggag aagaaggaat cctttcctct cactgtgaca	300
tcggcccaaa agaaccgcac agctttctat ctttgcagag accttgccgc cgcataaggctc	360
tcagtgttcc cacccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gccctcaag	540
gagcagcccgc ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccgctca ccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt	840
gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag	888

<210> 770

<211> 882

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> V-Cb entry TRBV20-1_TRBC2_F14-F15

<400> 770

gccaccatgc tgctgcttct gctgcttctg gggccaggct ccgggcttgg tgctgtcgtg	60
tctcaacatc cgagctgggt tatctgtaag agtggaaact ctgtgaagat cgagtgccgt	120
tccttgact ttcaggccac aactatgttt tggatcgtc agttcccgaa acagagtctc	180
atgctgatgg caacttccaa tgagggtctc aaggccacat acgagcaagg cgtcgagaag	240
gacaagtttc tcatcaacca tgcaagcctg accttgtcca ctctgacagt gaccagtgcc	300
catcctgaag atagcagctt ctacatttgc agagaccttg cggccgcata ggtctcagt	360
ttcccacccg aggtcgtgtg gtttgagcca tcagaagcag agatctcca caccctaaag	420
gccacactgg tatgcctggc cacaggcttc taccocgacc acgtggagct gagctggtgg	480
gtgaatggga aggaggtgca cagtggggtc agcacagacc cgcagcccct caaggagcag	540
cccgccctca atgactccag atactgctg agcagccgcc tgagggtgtc ggccaccttc	600
tggcagaacc cccgcaacca cttccgctgt caagtccagt tctacgggct ctcgagaaat	660
gacgagtgga ccaggatag ggccaaacct gtcaccaga tcgtcagcgc cgaggcctgg	720
ggtagagcag actgtggctt cacctccgag tcttaccagc aagggtcct gtctgccacc	780

atcctctatg agatcttgct agggaaggcc accttgatatg ccgctgctggt cagtgccctc 840
gtgctgatgg ccatgggtcaa gagaaaggat tccagaggct ag 882

<210> 771
<211> 882
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> V-Cb entry TRBV6-6_TRBC1_F14-F15

<400> 771
gccaccatga gcatcagcct cctgtgctgt gcagcctttc ctctcctgtg ggcagggtcca 60
gtgaatgctg gtgtcactca gacccccaaa ttccgcatcc tgaagatagg acagagcatg 120
aactgcagt gtaccagga tatgaaccat aactacatgt actggtatcg acaagaccca 180
ggcatggggc tgaagctgat ttattattca gttggtgctg gtatcactga taaaggagaa 240
gtcccgaatg gctacaacgt gtccagatca accacagagg atttcccgct caggctggag 300
ttggctgctc cctcccagac atctgtgtac ttttgcagag accttgccggc cgcatagggtc 360
tcagtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc 420
caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc 480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagaccgca gccctcaag 540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgccctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc 600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 660
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaacccgtca ccagatcgt cagcgccgag 720
gcctggggta gagcagactg tggctttacc tcggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct 780
gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc 840
gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga 882

<210> 772
<211> 885
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> V-Cb entry TRBV7-2_TRBC1_F14-F15

<400> 772
gccaccatgg gcaccaggct cctcttctgg gtggccttct gtctcctggg ggcagatcac 60
acaggagctg gagtctccca gtccccagt aacaagggtca cagagaaggg aaaggatgta 120
gagctcaggt gtgatccaat ttcagggtcat actgcccttt actggtaccg acagagcctg 180
gggcagggcc tggagttttt aatttacttc caaggcaaca gtgcaccaga caaatcaggg 240

ctgcccagtg atcgcttctc tgcagagagg actgggggat ccggtgtccac tctgacgac	300
cagcgcacac agcaggagga ctcgcccggtg tatcttttga gagaccttgc ggccgcatag	360
gtctcagtggt tcccacccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctcccac	420
acccaaaagg ccacactggt gtgcctggcc acaggcttct tccccgacca cgtggagctg	480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtgggggtca gcacagaccc gcagcccctc	540
aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg	600
gccaccttct ggcagaaccc ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc	660
tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaacccg tcaccagat cgtcagcgcc	720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttt acctcggtgt cctaccagca aggggtcctg	780
tctgccacca tcctctatga gatcctgcta gggaaggcca ccctgtatgc tgtgctggtc	840
agcgcccttg tgttgatggc catggtcaag agaaaggatt tctga	885

<210> 773

<211> 885

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> V-Cb entry TRBV7-3_TRBC1_F 14-F15

<400> 773

gccaccatgg gcaccaggct cctctgctgg gcagccctgt gcctcctggg ggcagatcac	60
acagggtgctg gagtctccca gacccccagt aacaagggtca cagagaaggg aaaatatgta	120
gagctcaggt gtgatccaat ttcagggtcat actgcccttt actggtaccg acaaagcctg	180
gggcagggcc cagagtttct aatttacttc caaggcacgg gtgcggcaga tgactcaggg	240
ctgcccacg atcggttctt tgcagtcagg cctgagggat ccggtgtctac tctgaagatc	300
cagcgcacag agcgggggga ctcagccgtg tatcttttga gagaccttgc ggccgcatag	360
gtctcagtggt tcccacccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctcccac	420
acccaaaagg ccacactggt gtgcctggcc acaggcttct tccccgacca cgtggagctg	480
agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtgggggtca gcacagaccc gcagcccctc	540
aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgtcg	600
gccaccttct ggcagaaccc ccgcaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc	660
tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaacccg tcaccagat cgtcagcgcc	720
gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttt acctcggtgt cctaccagca aggggtcctg	780
tctgccacca tcctctatga gatcctgcta gggaaggcca ccctgtatgc tgtgctggtc	840

agcgcccttg tgttgatggc catggtcaag agaaaggatt tctga 885

<210> 774

<211> 885

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> V-Cb entry TRBV7-8_TRBC1_F 14-F15

<400> 774

gccaccatgg gcaccaggct cctctgctgg gtggctcctgg gtttcctagg gacagatcac 60

acagggtgctg gagtctccca gtcccctagg taaaaagtcg caaagagagg acaggatgta 120

gctctcaggt gtgatccaat ttccgggtcat gtatcccttt tttggtacca acaggccctg 180

gggcaggggc cagagtttct gacttatttc cagaatgaag ctcaactaga caaatcgggg 240

ctgccagtg atcgcttctt tgcagaaagg cctgagggat ctgtctccac tctgaagatc 300

cagcgcacac agcaggagga ctccgccgtg tatctttgca gagaccttgc ggccgcatag 360

gtctcagtg tcccaccga ggtcgctgtg tttgagccat cagaagcaga gatctccac 420

acccaaaagg ccacactgggt gtgcctggcc acaggcttct tccccgacca cgtggagctg 480

agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac agtggggtca gcacagacc gcagcccctc 540

aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga tactgcctga gcagccgcct gaggggtgctg 600

gccaccttct ggcagaacc cgcgaaccac ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc 660

tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg gccaaaccgc tcaccagat cgtcagcgcc 720

gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttt acctcggtgt cctaccagca aggggtcctg 780

tctgccacca tctctatga gatcctgcta gggaaggcca ccctgtatgc tgtgctggtc 840

agcgcccttg tgttgatggc catggtcaag agaaaggatt tctga 885

<210> 775

<211> 882

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> V-Cb entry TRBV19_TRBC1_F14-F15

<400> 775

gccaccatga gcaaccagggt gctctgctgt gtggctccttt gtttcctggg agcaaacc 60

gtggatggtg gaatcactca gtcccaaaag tacctgttca gaaaggaagg acagaatgtg 120

acctgagtt gtgaacagaa tttgaaccac gatgccatgt actggtaccg acaggaccca 180

gggcaagggc tgagattgat ctactactca cagatagtaa atgactttca gaaaggagat 240

atagctgaag ggtacagcgt gtctcgggag aagaaggaat cctttcctct cactgtgaca 300

tcggcccaaa agaaccgcac agctttctat ctttgcagag accttgcggc cgcataaggtc	360
tcagtgttcc caccgcaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	420
caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ccgaccacgt ggagctgagc	480
tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gccctcaag	540
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgcctgagca gccgcctgag ggtgtcggcc	600
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	660
gagaatgacg agtggacca ggatagggcc aaacccgtca ccagatcgt cagcgccgag	720
gcctggggta gagcagactg tggctttacc tcggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct	780
gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc	840
gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga	882

<210> 776

<211> 876

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> V-Cb entry TRBV20-1_TRBC1_F14-F15

<400> 776

gccaccatgc tgctgcttct gctgcttctg gggccaggct ccgggcttgg tgctgtcgtg	60
tctcaacatc cgagctgggt tatctgtaag agtggaaact ctgtgaagat cgagtgccgt	120
tccctggact ttcaggccac aactatgttt tggatcgtc agttcccgaa acagagtctc	180
atgctgatgg caacttccaa tgagggtcc aaggccacat acgagcaagg cgtcgagaag	240
gacaagtttc tcatcaacca tgcaagcctg accttgtcca ctctgacagt gaccagtgcc	300
catcctgaag atagcagctt ctacatttgc agagaccttg cggccgcata ggtctcagt	360
ttcccacccg aggtcgctgt gtttgagcca tcagaagcag agatctccca caccctaaag	420
gccacactgg tgtgcctggc cacaggcttc ttccccgacc acgtggagct gagctggtgg	480
gtgaatggga aggaggtgca cagtggggtc agcacagacc cgcagcccct caaggagcag	540
cccgccctca atgactccag atactgcctg agcagccgcc tgagggtgtc ggccaccttc	600
tggcagaacc cccgcaacca cttccgctgt caagtccagt tctacgggct ctcgagaaat	660
gacgagtgga cccaggatag ggccaaaccc gtcaccacaga tcgtcagcgc cgaggcctgg	720
ggtagagcag actgtggctt tacctcggtg tcctaccagc aaggggtcct gtctgccacc	780
atcctctatg agatcctgct aggggaaggcc accctgtatg ctgtgctggt cagcgccctt	840
gtgttgatgg ccatggtcaa gagaaaggat ttctga	876

<210> 777

<211> 519
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Elemento terminador bidireccional (sitio Esp3I a Esp3I)

<400> 777

cgtctcggac tccgctgac ataatacaagc catatcacat ctgtagaggt ttacttgctt	60
taaaaaacct ccacacctcc ccctgaacct gaaacataaa atgaatgcaa ttgttggtgt	120
taacttgttt attgcagctt ataatggtta caaataaagc aatagcatca caaatctcac	180
aaataaagca tttttttcac tgcattctag ttgtggtttg tccaaactca tcaatgtatc	240
ttatcatgtc tggatctgct gaagagaagc cttcttcacc atagagccca ccgcatcccc	300
agcatgctg ctattgtcta cccaatcctc ccccttgctg tcctgccccca cccaccccc	360
cagaatagaa tgacacctac tcagacaatg cggtgcaatt tcctcatttt attaggaaa	420
gacagtggga gtggcacctt ccagggtcaa ggaaggcacg ggggaggggc aaacaacaga	480
tggttgga ctagaaggca cagtcgcaag gtcgagacg	519

<210> 778
 <211> 825
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> ORF DEL TRA

<400> 778

atggagacc tcttgggcct gcttatcctt tggtgcagc tgcaatgggt tagcagcaaa	60
caggaggtga cgcagattcc tgcagctctg agtgtccag aaggagaaaa cttgggtctc	120
aactgcagtt tcaactgatag cgctatttac aacctccagt ggtttaggca ggaccctggg	180
aaaggactca catctctggt gcttattcag tcaagtcaga gagagcaaac aagtggacgc	240
cttaatgcct cgctggataa atcatcagga cgtagtactt tatacattgc agcttctcag	300
cctggtgact cagccaccta cctctgcgcc gtgaggccaa ccagcggcgg cagctacatc	360
ccaacctttg gaagaggaac cagccttatt gttcatccgt atatccagaa ccctgaccct	420
gccgtgtacc agctgagaga ctctaaatcc agtgacaagt ctgtctgcct attcaccgat	480
tttgattctc aaacaaatgt gtcacaaagt aaggattctg atgtgtatat cacagacaaa	540
actgtgctag acatgaggtc tatggacttc aagagcaaca gtgctgtggc ctggagcaac	600
aatctgact ttgcatgtgc aaacgccttc aacaacagca ttattccaga ggacaccttc	660
ttccccagcc cagaaagttc ctgtgatgtc aagctggtcg agaaaagctt tgaaacagat	720
acgaacctaa actttcaaaa cctgtcagtg attgggttcc gaatcctcct cctgaaagtg	780

gccggggttta atctgctcat gacgctgcgg ctgtgggtcca gctga 825

<210> 779
 <211> 936
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> TRB ORF

<400> 779

atgagcatcg gcctcctgtg ctgtgcagcc ttgtctctcc tgtgggcagg tccagtgaat	60
gctgggtgtca ctgagacccc aaaattccag gtcttgaaaa caggacagag catgacactg	120
cagtgtgccc aggatatgaa ccatgaatac atgtcctggg atcgacaaga cccaggcatg	180
gggctgaggg tgattcatta ctgagttggg gctgggtatca ctgaccaagg agaagtcccc	240
aatggctaca atgtctccag atcaaccaca gaggatttcc cgctcaggct gctgtcggct	300
gctccctccc agacatctgt gtacttttgc gccagcagct acgtgggcaa caccggcgaa	360
ctgttctttg gagaaggctc taggctgacc gtactggagg acctgaaaaa cgtgttccca	420
cccgaggctg ctgtgtttga gccatcagaa gcagagatct cccacaccca aaaggccaca	480
ctggatatgcc tggccacagg cttctacccc gaccacgtgg agctgagctg gtgggtgaat	540
gggaaggagg tgcacagtgg ggtcagcaca gaccgcagc ccctcaagga gcagcccgcc	600
ctcaatgact ccagatactg cctgagcagc cgcctgaggg tgtcggccac cttctggcag	660
aacccccgca accacttccg ctgtcaagtc cagttctacg ggctctcgga gaatgacgag	720
tggaccagg atagggccaa acccgtcacc cagatcgtca gcgccaggc ctggggtaga	780
gcagactgtg gcttcacctc cgagtcttac cagcaagggg tcctgtctgc caccatcctc	840
tatgagatct tgctagggaa ggccaccttg tatgccgtgc tggtcagtgc cctcgtgctg	900
atggccatgg tcaagagaaa ggattccaga ggctag	936

REIVINDICACIONES

1. Un sistema combinado que comprende dos componentes independientes, en donde un primer componente es un vector que tiene segmentos génicos variables y constantes (V-C) del receptor de linfocitos T (TCR), y un segundo componente es un vector que tiene segmentos génicos de unión (J) del TCR,
en donde el primer componente es un vector de entrada V-C que contiene
 - a. origen de replicación,
 - b. un primer marcador de selección positiva
 - c. elemento o elementos genéticos 5',
 - d. secuencia de Kozak,
 - e. segmento génico variable del TCR,
 - f. una primera secuencia de Tipo IIS, para reconocimiento y corte específicos de sitio mediante una primera enzima de restricción de Tipo IIS, en donde la secuencia está orientada de forma que la enzima corta en 5' de dicha secuencia de reconocimiento y en el extremo 3' del segmento génico variable del TCR,
 - g. un marcador de selección negativa,
 - h. una segunda secuencia de Tipo IIS, para reconocimiento y escisión específicos de sitio mediante una segunda enzima de restricción de Tipo IIS, en donde la secuencia está orientada de forma que la enzima corta 3' por escisión directa de dicha secuencia de reconocimiento y en el extremo 5' del segmento génico constante del TCR,
 - i. segmento génico constante del TCR, y
 - j. elemento o elementos genéticos 3',
en donde el segundo componente es un vector donante J que contiene
 - a. origen de replicación,
 - b. un segundo marcador de selección positiva,
 - c. una tercera secuencia de Tipo IIS para reconocimiento y escisión específicos de sitio mediante una tercera enzima de restricción de Tipo IIS, en donde la secuencia está orientada de forma que la enzima corta 3' de dicha secuencia de reconocimiento y en el extremo 5' del segmento génico de unión del TCR,
 - d. segmento génico de unión al TCR,
 - e. una parte C, que corresponde a una pequeña parte 5' de un segmento génico constante, y
 - f. una cuarta secuencia de Tipo IIS para reconocimiento y escisión específicos de sitio por la cuarta enzima de restricción de Tipo IIS, en donde la secuencia está orientada de forma que la enzima corta 5' de dicha secuencia de reconocimiento y en la parte de la parte C del TCR del extremo 3' de la construcción, de forma que la secuencia del saliente monocatenario generado es complementario al generado por dicha segunda secuencia de Tipo IIS.
2. Un sistema combinado según 1, en donde el elemento genético 5' comprende uno o más elementos seleccionados de
 - a. elemento génico cis actuante,
 - b. sitio de reconocimiento heteroespecífico para las enzimas recombinasas,
 - c. un brazo de recombinación homóloga 5', para un sitio genómico de interés,
 - d. un sitio aceptor de corte y empalme de ARNm,
 - e. un sitio interno de entrada al ribosoma, y
 - f. una secuencia de aislante epigenético.
3. Un sistema combinado según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde el marcador de selección negativa se selecciona de
 - a. un sitio de reconocimiento de enzimas de restricción no contenido en otro sitio del primer componente o dentro del segmento génico de unión del TCR,
 - b. un gen suicida bacteriano y
 - c. un elemento indicador.
4. Un sistema combinado según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el elemento genético en 3' comprende uno o más elementos seleccionados de
 - a. un elemento terminador,
 - b. sitio de reconocimiento heteroespecífico para las enzimas recombinasas,
 - c. un brazo de recombinación homóloga 3', para un sitio genómico de interés,
 - d. un sitio donador de corte y empalme de ARNm,

- e. un sitio interno de entrada al ribosoma, y
- f. una secuencia del aislante epigenético.

5. Un sistema combinado según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde los componentes no contienen ninguna secuencia de Tipo IIS además de las definidas anteriormente, y solo contienen dicho marcador de selección negativa.
6. Un sistema combinado según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además un tercer componente que comprende un dúplex de oligonucleótido que codifica CDR3 (odeCDR3), en donde el odeCDR3 tiene
 - a. una primera secuencia de saliente monocatenario complementario al generado por escisión del primer sitio de restricción de Tipo IIS en el extremo 3' del segmento génico variable del TCR,
 - b. un segmento bicatenario que codifica una región CDR3 del TCR y desprovisto de marcador de selección negativa, donde dicho elemento de selección negativa es como se define en la reivindicación 5, y dicho elemento bicatenario también está desprovisto de cualquier secuencia de restricción de Tipo IIS del primer o segundo componente, y
 - c. una segunda secuencia de saliente monocatenario complementario del generado por escisión del tercer sitio de enzima de restricción de Tipo IIS en el extremo 5' del segmento de unión del TCR.
7. Un sistema combinado según cualquiera de las reivindicaciones 1-5 que comprende además un tercer componente que comprende un dúplex de oligonucleótido que codifica CDR3 (odeCDR3), en donde el odeCDR3 es una molécula de ADNbc o ADN plasmídico que codifica el CDR3 flanqueado por dos sitios de reconocimiento y escisión de Tipo IIS, de forma que el corte efectuado por dichas enzimas da como resultado salientes monocatenarios complementarios a los generados mediante la primera escisión de Tipo IIS en el vector de entrada V-C en el extremo 5', y con la tercera escisión de Tipo IIS del vector donante J en el extremo 3', para obtener un producto digerido de dicho odeCDR3 que comprende a, b y c como se describe en la reivindicación 6.
8. Un sistema combinado según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde la primera a cuarta secuencias de Tipo IIS son iguales o distintas.
9. Una genoteca de vectores de dos partes que comprende una genoteca de vectores de entrada V-C como se define en la reivindicación 1 y una genoteca de vectores donantes J como se define en la reivindicación 1, en donde la genoteca de vectores de entrada V-C es
 - una colección de uno o más vectores que representan todos los segmentos génicos variables y constantes del TCR de la línea germinal de un organismo que tiene dichos TCR, o
 - una colección de uno o más vectores que representan una colección de variantes de segmentos génicos variables y constantes del TCR de línea germinal de un organismo que tiene dichos TCR, de forma que la secuencia de aminoácidos traducida de la proteína codificada no esté modificada con respecto a la secuencia de proteínas codificada por el segmento génico de línea germinal, o
 - una colección de uno o más vectores que representan una colección de variantes de segmentos génicos variables y constantes del TCR de línea germinal de un organismo que tiene dichos TCR, de forma que la secuencia de aminoácidos traducida de la proteína codificada está modificada con respecto a la secuencia de proteínas codificada por el segmento génico de línea germinal y en donde
 - la genoteca de vectores donantes J es una colección de uno o más vectores que representan los segmentos génicos de unión del TCR de la línea germinal de un organismo que tiene dichos TCR, o
 - una colección de uno o más vectores que representan variantes de segmentos génicos de unión del TCR de línea germinal de un organismo que tiene dichos TCR, de forma que la secuencia de aminoácidos traducida de la proteína codificada no está modificada con respecto a la secuencia de proteínas codificada por el segmento génico de línea germinal, o
 - una colección de uno o más vectores que representan variantes de segmentos génicos de unión del TCR de línea germinal de un organismo que tiene dichos TCR, de forma que la secuencia de aminoácidos traducida de la proteína codificada está modificada con respecto a la secuencia de proteínas codificada por el segmento génico de línea germinal.
10. Un método para la reconstitución in vitro de un marco de lectura abierto (ORF) de TCR de longitud completa, comprendiendo dicho método
 - a. seleccionar un vector de entrada V-C,
 - b. seleccionar un vector donante J,
 - c. seleccionar un odeCDR3,
 - d. combinar a, b y c para reaccionar con i) una o varias enzimas de restricción de Tipo IIS para cortar todos los sitios de reconocimiento y escisión con enzimas de restricción de Tipo IIS presentes en el

- vector de entrada V-C y en el vector donante J y ii) enzima ADN-ligasa, y someter la mezcla combinada a una reacción de termociclado,
- e. transformar el producto de reacción obtenido en la etapa d. en un organismo hospedador competente para la propagación del vector de ADN, y
- 5 f. propagar dicho organismo hospedador para obtener el marco de lectura abierto del TCR reconstituido de longitud completa en la cadena principal del vector de entrada V-C resultante.
11. Un vector de entrada V-C seleccionado de
la secuencia SEQ0692,
10 la secuencia SEQ0693, y
la secuencia SEQ0694.
12. Un vector donante J representado por la secuencia SEQ0700.
- 15 13. Una genoteca de vectores de entrada V-C como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-8 para su uso junto con una genoteca de vectores donantes J y un odeCDR3 para reconstituir un ORF del TCR de longitud completa, en donde los vectores de entrada V-C contienen segmentos génicos variables y constantes para recapitular el uso de segmentos génicos del locus del TRA humano, representados por las secuencias SEQ0049 a SEQ0094; y/o los vectores de entrada V-C contienen segmentos génicos variables y constantes para recapitular el uso de segmentos génicos del locus del TRB humano, representado por las secuencias SEQ0484 a SEQ0577.
- 20 14. Una genoteca de vectores donantes J como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-8, que contiene segmentos génicos de unión para recapitular el uso de segmentos génicos del locus del TRA humano, representado por las secuencias SEQ0323 a SEQ0378, en donde los vectores se utilizan junto con un odeCDR3 que abarca toda la región CDR3; y/o
- 25 que contiene segmentos génicos unidos para recapitular el uso de segmentos génicos del locus del TRA humano representado por las secuencias SEQ0379 a SEQ0434,
- 30 en donde los vectores se utilizan junto con un odeCDR3 de longitud reducida en tres a cuatro codones.
15. Una genoteca de vectores donantes J como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-8, que contiene segmentos génicos de unión para recapitular el uso de segmentos génicos del locus del TRB humano, representado por las secuencias SEQ0636 a SEQ0661, en donde los vectores se utilizan junto con un odeCDR3 que abarca toda la región CDR3, y/o
- 35 que contiene segmentos génicos unidos para recapitular el uso de segmentos génicos del locus del TRB humano representado por las secuencias SEQ0662 a SEQ0687,
- 40 en donde los vectores se utilizan junto con un odeCDR3 de longitud reducida en tres a cuatro codones.
16. Una genoteca según la reivindicación 14 o 15 para su uso junto con un vector de entrada V-C y un odeCDR3 para reconstituir un ORF del TCR de longitud completa.
- 45 17. Un sistema combinado según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde el primer componente es un vector de entrada V-C que codifica una primera cadena del TCR, el sistema comprende además un componente que comprende un vector donante del terminador bidireccional (BiT) y un componente que comprende un vector de entrada V-C que codifica una segunda cadena del TCR complementaria de la primera cadena del TCR.
- 50 18. Un sistema combinado según la reivindicación 17, en donde dicho vector de entrada V-C del primer componente comprende además
- 55 a. una quinta secuencia de Tipo IIS, para reconocimiento y escisión específicos de sitio mediante una quinta enzima de restricción de Tipo IIS, en donde la secuencia está orientada de forma que la enzima escinde 5' de dicha secuencia de reconocimiento y en el extremo 3' del segmento génico constante,
- 60 b. un marcador de selección negativa situado 3' de la quinta secuencia de Tipo IIS,
- c. una sexta secuencia de Tipo IIS para reconocimiento y escisión específicos de sitio mediante una sexta enzima de restricción de Tipo IIS situada 3' del marcador de selección negativa de b., en donde la secuencia está orientada de forma que la enzima escinde 3' de dicha secuencia de reconocimiento, y hacia el 5' del o de los elementos genéticos3'.
- 65 19. Un sistema combinado según la reivindicación 17 o 18, en donde el vector de entrada V-C que codifica una segunda cadena del TCR es complementaria a la primera cadena y comprende además

- 5 a. una séptima secuencia de Tipo IIS para reconocimiento y escisión específicos de sitio mediante una séptima enzima de restricción de Tipo IIS, en donde la secuencia está orientada de forma que la enzima escinde 3' de dicha secuencia de reconocimiento y en el 5' de la secuencia de Kozak,
- 10 b. una octava secuencia de Tipo IIS, para reconocimiento y escisión específicos de sitio mediante una octava enzima de restricción de Tipo IIS, en donde la secuencia está orientada de forma que la enzima escinde 5' de dicha secuencia de reconocimiento y en el extremo 3' del segmento génico constante,
- c. un marcador de selección negativa situado en el extremo 3' de la quinta secuencia de Tipo IIS.
20. Un sistema combinado según cualquiera de las reivindicaciones 17-19, en donde dicho vector donante de BiT contiene un origen de replicación,
- 15 a. un marcador de selección positiva,
- b. una novena secuencia de Tipo IIS para reconocimiento y corte específico de sitio mediante una novena enzima de restricción de Tipo IIS, en donde la secuencia está orientada de forma que la enzima escinde 3' de dicha secuencia de reconocimiento y el extremo 5' de un elemento
- 20 terminador bidireccional, d,
- c. un elemento terminador bidireccional que codifica dos terminadores de la transcripción en disposición antisentido, y
- 25 d. una décima secuencia de Tipo IIS para reconocimiento y corte específico de sitio mediante una décima enzima de restricción de Tipo IIS, en donde la secuencia está orientada de forma que la enzima escinde 5' de dicha secuencia de reconocimiento y el 3' del elemento terminador bidireccional, d.
21. Un sistema combinado según cualquiera de las reivindicaciones 17-20, en donde de la primera a cuarta secuencias de Tipo IIS son iguales o distintas.
- 30 22. Un sistema combinado según una cualquiera de las reivindicaciones 17-20, en donde de la quinta a décima secuencias de Tipo IIS son iguales o distintas, y son distintas de las secuencias primera a cuarta de Tipo IIS.
23. Un sistema combinado según una cualquiera de las reivindicaciones 17-22, en donde el marcador de selección negativa se selecciona de
- 35 a. un sitio de reconocimiento de enzimas de restricción no contenido en otro sitio del primer componente o dentro del segmento génico de unión del TCR,
- b. un gen de suicidio bacteriano y
- 40 c. un elemento indicador,
- y en donde los marcadores de selección negativa definidos en b. de la reivindicación 18 y en c. de la reivindicación 19 son distintos del marcador de selección negativa definido en g. de la reivindicación 1, y el marcador de selección negativa definido en g. de la reivindicación 1 es distinto de los del vector de entrada V-C del primer componente y del vector de entrada V-C que codifica dicha segunda cadena del
- 45 TCR complementaria a la primera cadena del TCR.
24. Una genoteca de vectores de entrada V-C como se define en cualquiera de las reivindicaciones 17-23, en donde la genoteca comprende una primera y una segunda genoteca de vectores de entrada V-C, conteniendo cada una una colección de uno o más vectores que representan todos los segmentos génicos variables y constantes del TCR de la línea germinal de un organismo que tiene dichos TCR, o
- 50 una colección de uno o más vectores que representan una colección de variantes de segmentos génicos variables y constantes del TCR de línea germinal de un organismo que tiene dichos TCR, de forma que la secuencia de aminoácidos traducida de la proteína codificada no esté modificada con respecto a la secuencia de proteínas codificada por el segmento génico de línea germinal, o
- 55 una colección de uno o más vectores que representan una colección de variantes de segmentos génicos variables y constantes del TCR de línea germinal de un organismo que tiene dichos TCR, de forma que la secuencia de aminoácidos traducida de la proteína codificada está modificada con respecto a la secuencia de proteínas codificada por el segmento génico de línea germinal,
- 60 en donde la primera y segunda genotecas de vectores de entrada V-C codifican cadenas recíprocas del TCR.
25. Una genoteca de vectores de entrada V-C según la reivindicación 24 para su uso en la provisión de un par de marcos de lectura abiertos (ORF) del TCR de longitud completa, codificados en disposición antiparalela en una única construcción producto.
- 65

26. Un método para la reconstitución in vitro de un par de marcos de lectura abiertos (ORF) del TCR de longitud completa, codificados en disposición antiparalela en una única construcción producto, comprendiendo dicho método
- 5 a. seleccionar un vector de entrada V-C para cada cadena del TCR,
b. seleccionar un vector donante J para cada cadena TCR,
c. seleccionar un odeCDR3 para cada cadena del TCR,
d. combinar a, b y c para cada TCR en una reacción independiente para reaccionar con i) una o varias enzimas de restricción de Tipo IIS para cortar el primer a cuarto sitio de reconocimiento y escisión con
10 enzimas de restricción de Tipo IIS presentes en los vectores de entrada V-C y en los vectores donantes J y ii) enzima ADN-ligasa y someter las mezclas combinadas a reacciones de termociclado para obtener un primer y segundo producto de reacción,
e. combinar ambos productos de reacción de la etapa d. con un vector donante BiT como se define en la reivindicación 17 con i) una o varias enzimas de restricción de Tipo IIS para cortar el quinto al
15 décimo sitio de reconocimiento y escisión con enzimas de restricción de Tipo IIS y ii) enzima ADN-ligasa, y someter los productos de reacción combinados a reacciones de termociclado para obtener un tercer producto de reacción,
f. transformar el tercer producto de reacción de la etapa e. en un organismo hospedador competente para la propagación del vector de ADN, y
20 g. propagar dicho organismo hospedador para obtener el marco de lectura abierto del TCR reconstituido de longitud completa en la cadena principal del vector de entrada V-C resultante.
27. Un par de vectores de entrada V-C representados por la SEQ ID n.º: 0756 y 0764.
- 25 28. Un par de vectores de entrada V-C según la reivindicación 27, para utilizar en el intercambio de casetes mediado por recombinasa con dianas genéticas con secuencias de recombinasa heteroespecíficas coincidentes.
29. Un elemento terminador bidireccional, representado por la secuencia SEQ0777.

Figura 1A

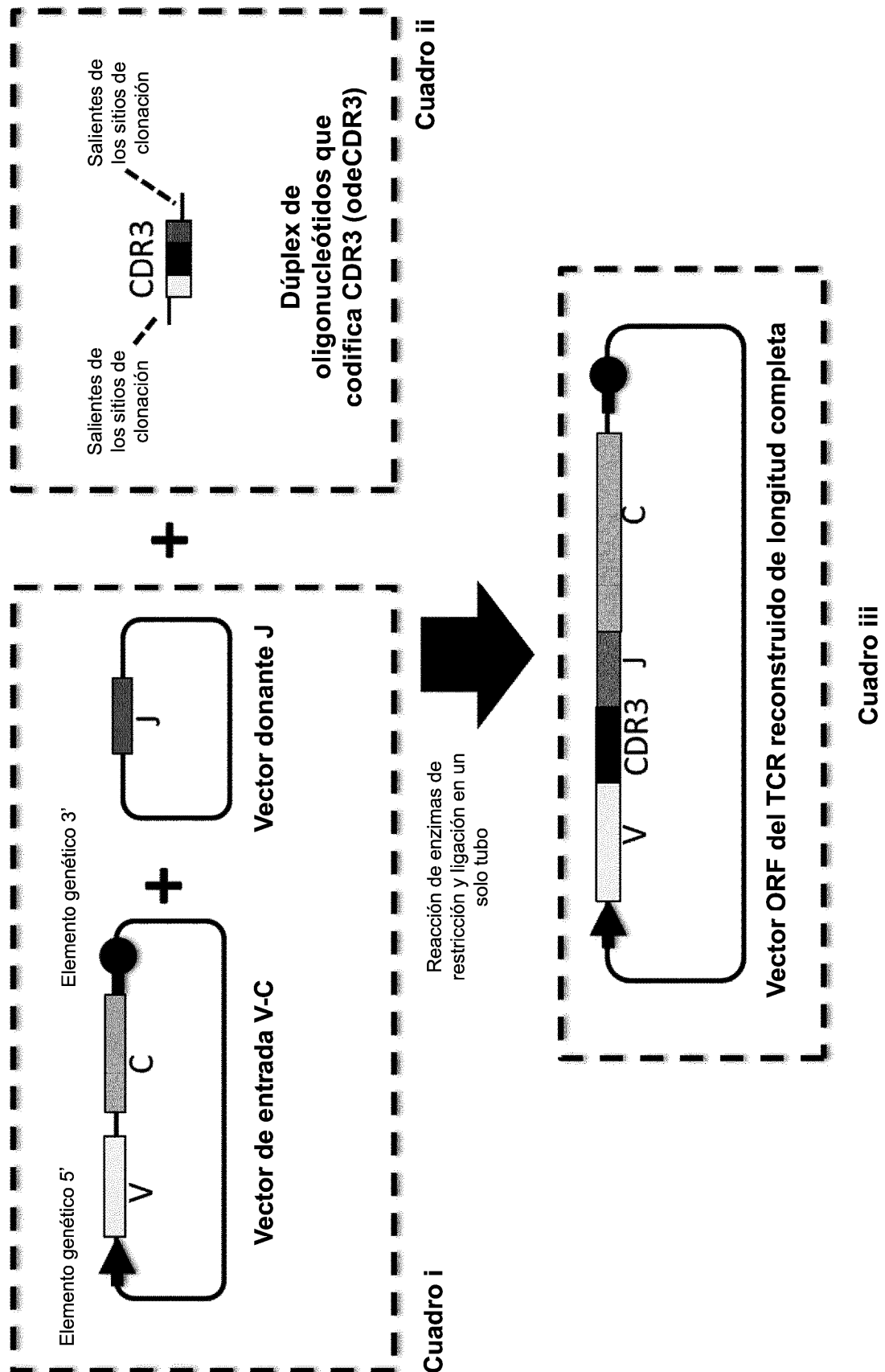


Figura 1B

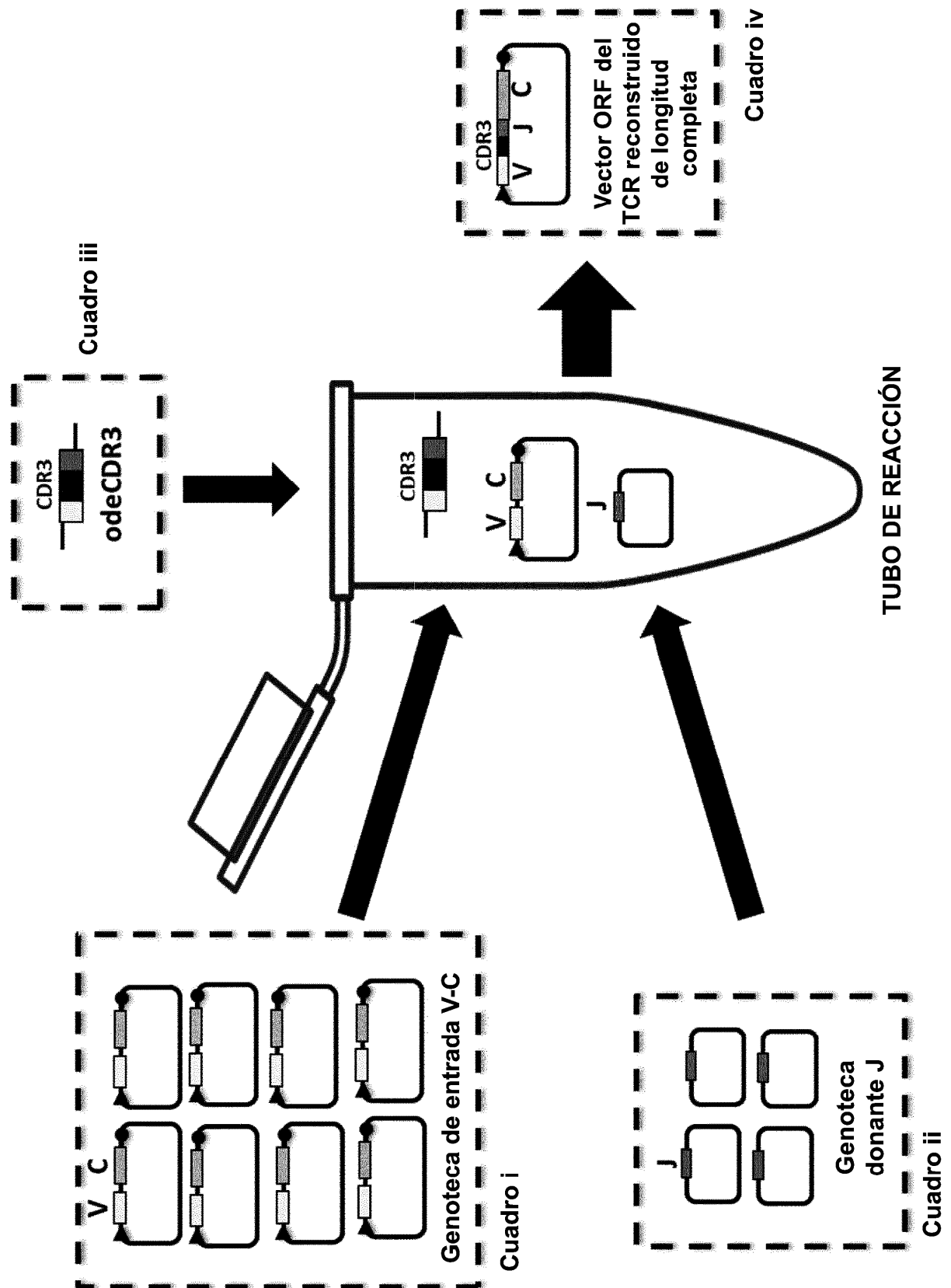


Figura 2

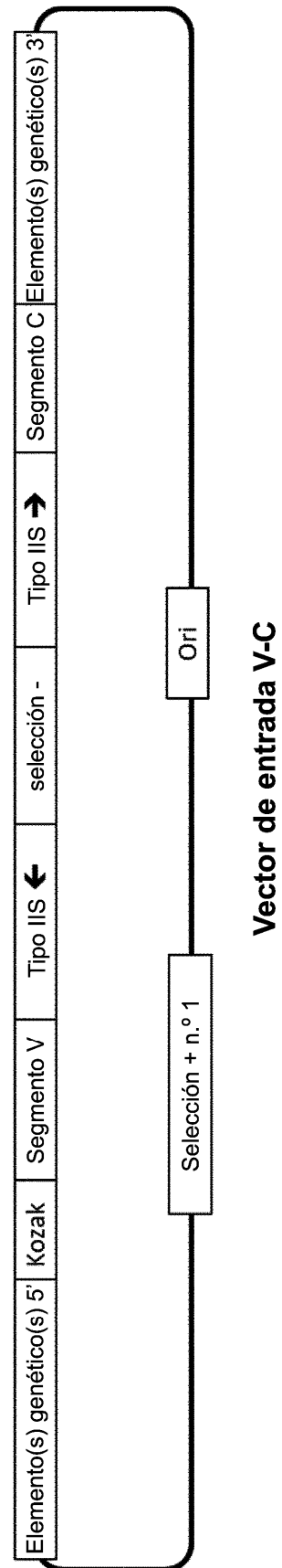


Figura 3

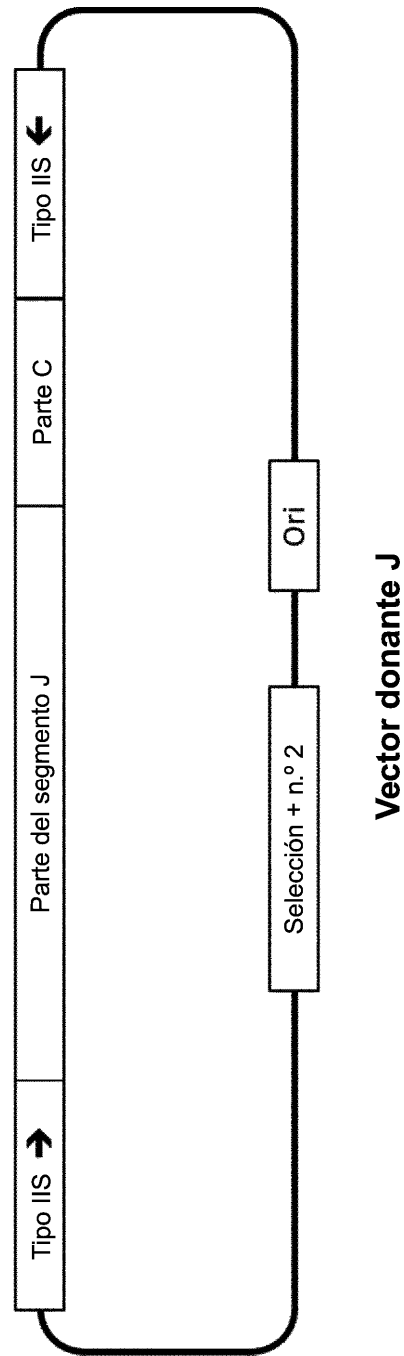
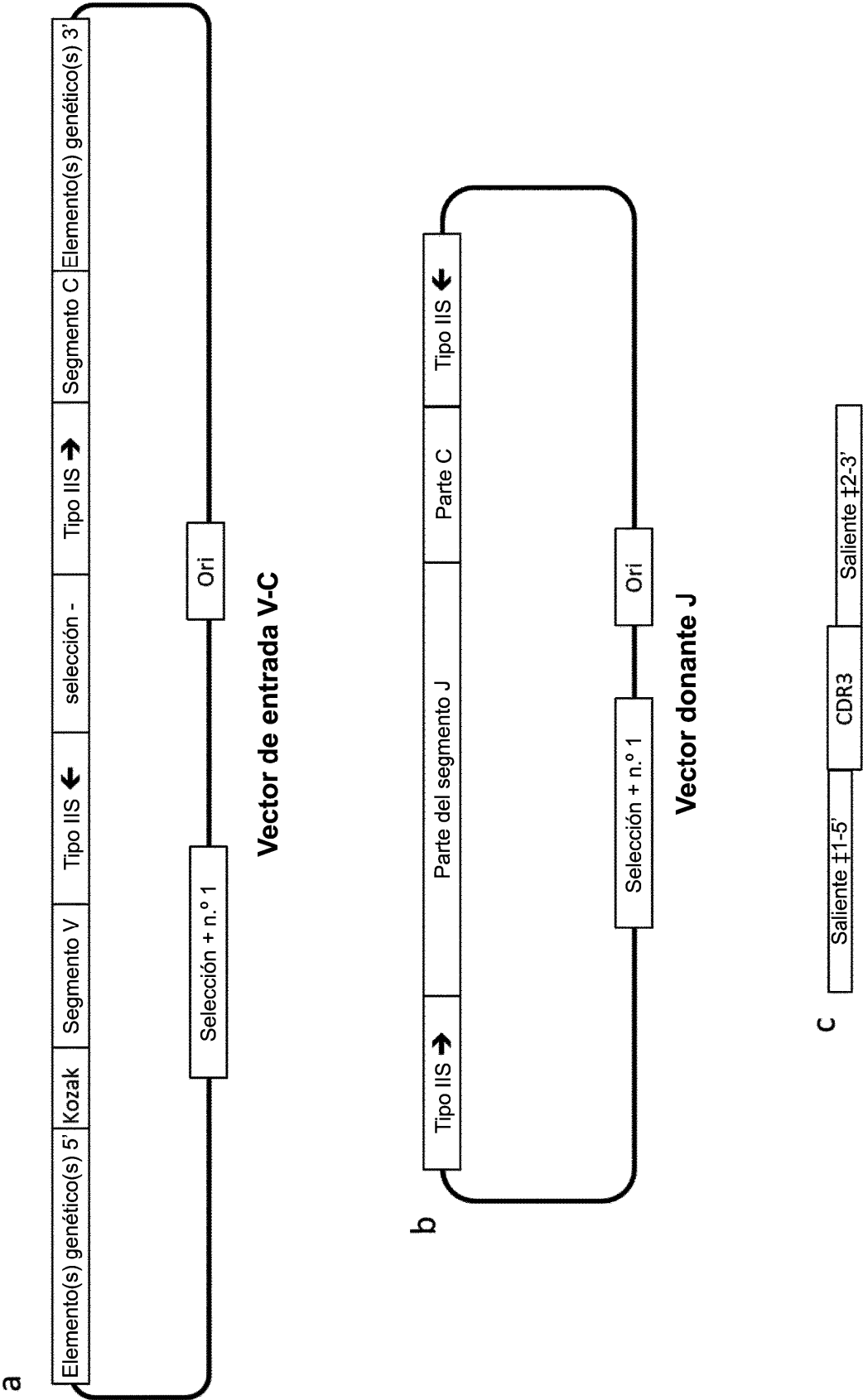


Figura 4



Dúplex de oligonucleótidos que codifica CDR3

Figura 4

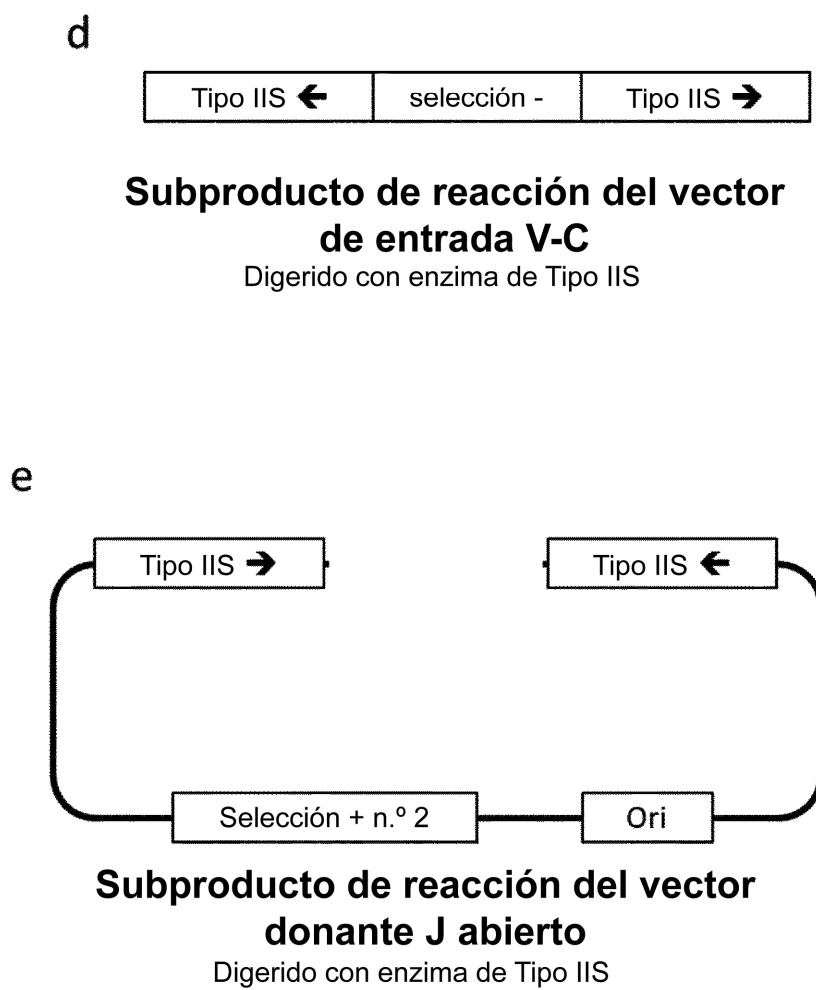


Figura 4

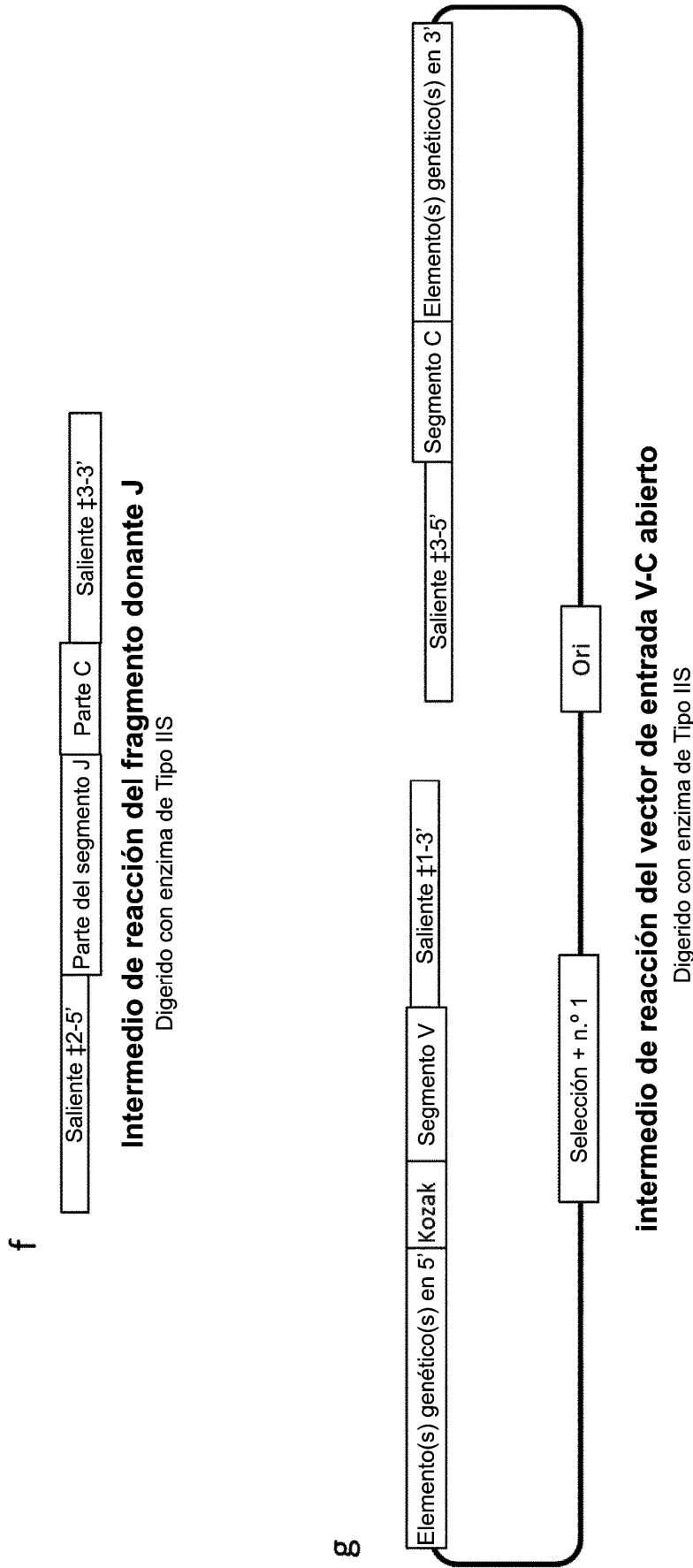


Figura 4

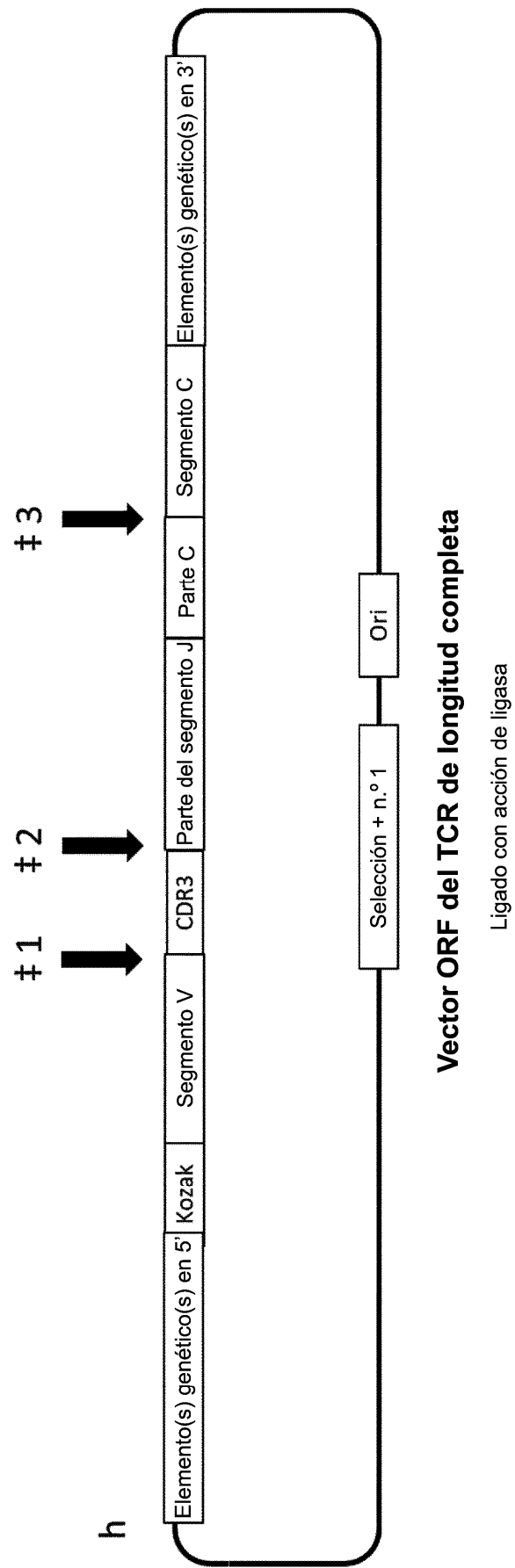
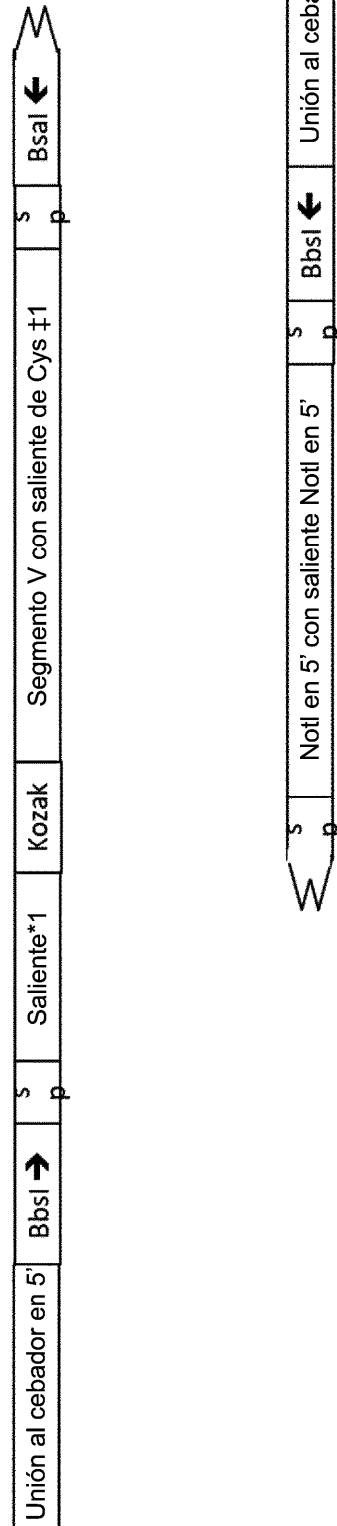
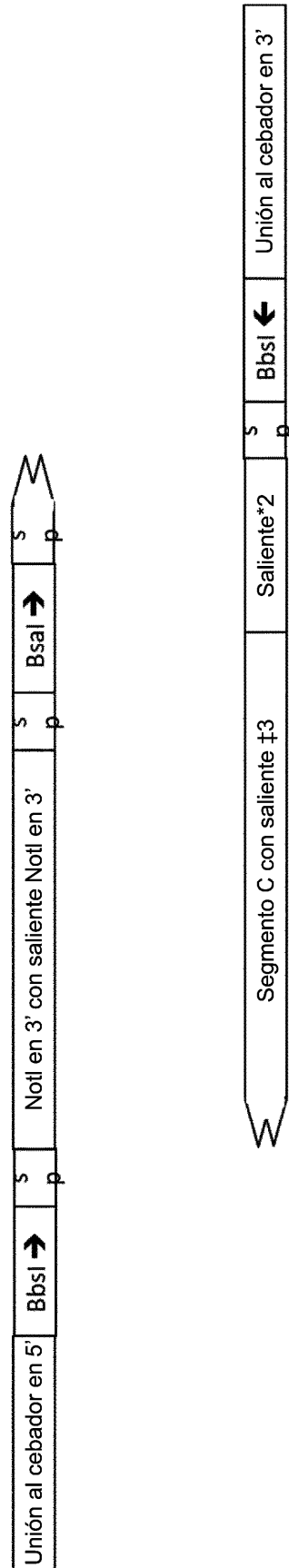


Figura 5



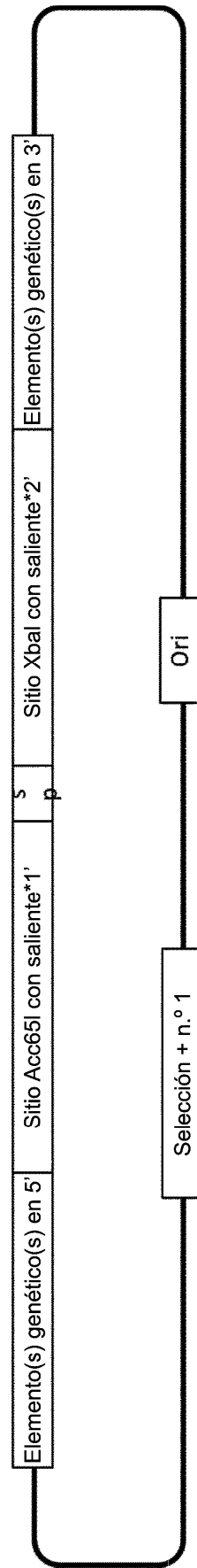
Ejemplo del fragmento de clonación V

Figura 6



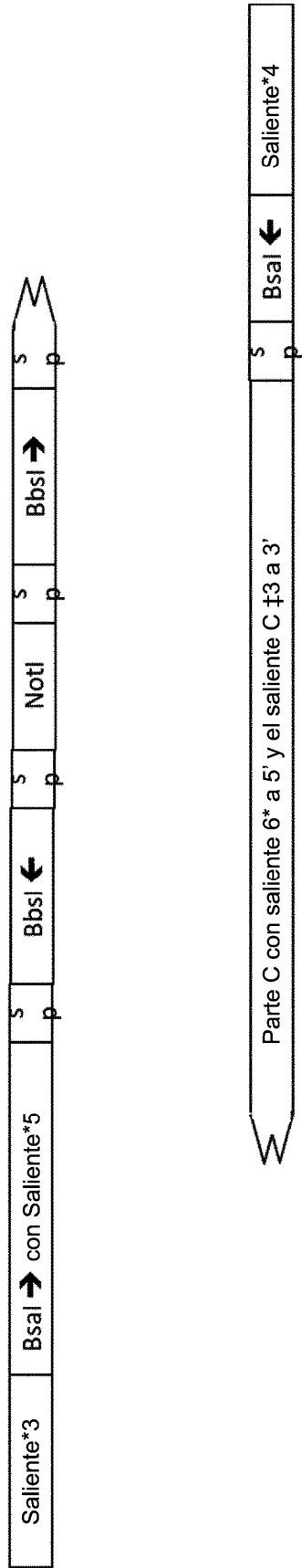
Ejemplo del fragmento de clonación C

Figura 7



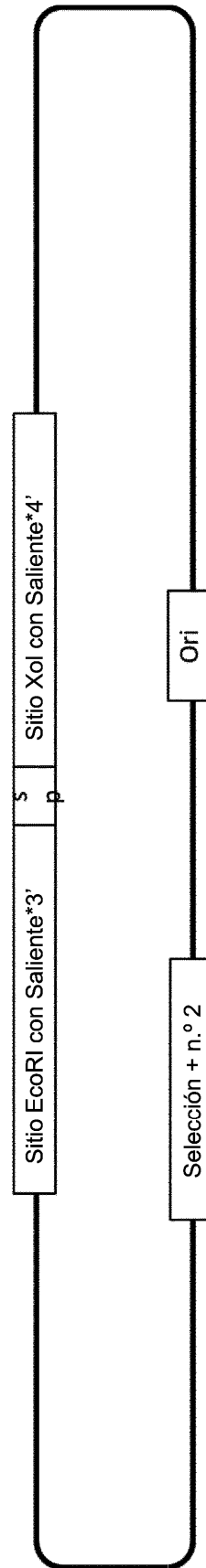
Ejemplo de cadena principal del vector de entrada V-C

Figura 8



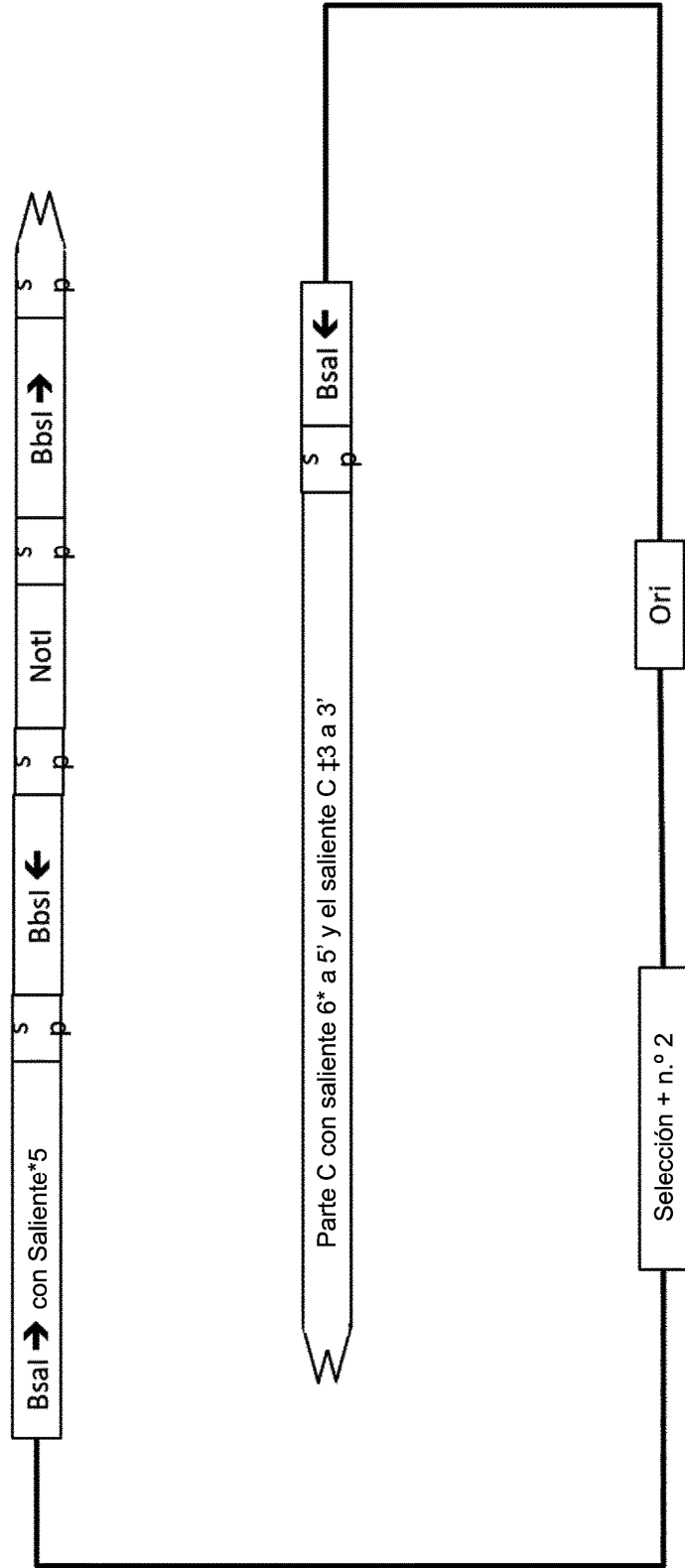
Ejemplo del fragmento del casete de recepción J

Figura 9



Ejemplo de cadena principal del vector donante J

Figura 10



Ejemplo del vector del casete de recepción J

Figura 11

Saliente *5'	Parte del segmento J	A	Saliente *6'

Ejemplo de parte del segmento J

Figura 12

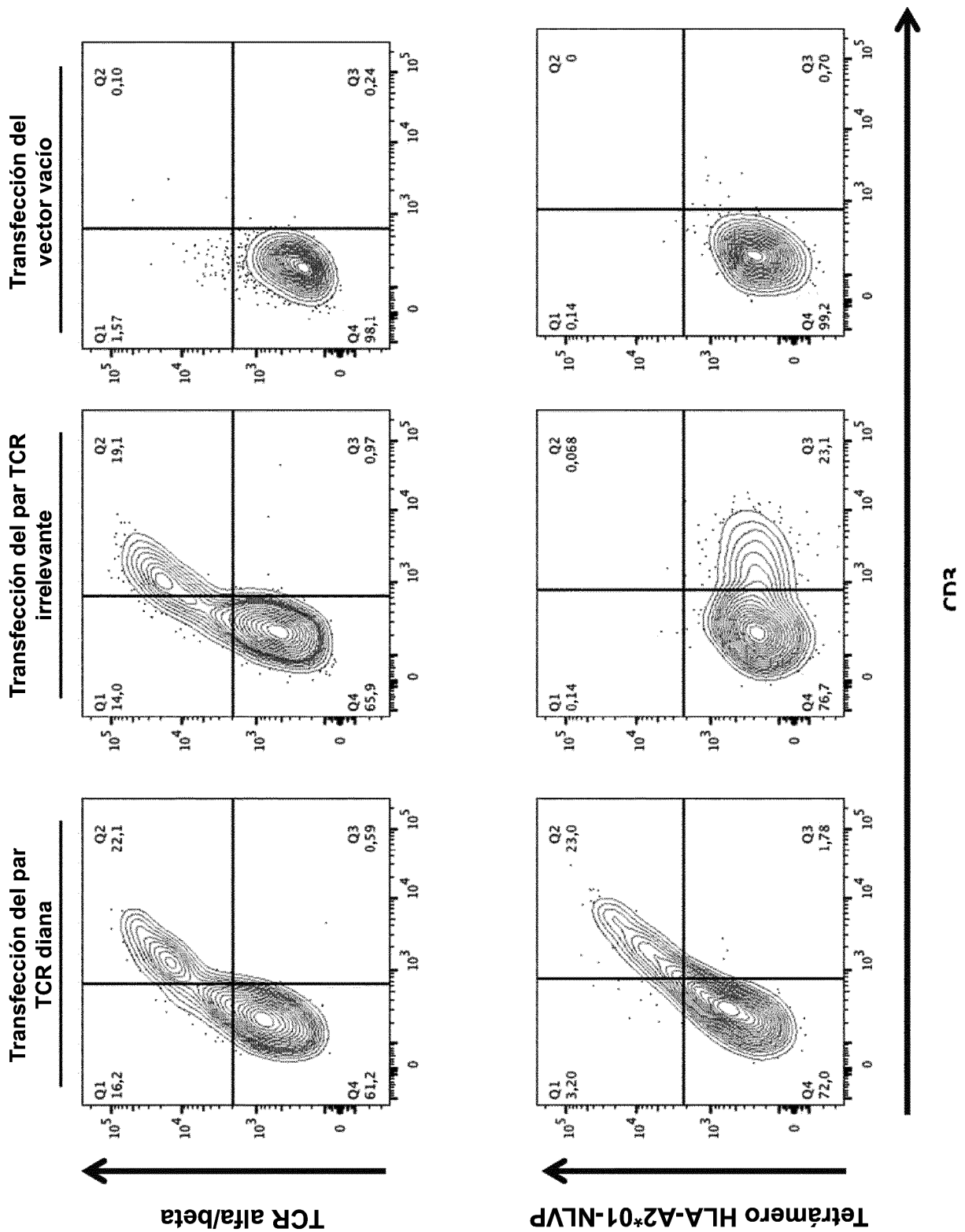


Figura 13

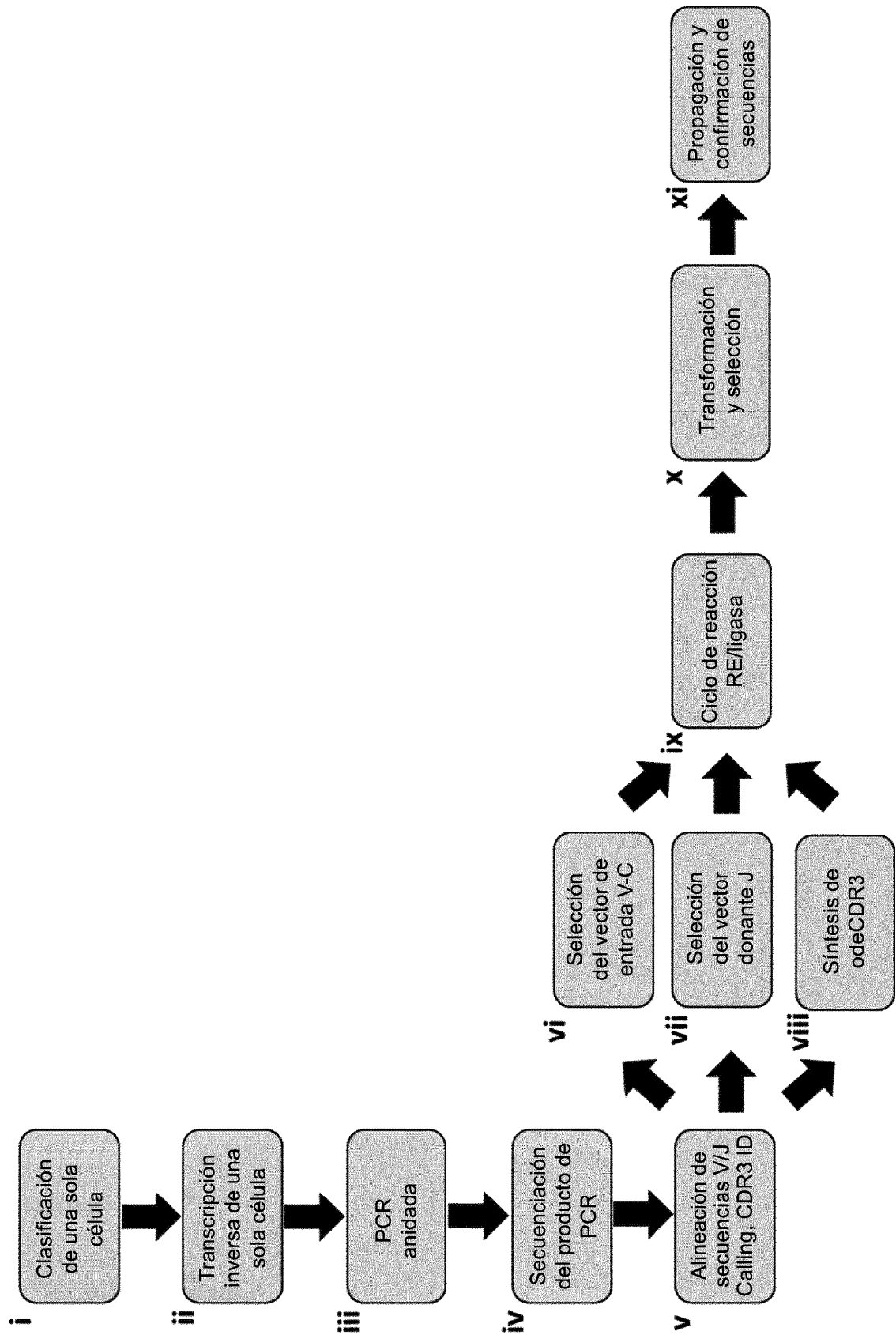


Figura 14

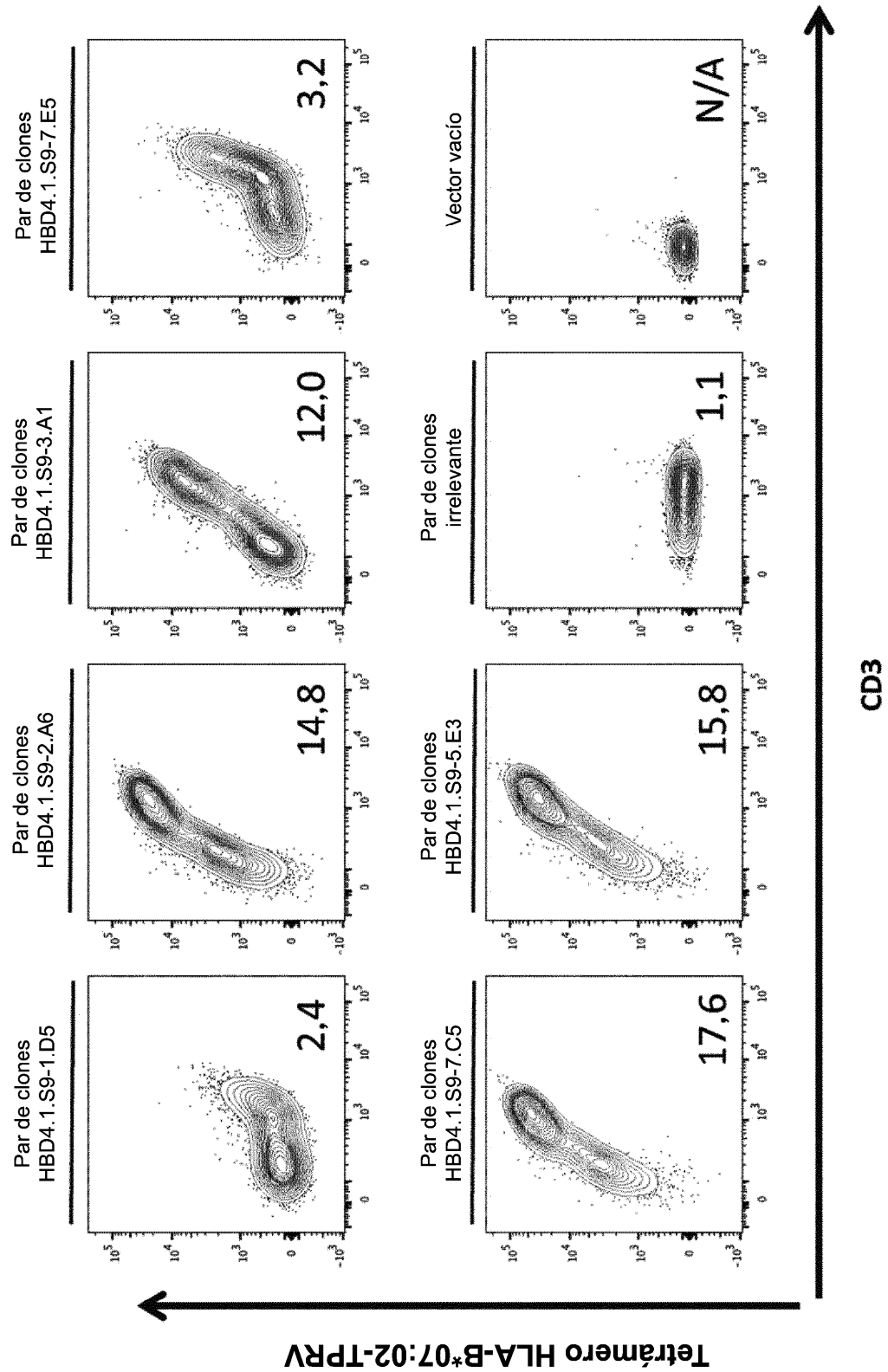


Figura 15

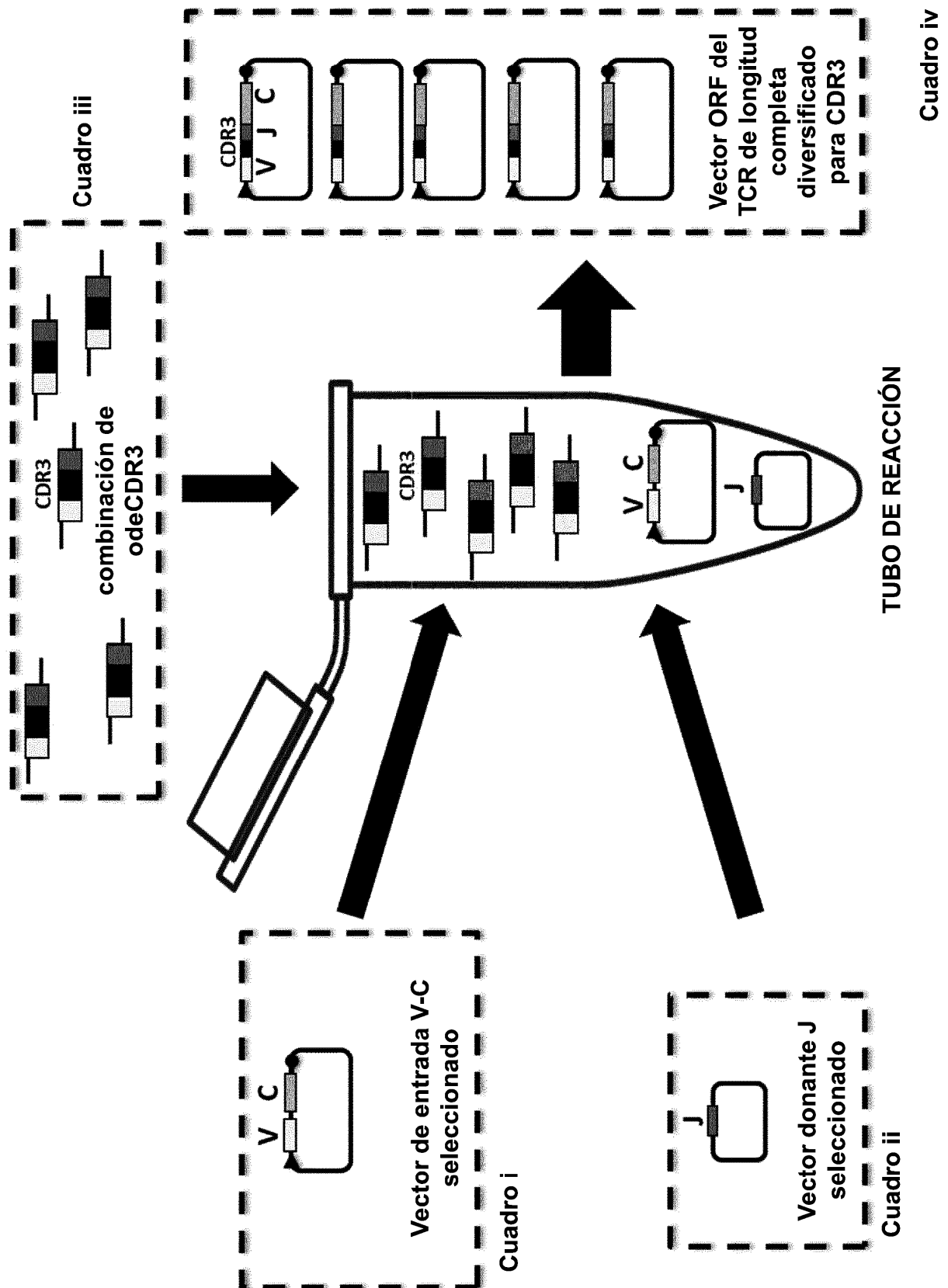


Figura 16A

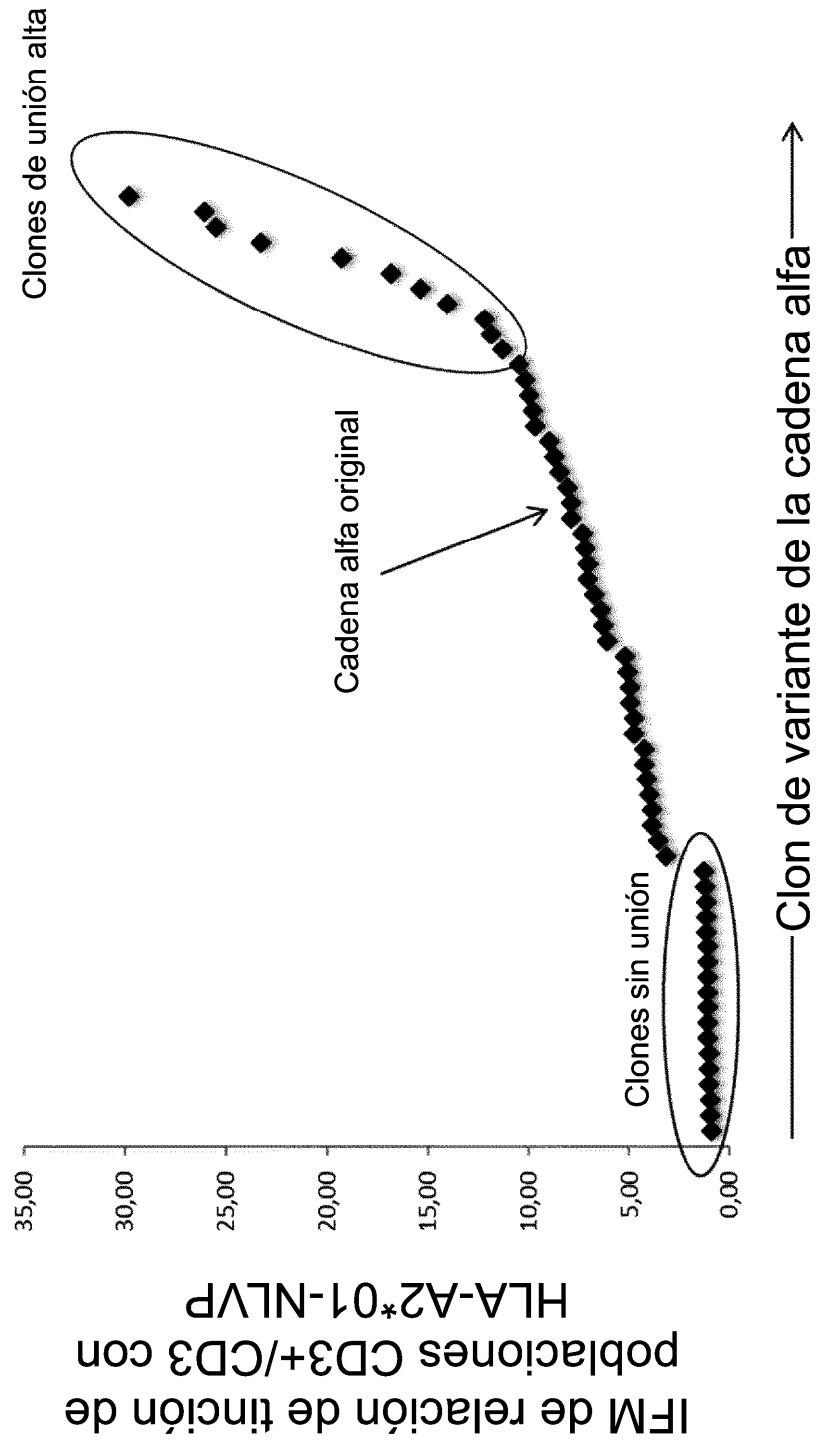


Figura 16B

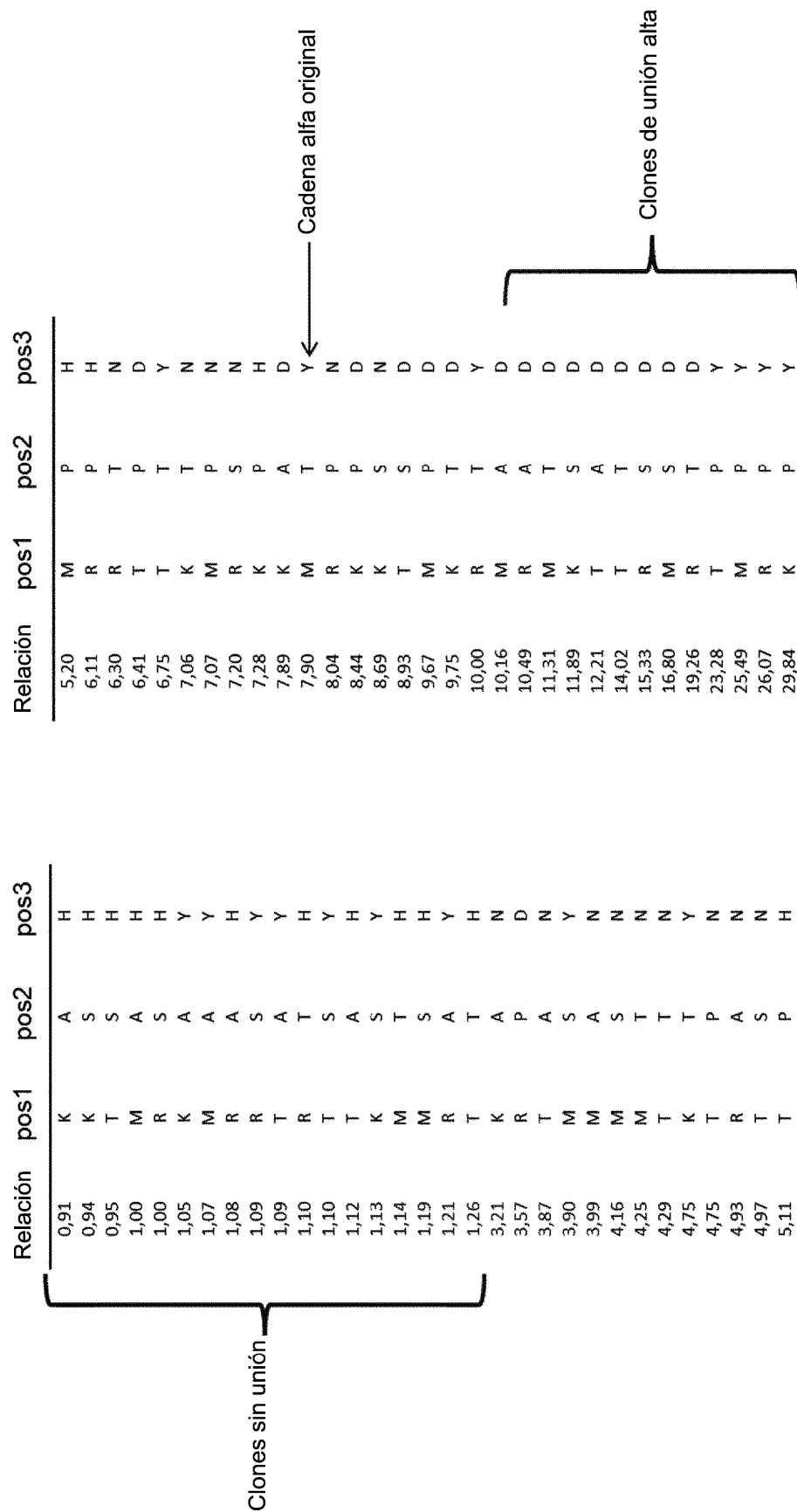


Figura 17

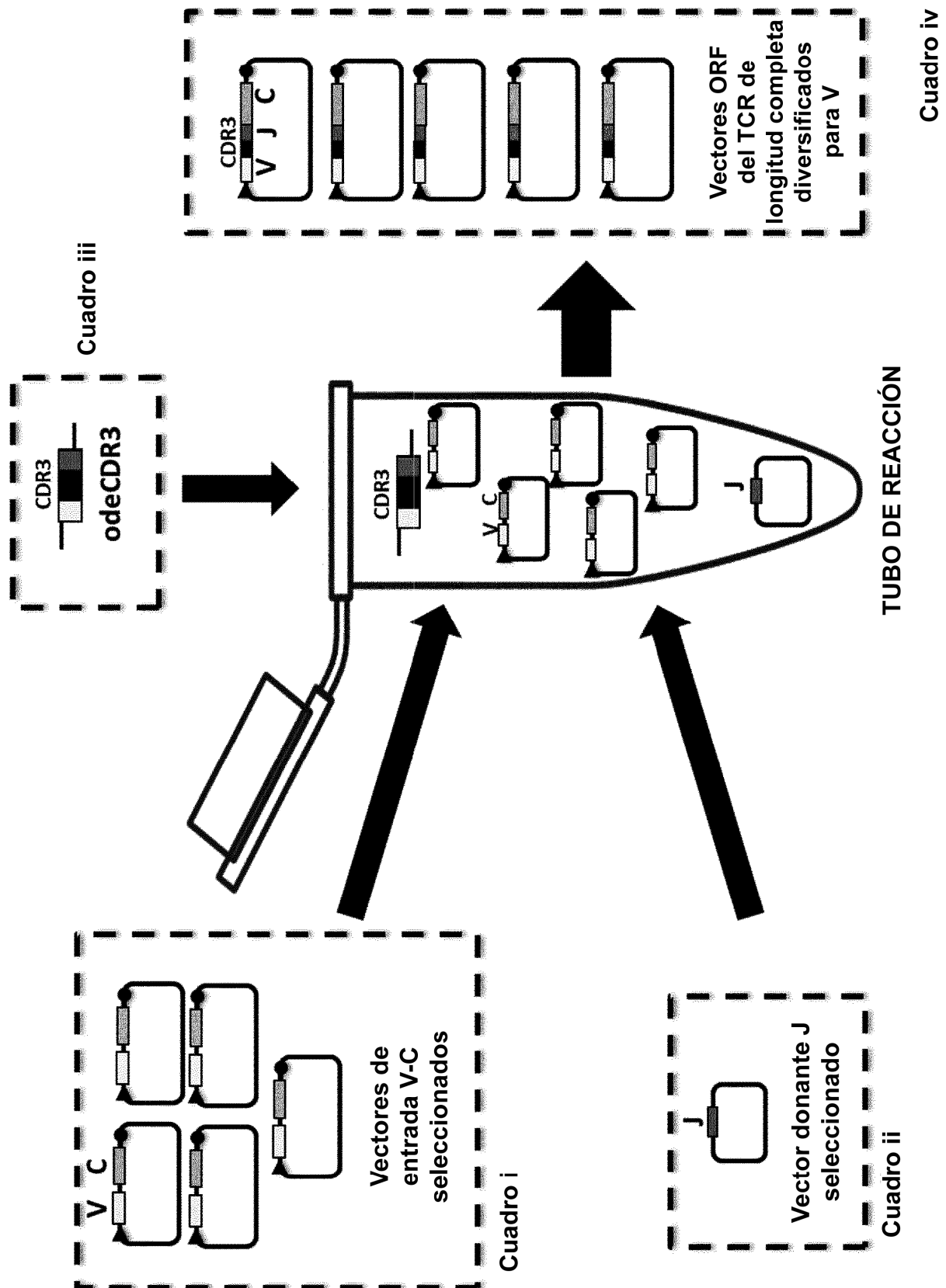


Figura 18

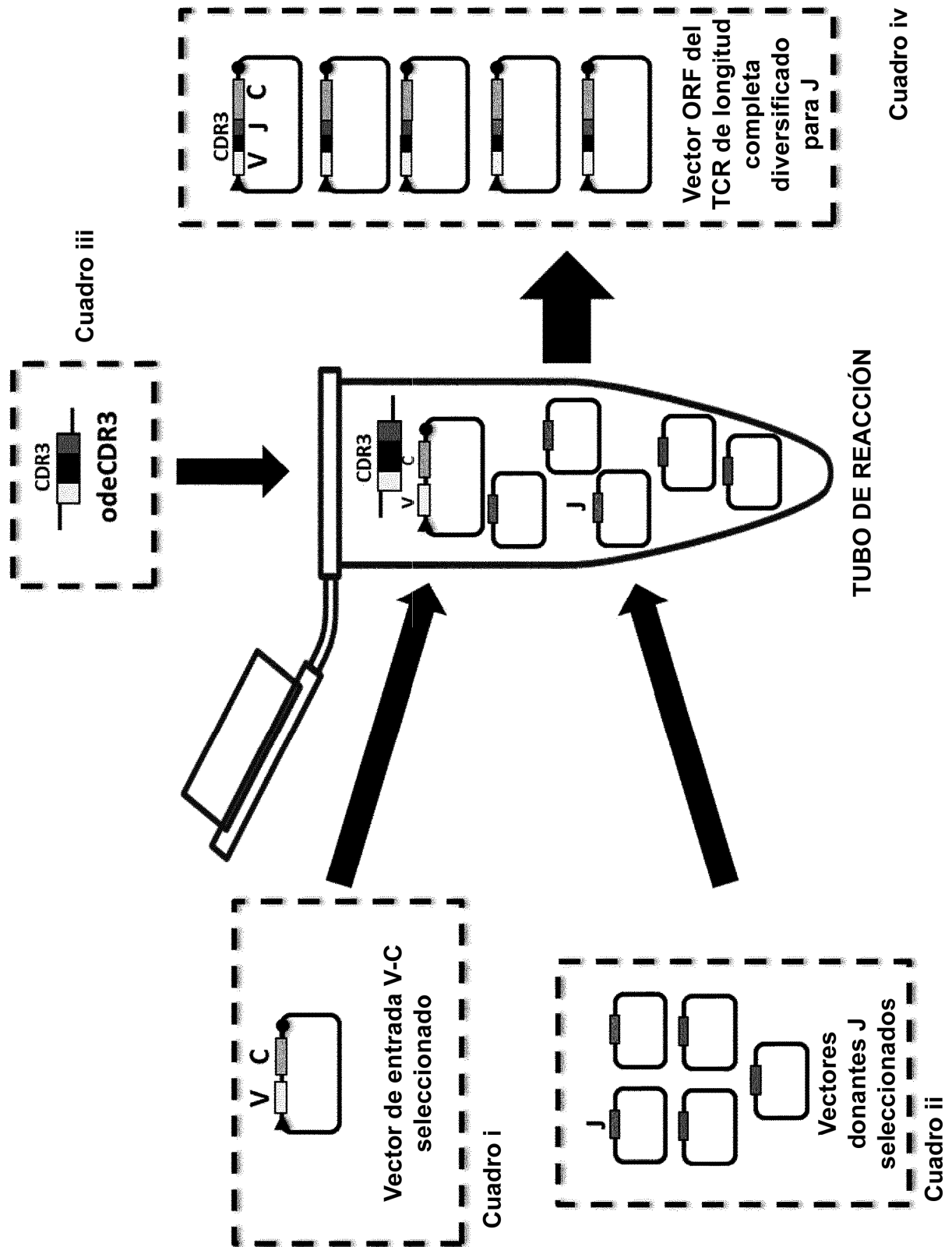


Figura 19

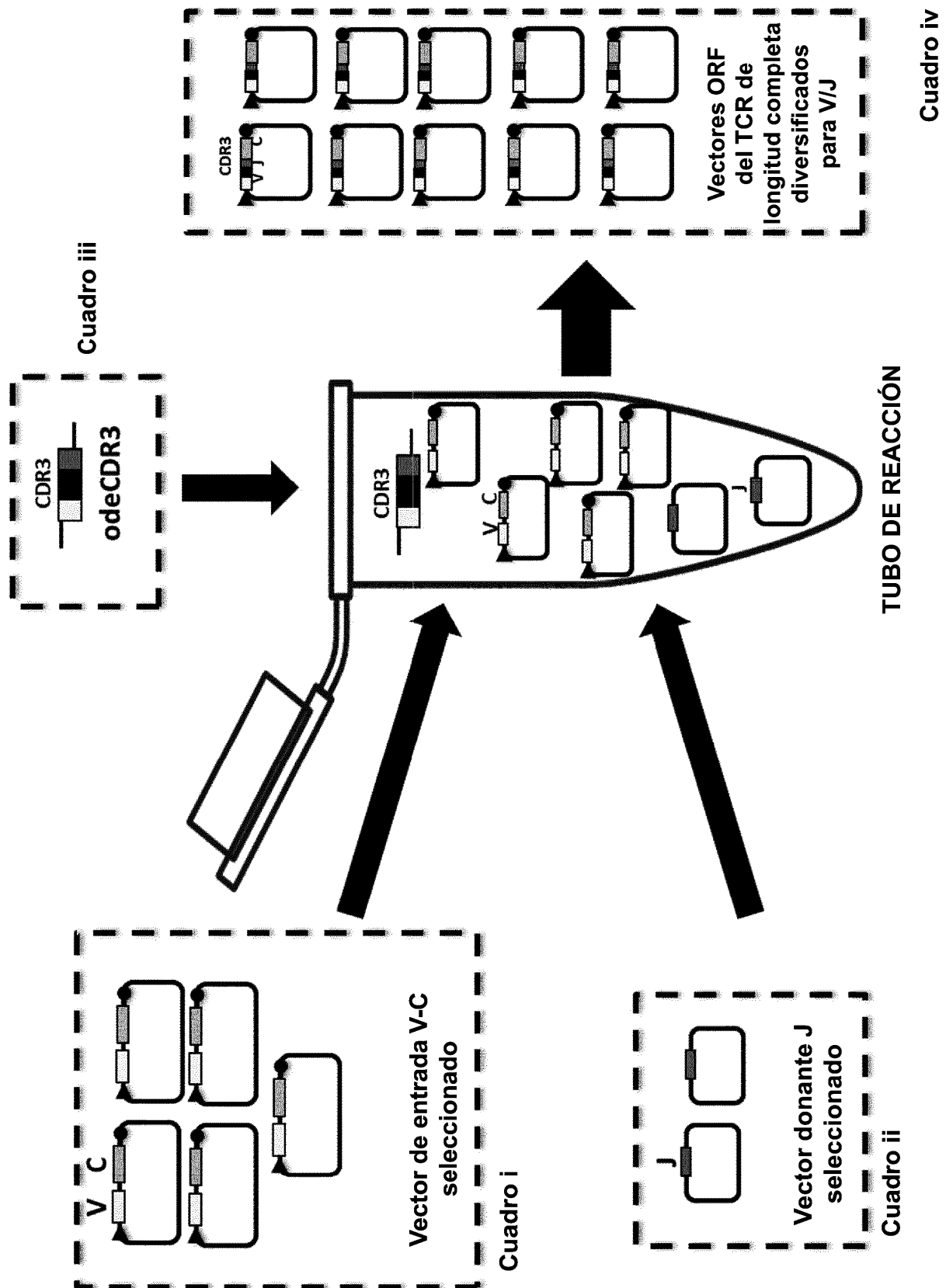


Figura 20

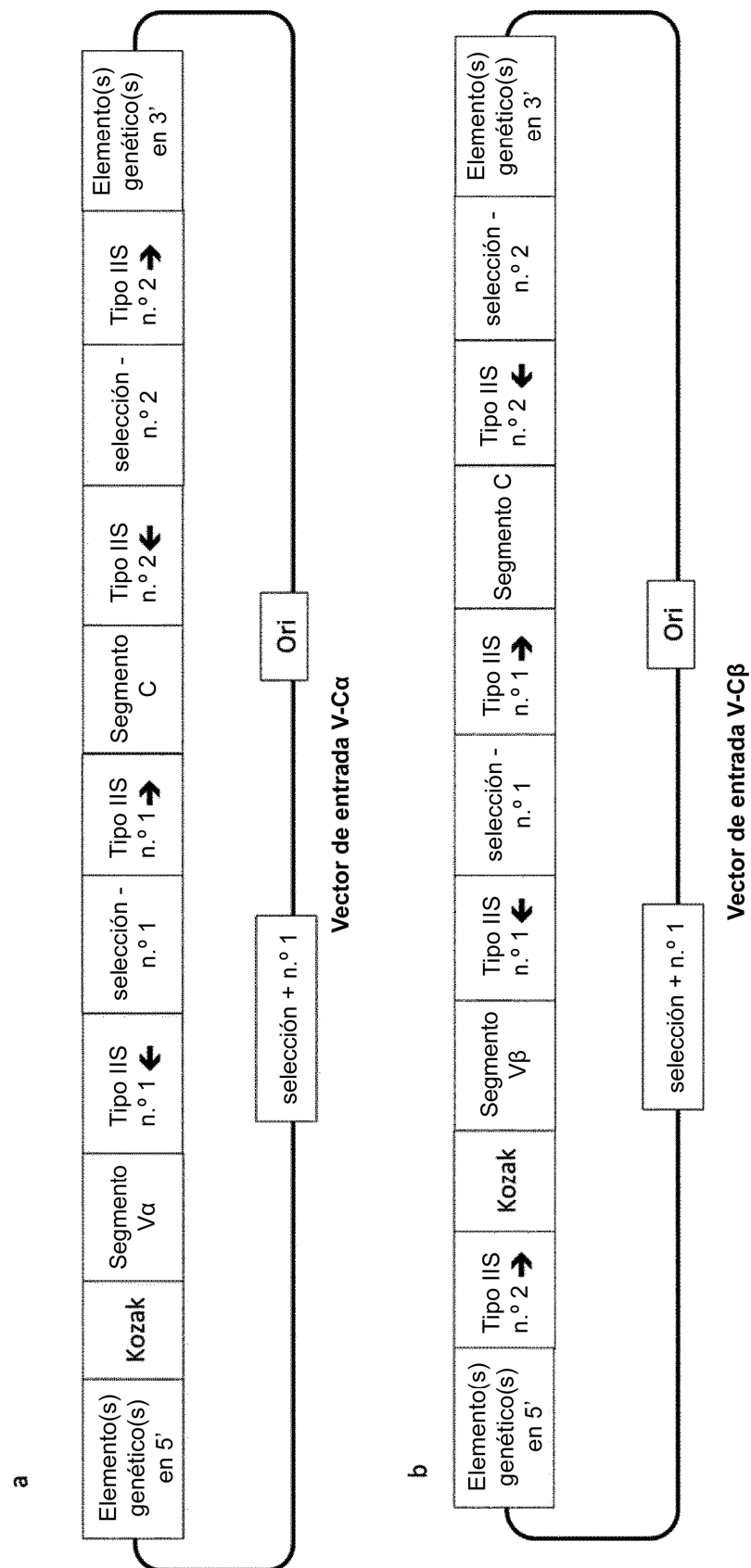
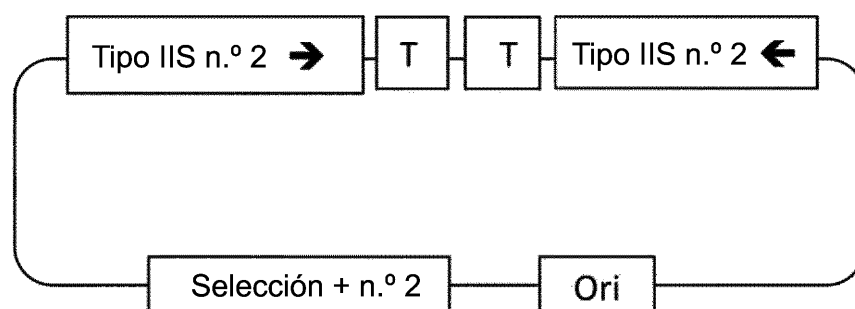


Figura 21



Vector donante del terminador bidireccional (BiT)

Figura 22

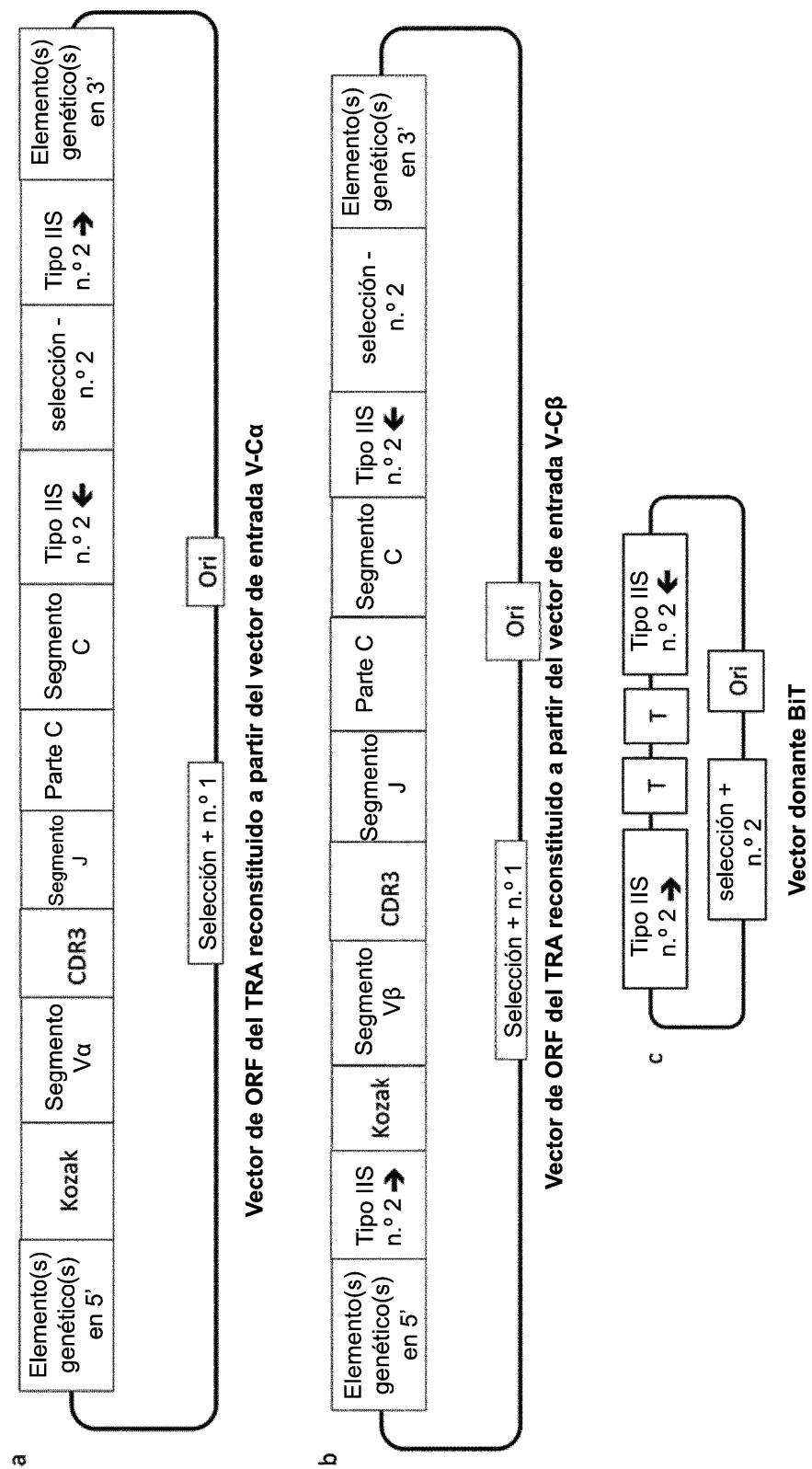


Figura 22

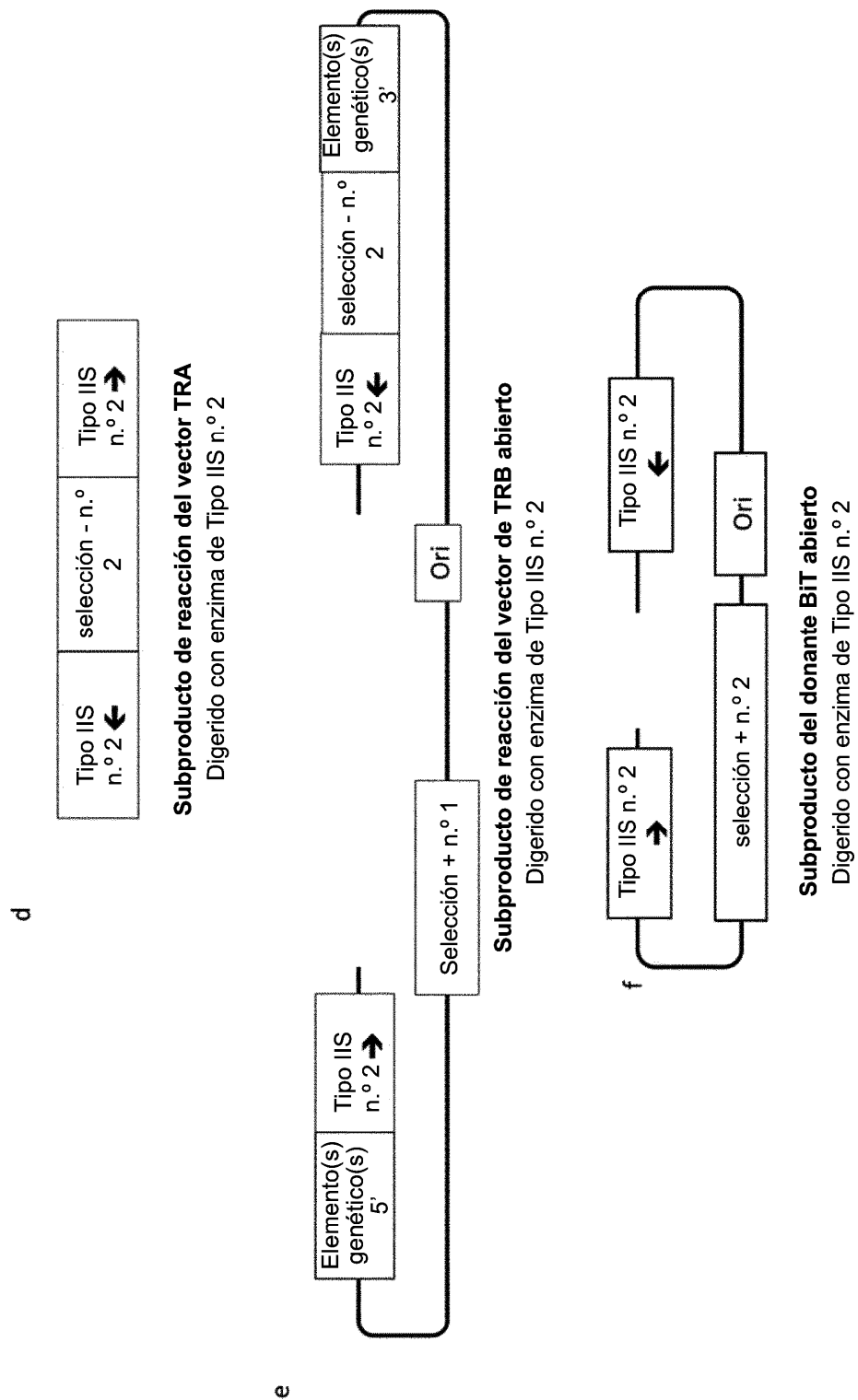


Figura 22

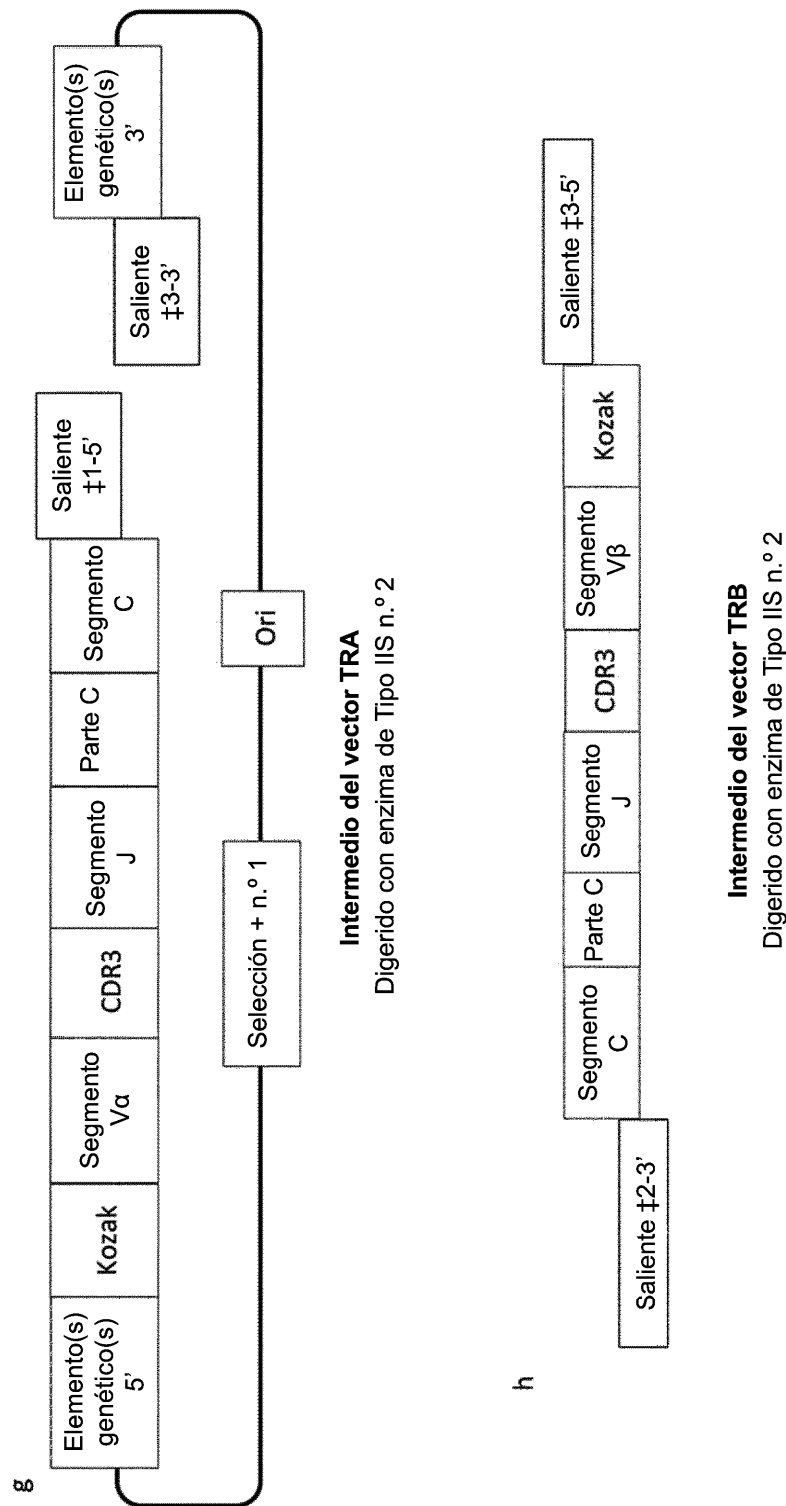
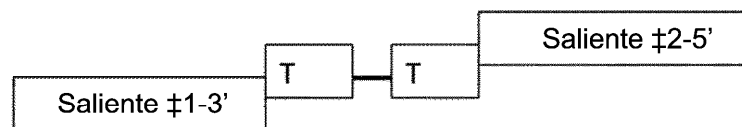


Figura 22

i



Intermedio del donante BIT
Digerido con enzima de Tipo IIS n.º 2

Figura 22

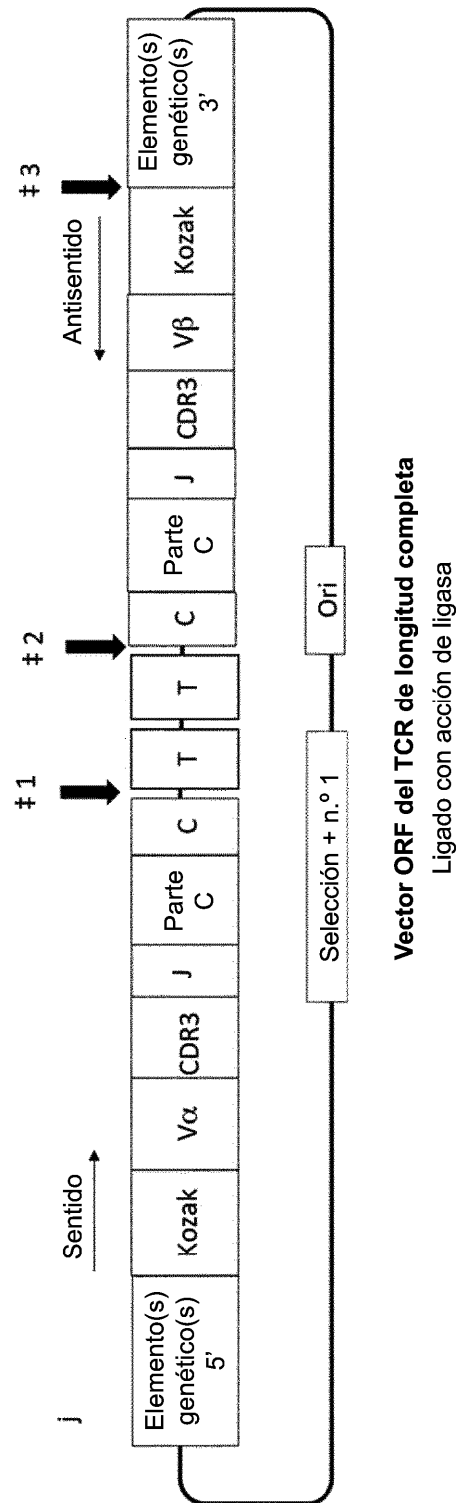


Figura 23

