

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



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

51 Int. Cl.:

C12N 15/00 (2006.01)

C12P 21/06 (2006.01)

C12N 15/09 (2006.01)

C12N 15/63 (2006.01)

C12N 15/70 (2006.01)

C12N 15/74 (2006.01)

C12P 21/04 (2006.01)

C12Q 3/00 (2006.01)

C12Q 1/70 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA MODIFICADA
TRAS OPOSICIÓN

T5

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.04.2002 PCT/US2002/12405**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.10.2002 WO02083872**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.04.2002 E 02762148 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea modificada tras oposición: **01.06.2016 EP 1578903**

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

30 Prioridad:

17.04.2001 US 837306

24.10.2001 US 516

25.10.2001 US 45674

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

25.10.2016

73 Titular/es:

DYAX CORP. (100.0%)

55 Network Drive

Burlington, MA 01803, US

72 Inventor/es:

LADNER, ROBERT C.;

COHEN, EDWARD H.;

NASTRI, HORACIO G.;

ROOKEY, KRISTIN L.;

HOET, RENÉ y

HOOGENBOOM, HENDRICUS R.J.M.

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 375 952 T5

DESCRIPCIÓN

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

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

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

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

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

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

20 (a) una VH CDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos según la fórmula -X1-Y-X2-M-X3-, en la que X1, X2, y X3 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en A, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W, e Y, proporcionada en una región marco humana 3-23;

25 (b) una VH CDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos según la fórmula X4-I-X5-X6-S-G-G-X7-T-X8-Y-A-D-S-V-K-G-, en la que X4 y X5 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en Y, R, W, V, G, y S, X6 se selecciona del grupo que consiste en P y S, y X7 y X8 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en A, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W, e Y, proporcionada en una región marco humana 3-23; y

30 (c) una secuencia que codifica una VH CDR3 natural, en la que dicha VH CDR3 es una VH CDR3 capturada de la región VH CDR3 de un gen de inmunoglobulina de una célula B; como se define en las reivindicaciones.

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

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

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

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

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

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

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

Por ejemplo, en la patente Europea 368,684 B1, el cebador que se usa está en el extremo 5' de la región V_H de un gen de anticuerpo. Hibrida con una región de secuencia en el ADN nativo que se dice que está

"suficientemente bien conservada" en una única especie. Dicho cebador sesgará los miembros amplificados favoreciendo a aquellos que tienen esta región "conservada". Se suprime cualquier diversidad en esta región.

- 5 Se admite generalmente que los genes de los anticuerpos humanos surgen mediante un proceso que implica una selección combinatoria de V y J o V, D, y J seguido de mutaciones somáticas. Aunque la mayor parte de la diversidad se produce en las Regiones Determinantes de la Complementariedad (CDR), la diversidad también se produce en las regiones más conservadas, Regiones Marco (FR) y al menos parte de esta diversidad confiere o incrementa la unión específica a antígenos (Ag). Consecuentemente, las bibliotecas deberían contener tanta diversidad en CDR y FR como fuera posible.
- 10 Para clonar los ADN amplificados de los péptidos, polipéptidos o proteínas que codifican para presentación en un paquete genético y/o para expresión, los ADN deben escindirse para producir extremos apropiados para ligación en un vector. Dicha escisión se efectúa generalmente usando sitios de reconocimiento de endonucleasas de restricción portados por los cebadores. Cuando los cebadores están en el extremo 5' del ADN producido por transcripción inversa de ARN, dicha restricción deja regiones no
- 15 traducidas 5' perjudiciales en el ADN amplificado. Estas regiones interfieren con la expresión de los genes clonados y así la presentación de los péptidos, polipéptidos y proteínas codificados por éstos.

RESUMEN DE LA INVENCION

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

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

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

Los objetos adicionales de la invención están reflejados en las reivindicaciones 2 a 13. Cada una de estas reivindicaciones está incorporada específicamente por referencia en esta especificación.

DESCRIPCION BREVE DE LOS DIBUJOS

- 30 La FIG. 1 es un esquema de los diferentes métodos que pueden emplearse para amplificar genes VH sin el uso de cebadores específicos para secuencias VH.
- La FIG. 2 es un esquema de los diferentes métodos que pueden emplearse para amplificar genes VL sin el uso de cebadores específicos para secuencias VL.
- La FIG. 3 es un esquema de amplificación RACE de las cadenas pesadas y ligeras de anticuerpo.
- 35 La FIG. 4 muestra el análisis por gel de los productos de amplificación obtenidos después de la reacción de PCR primaria de 4 muestras de pacientes diferentes.
- La FIG. 5 muestra el análisis por gel del ADN kappa escindido del Ejemplo 2.
- La FIG. 6 muestra el análisis por gel del extensor-ADN kappa escindido del Ejemplo 2.
- La FIG. 7 muestra el análisis por gel del producto de PCR de la amplificación extensor-kappa del Ejemplo
- 40 2.
- La FIG. 8 muestra el análisis por gel del producto de PCR purificado de la amplificación extensor-kappa del Ejemplo 2.
- La FIG. 9 muestra el análisis por gel de las cadenas ligeras kappa escindidas y ligadas del Ejemplo 2.
- La FIG. 10 es un esquema del diseño para la diversidad sintética de CDR1 y CDR2.
- 45 La FIG. 11 es un esquema del programa de clonación para la construcción del repertorio de cadena pesada.
- La FIG. 12 es un esquema de la escisión y ligación de la cadena ligera de anticuerpo.
- La FIG. 13 muestra el análisis por gel de las cadenas ligeras lambda escindidas y ligadas del Ejemplo 4.

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

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

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

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

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

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

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

TÉRMINOS

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

	Cadena con sentido	La cadena superior de los ADN ds como se escribe habitualmente. En la cadena con sentido, 5'-ATG-3' codifica Met.
15	Cadena antisentido	La cadena inferior de los ADN ds como se escribe habitualmente. En la cadena antisentido, 3'-TAC-5' correspondería a un codón Met en la cadena con sentido.
20	Cebador directo	Un cebador "directo" es complementario a una parte de la cadena con sentido y ceba la síntesis de una nueva molécula de cadena antisentido. "Cebador directo" y "cebador de la cadena inferior" son equivalentes.
25	Cebador inverso	Un cebador "inverso" es complementario a una parte de la cadena antisentido y ceba la síntesis de una nueva molécula de cadena con sentido. "Cebador inverso" y "cebador de la cadena superior" son equivalentes.
	Bases	Las bases se especifican bien por su posición en un vector o gen como su posición en un gen por codón y base. Por ejemplo, "89.1" es la primera base del codón 89, 89.2 es la segunda base del codón 89.
	Sv	Estreptavidina
30	Ap	Ampicilina
	ap ^R	Un gen que confiere resistencia a ampicilina.
	RERS	Sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción
	RE	Endonucleasa de restricción - escinde preferentemente en RERS
	URE	Endonucleasa de restricción universal
35	Funcionalmente complementario	Dos secuencias son suficientemente complementarias como para hibridar bajo las condiciones elegidas.
	AA	Aminoácido
	PCR	Reacción de polimerización en cadena
	GLG	Genes de la línea germinal
40	Ab	Anticuerpo: una inmunoglobulina. El término también engloba cualquier proteína que tiene un dominio de unión que es homólogo a un dominio de unión de una inmunoglobulina. Algunos ejemplos de anticuerpos incluidos en esta definición son, entre otros, isotipos de inmunoglobulina y los fragmentos Fab, F(ab ¹) ₂ , scfv, Fv, dAb y Fd.
45	Fab	Molécula de dos cadenas que comprende una cadena ligera de Ab y parte de una cadena pesada.

ScFv	Un Ab de una única cadena bien VH::conector::VL o VL::conector::VH
w.t.	Tipo salvaje
HC	Cadena pesada
LC	Cadena ligera
5 VK	Un dominio variable de una cadena ligera Kappa.
VH	Un dominio variable de una cadena pesada.
VL	Un dominio variable de una cadena ligera lambda.

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

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

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

25 .

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES PREFERIDAS

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

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

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

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

Las secuencias de ácido nucleico para al menos una CDR u otra región de los péptidos, polipéptidos o proteínas de la familia son ADNc producidos por transcripción inversa a partir de ARNm. Los ARNm se obtienen a partir de células de sangre periférica, células de la médula ósea, células del bazo o células de

los ganglios linfáticos (tales como linfocitos B o células plasmáticas) que expresan miembros de conjuntos naturalmente diversos de genes relacionados. Más preferiblemente, los ARNm codifican una familia diversa de anticuerpos. Lo más preferiblemente, los ARNm se obtienen de pacientes que padecen al menos un trastorno autoinmune o cáncer. Preferiblemente, se usan los ARNm que contienen una alta diversidad de enfermedades autoinmunes, tales como lupus eritematoso sistémico, esclerosis sistémica, artritis reumatoide, síndrome de antifosfolípido y vasculitis.

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

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

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

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

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

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

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

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

dominio constante. El Panel E muestra ADNc (ds) bicatenario inmovilizado obtenido usando un cebador de cadena superior biotinilado en 5'.

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

En las FIGs. 1 y 2, cada gen V consiste en una región no traducida 5' (UTR) y una señal de secreción, seguido de la región variable, seguida de una región constante, seguida de una región no traducida 3' (que termina típicamente en poli-A). Un cebador inicial para transcripción inversa puede ser complementario a la región constante o al segmento poli A de 3'-UTR. Para los genes de cadena pesada humanos, se prefiere un cebador de 15 T. Las transcriptasas inversas unen varios residuos C al extremo 3' del ADN recién sintetizado. La RT CapExtension aprovecha esta característica. La reacción de transcripción inversa se corre en primer lugar sólo con un cebador de cadena inferior. Después de aproximadamente 1 hora, se añade un cebador que termina en GGG (USP-GGG) y más RTasa. Esto causa que el ADNc de cadena inferior se extienda por el complemento inverso de USP-GGG hasta el GGG final. Usando un cebador idéntico a parte de la secuencia sintética unida y un segundo cebador complementario a una región de secuencia conocida en el extremo 3' de la cadena con sentido, todos los genes V se amplifican independientemente de su subclase de gen V.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Las endonucleasas de restricción *HpyCH4III*, *Bst4CI*, y *Taal* reconocen todas 5'-ACnGT-3' y cortan el ADN de cadena superior después de n y el ADN de cadena inferior antes de la base complementaria a n. Éste es el sitio de reconocimiento de endonucleasa de restricción más preferido para este método en

cadena pesada humana porque se encuentra en todos los genes de la línea germinal. Además, la región de reconocimiento de la endonucleasa de restricción (ACnGT) coinciden con la segunda y tercera base de un codón de tirosina (tay) y el codón siguiente de cisteína (tgy) como se muestra en la Tabla 3. Estos codones están altamente conservados, especialmente la cisteína en los genes de anticuerpo maduros.

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

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

Los genes de la línea germinal para FR1 de la cadena pesada humana se muestran en la Tabla 6. La Tabla 7 muestra los sitios de reconocimiento de endonucleasa de restricción encontrados en los genes de línea germinal humana FR1. Los sitios preferidos son *BsgI*(GTGCAG;39@4), *BsoFI*(GCngc;43@6,11@9,2@3,1@12), *TseI*(Gcwgc;43@6,11@9,2@3,1@12), *MspA1I*(CMGckg;46@7,2@1), *PvuII*(CAGctg;46@7,2@1), *AluI*(AGct;48@82@2), *DdeI*(Ctnag;22@52,9@48), *HphI*(tcacc;22@80), *BssKI*(Nccngg;35@39,2@40), *BsaJI*(Ccnngg;32@90,2@41), *BstNI*(CCwgg;33@40), *ScrFI*(CCngg;35@40,2@41), *EcoO109I*(RGgnccy;22@46, 11@43), *Sau96I*(Ggncc;23@47,11@44), *Avall*(Ggwcc;23@47,4@44), *PpuMI*(RGgwccy;22@96,9@43), *BsmFI*(gtccc;20@48), *Hinfl*(Gantc;34@16,21@56,21@77), *TfiI*(21@77), *MlyI*(GAGTC;34@16), *MlyI*(gactc;21@56), y *AlwNI*(CAGnnctg;22@68). Los sitios más preferidos son *MspAI* y *PvuII*. *MspAI* y *PvuII* tienen 46 sitios en 7-12 y 2 en 1-6. Para evitar la escisión en ambos sitios, se usan oligonucleótidos que no abarcan totalmente el sitio en 1-6. Así, el ADN no se escindirá en ese sitio. Hemos mostrado que el ADN que se extiende 3, 4, ó 5 bases más allá de un sitio *PvuII* puede escindirse eficazmente.

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

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

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

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

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

- 5 Los oligonucleótidos de esta longitud no necesitan ser complementos idénticos de los genes de la línea germinal. En lugar de esto, pueden tolerarse unos pocos emparejamientos erróneos. Preferiblemente, sin embargo, no se permiten más de 1-3 emparejamientos erróneos. Dichos emparejamientos erróneos no afectan adversamente la hibridación del oligonucleótido al ADN monocatenario. Por lo tanto, se dice que los dos ADN son funcionalmente complementarios.
- 10 El segundo método para manipular los ADN monocatenarios de esta invención para presentación y/o expresión comprende las etapas de:

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

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

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

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

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

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

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

- 55 El sitio elegido para la escisión usando la URE es preferiblemente uno que está sustancialmente conservado en la familia de los ADN amplificados. Comparado con el primer método de escisión de esta invención, estos sitios no necesitan ser sitios de reconocimiento de endonucleasa. Sin embargo, como el primer método, los sitios elegidos pueden ser sintéticos en lugar de existir en el ADN nativo. Dichos sitios pueden elegirse por referencias a las secuencias de anticuerpos conocidos u otras familias de genes. Por ejemplo, las secuencias de muchos genes de la línea germinal se indican en <http://www.mrc->

cpe.cam.ac.uk/imt-doc/restricted/ok.html. Por ejemplo, un sitio preferido se encuentra cerca del extremo de FR3 -- codón 89 hasta la segunda base del codón 93. CDR3 empieza en el codón 95.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Otro ejemplo del uso de una o unas URE para escindir un ADN monocatenario implica la región FR1 de las cadenas ligeras Kappa humanas. La Tabla 17 muestra un análisis de 182 cadenas kappa humanas de longitud completa para el emparejamiento con las cuatro secuencias sonda de 19 bases mostradas. El noventa y seis por ciento de las secuencias se emparejan con una de las sondas con 2 o menos emparejamientos erróneos. Los adaptadores URE mostrados en la Tabla 17 son para la escisión de la cadena con sentido de las cadenas kappa. Así, las secuencias adaptadoras son el complemento inverso

de las secuencias de genes de la línea germinal. La URE consiste en un tallo de diez bases, un bucle de cinco bases, el complemento inverso del tallo y la secuencia de complementación. El bucle mostrado aquí es TTGTT, pero podrían usarse otras secuencias. Su función es interrumpir el palíndromo de los tallos de manera que se favorece la formación de un monómero lollypop sobre la dimerización. La Tabla 17

5

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

10

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

15

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

20

25

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

30

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

35

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

40

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

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

45

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

50

55

Preferiblemente, la parte bicatenaria del adaptador tiene una longitud de aproximadamente 12 a 100 bases. Más preferiblemente, se usan aproximadamente 20 a 100 bases. La región bicatenaria del adaptador también contiene preferiblemente al menos un sitio de reconocimiento de endonucleasa útil para clonar el ADN en un vector de presentación y/o expresión adecuado (o un vector receptor usado

para archivar la diversidad). Este sitio de endonucleasa de restricción puede ser nativo respecto a las secuencias de genes de la línea germinal usadas para extender la secuencia de ADN. También puede construirse usando secuencias degeneradas respecto a las secuencias de genes de la línea germinal. O, puede ser completamente sintético.

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

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

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

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

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

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

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

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

45 Los sitios *Bst*EII aparecen en el 97% de los genes JH de la línea germinal. En los genes V reorganizados, sólo 54/79 (68%) de los genes de cadena pesada contiene un sitio *Bst*EII y 7/61 de éstos contienen dos sitios. Así, 47/79 (59%) contiene un único sitio *Bst*EII. Una alternativa al uso de *Bst*EII es escindir mediante URE en el extremo de JH y ligar a un oligonucleótido sintético que codifica parte de CH1.

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

55 Un ejemplo de preparación de un ADN monocatenario que se escindió usando el método con URE implica la cadena Kappa humana. El sitio de escisión en la cadena con sentido de esta cadena se muestra en la Tabla 17. El oligonucleótido kapextURE se hibrida con los oligonucleótidos (kaBR01UR, kaBR02UR, kaBR03UR, y kaBR04UR) para formar un ADN parcialmente en dúplex. Este ADN se liga con las cadenas

kappa solubles escindidas. El producto de la ligación se amplifica usando los cebadores kapextUREPCR y CKForeAsc (que inserta un sitio Ascl después del extremo de C kappa). Este producto se escinde con *Apa*LI y Ascl y se liga a un vector receptor cortado de manera similar.

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

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

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

El ADN que codifica las regiones seleccionadas de las cadenas ligera o pesada puede transferirse a los vectores usando endonucleasas que sólo cortan bien las cadenas ligeras o pesadas muy raramente. Por ejemplo, las cadenas ligeras pueden capturarse con *Apa*LI y Ascl. Los genes de cadena pesada se clonan preferiblemente en un vector receptor que tiene los sitios *Sfi*II, *Nco*I, *Xba*I, *Afl*II, *Bst*EII, *Apa*I, y *Not*I. Las cadenas ligeras se mueven preferiblemente en la biblioteca como fragmentos *Apa*LI-Ascl. Las cadenas pesadas se mueven preferiblemente en la biblioteca como fragmentos *Sfi*II-*Not*I.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

EJEMPLOS

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

Se aisló ARN total de muestras de sangre individuales (50 ml) de 11 pacientes usando un kit RNazoITM (CINNA/Biotecx), como describe el fabricante. Los pacientes se diagnosticaron como sigue:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ejemplo 2: Captura de las cadenas kappa con *BsmAI*.

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

Este Ejemplo siguió el protocolo del Ejemplo 1. Aproximadamente 2 microgramos (μ g) de material RACE del gen de la cadena kappa humana (Igkappa) con biotina unida al extremo 5' de la cadena superior se inmovilizaron como en el Ejemplo 1 en 200 microlitros (μ L) de lechos magnéticos de Seradyn. La cadena inferior se eliminó lavando el ADN con 2 alícuotas de 200 μ L de 0,1 M NaOH (pH 13) durante 3 minutos para la primera alícuota seguido de 30 segundos para la segunda alícuota. Los lechos se neutralizaron con 200 μ L de 10 mM Tris (pH 7,5) 100 mM NaCl. Los oligonucleótidos cortos mostrados en la Tabla 23 se añadieron en un exceso molar de 40 veces en 100 μ L de tampón NEB 2 (50 mM NaCl, 10 mM Tris-HCl, 10 mM $MgCl_2$, 1 mM ditiotritol pH 7,9) a los lechos secos. La mezcla se incubó a 95°C durante 5 minutos y se enfrió hasta 55°C durante 30 minutos. El oligonucleótido en exceso se eliminó por lavado con 2 lavados de tampón NEB 3 (100 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, 10 mM $MgCl_2$, 1 mM ditiotritol pH 7,9). Se añadieron diez unidades de *BsmAI* (NEB) en tampón NEB 3 y se incubó durante 1 h a 55°C. El ADN escindido en 3' se recogió y se purificó en una columna de purificación Qiagen PCR (FIGs. 5 y 6).

La FIG. 5 muestra un análisis de ADN monocatenario digerido kappa. Aproximadamente 151,5 pmoles de adaptador se hibridaron con 3,79 pmoles de ADN monocatenario inmovilizado kappa seguido de digestión con 15 U de *BsmAI*. El sobrenadante que contiene el ADN deseado se recogió y se analizó por gel de poliácridamida al 5% junto con los lechos restantes que contenían el ADN kappa de longitud completa no escindido. Se purificaron 189 pmoles de ADN monocatenario escindido para análisis adicional. El cinco por ciento del ADNss de longitud completa original permaneció en los lechos.

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

Se preparó un adaptador parcialmente bicatenario usando el oligonucleótido mostrado en la Tabla 23. El adaptador se añadió al ADN monocatenario en un exceso molar de 100 veces junto con 1.000 unidades de ADN ligasa T4 y se incubó toda la noche a 16°C. El oligonucleótido en exceso se eliminó con una columna de purificación Qiagen PCR. El material ligado se amplificó por PCR usando los cebadores kapPCRt1 y kapfor mostrados en la Tabla 23 durante 10 ciclos con el programa mostrado en la Tabla 24.

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

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

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

El ensayo para capturar las cadenas kappa con BsmA1 se repitió y se produjeron resultados similares. La FIG 9A muestra el ADN después de ser escindido y recogido y purificado en una columna de purificación Qiagen PCR. La FIG. 9B muestra el adaptador parcialmente bicatenario ligado al ADN monocatenario. Este material ligado se amplificó (FIG. 9C). El gel mostró una banda de aproximadamente 700 n.

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

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

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

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

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

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

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

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

Una representación esquemática del diseño para la diversidad sintética de CDR1 y CDR2 se muestra en la FIG. 10. El diseño se basó en la presencia de mutaciones en DP47/3-23 y en genes de la línea germinal relacionados. La diversidad se diseñó para ser introducida en las posiciones en CDR1 y CDR2 indicadas por los números en la FIG. 10. La diversidad en cada posición se eligió para ser uno de los tres esquemas siguientes: 1 = ADEFGHIKLMNPQRSTVWY; 2 = YRWVGS; 3 = PS, en los que las letras codifican mezclas equimolares de los aminoácidos indicados.

Para la construcción de la diversidad en CDR1 y CDR2, se diseñaron 4 oligonucleótidos de superposición (ON-vgC1, ON_Br12, ON_CD2Xba, y ON-vgC2, mostrados en la Tabla 27 y Tabla 30) que codifican

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

Obtuvimos aproximadamente 7×10^7 transformantes independientes. La diversidad en CDR3 bien de poblaciones donantes o de ADN sintético puede clonarse en el vector que contiene diversidad sintética en CDR1 y CDR 2.

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

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

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

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

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

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

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

Se realizaron múltiples PCR que contienen 10 ng del material ligado en una reacción de PCR de 50 ul usando 25 pMoles ON_lamPlePCR y 25 pmoles de una mezcla equimolar de cebador Hu-CL2Ascl/HuCL7Ascl (véase el Ejemplo 1).

Se realizó PCR a 60° C durante 15 ciclos usando polimerasa Pfu. Aproximadamente 1 ug de ADNds se recuperó por PCR (véase la FIG. 13C) y se escindió con *ApaL1* y *Ascl* para clonación de las cadenas ligeras lambda en pCES2.

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

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

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

- neutralizaron con 300 µL de 10 mM Tris (pH 7,5) 100 mM NaCl. Los REadaptors (oligonucleótidos usados para hacer un ADN monocatenario localmente bicatenario) mostrados en la Tabla 32 se añadieron en un exceso molar de 30 veces en 200 µL de tampón NEB 4 (50 mM Acetato de Potasio, 20 mM Tris-Acetato, 10 mM Acetato de Magnesio, 1 mM ditiotretitol pH 7,9) a los lechos secos. Los REadaptors se incubaron con el ADN monocatenario a 80°C durante 5 minutos y se enfriaron hasta 55°C durante 30 minutos. Los REadaptors en exceso se eliminaron por lavado con 2 lavados de tampón NEB 4. Se añadieron quince unidades de HpyCH4III (NEB) en tampón NEB 4 y se incubó durante 1 hora a 55 °C. El ADN escindido en 3' que permanece en los lechos se eliminó de los lechos usando una columna de eliminación Qiagen Nucleotide (véase la FIG. 15).
- 10 Los pares Puente/Extensor mostrados en la Tabla 33 se añadieron en un exceso molar de 25 veces junto con 1.200 unidades de ADN ligasa T4 y se incubó toda la noche a 16°C. El Puente/Extensor en exceso se eliminó con una columna de purificación Qiagen PCR. El material ligado se amplificó por PCR usando los cebadores H43.XAExtPCR2 y Hucumnest mostrados en la Tabla 34 durante 10 ciclos con el programa mostrado en la Tabla 35.
- 15 El producto de PCR soluble se corrió en un gel y mostró una banda de aproximadamente 500 n, como se esperaba (véase la FIG.15B). El ADN se escindió con las enzimas *SfiI* y *NotI*, se purificó por gel y se ligó al vector escindido de manera similar pCES1.

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

- 20 La Tabla 36 contiene una secuencia de ADN anotada de un miembro de la biblioteca, CJRA05, véase la FIG. 16. La Tabla 36 debe leerse como sigue: en cada línea todo lo que sigue a un signo de exclamación "!" es un comentario. Todas las apariciones de A, C, G, y T antes de "!" son la secuencia de ADN. Las mayúsculas se usan sólo para mostrar que determinadas bases constituyen características especiales, tales como sitios de restricción, sitios de unión a ribosoma, y semejantes, que están marcadas por debajo del ADN. CJRA05 es un derivado del fago DY3F7, obtenido por clonación de un fragmento *ApaI* a *NotI* en estos sitios en DY3F31. DY3F31 es como DY3F7 excepto en que los genes de la cadena ligera y la cadena pesada se han reemplazado por ADN "de relleno" que no codifica ningún anticuerpo. DY3F7 contiene un anticuerpo que une estreptavidina, pero no proviene de la presente biblioteca.
- 25 Los genes de fago empiezan con el gen ii y continúan con los genes x, v, vii, ix, viii, iii, vi, i, y iv. El gen iii se ha modificado ligeramente ya que se han insertado ocho codones entre la secuencia señal y la proteína madura y los aminoácidos finales de la secuencia señal se han alterado. Esto permite que estén presentes sitios de reconocimiento de las enzimas de restricción *EagI* y *XbaI*. Después del gen iv está el origen de replicación (ori) del fago. Después de ori está bla que confiere resistencia a ampicilina (ApR). Los genes de fago y bla se transcriben en el mismo sentido.
- 30 Después de bla, está el casete Fab (ilustrado en la FIG. 17) que comprende:
- a) Promotor PlacZ,
 - b) Un primer Sitio de Unión a Ribosoma (RBS1),
 - c) La secuencia señal de M13 iii,
 - d) un RERS *ApaI*,
 - 40 e) Una cadena ligera (una kappa L20::JK1 acortada por un codón en el límite V-J en este caso),
 - f) Un RERS *AscI*,
 - g) Un segundo Sitio de Unión a Ribosoma (RBS2),
 - h) Una secuencia señal, preferiblemente PelB, que contiene,
 - i) Un RERS *SfiI*,
 - 45 j) Una región sintética 3-23 V con diversidad en CDR1 y CDR2,
 - k) Una CDR3 capturada,
 - l) Una región parcialmente sintética J (FR4 después de *BstEII*),
 - m) CH1,
 - n) Un RERS *NotI*,
 - 50 o) Una etiqueta His6,

p) Una etiqueta cMyc,

q) Un codón ámbar,

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

5 s) Dos codones de parada,

t) Un RERS *AvrII*, y

u) Un terminador *trp*.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Las construcciones se deberán hacer fácilmente por métodos similares a los de Wang y Wilkinson (Biotechniques 2001: 31(4)722-724) en los que se usa PCR para copiar el vector excepto la parte que se va a delecionar y se introducen sitios de restricción correspondientes o se retienen en cualquiera de los extremos de la parte que se va a conservar. La Tabla 39 muestra los oligonucleótidos que se deben usar en la delección de las partes del segmento de anclaje III. El ADN mostrado en la Tabla 38 tiene un sitio *NheI* antes del sitio de escisión de la enteroquinasa recombinante (rEKCS) DINDDRMA. Si se usa *NheI* en el proceso de delección con este ADN, el sitio rEKCS se perdería. Este sitio podría ser muy útil en la escisión de Fab del fago y podría facilitar la captura de anticuerpos de muy alta afinidad. Se podría mutagenizar esta secuencia de manera que el sitio *NheI* estaría después del sitio rEKCS, una secuencia de aminoácido Ala Ser está ya presente. Alternativamente, se podría usar *SphI* para las delecciones. Esto implicaría un cambio ligero en la secuencia de aminoácidos pero no tendría ninguna consecuencia.

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

En este ejemplo, la biblioteca de anticuerpo humano usada se describe en de Haard et al., (Journal of Biological Chemistry, 274 (26): 18218-30 (1999). Esta biblioteca, que consiste en una biblioteca de fagémido grande Fab no inmune humano, se enriqueció en primer lugar en antígeno, bien en estreptavidina o en fenil-oxazolona (phOx). Los métodos para esto son muy conocidos en la técnica. Dos bibliotecas Fab preseleccionadas, la primera seleccionada una vez en phOx-BSA (R1-ox) inmovilizado y la segunda seleccionada dos veces en estreptavidina (R2-strep), se eligieron para la reclonación.

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

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

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

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

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

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

Los resultados muestran que en ambos casos, se identifican ligantes de antígeno en la biblioteca, con como Fab en fago o con los reactivos anti-Fab (Tabla 41). La inducción con IPTG rinde un incremento en el número de positivos. También puede verse que para los clones phOx, el ELISA de fago rinde más positivos que el ELISA de Fab soluble, debido muy probablemente a la unión ávida del fago. Veinticuatro de los clones positivos en ELISA se cribaron usando PCR del inserto Fab del vector, seguido de digestión

con *Bst*NI. Esto rindió 17 patrones diferentes para los Fab de unión phOx en 23 muestras que se analizaron correctamente y 6 de 24 para los clones de unión de estreptavidina. Así, los datos de la selección y cribado de esta biblioteca de Fab no inmune pre-enriquecida muestran que el vector DY3F31 es adecuado para la presentación y selección de fragmentos Fab y proporciona tanto Fab soluble como Fab en fago para los experimentos de cribado después de la selección.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Cada elución y cada conjunto de lechos eluidos se mezcló con 2X YT y una alícuota (por ejemplo, 1 mL con 1×10^8 células XL1-Blue MRF' de *E. coli* (u otra línea celular F')) que se había enfriado en hielo después de haberse crecido hasta la fase semi-logarítmica, se privaron y se concentró (véase el procedimiento más adelante - "Prep semi-Log de células XL-1 blue MRF' para infección").

Después de aproximadamente 30 minutos a temperatura ambiente, las mezclas fago/célula se extendieron en Placas Bio-Assay (243 X 243 X 18 mm, Nalge Nunc) que contienen agar 2XYT, 1mM IPTG. Las placas se incubaron toda la noche a 30°C. Al día siguiente, cada cultivo de fago amplificado se recogió de su placa respectiva. La placa se inundó con 35 mL TBS o LB y las células se rasparon de la

placa. Las células resuspendidas se transfirieron a una botella de centrifuga. Se usaron 20 mL adicionales de TBS o LB para eliminar todas las células de la placa y se juntaron con las células en la botella de centrifuga. Las células se retiraron por centrifugación y el fago en el sobrenadante se recuperó por precipitación con PEG. Durante el día siguiente, las preps de fago amplificadas se titularon.

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

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

1^{er} conjunto de selección

- A. Elución amplificada de ligando: eluir con ligando durante 1 hr, guardar como elución
- 15 B. Elución amplificada de diana: eluir con ligando durante 1 hr, mezclar como eluato de lavado con diana durante 1 hr, guardar como elución
- C. Elución amplificada de infección de lechos: eluir con ligando durante 1 hr, mezclar como eluato de lavado con diana durante 1 hr, mezclar como eluato de lavado con infección celular, guardar como elución

20 2^o conjunto de selección

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

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

- Cultivar XL1 blue MRF' en NZCYM (12,5 mg/mL tet) a 37°C y 250 rpm toda la noche. Se empezó un cultivo de 500 mL en matraz de 2 litros diluyendo las células 1/50 en NZCYM/tet (10 mL añadidos de cultivo de toda la noche) y se incubó a 37°C a 250 rpm hasta que se alcanzó una DO600 de 0,45 (1,5-2 hrs). La agitación se redujo hasta 100 rpm durante 10 min. Cuando la DO600 fue entre 0,55-0,65, las células se transfirieron a 2 botellas de centrifuga de 250 mL, se centrifugó a 600 g durante 15 min a 4°C. El sobrenadante se retiró por vertido. El líquido residual se retiró con una pipeta.
- 30

- Los sedimentos se resuspendieron suavemente (sin pipetear arriba y abajo) en el volumen original de 1 X sales Mínima A a temperatura ambiente. Las células resuspendidas se transfirieron de nuevo al matraz de 2 litros, se agitaron a 100 rpm durante 45 min a 37°C. Este proceso se realizó con el fin de privar las células y restaurar pili. Las células se transfirieron a 2 botellas de centrifuga de 250 mL y se centrifugaron como anteriormente.
- 35

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

- Los eluatos de fago se llevaron hasta 7,5 mL con medio 2XYT y se añadieron 2,5 mL de células. Los lechos se llevaron hasta 3 mL con 2XYT y se añadió 1 mL de células. Se incubó a 37°C durante 30 min. Las células se sembraron en placas NUNC grandes con agar 2XYT, 1 mM IPTG y se incubaron durante 18 hr a 30°C.
- 40

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

- Más adelante se describen ejemplos para incorporar residuos fijos en secuencias de anticuerpo para los genes de la cadena ligera kappa y lambda, y para las cadenas pesadas. Las condiciones experimentales y los oligonucleótidos usados para los ejemplos siguientes se han descrito en ejemplos previos (por ejemplo los Ejemplos 3 y 4).
- 45

- El proceso para incorporar residuos FR1 fijos en una secuencia lambda de anticuerpo consiste en 3 etapas (véase la FIG. 18): (1) hibridar el material de ADN monocatenario que codifica los genes VL con una mezcla de oligonucleótidos parcialmente complementarios (indicado con Ext y Puente), para hibridar en este ejemplo con la región que codifica los residuos 5-7 de FR1 de los genes lambda (indicado con X..X; en los genes lambda la superposición puede no ser perfecta algunas veces); (2) ligación de este complejo; (3) PCR del material ligado con el cebador indicado ('PCRpr') y por ejemplo un cebador basado
- 50

en el gen VL. En este proceso los primeros pocos residuos de todos los genes lambda estarán codificados por las secuencias presentes en los oligonucleótidos (Ext., Puente o PCRpr). Después de la PCR, los genes lambda pueden clonarse usando el sitio de restricción indicado para *ApaLI*.

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

El proceso para incorporar residuos FR3 fijos en una secuencia de cadena pesada de anticuerpo (FIG. 20) consiste en 3 etapas: (1) hibridar el material de ADN monocatenario que codifica parte de los genes
15 VH (por ejemplo, que codifica las regiones FR3, CDR3 y FR4) con una mezcla de oligonucleótidos parcialmente complementarios (indicado con Ext y Puente), para hibridar en este ejemplo con la región que codifica los residuos 92-94 (en la región FR3) de los genes VH (indicado con X..X; en los genes VH la superposición puede no ser perfecta algunas veces); (2) ligación de este complejo; (3) PCR del material ligado con el cebador indicado ('PCRpr') y por ejemplo un cebador basado en el gen VH (tal como en la
20 región FR4). En este proceso determinados residuos de todos los genes VH estarán codificados por las secuencias presentes en los oligonucleótidos usados aquí, en particular de PCRpr (para los residuos 70-73), o de los oligonucleótidos Ext/Puente (residuos 74-91). Después de la PCR, los genes VH parciales pueden clonarse usando el sitio de restricción indicado para *XbaI*.

Tabla 1: Secuencias GLG FR3 Humanas

! VH1

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

! VH2

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

! VH3

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

cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat ctg
caa atg aac agc ctg aga gct gag gac acg gct gtg tat tac tgt
gcg aaa ga ! 3305# 25

cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat ctg
caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt
gcg aga ga ! 3-33# 26

cga ttc acc atc tcc aga gac aac agc aaa aac tcc ctg tat ctg
caa atg aac agt ctg aga act gag gac acc gcc ttg tat tac tgt
gca aaa gat a! 3-43#27

cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac tca ctg tat ctg
caa atg aac agc ctg aga gac gag gac acg gct gtg tat tac tgt
gcg aga ga ! 3-48# 28

aga ttc acc atc tca aga gat ggt tcc aaa agc atc gcc tat ctg
caa atg aac agc ctg aaa acc gag gac aca gcc gtg tat tac tgt
act aga ga ! 3-49# 29

cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat ctt
caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gcc gtg tat tac tgt
gcg aga ga ! 3-53# 30

aga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat ctt
caa atg gcc agc ctg aga gct gag gac atg gct gtg tat tac tgt
gcg aga ga ! 3-64# 31

aga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat ctt
caa atg aac agc ctg aga gct gag gac acg gct gtg tat tac tgt
gcg aga ga ! 3-66# 32

aga ttc acc atc tca aga gat gat tca aag aac tca ctg tat ctg
caa atg aac agc ctg aaa acc gag gac acg gcc gtg tat tac tgt
gct aga ga ! 3-72# 33

agg ttc acc atc tcc aga gat gat tca aag aac acg gcg tat ctg
caa atg aac agc ctg aaa acc gag gac acg gcc gtg tat tac tgt
act aga ca ! 3-73# 34

cga ttc acc atc tcc aga gac aac gcc aag aac acg ctg tat ctg
caa atg aac agt ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt
gca aga ga ! 3-74# 35

aga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg cat ctt
caa atg aac agc ctg aga gct gag gac acg gct gtg tat tac tgt
aag aaa ga ! 3-d# 36

! VH4

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

cga gtc acc atg tca gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc ctg

aag ctg agc tct gtg acc gcc gtg gac acg gcc gtg tat tac tgt
gcg aga aa ! 4-28# 38
cga gtt acc ata tca gta gac acg tct aag aac cag ttc tcc ctg
aag ctg agc tct gtg act gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt
gcg aga ga ! 4301# 39
cga gtc acc ata tca gta gac agg tcc aag aac cag ttc tcc ctg
aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt
gcc aga ga ! 4302# 40
cga gtt acc ata tca gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc ctg
aag ctg agc tct gtg act gcc gca gac acg gcc gtg tat tac tgt
gcc aga ga ! 4304# 41
cga gtt acc ata tca gta gac acg tct aag aac cag ttc tcc ctg
aag ctg agc tct gtg act gcc gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt
gcg aga ga ! 4-31# 42
cga gtc acc ata tca gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc ctg
aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acg gct gtg tat tac tgt
gcg aga ga ! 4-34# 43
cga gtc acc ata tcc gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc ctg
aag ctg agc tct gtg acc gcc gca gac acg gct gtg tat tac tgt
gcg aga ca ! 4-39# 44
cga gtc acc ata tca gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc ctg
aag ctg agc tct gtg acc gct gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt
gcg aga ga ! 4-59# 45
cga gtc acc ata tca gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc ctg
aag ctg agc tct gtg acc gct gcg gac acg gcc gtg tat tac tgt
gcg aga ga ! 4-61# 46
cga gtc acc ata tca gta gac acg tcc aag aac cag ttc tcc ctg
aag ctg agc tct gtg acc gcc gca gac acg gcc gtg tat tac tgt
gcg aga ga ! 4-b# 47
! VH5
cag gtc acc atc tca gcc gac aag tcc atc agc acc gcc tac ctg
cag tgg agc agc ctg aag gcc tcg gac acc gcc atg tat tac tgt
gcg aga ca ! 5-51# 48
cac gtc acc atc tca gct gac aag tcc atc agc act gcc tac ctg
cag tgg agc agc ctg aag gcc tcg gac acc gcc atg tat tac tgt
gcg aga ! 5-a# 49
! VH6
cga ata acc atc aac cca gac aca tcc aag aac cag ttc tcc ctg
cag ctg aac tct gtg act ccc gag gac acg gct gtg tat tac tgt
gca aga ga ! 6-1# 50 .
! VH7
cgg ttt gtc ttc tcc ttg gac acc tct gtc agc acg gca tat ctg
cag atc tgc agc cta aag gct gag gac act gcc gtg tat tac tgt
gcg aga ga ! 74.1# 51

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

Reconocimiento REname			#sitios		
GLGid#:base#	GLGid#:base#		GLGid#:base#.....		
BstEII Ggtnacc			2		
1: 3	48: 3				
Hay 2 aciertos en la base#			3		
MaeIII gtnac			36		
1: 4	2: 4	3: 4	4: 4	5: 4	6: 4
7: 4	8: 4	9: 4	10: 4	11: 4	37: 4
37: 58	38: 4	38: 58	39: 4	39: 58	40: 4
40: 58	91: 4	91: 58	42: 4	42: 58	93: 4
43: 58	44: 4	44: 58	45: 4	45: 58	46: 4
46: 58	47: 4	47: 58	48: 4	49: 4	50: 58
Hay 24 aciertos en la base#			4		
Tsp45I gtsac			33		
1: 4	2: 4	3: 4	4: 4	5: 4	6: 4
7: 4	8: 4	9: 4	10: 4	11: 4	37: 4
37: 58	38: 4	38: 58	39: 58	40: 4	40: 58
41: 58	42: 58	43: 4	43: 58	44: 4	44: 58
45: 4	45: 58	46: 4	46: 58	47: 4	97: 58
48: 4	49: 4	50: 58			
Hay 21 aciertos en la base#			4		
HphI tcacc			45		
1: 5	2: 5	3: 5	4: 5	5: 5	6: 5
7: 5	8: 5	11: 5	12: 5	12: 11	13: 5

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

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

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

Reconocimiento RENAME			#sitios		
GLGid#:base#	GLGid#:base#		GLGid#:base#.....		
Hpy188I TCNGa			17		
1: 64	2: 64	3: 64	9: 64	5: 64	6: 64
7: 64	8: 64	9: 64	10: 64	11: 64	16: 57
20: 57	27: 57	35: 57	48: 67	49: 67	
Hay 11 aciertos en la base# 64					
Hay 4 aciertos en la base# 57					
Hay 2 aciertos en la base# 67 Podría ser desigual.					
Ms1I CAYNNnnRTG			44		
1: 72	2: 72	3: 72	4: 72	5: 72	6: 72
7: 72	8: 72	9: 72	10: 72	11: 72	15: 72
17: 72	18: 72	19: 72	21: 72	23: 72	24: 72
25: 72	26: 72	28: 72	29: 72	30: 72	31: 72
32: 72	33: 72	34: 72	35: 72	36: 72	37: 72
38: 72	39: 72	40: 72	41: 72	42: 72	43: 72
44: 72	45: 72	46: 72	47: 72	48: 72	49: 72
50: 72	51: 72				
Hay 44 aciertos en la base# 72					
BsiEI CGRYcg			23		
1: 74	3: 74	4: 74	5: 74	7: 74	8: 74
9: 74	10: 74	11: 74	17: 74	22: 74	30: 74
33: 74	34: 74	37: 74	38: 74	39: 74	40: 74
41: 74	42: 74	45: 74	46: 74	47: 74	
Hay 23 aciertos en la base# 74					

Reconocimiento RName			#sitios		
GLGid#:base#	GLGid#:base#		GLGid#:base#.....		
Eael Yggccr			23		
1: 74	3: 74	4: 74	5: 74	7: 74	8: 74
9: 74	10: 74	11: 74	17: 74	22: 74	30: 74
33: 74	34: 74	37: 74	38: 74	39: 74	40: 74
41: 74	42: 74	45: 74	46: 74	47: 74	
Hay 23 aciertos en la base# 74					
Eagl Cggccg			23		
1: 74	3: 74	4: 74	5: 74	7: 74	8: 74
9: 74	10: 74	11: 74	17: 74	22: 74	30: 74
33: 74	34: 74	37: 74	38: 74	39: 74	40: 74
41: 74	42: 74	45: 74	46: 74	47: 74	
Hay 23 aciertos en la base# 74					
HaeIII GGcc			27		
1: 75	3: 75	4: 75	5: 75	7: 75	8: 75
9: 75	10: 75	11: 75	16: 75	17: 75	20: 75
22: 75	30: 75	33: 75	34: 75	37: 75	38: 75
39: 75	40: 75	41: 75	42: 75	45: 75	46: 75
47: 75	48: 63	49: 63			
Hay 25 aciertos en la base# 75					
Bst4CI ACNgt 65°C		63 Sitios Hay un tercer isoesquizómero			
1: 86	2: 86	3: 86	4: 86	5: 86	6: 86
7: 34	7: 86	8: 86	9: 86	10: 86	11: 86
12: 86	13: 86	14: 86	15: 36	15: 86	16: 53
16: 86	17: 36	17: 86	18: 86	19: 86	20: 53

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

Reconocimiento REname			#sitios		
GLGid#:base#	GLGid#:base#		GLGid#:base#.....		
21: 2	23: 2	24: 2	25: 2	26: 2	27: 2
28: 2	29: 2	30: 2	31: 2	32: 2	33: 2
33: 22	34: 22	35: 2	36: 2	37: 2	38: 2
40: 2	43: 2	44: 2	45: 2	46: 2	47: 2
50: 60					
Hay 38 aciertos en la base# 2					
Mlyl GAGTCNNNNNn			18		
2: 2	3: 2	4: 2	5: 2	6: 2	7: 2
8: 2	9: 2	10: 2	11: 2	37: 2	38: 2
40: 2	43: 2	44: 2	45: 2	46: 2	47: 2
Hay 18 aciertos en la base# 2					
Plel gagtc			18		
2: 2	3: 2	4: 2	5: 2	6: 2	7: 2
8: 2	9: 2	10: 2	11: 2	37: 2	38: 2
40: 2	43: 2	44: 2	45: 2	46: 2	47: 2
Hay 18 aciertos en la base# 2					
Acil Ccgc			24		
2: 26	9: 14	10: 14	11: 14	27: 74	37: 62
37: 65	38: 62	39: 65	40: 62	40: 65	41: 65
42: 65	43: 62	43: 65	44: 62	44: 65	45: 62
46: 62	47: 62	47: 65	48: 35	48: 74	49: 74
Hay 8 aciertos en la base# 62					
Hay 8 aciertos en la base# 65					

Reconocimiento RENAME			#sitios		
GLGid#:base#	GLGid#:base#	GLGid#:base#.....			
Hay 3 aciertos en la base# 14					
Hay 3 aciertos en la base# 74					
Hay 1 acierto en la base# 26					
Hay 1 acierto en la base# 35					
"- Gcgg			11		
8: 91	9: 16	10: 16	11: 16	37: 67	39: 67
40: 67	42: 67	43: 67	45: 67	46: 67	
Hay 7 aciertos en la base# 67					
Hay 3 aciertos en la base# 16					
Hay 1 acierto en la base# 91					
BsiHKAI GWGCWc			20		
2: 30	4: 30	6: 30	7: 30	9: 30	10: 30
12: 89	13: 89	14: 89	37: 51	38: 51	39: 51
40: 51	41: 51	42: 51	43: 51	44: 51	45: 51
46: 51	47: 51				
Hay 11 aciertos en la base# 51					
Bsp1286I GDGCHc			20		
2: 30	4: 30	6: 30	7: 30	9: 30	10: 30
12: 89	13: 89	14: 89	37: 51	38: 51	39: 51
40: 51	41: 51	42: 51	43: 51	44: 51	45: 51
46: 51	47: 51				
Hay 11 aciertos en la base# 51					
HgiAI GWGCWc			20		
2: 30	4: 30	6: 30	7: 30	9: 30	10: 30

Reconocimiento REname			#sitios		
GLGid#:base#	GLGid#:base#		GLGid#:base#.....		
12: 89	13: 89	14: 89	37: 51	38: 51	39: 51
40: 51	41: 51	42: 51	43: 51	44: 51	45: 51
46: 51	47: 51				
Hay 11 aciertos en la base# 51					
BsoFI GCngc			26		
2: 53	3: 53	5: 53	6: 53	7: 53	8: 53
8: 91	9: 53	10: 53	11: 53	31: 53	36: 36
37: 64	39: 64	40: 64	41: 64	42: 64	43: 64
44: 64	45: 64	46: 64	47: 64	48: 53	49: 53
50: 45	51: 53				
Hay 13 aciertos en la base# 53					
Hay 10 aciertos en la base# 64					
Tsel Gcwgc			17		
2: 53	3: 53	5: 53	6: 53	7: 53	8: 53
9: 53	10: 53	11: 53	31: 53	36: 36	45: 64
46: 64	48: 53	49: 53	50: 45	51: 53	
Hay 13 aciertos en la base# 53					
Mnll gagg			34		
3: 67	3: 95	4: 51	5: 16	5: 67	6: 67
7: 67	8: 67	9: 67	10: 67	11: 67	15: 67
16: 67	17: 67	19: 67	20: 67	21: 67	22: 67
23: 67	24: 67	25: 67	26: 67	27: 67	28: 67
29: 67	30: 67	31: 67	32: 67	33: 67	34: 67
35: 67	36: 67	50: 67	51: 67		

Reconocimiento RName			#sitios		
GLGid#:base#	GLGid#:base#	GLGid#:base#.....			
Hay 31 aciertos en la base# 67					
HpyCH4V TGca			34		
5: 90	6: 90	11: 90	12: 90	13: 90	14: 90
15: 44	16: 44	16: 90	17: 44	18: 90	19: 44
20: 44	21: 44	22: 44	23: 44	24: 44	25: 44
26: 44	27: 44	27: 90	28: 44	29: 44	33: 44
34: 44	35: 44	35: 90	36: 38	48: 44	49: 44
50: 44	50: 90	51: 44	51: 52		
Hay 21 aciertos en la base# 44					
Hay 1 acierto en la base# 52					
Accl GTmkac			13	5-base recognition	
7: 37	11: 24	37: 16	38: 16	39: 16	40: 16
41: 16	42: 16	43: 16	44: 16	45: 16	46: 16
47: 16					
Hay 11 aciertos en la base# 16					
SacII CCGCgg			8	6-base recognition	
9: 14	10: 14	11: 14	37: 65	39: 65	40: 65
42: 65	43: 65				
Hay 5 aciertos en la base# 65					
Hay 3 aciertos en la base# 14					
Tfil Gawtc			24		
9: 22	15: 2	16: 2	17: 2	18: 2	19: 2

Reconocimiento RENAME			#sitios		
GLGid#:base#	GLGid#:base#		GLGid#:base#.....		
19: 22	20: 2	21: 2	23: 2	24: 2	25: 2
26: 2	27: 2	28: 2	29: 2	30: 2	31: 2
32: 2	33: 2	33: 22	34: 22	35: 2	36: 2
Hay 20 aciertos en la base# 2					
BsmAI Nnnnnngagac			19		
15: 11	16: 11	20: 11	21: 11	22: 11	23: 11
24: 11	25: 11	26: 11	27: 11	28: 11	28: 56
30: 11	31: 11	32: 11	35: 11	36: 11	44: 87
48: 87					
Hay 16 aciertos en la base# 11					
Bpml ctccag			19		
15: 12	16: 12	17: 12	18: 12	20: 12	21: 12
22: 12	23: 12	24: 12	25: 12	26: 12	27: 12
28: 12	30: 12	31: 12	32: 12	34: 12	35: 12
36: 12					
Hay 19 aciertos en la base# 12					
Xmnl GAANNnnttc			12		
37: 30	38: 30	39: 30	40: 30	41: 30	42: 30
43: 30	44: 30	45: 30	46: 30	47: 30	50: 30
Hay 12 aciertos en la base# 30					
Bsrl NCcagt			12		
37: 32	38: 32	39: 32	40: 32	41: 32	42: 32
43: 32	44: 32	45: 32	46: 32	47: 32	50: 32

Reconocimiento RENAME			#sitios		
GLGid#:base#	GLGid#:base#	GLGid#:base#.....			
Hay 12 aciertos en la base# 32					
BanII GRGCYc			11		
37: 51	38: 51	39: 51	40: 51	41: 51	42: 51
43: 51	44: 51	45: 51	46: 51	47: 51	
Hay 11 aciertos en la base# 51					
Ecl136I GAGctc			11		
37: 51	38: 51	39: 51	40: 51	41: 51	42: 51
43: 51	44: 51	45: 51	46: 51	47: 51	
Hay 11 aciertos en la base# 51					
Sacl GAGCTc			11		
37: 51	38: 51	39: 51	40: 51	41: 51	42: 51
43: 51	44: 51	45: 51	46: 51	47: 51	
Hay 11 aciertos en la base# 51					

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

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

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

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

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

! 24 de los 51 GLG contienen el sitio).

!

!

!

en

!

3-23 sintético)

! ADN permitido

!

!

HinfI(38)

!

PleI(18)

!

TfiI(20)

!

MaeIII(24)

!

Tsp45I(21)

!

HphI(44)

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

|---FR3---

89 90 (codón #

R F

|cgc|ttc| 6

|cgn|tty|

|agr|

ga ntc =

ga gtc =

ga wtc =

gtn ac =

gts ac =

tc acc =

-----FR3-----

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

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

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

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

! |agy|agr| |agy| |ctn| |ctn|

! | ga|gac = BsmAI(16) ag ct =

AluI(23)

! c|tcc ag = BpmI(19)

BlpI(21)

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

!

g ctn agc =

```

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

```

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

A: Sondas HpyCH4V de genes HC humanos precisos

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

TGca; 10,

se espera reconocimiento RE: tgca

con una longitud de 4 en

10

1	6-1	agttotccctgcagctgaactc
2	3-11, 3-07, 3-21, 3-72, 3-48	cactgtatctgcaaatgaacag
3	3-09, 3-43, 3-20	ccctgtatctgcaaatgaacag
4	5-51	ccgcctacctgcagtggagcag
5	3-15, 3-30, 3-30.5, 3-30.3, 3-74, 3-23, 3-33	cgctgtatctgcaaatgaacag
6	7-4.1	cgcatatctgcagatctgcag
7	3-73	cgcggtatctgcaaatgaacag
8	5-a	ctgcctacctgcagtggagcag
9	3-49	tcgcctatctgcaaatgaacag

B: REadaptadores, Extensores y Puentes HpyCH4V

B.1 REadaptadores

! Que cortan la cadena inferior de HC:

! TmKeller para 100 mM NaCl, cero formamida

! Edaptadores para escisión

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

!

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

! XbaI...

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

! scab..... gen diseñado gen 3-23

!


```

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

```

C: Sondas Bipl para HC GLG humanos

1	1-58, 1-03, 1-08, 1-69, 1-24, 1-45, 1-46, 1-f, 1-e
acatggaGCTGAGCagcctgag	
2	1-02
acatggaGCTGAGCaggctgag	

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

D: REadaptadores, Extensores y Puentes BlpI

D.1 REadaptadores

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

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

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

!

BlpI

!

XbaI...

... ..

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

!

!

AflIII...

!

agC TTA AGG

D.3 Extensor y Puentes

! Puentes

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

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

!

| la cadena inferior se corta aqui

! Extensor

(BlpF3Ext) 5'-TcAgcTgcAAgTAcAAAgTATTTTAcTgTTATcTcTAga cTgAgTgAAgcg-
3'

! BlpF3Ext es el complemento inverso de:

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

!

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

E: *Hpy*CH4III Distintas secuencias GLG alrededor del sitio, bases 77-98

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

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

F: HpyCH4III REadaptadores, Extensores y Puentes

F.1 REadaptadores

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

! Para escisión con HpyCH4III, Bst4CI, o TaaI

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

! 77 788 888 888 889 999 999 9

! 78 901 234 567 890 123 456 7

T_m^HT_m^K

(H43.77.97.1-02#1)	5'-cc gtg tat tAC TGT gcg aga g-3'	6462.6
(H43.77.97.1-03#2)	5'-c ¹⁰⁰ gtg tat tAC TGT gcg aga g-3'	6260.6
(H43.77.97.108#3)	5'-cc gtg tat tAC TGT gcg aga g-3'	6462.6
(H43.77.97.323#22)	5'-cc gta ¹⁰⁰ tat tac tgt gcg a ¹⁰⁰ ga g-3'	6058.7
(H43.77.97.330#23)	5'-c ¹⁰⁰ gtg tat tac tgt gcg a ¹⁰⁰ ga g-3'	6058.7

(H43.77.97.439#44) 5'-c¹gtg tat tac tgt gcg aga ²-3' 6260.6
 (H43.77.97.551#48) 5'-cc¹atg tat tac tgt gcg aga ²-3' 6260.6
 (H43.77.97.5a#49) 5'-cc¹atg tat tAC TGT gcg aga ²-3' 5858.3

F.2 Extensor y Puentes

! Los sitios XbaI y AflII en los puentes están bloqueados

(H43.XABr1) 5'-gggtgtagtga-
 |TCT|AGt|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|-
 |aac|agC|TTt|AGq|qct|qag|qac|aCT|GCA|Gtc|tac|tat|tgt|gcg|aga-3'
 (H43.XABr2) 5'-gggtgtagtga-
 |TCT|AGt|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|-
 |aac|agC|TTt|AGq|qct|qag|qac|aCT|GCA|Gtc|tac|tat|tgt|gcg|aaa-3'
 (H43.XAExt) 5'-ATAgTAgAcT gcAgTgTccT cAgcccTTAA gcTgTTcATc
 TgcAAgTAga-
 gAgTATTcTT AgAgTTgTcT cTAgATcAcT AcAcc-3'

! H43.XAExt es el complemento inverso de:

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

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

! Los sitios XbaI y AflII en los puentes están bloqueados

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

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

A: HpyCH4V en HC en las bases 35-56

		Número de emparejamientos erróneos..... Número																					
Id	Ntot	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Cut	Id	Sonda								
1	510	5	11	274	92	61	25	22	11	1	3	5	443	6-1	agtttcctTGCAgtgaact								
2	192	54	42	32	24	15	2	3	10	3	1	6	167	3-11	cactgtatcTGCAaatgaacag								
3	58	19	7	17	6	5	1	0	1	0	2	0	54	3-09	ccctgtatcTGCAaatgaacag								
4	267	42	33	9	8	8	82	43	22	8	11	1	100	5-51	ccgcctaccTGCAgtggagcag								
5	250	111	59	41	24	7	5	1	0	0	2	0	242	3-15	cgcgtatcTGCAaatgaacag								
6	7	0	2	0	1	0	0	0	0	0	4	0	3	7-4.1	cggcatacTGCAgaticgcag								
7	7	0	2	2	0	0	2	1	0	0	0	0	4	3-73	cggcgtatcTGCAaatgaacag								
8	26	10	4	1	3	1	2	1	3	1	0	0	19	5-a	ctgcctaccTGCAgtggagcag								
9	21	8	2	3	1	6	1	0	0	0	0	0	20	3-49	tcgcctatcTGCAaatgaacag								
	1338	249	162	379	149	103	120	71	47	13	23	12	1052										
		249	411	790	939		1162		1280		1316												
						1042		1233		1293		1338											
Id	Sonda													sonda punteada									

Id	Sonda						sonda punteada						
6-1	agtttcccTGCAgtctgaactc						agtttccc TGCA gtctgaactc						
3-11	caactgtatcTGCAaatgaacag						caac.g.at....aa....ag						
3-09	ccactgtatcTGCAaatgaacag						ccc.g.at....aa....ag						
5-51	ccgcctacccTGCAgtgagcag						ccgc..a.....tg..g.ag						
3-15	cgctgtatcTGCAaatgaacag						c.c.g.at....aa....ag						
7-4.1	cggcatatcTGCAgattctgcag						c.gca.at....a.ctg.ag						
3-73	cggcggtatcTGCAaatgaacag						c.gcg.at....aa....ag						
5-a	ctgcctacccTGCAgtgagcag						ctgc..a.....tg..g.ag						
3-49	tgcctatcTGCAaatgaacag						tgc..at....aa....ag						
Seqs sólo con el sitio RE esperado.....1004													
(Cuenta sólo los casos con 4 o menos emparejamientos erróneos)													
Seqs sólo con un sitio no esperado..... 0													
Seqs tanto con esperado como no esperado.... 48													
(Cuenta sólo los casos con 4 o menos emparejamientos erróneos)													
Seqs sin sitios..... 0													

Id	Sonda		sonda punteada															
B: Bipl en HC																		
Id	Nlot	0	1	2	3	4	5	6	7	8	Ncut	Name						
1	133	73	16	11	13	6	9	1	4	0	119	1-58		acatggaGCTGAGCagcctgag				
2	14	11	1	0	0	0	0	1	0	1	12	1-02		acatggaagctgagcagcctgag				
3	34	17	8	2	6	1	0	0	0	0	0	1-18		acatggaagctgaggaagcctgag				
4	120	50	32	16	10	9	1	1	1	0	2	5-51		acctgcaagtgyagcagcctgaa				
5	55	13	11	10	17	3	1	0	0	0	0	3-15		atctgcaaaatgaacagcctgaa				
6	340	186	88	41	15	6	3	0	1	0	0	3303		atctgcaaatgaaacagcctgag				
7	82	25	16	25	12	1	3	0	0	0	0	3-20		atctgcaaatgaaacagctgag				
8	3	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	74.1		atctgcaagatctgcaagcctaaa				
9	23	18	2	2	1	0	0	0	0	0	0	3-66		atcttcaaatgaaacagcctgag				
10	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3-64		atcttcaaatgygcagcctgag				
11	486	249	78	81	38	21	10	4	4	1	467	4301		ccctgaagctgagctctgtgac				
12	16	6	3	1	0	1	1	3	1	0	1	6-1		ccctgcaagctgaactctgtgac				
13	28	15	8	2	2	1	0	0	0	0	0	2-70		tocttacaatgaccacaatgga				

B: Bipl en HC														
Id	Ntot	0	1	2	3	4	5	6	7	8	Ncut	Name		
14	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2-26	tccttaccatgacccaacatgga	
											601			
Nombre		Secuencia completa										Modo de puntos		
1-58		acatggaGCTGAGCagcctgag										acatggaGCTGAGCagcctgag		
1-02		acatggaagctgagcagcctgag										g.....		
1-18		acatggaagctgaggaagcctgag										g.....		
5-51		acclycaglygagcagcctgaa										..c..c..tg.....a		
3-15		atctgcaaatgaacagcctgaa										.tc..c.aa...a.....a		
3-30.3		atctgcaaatgaacagcctgag										.tc..c.aa...a.....		
3-20		atctgcaaatgaacagctctgag										.tc..c.aa...a...t....		
7-4.1		atctgcaagatctgcaagcctaaa										.tc..c..a.ct.....a.a		
3-66		atcttcaaatgaaacagcctgag										.tc..tc.aa...a.....		
3-64		atcttcaaatggaagcagcctgag										.tc..tc.aa..g.....		
4-30.1		ccctgaaagctgagctctctgac										c.c..a.....tcfg...c		
6-1		ccctgcaagctgaaactctgtgac										c.c..c.....a.tctg...c		

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

Id	Ntot	0	1	2	3	4	5	6	7	8	Ncut		acngt	acngt
5	4	0	0	1	0	1	1	0	1	0	2	145#6	ccaigtattactigtgcaagata	..a.....a...t
6	15	1	0	1	0	6	4	1	1	1	8	158#8	ccgigtattactigtgcggcaga	gc...
7	23	4	8	5	2	2	1	1	0	0	21	205#12	ccacatatactigtgcacacag	..aca.....acacag
8	9	1	1	1	0	3	2	1	0	0	6	226#13	ccacatatactigtgcacgcat	..aca.....ac.gat
9	7	1	3	1	1	0	0	1	0	0	6	270#14	ccacgtattactigtgcacgcat	..ac.....ac.gat
10	23	7	3	5	5	2	1	0	0	0	22	309#16,	ccttgtattactigtgcaaaaga	..t.....a.a...
11	35	5	10	7	6	3	3	0	1	0	31	313#18,	ctgtgtattactigtgcaagaga	..t.....a....
12	18	2	3	2	2	6	1	0	2	0	15	315#19	ccgigtattactigtgcccacaga	a.c.c...
13	3	1	2	0	0	0	0	0	0	0	3	320#20	cctgtatcactigtgcgagaga	..t...C.....
14	117	29	23	28	22	8	4	2	1	0	110	323#22	ccgtatattactigtgcgaaaga	a.....a...
15	75	21	25	13	9	1	4	2	0	0	69	330#23,	ctgtgtattactigtgcgaaaga	..t.....a...
16	14	2	2	2	3	0	3	1	1	0	9	349#29	ccgigtattactigtgactagaga	a.t....
17	2	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	372#33	ccgigtattactigtgctagaga	t....
18	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	373#34	ccgigtattactigtgactagaca	a.t..C.
19	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	3d#36	ctgtgtattactigtlaagaaga	..t.....aa.a...
20	34	4	9	9	4	5	3	0	0	0	31	428#38	ccgigtattactigtgcgagaaga	a.

Id	Ntot	0	1	2	3	4	5	6	7	8	Ncut		acngt	acngt
21	17	5	4	2	2	3	1	0	0	0	16	4302#40	ccgtgtattactgtgcccagaga	C....
22	75	15	17	24	7	10	1	1	0	0	73	439#44	ctgtgtattactgtgcgagaca	.t.....C.
23	40	14	15	4	5	1	0	1	0	0	39	551#48	ccatgtattactgtgcgagaca	..a.....C.
24	213	26	56	60	42	20	7	2	0	0	204	5a#49	ccatgtattactgtgcgagaaa	..a.....AA
Grupo	337	471	363	218		130		58		23		11		6
Acumulativo	337	808	1171	1389		1519		1577		1600		1611		1617
Seqs sólo con el sitio RE esperado.....										1511				
Seqs sólo con un sitio no esperado.....										0				
Seqs tanto con esperado como no esperado....										8				
Seqs sin sitios.....										0				

Tabla 5D:

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

Análisis repetido usando sólo 8 REDaptors mejores																
Id	Ntot	0	1	2	3	4	5	6	7	8+						
ctgtgtattactgtgcgagaga																
3	189	52	45	38	23	18	5	4	1	3	176	108#3				
ccgtgtattactgtgcgagagg																
4	127	29	23	28	24	10	6	5	2	0	114	323#22				
ccgtatattactgtgcgaaaga																
5	78	21	25	14	11	1	4	2	0	0	72	330#23				
ctgtgtattactgtgcgaaaga																
439#44	ctgtgtattactgtgcgagaca															
7	43	14	15	5	5	3	0	1	0	0	42	551#48				
ccaagtattactgtgcgagaca																
8	307	26	63	72	51	38	24	14	13	6	250	5a#49				
ccaagtattactgtgcgagaga																
1	102#1	ccgtgtattactgtgcgagaga									ccgtgtattactgtgcgagaga					
2	103#2	ctgtgtattactgtgcgagaga									.t.....g					
3	108#3	ccgtgtattactgtgcgagagg									g					

Análisis repetido usando sólo 8 REdaptors mejores												
Id	Ntot	0	1	2	3	4	5	6	7	8+		
4	323#22		ccgtatattactctgtgcgaaaga						...a.....a...			
5	330#23		ctgtgtattactctgtgcgaaaga						.t.....a...			
6	439#44		ctgtgtattactctgtgcgagaca						.t.....c.			
7	551#48		ccatgtattactctgtgcgagaca						..a.....c.			
8	5a#49		ccatgtattactctgtgcgagaAA .a.....AA									
Seqs sólo con el sitio RE esperado..... 1.463/1.617												
Seqs sólo con un sitio no esperado..... 0												
Seqs tanto con esperado como no esperado.... 7												
Seqs sin sitios..... 0												

Tabla 6: Secuencias HC GLG FR1 Humanas

VH Exón - Alineamiento de secuencias de nucleótidos	
VH1	
1-02	CAG GTG CAG CTG GTG CAG TCT GGG GCT GAG GTG AAG AAG CCT GGG GCC TCA GTG AAG GTC TCC TGC AAG GCT TCT GGA TAC ACC TTC ACC
1-03	CAG GTC CAG CTT GTG CAG TCT GGG GCT GAG GTG AAG AAG CCT GGG GCC TCA GTG AAG GCT TCC TGC AAG GCT TCT GGA TAC ACC TTC ACT
1-08	CAG GTG CAG CTG GTG CAG TCT GGG GCT GAG GTG AAG AAG CCT GGG GCC TCA GTG AAG GTC TCC TGC AAG GCT TCT GGA TAC ACC TTC ACC
1-18	CAG GTT CAG CTG GTG CAG TCT GGA GCT GAG GTG AAG AAG CCT GGG GCC TCA GTG AAG GTC TCC TGC AAG GCT TCT GGT TAC ACC TTT ACC
1-24	CAG GTC CAG CTG GTA CAG TCT GGG GCT GAG GTG AAG AAG CCT GGG GCC TCA GTG AAG GTC TCC TGC AAG GTT TCC GGA TAC ACC CTC ACT
1-45	CAG A TG CAG CTG GTG CAG TCT GGG GCT GAG GTG AAG AAG ACT GGG TCC TCA GTG AAG GCT TCC TGC AAG GCT TCC GGA TAC ACC TTC ACC
1-46	CAG GTG CAG CTG GTG CAG TCT GGG GCT GAG GTG AAG AAG CCT GGG GCC TCA GTG AAG GCT TCC TGC AAG GCA TCT GGA TAC ACC TTC ACC
1-58	CAH A TG CAG CTG GTG CAG TCT GGG CCT GAG GTG AAG AAG CCT GGG ACC TCA GTG AAG GTC TCC TGC AAG GCT TCT GGA TTC ACC TTT ACT

VH Exón - Alineamiento de secuencias de nucleótidos

VH1	
1-69	cag gtcg cag ctg gtcg cag tct ggg gct gag gtcg aag aag aag cct ggg Tcc tcc gtcg aag gtc tcc tgc aag gct tct gga Ggc acc ttc aGc
1-e	cag gtcg cag ctg gtcg cag tct ggg gct gag gtcg aag aag cct ggg Tcc tcc gtcg aag gtc tcc tgc aag gct tct gga Ggc acc ttc aGc
1-f	Gag gtc cag ctg gtc cag tct ggg gct gag gtcg aag aag cct ggg gct Aca gtcg aaA Atc tcc tgc aag gTt tct gga taa acc ttc acc
VH2	
2-05	CAG ATC ACC TTG AAG GAG TCT GGT CCT ACG CTG GTG AAA CCC ACA CAG ACC CTC ACG CTG ACC TGC ACC TTC TCT GGG TTC TCA CTC AGC
2-26	cag Gtc acc ttg aag gag tct ggt cct GTg ctg gtcg aaa ccc aca Gag acc ctg acg ctg acc tgc acc Gtc tct ggg ttc tca ctg agc
2-70	cag Gtc acc ttg aag gag tct ggt cct Gcg ctg gtcg aaa ccc aca cag acc ctg acA ctg acc tgc acc ttc tct ggg ttc tca ctg agc

VH3	
3-07	GAG GTG CAG CTG GTG GAG TCT GAG GGA GGC TTG GTC CAG CCT GGG GGG TCC CTG AGA CTC TCC TGT GCA GCC TCT GGA TTC ACC TTT AGT
3-09	gaa gtg caa ctg gtg gaq tct ggg gga ggc ttg gta caa cct ggc Aag tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttt GAt
3-11	Cag gtg caa ctg gtg gaq tct ggg gga ggc ttg gtc Aag cct gga ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt
3-13	gaq gtg caa ctg gtg gaq tct ggg gga ggc ttg gta caa cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt
3-15	gaq gtg caa ctg gtg gaq tct ggg gga ggc ttg gta Aag cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc act ttc agt
3-20	gaq gtg caa ctg gtg gaq tct ggg gga ggt Gtg gta cGg cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttt GAt
3-21	gaq gtg caa ctg gtg gaq tct ggg gga ggc Ctg gtc Aag cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt
3-23	gaq gtg caa ctg Ttg gaq tct ggg gga ggc ttg gta caa cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttt agc
3-30	Cag gtg caa ctg gtg gaq tct ggg gga ggc Gtg gtc caa cct ggg Aag tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt

VH3	
3-30.3	Cag gtc cag ctg gtc gag tct ggg gga ggc Gtg gtc cag cct ggg Agg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt
3-30.5	Cag gtc cag ctg gtc gag tct ggg gga ggc Gtg gtc cag cct ggg Agg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt
3-33	Cag gtc cag ctg gtc gag tct ggg gga ggc Gtg gtc cag cct ggg Agg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt
3-43	gaa gtc cag ctg gtc gag tct ggg gga gtc Gtg gta cag cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc GAT
3-48	gag gtc cag ctg gtc gag tct ggg gga ggc ttg gta cag cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt
3-49	gag gtc cag ctg gtc gag tct ggg gga ggc ttg gta cag cca ggg Cgg tcc ctg aga ctc tcc tgt Aca gct tct gga ttc acc ttc Ggt
3-53	gag gtc cag ctg gtc gag Act gga gga ggc ttg Atc cag cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct ggg ttc acc Gtc agt
3-64	gag gtc cag ctg gtc gag tct ggg gga ggc ttg gtc cag cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt
3-66	gag gtc cag ctg gtc gag tct ggg gga ggc ttg gtc cag cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc Gtc agt
3-72	gag gtc cag ctg gtc gag tct ggg gga ggc ttg gtc cag cct gga ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt

VH3	
3-73	gag gtc cag ctg gtc gag tct ggg gga ggc ttg gtc cag cct ggg ggg tcc ctg aAa ctc tcc tgt gca gcc tct ggg ttc acc ttc agt
3-74	gag gtc cag ctg gtc gag tcc ggg gga ggc tTA gTt cag cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt
3-d	gag gtc cag ctg gtc gag tct Cgg gga gTc ttg gTt cag cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc Gtc agt
VH4	
4-04	CAG GTG CAG CTG CAG GAG TCG GGC CCA GGA CTG GTG AAG CCT TCG GGG ACC CTG TCC CTC ACC TGC GCT GTC TCT GGT GGC TCC ATC AGC
4-28	cag gtc cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtc aag cct tcg gAc acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt TAc tcc atc agc
4-30.1	cag gtc cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtc aag cct tCA CAg acc ctg tcc ctc acc tgc Act gtc tct ggt ggc tcc atc agc
4-30.2	cag Ctg cag ctg cag gag tcc ggc Tca gga ctg gtc aag cct tCA CAg acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt ggc tcc atc agc
4-30.4	cag gtc cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtc aag cct tCA CAg acc ctg tcc ctc acc tgc Act gtc tct ggt ggc tcc atc agc

VH4	
4-31	cag gtc cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtc aag cct tca CAg acc ctg tcc ctc acc tgc Act gtc tct ggt ggc tcc atc agc
4-34	cag gtc cag ctA cag Cag tGg ggc Gca gga ctg Tcg aag cct tcg gAg acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tAt ggt ggc tcc Ttc agT
4-39	cag Ctg cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtc aag cct tcg gAg acc ctg tcc ctc acc tgc Act gtc tct ggt ggc tcc atc agc
4-59	cag gtc cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtc aag cct tcg gAg acc ctg tcc ctc acc tgc Act gtc tct ggt ggc tcc atc agT
4-61	cag gtc cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtc aag cct tcg gAg acc ctg tcc ctc acc tgc Act gtc tct ggt ggc tcc Gtc agc
4-b	cag gtc cag ctg cag gag tcg ggc cca gga ctg gtc aag cct tcg gAg acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tct ggt TAc tcc atc agc
VH5	
5-51	GAG GTG CAG CTG GTG CAG TCT GGA GCA GAG GTG AAA AAG CCC GGG GAG TCT CTG AAG ATC TCC TGT AAG GGT TCT GGA TAC AGC TTT ACC
5-a	gAA gtc cag ctg gtc cag tct gga gca gag gtc aaa aag ccc ggg gag tct ctg aGg atc tcc tgt aag ggt tct gga tac agc ttt acc

VH6	
6-1	CAG GTA CAG CTG CAG CAG TCA GGT CCA GGA CTG GTG AAG CCC TCG CAG ACC CTC TCA CTC ACC TGT GCC ATC TCC GGG GAC AGT GTC TCT
VH7	
7-4.1	CAG GTG CAG CTG GTG CAA TCT GGG TCT GAG TTG AAG AAG CCT GGG GCC TCA GTG AAG GTT TCC TGC AAG GCT TCT GGA TAC ACC TTC ACT

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

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

Bsgl GTGCAG			71 (corta 16/14 bases a la derecha)				
33: 6	33: 67	39: 6	39: 67	35: 6	35: 67		
36: 6	36: 67	37: 6	38: 6	39: 6	40: 6		
41: 6	42: 6	93: 6	44: 6	45: 6	46: 6		
47: 6	98: 6	99: 6	50: 12	51: 6			
Hay 43 aciertos en la base# 6 Los sitios en negrita sitios muy cercanos listados más adelante							
Hay 21 aciertos en la base# 67							
-"- gctgc			13				
37: 9	38: 9	39: 9	40: 3	40: 9	41: 9		
42: 9	44: 3	44: 9	45: 9	46: 9	47: 9		
50: 9							
Hay 11 aciertos en la base# 9							
BsoFI GCnge			78				
1: 6	3: 6	6: 6	7: 6	8: 6	9: 6		
10: 6	15: 6	15: 67	16: 6	16: 67	17: 6		
17: 67	18: 6	18: 67	19: 6	19: 67	20: 6		
20: 67	21: 6	21: 67	22: 6	22: 67	23: 6		
23: 67	24: 6	24: 67	25: 6	25: 67	26: 6		
26: 67	27: 6	27: 67	28: 6	28: 67	29: 6		
30: 6	30: 67	31: 6	31: 67	32: 6	32: 67		
33: 6	33: 67	34: 6	39: 67	35: 6	35: 67		
36: 6	36: 67	37: 6	37: 9	38: 6	38: 9		
39: 6	39: 9	40: 3	40: 6	40: 9	41: 6		
41: 9	42: 6	42: 9	43: 6	44: 3	44: 6		
44: 9	45: 6	45: 9	46: 6	46: 9	47: 6		
47: 9	48: 6	49: 6	50: 9	50: 12	51: 6		
Hay 43 aciertos en la base# 6 Frecuentemente aparecen juntos.							

Bsgl GTGCAG			71 (corta 16/14 bases a la derecha)				
Hay 11 aciertos en la base# 9							
Hay 2 aciertos en la base# 3							
Hay 21 aciertos en la base# 67							
Tsel Gcwgc			78				
1: 6	3: 6	6: 6	7: 6	8: 6	9: 6		
10: 6	15: 6	15: 67	16: 6	16: 67	17: 6		
17: 67	18: 6	18: 67	19: 6	19: 67	20: 6		
20: 67	21: 6	21: 67	22: 6	22: 67	23: 6		
23: 67	24: 6	24: 67	25: 6	25: 67	26: 6		
26: 67	27: 6	27: 67	28: 6	28: 67	29: 6		
30: 6	30: 67	31: 6	31: 67	32: 6	32: 67		
33: 6	33: 67	34: 6	34: 67	35: 6	35: 67		
36: 6	36: 67	37: 6	37: 9	38: 6	38: 9		
39: 6	39: 9	40: 3	40: 6	40: 9	41: 6		
41: 9	42: 6	42: 9	43: 6	44: 3	44: 6		
44: 9	45: 6	45: 9	46: 6	46: 9	47: 6		
47: 9	48: 6	49: 6	50: 9	50: 12	51: 6		
Hay 43 aciertos en la base# 6 Frecuentemente juntos.							
Hay 11 aciertos en la base# 9							
Hay 2 aciertos en la base# 3							
Hay 1 acierto en la base# 12							
Hay 21 aciertos en la base# 67							
MspAll CMGckg			48				
1: 7	3: 7	4: 7	5: 7	6: 7	7: 7		
8: 7	9: 7	10: 7	11: 7	15: 7	16: 7		

Bsgl GTGCAG			71 (corta 16/14 bases a la derecha)				
17: 7	18: 7	19: 7	20: 7	21: 7	22: 7		
23: 7	29: 7	25: 7	26: 7	27: 7	28: 7		
29: 7	30: 7	31: 7	32: 7	33: 7	34: 7		
35: 7	36: 7	37: 7	38: 7	39: 7	40: 1		
40: 7	41: 7	42: 7	44: 1	44: 7	45: 7		
46: 7	47: 7	48: 7	49: 7	50: 7	51: 7		
Hay 46 aciertos en la base# 7							
Pvull CAGctg			48				
1: 7	3: 7	4: 7	5: 7	6: 7	7: 7		
8: 7	9: 7	10: 7	11: 7	15: 7	16: 7		
17: 7	18: 7	19: 7	20: 7	21: 7	22: 7		
23 : 7	24: 7	25 : 7	26: 7	27: 7	28: 7		
29: 7	30: 7	31: 7	32: 7	33: 7	34: 7		
35: 7	36: 7	37: 7	38: 7	39: 7	40: 1		
40: 7	41: 7	42: 7	44: 1	44: 7	45: 7		
46: 7	47: 7	48: 7	49: 7	50: 7	51: 7		
Hay 46 aciertos en la base# 7							
Hay 2 aciertos en la base# 1							
Alul AGct			54				
1: 8	2: 8	3: 8	4: 8	4: 24	5: 8		
6: 8	7: 8	8: 8	9: 8	10: 8	11: 8		
15: 8	16: 8	17: 8	18: 8	19: 8	20: 8		
21: 8	22: 8	23: 8	24: 8	25: 8	26: 8		
27: 8	28: 8	29: 8	29: 69	30: 8	31: 8		
32: 8	33: 8	34: 8	35: 8	36: 8	37: 8		

ES 2 375 952 T5

Bsgl GTGCAG			71 (corta 16/14 bases a la derecha)				
38: 8	39: 8	40: 2	40: 8	41: 8	42: 8		
43: 8	44: 2	44: 8	45: 8	46: 8	47: 8		
48: 8	48: 82	49: 8	49: 82	50: 8	51: 8		
Hay 48 aciertos en la base# 8							
Hay 2 aciertos en la base# 2							
Ddel Ctnag			48				
1: 26	1: 48	2: 26	2: 48	3: 26	3: 48		
4: 26	4: 48	5: 26	5: 48	6: 26	6: 48		
7: 26	7: 48	8: 26	8: 48	9: 26	10: 26		
11: 26	12: 85	13: 85	14: 85	15: 52	16: 52		
17: 52	18: 52	19: 52	20: 52	21: 52	22: 52		
23: 52	24: 52	25: 52	26: 52	27: 52	28: 52		
29: 52	30: 52	31: 52	32: 52	33: 52	35: 30		
35: 52	36: 52	40: 24	49: 52	51: 26	51: 48		
Hay 22 aciertos en la base# 52 52 y 48 nunca juntos.							
Hay 9 aciertos en la base# 48							
Hay 12 aciertos en la base# 26 26 y 24 nunca juntos.							
Hphl tcacc			42				
1: 86	3: 86	6: 86	7: 86	8: 80	11: 86		
12: 5	13: 5	14: 5	15: 80	16: 80	17: 80		
18: 80	20: 80	21: 80	22: 80	23: 80	24: 80		
25: 80	26: 80	27: 80	28: 80	29: 80	30: 80		
31: 80	32: 80	33: 80	34: 80	35: 80	36: 80		
37: 59	38: 59	39: 59	40: 59	41: 59	42: 59		
43: 59	44: 59	45: 59	46: 59	47: 59	50: 59		

ES 2 375 952 T5

Bsgl GTGCAG				71 (corta 16/14 bases a la derecha)			
Hay 22 aciertos en la base# 80 80 y 86 nunca juntos							
Hay 5 aciertos en la base# 86							
Hay 12 aciertos en la base# 59							
BssKI Nccngg			50				
1: 39	2: 39	3: 39	4: 39	5: 39	7: 39		
8: 39	9: 39	10: 39	11: 39	15: 39	16: 39		
17: 39	18: 39	19: 39	20: 39	21: 29	21: 39		
22: 39	23: 39	24: 39	25: 39	26: 39	27: 39		
28: 39	29: 39	30: 39	31: 39	32: 39	33: 39		
34: 39	35: 19	35: 39	36: 39	37: 24	38: 24		
39: 24	41: 24	42: 24	44: 24	45: 24	46: 24		
47: 24	48: 39	48: 40	49: 39	49: 40	50: 24		
50: 73	51: 39						
Hay 35 aciertos en la base# 39 39 y 40 juntos dos veces.							
Hay 2 aciertos en la base# 40							
BsaJI Ccnngg			47				
1: 40	2: 40	3: 40	4: 40	5: 40	7: 40		
8: 40	9: 40	9: 47	10: 40	10: 47	11: 40		
15: 40	18: 40	19: 40	20: 40	21: 40	22: 40		
23: 40	24: 40	25: 40	26: 40	27: 40	28: 40		
29: 40	30: 40	31: 40	32: 40	34: 40	35: 20		
35: 40	36: 40	37: 24	38: 24	39: 24	41: 24		
42: 24	44: 24	45: 24	46: 24	47: 24	48: 40		
48: 41	49: 40	49: 41	50: 74	51: 40			
Hay 32 aciertos en la base# 40 40 y 41 juntos dos veces							

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

Bsgl GTGCAG			71 (corta 16/14 bases a la derecha)				
Hay 35 aciertos en la base# 40							
Hay 2 aciertos en la base# 41							
EcoO109I RGgnccy			34				
1: 43	2: 43	3: 43	4: 43	5: 43	6: 43		
7: 43	8: 43	9: 43	10: 43	15: 46	16: 46		
17: 46	18: 46	19: 46	20: 46	21: 46	22: 46		
23: 46	24: 46	25: 46	26: 46	27: 46	28: 46		
30: 46	31: 46	32: 46	33: 46	34: 46	35: 46		
36: 46	37: 46	43: 79	51: 43				
Hay 22 aciertos en la base# 46 46 y 43 nunca juntos							
Hay 11 aciertos en la base# 43							
N1aIV GGNncc			71				
1: 43	2: 43	3: 43	4: 43	5: 43	6: 43		
7: 43	8: 43	9: 43	9: 79	10: 43	10: 79		
15: 46	15: 47	16: 47	17: 46	17: 47	18: 46		
18: 47	19: 46	19: 47	20: 46	20: 47	21: 46		
21: 47	22: 46	22: 47	23: 47	24: 47	25: 47		
26: 47	27: 46	27: 47	28: 46	28: 47	29: 47		
30: 46	30: 47	31: 46	31: 47	32: 46	32: 47		
33: 46	33: 47	34: 46	34: 47	35: 46	35: 47		
36: 46	36: 47	37: 21	37: 46	37: 47	37: 79		
38: 21	39: 21	39: 79	40: 79	41: 21	41: 79		
42: 21	42: 79	43: 79	44: 21	44: 79	45: 21		
45: 79	46: 21	46: 79	47: 21	51: 43			
Hay 23 aciertos en la base# 47 46 y 47 frecuentemente juntos							
Hay 17 aciertos en la base# 46 Hay 11 aciertos en la base# 43							

Bsgl GTGCAG			71 (corta 16/14 bases a la derecha)				
Sau96l Ggncc			70				
1: 44	2: 3	2: 44	3: 44	4: 44	5: 3	5: 44	6: 44
7: 44	8: 22	8: 44	9: 44	10: 44	11: 3	12: 22	13: 22
14: 22	15: 33	15: 47	16: 47	17: 47	18: 47	19: 47	20: 47
21: 47	22: 47	23: 33	23: 47	24: 33	24: 47	25: 33	25: 47
26: 33	26: 47	27: 47	28: 47	29: 47	30: 47	31: 33	31: 47
32: 33	32: 47	33: 33	33: 47	34: 33	34: 47	35: 47	36: 47
37: 21	37: 22	37: 47	38: 21	38: 22	39: 21	39: 22	41: 21
41: 22	42: 21	42: 22	43: 80	44: 21	44: 22	45: 21	45: 22
46: 21	46: 22	47: 21	47: 22	50: 22	51: 44		
Hay 23 aciertos en la base# 47 Éstos no ocurren juntos.							
Hay 11 aciertos en la base# 44							
Hay 14 aciertos en la base# 22 Éstos aparecen juntos.							
Hay 9 aciertos en la base# 21							
BsmAI GTCTCNnnnn			22				
1: 58	3: 58	4: 58	5: 58	8: 58	9: 58		
10: 58	13: 70	36: 18	37: 70	38: 70	39: 70		
40: 70	41: 70	42: 70	44: 70	45: 70	46: 70		
47: 70	48: 48	49: 48	50: 85				
Hay 11 aciertos en la base# 70							
-". Nnnnnngagac			27				
13: 40	15: 48	16: 48	17: 48	18: 48	20: 48		
21: 48	22: 48	23: 48	24: 48	25: 48	26: 48		
27: 48	28: 48	29: 48	30: 10	30: 48	31: 48		
32: 48	33: 48	35: 48	36: 48	43: 40	44: 40		

Bsgl GTGCAG			71 (corta 16/14 bases a la derecha)				
45: 40	46: 40	47: 40					
Hay 20 aciertos en la base# 48							
Avall Ggwcc			44				
Sau96I(\$M.HaeIII) Ggwcc			44				
2: 3	5: 3	6: 44	8: 44	9: 44	10: 44		
11: 3	12: 22	13: 22	14: 22	15: 33	15: 47		
16: 47	17: 47	18: 47	19: 47	20: 47	21: 47		
22: 47	23: 33	23: 47	24: 33	24: 47	25: 33		
25: 47	26: 33	26: 47	27: 47	28: 47	29: 47		
30: 47	31: 33	31: 47	32: 33	32: 47	33: 33		
33: 47	34: 33	34: 47	35: 47	36: 47	37: 47		
43: 80	50: 22						
Hay 23 aciertos en la base# 47 44 y 47 nunca juntos							
Hay 4 aciertos en la base# 44							
PpuMI RGgwccy			27				
6: 43	8: 43	9: 43	10: 43	15: 46	16: 46		
17: 46	18: 46	19: 46	20: 46	21: 46	22: 46		
23: 46	24: 46	25: 46	26: 46	27: 46	28: 46		
30: 46	31: 46	32: 46	33: 46	34: 46	35: 46		
36: 46	37: 46	43: 79					
Hay 22 aciertos en la base# 46 43 y 46 nunca aparecen juntos.							
Hay 4 aciertos en la base# 43							
BsmFI GGGAC			3				
8: 43	37: 46	50: 77					

ES 2 375 952 T5

Bsgl GTGCAG			71 (corta 16/14 bases a la derecha)				
-"- gtccc			33				
15: 48	16: 48	17: 48	1: 0	1: 0	20: 48		
21: 48	22: 48	23: 48	24: 48	25: 48	26: 48		
27: 48	28: 48	29: 48	30: 48	31: 48	32: 48		
33: 48	34: 48	35: 48	36: 48	37: 54	38: 54		
39: 54	40: 54	41: 54	42: 54	43: 54	44: 54		
45: 54	46: 54	47: 54					
Hay 20 aciertos en la base# 48							
Hay 11 aciertos en la base# 54							
Hinfl Gantc			80				
8: 77	12: 16	13: 16	14: 16	15: 16	15: 56		
15: 77	16: 16	16: 56	16: 77	17: 16	17: 56		
17: 77	18: 16	18: 56	18: 77	19: 16	19: 56		
19: 77	20: 16	20: 56	20: 77	21: 16	21: 56		
21: 77	22: 16	22: 56	22: 77	23: 16	23: 56		
23: 77	24: 16	24: 56	24: 77	25: 16	25: 56		
25: 77	26: 16	26: 56	26: 77	27: 16	27: 26		
27: 56	27: 77	28: 16	28: 56	28: 77	29: 16		
29: 56	29: 77	30: 56	31: 16	31: 56	31: 77		
32: 16	32: 56	32: 77	33: 16	33: 56	33: 77		
34: 16	35: 16	35: 56	35: 77	36: 16	36: 26		
36: 56	36: 77	37: 16	38: 16	39: 16	40: 16		
41: 16	42: 16	44: 16	45: 16	46: 16	47: 16		
48: 46	49: 46						
Hay 34 aciertos en la base# 16							

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

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

Tabla 8: Kappa FR1 GLG

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

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

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

Tabla 9 Sitios RERS encontrados en FR1 GLG Kappa Humana

	MslI	FokI --> <-->	PfIcI	BsrI	BsmAI	MnII	HpyCH 4V
VKI							
O12 1-69	3	23 3	49 12	15	47 18	26	36
O2 101.169	103	123 103	149 112	115	147 118	126	136
O18 201-269	203	223 203	249 212	215	247 218	226	236
O8 301-369	303	323 303	349 312	315	347 318	326	336
A20 401-469	403	423 403	449 412	415	447 418	426	436
A30 501-569	503	523 503	549 512	515	547 518	526	536
L14 601-669	603	603	649 612	615	647 618	-	636
L1 701-769	703	723 703	749 712	715	747 718	726	736
L15 801-869	803	823 803	849 812	815	847 818	826	836
L4 901-969	-	923 903	949 912	915 906	947 918	926	936
L18 1001-1069	-	1003	1049 101	1015 1006	1047 1018	1026	1036
L5 1101-1169	1103	-	1149 1112	1115	1147 1118	-	1136
L19 1201-1269	1203	1203	1249 1212	1215	1247 1218	-	1236
L8 1301-1369	-	1323 1303	1349 1312	1315 1306	1347 1318	-	1336

	MslI	FokI --> <-->	PfIcI	BsrI	BsmAI	MnII	HpyCH 4V
VKI							
L23 1401-1469	1403	1403 1408	1449 1412	1415	1447 1418	-	1436
L9 1501-1569	1503	1523 1508 1503	1549 1512	1515	1547 1518	1526	1536
L24 1601-1669	1603	1623 1608	1649 1612	1615	1647 1618	-	1636
L 11 1701-1769	1703	1723 1703	1749 1712	1715	1747 1718	1726	1736
L 12 1801-1869	1803	1803	1849 1812	1815	1847 1818	-	1836
VKII							
O11 1901-1969	-	-	-	-	-	1956	-
O1 2001-2069	-	-	-	-		2056	-
A17 2101-2169	-	-	2112	-	2118	2156	-
A1 2201-2269	-	-	2212	-	2218	2256	-
A18 2301-2369	-	-	-	-	-	2356	-
A2 2401-2469	-	-	-	-	-	2456	-
A19 2501-2569	-	-	2512	-	2518	2556	-
A3 2601-2669	-	-	2612	-	2618	2656	-

VKII								
A23 2701-2769	-	-	-	-	-	2756	2729	-
VKIII								
A27 2801-2869	-	-	2812	-	2839	2818	2860	-
A11 2901-2969	-	-	2912	-	2939	2918	2960	-
L2 3001-3069	-	-	3012	-	3039	3018	3060	-
L16 3101-3169	-	-	3112	-	3139	3118	3160	-
L6 3201-3269	-	-	3212	-	3239	3218	3260	-
L20 3301-3369	-	-	3312	-	3339	3318	3360	-
L25 3401-3469	-	-	3412	-	3439	3418	3460	-
VKIV								
B3 3501-3569	3503	-	3512	3515	3539	3518	3551<	-
VKV								
82 3601-3669	-	-	3649	-	3647	3618		-
VKVI								
A26 3701-3769	-	-	3712	-	3718			-

VKVI							
A10 3801-3869	-	-	3812	-	3818		-
A14 3901-3969	-	-	3912	-	3918	3930>	-
VKI							
O12 1-69	37	41	53	53	55	56	-
O2 101-169	137	141	153	153	155	156	-
O18 201-269	237	241	253	253	255	256	-
O8 301-369	337	341	353	353	355	356	-
A20 401-469	437	441	453	453	455	456	-
A30 501-569	537	541	553	553	555	556	-
L14 601-669	637	641	653	653	655	656	-
L1 701-769	737	741	753	753	755	756	-
L15 801-869	837	841	853	853	855	856	-
L4 901-969	937	941	953	953	955	956	-
L18 1001-1069	1037	1041	1053	1053	1055	1056	-
L5 1101-1169	1137	1141	1153	1153	1155	1156	-
L19 1201-1269	1237	1241	1253	1253	1255	1256	-

VKI							
L8 1301-1369	1337	1341	1353	1353	1355	1356	-
L23 1401-1469	1437	1441	1453	1453	1455	1456	1406
L9 1501-1569	1537	1541	1553	1553	1555	1556	1506
	SfaNI	Sfcl	HinfI	MlyI --> --> <--	Maell mismos sitios	Tsp45I Hpnl xx62	xx38 xx56 Hpall xx52 Mspi xx06
L24 1601-1669	1637	1641	1653	1653	1655	1656	
L11 1701-1769	1737	1741	1753	1753	1755	1756	
L12 1801-1869	1837	1841	1853	1853	1855	1856	
VKII							
O11 1901-1969	-	-	1918	1918	1937	1938	1952
O1 2001-2069	-	-	2018	2018	2037	2038	2052
A17 2101-2169	-	-	2112	2112	2137	2138	2152
A1 2201-2269	-	-	2212	2212	2237	2238	2252
A18 2301-2369	-	-	2318	2318	2337	2338	2352
A2 2401-2469	-	-	2418	2418	2437	2438	2452
A19 2501-2569	-	-	2512	2512	2537	2538	2552

VKII							
A3 2601-2669	-	-	2612	2612	2637	2638	2652
A23 2701-2769	-	-	2718	2718	2737	2738* 2731*	-
VKIII							
A27 2801-2869	-	-	-	-			-
A11 2901-2969	-	-	-	-			-
L2 3001-3069	-	-	-	-			-
L16 3101-3169	-	-	-	-			-
L6 3201-3269	-	-	-	-			-
L20 3301-3369	-	-	-	-			-
L25 3401-3469	-	-	-	-			-
VKIV							
B3 3501-3569	-	-	3525	3525			-
VKV							
B2 3601-3669	-	-	3639	3639			-
VKVI							

VKVI							
A26 3701-3769	-	-	3739 3712	3739 3712	3755 3737	3762 3756	-
A10 3801-3869	-	-	3839 3812	3839 3812	3855 3837	3862 3856	-
A14 3901-3969	-	-	3939	3939	3955 3937	3962 3956	-
	BsaI xx43	xx29 xx42 xx30 xx43	BbsKI (NstNI) xx22	BpmI xx44 --> --> <--	BsrFI Cac8I NaeI HaeIII	Tsp509I	
VKI							
O12 1-69	-	-	-	-	-	-	
O2 101-169	-	-	-	-	-	-	
O18 201-269	-	-	-	-	-	-	
O8 301-369	-	-	-	-	-	-	
A20 401-469	-	-	-	-	-	-	
A30 501-569	-	-	-	-	-	-	
L14 601-669	-	-	-	-	-	-	
L1 701-769	-	-	-	-	-	-	
L15 801-869	-	-	-	-	-	-	
L4 901-969	-	-	-	-	-	-	

	Bsall xx43	xx29	xx42	BssKI (NstIN) xx30 xx43	xx22	Bpml xx44 --> --> <--	xx20	xx41	BsrFI NgomIIV	Cac8I	NaeI	HaeIII	Tsp509I	
VKI														
L18 1001-1069	-			-		-			-			-	-	
L5 1101-1169	-			-		-			-			-	-	
L19 1201-1269	-			-		-			-			-	-	
L8 1301-1369	-			-		-			-			-	-	
L23 1401-1469	-			-		-			-			-	-	
L9 1501-1569	-			-		-			-			-	-	
L24 1601-1669	-			-		-			-			-	-	
L11 1701-1769	-			-		-			-			-	-	
L12 1801-1869	-			-		-			-			-	-	
VKII														
O11 1901-1969	1942			1943		1944			1951			1954	-	
O1 2001-2069	2042			2043		2044			2051			2054	-	
A17 2101-2169	2142			-		-			2151			2154	-	
A1 2201-2269	2242			-		-			2251			2254	-	

VKII								
A18 2301-2369	2342	2343	-	2351	2354	-		
A2 2401-2469	2442	2443	-	2451	2454	-		
A19 2501-2569	2542	2543	2544	2551	2554	-		
A3 2601-2669	2642	2643	2644	2651	2654	-		
A23 2701-2769	2742	-	-	2751	2754	-		
VKIII								
A27 2801-2869	2843	2843 2822	2841 2820	-	-	2803		
A11 2901-2969	2943	2943	2941 2920	-	-	2903		
L2 3001-3069	3043	3043	3041	-	-	-		
L16 3101-3169	3143	3143	3141 3120	-	-	-		
L6 3201-3269	3243	3243	3241 3220	-	-	3203		
L20 3301-3369	3343	3343	3341 3320	-	-	3303		
L25 3401-3469	3443	3443	3441 3420	-	-	3403		
VKIV								
B3 3501-3569	3529	3530	3520	-	3554			

VKIV								
VKV								
B2 3601-3669		3643	3641 3620	-	-			
VKVI								
A26 3701-3769		-	3720	-	-	3703		
A10 3801-3869		-	3820	-	-	3803		
A14 3901-3969	3943	3943	3941 3920	-	-	-		

Tabla 10 Secuencias GLG de FR1 Lambda

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

	tcc tat gTg ctg act cag cca ccc tca gtg tcA gtg Gcc cca gga Aag acG gcc agG atT acc tgT ! 3h
	tcc tat gag ctg acA cag cTa ccc tcG gtg tcA gtg tcc cca gga cag aca gcc agG atc acc tgc ! 3e
	tcc tat gag ctg aTG cag cca ccc tcG gtg tcA gtg tcc cca gga cag acG gcc agG atc acc tgc ! 3m
	tcc tat gag ctg acA cag cca Tcc tca gtg tcA gtg tcT ccG gga cag aca gcc agG atc acc tgc ! V2-19
VL4	CTG CCT GTG CTG ACT CAG CCC CCG TCT GCA TCT GCC TTG CTG GGA GCC TCG ATC AAG CTC ACC TGC ! 4c
	cAg cct gtg ctg act caA TcA TcC tct gcC tct gcT tCC ctg gga Tcc tcg Gtc aag ctc acc tgc ! 4a
	cAg cTt gtg ctg act caA TcG ccC tct gcC tct gcc tCC ctg gga gcc tcg Gtc aag ctc acc tgc ! 4b
! VL5	CAG CCT GTG CTG ACT CAG CCA CCT TCC TCC TCC GCA TCT CCT GGA GAA TCC GCC AGA CTC ACC TGC ! 5e
	cag Gct gtg ctg act cag ccG Gct tcc CTc tcT gca tct cct gga gCa tcA gcc agT ctc acc tgc ! 5c
	cag cct gtg ctg act cag cca Tct tcc CAT tcT gca tct Tct gga gCa tcA gTc aga ctc acc tgc ! 5b
! VL6	AAT TTT ATG CTG ACT CAG CCC CAC TCT GTG TCG GAG TCT CCG GGG AAG ACG GTA ACC ATC TCC TGC ! 6a
! VL7	CAG ACT GTG GTG ACT CAG GAG CCC TCA CTG ACT GTG TCC CCA GGA GGG ACA GTC ACT CTC ACC TGT ! 7a
	cag Gct gtg gtg act cag gag ccc tca ctg act gtg tcc cca gga ggg aca gtc act ctc acc tgt ! 7b
! VL8	CAG ACT GTG GTG ACC CAG GAG CCA TCG TTC TCA GTG TCC CCT GGA GGG ACA GTC ACA CTC ACT TGT ! 8a
! VL9	CAG CCT GTG CTG ACT CAG CCA CCT TCT GCA TCA GCC TCC CTG GGA GCC TCG GTC ACA CTC ACC TGC ! 9a
! VL10	CAG GCA GGG CTG ACT CAG CCA CCC TCG GTG TCC AAG GGC TTG AGA CAG ACC GCC ACA CTC ACC TGC ! 10a

Tabla 11 RERS encontrados en GLG de FR1 lambda humana

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

ES 2 375 952 T5

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

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

BstNI CCwgg			30		
1: 41	2: 40	5: 40	6: 40	7: 40	8: 40
9: 40	10: 40	11: 40	12: 39	12: 53	13: 40
13: 53	14: 53	16: 40	16: 53	17: 40	17: 53
18: 40	18: 53	19: 53	21: 39	22: 39	23: 40
24: 40	27: 40	28: 40	29: 15	29: 40	30: 39
Hay 17 aciertos en la base# 40					
Hay 7 aciertos en la base# 53					
Hay 4 aciertos en la base# 39					
Hay 1 acierto en la base# 41 Desigual					
PspGI ccwgg			30		
1: 41	2: 40	5: 40	6: 40	7: 40	8: 40
9: 40	10: 40	11: 40	12: 39	12: 53	13: 40
13: 53	14: 53	16: 40	16: 53	17: 40	17: 53
18: 40	18: 53	19: 53	21: 39	22: 39	23: 40
24: 40	27: 40	28: 40	29: 15	29: 40	30: 39
Hay 17 aciertos en la base# 40					
Hay 7 aciertos en la base# 53					
Hay 4 aciertos en la base# 39					
Hay 1 acierto en la base# 41					
ScrFI CCngg			39		
1: 41	2: 40	3: 40	3: 41	4: 40	4: 41
5: 40	6: 32	6: 40	7: 32	7: 40	8: 40
9: 32	9: 40	10: 40	11: 40	12: 39	12: 53
13: 40	13: 53	14: 53	16: 40	16: 53	17: 40

ES 2 375 952 T5

17: 53	18: 40	18: 53	19: 40	19: 53	21: 39
22: 39	23: 40	29: 40	26: 40	27: 40	28: 40
29: 15	29: 40	30: 39			
Hay 21 aciertos en la base# 40					
Hay 4 aciertos en la base# 39					
Hay 3 aciertos en la base# 41					
MaeIII gtnac			16		
1: 52	2: 52	3: 52	4: 52	5: 52	6: 52
7: 52	9: 52	26: 52	27: 10	27: 52	28: 10
28: 52	29: 10	29: 52	30: 52		
Hay 13 aciertos en la base# 52					
Tsp45I gtsac			15		
1: 52	2: 52	3: 52	4: 52	5: 52	6: 52
7: 52	9: 52	27: 10	27: 52	28: 10	28: 52
29: 10	29: 52	30: 52			
Hay 12 aciertos en la base# 52					
HphI tcacc			26		
1: 53	2: 53	3: 53	4: 53	5: 53	6: 53
7: 53	8: 53	9: 53	10: 53	11: 59	13: 59
14: 59	17: 59	18: 59	19: 59	20: 59	21: 59
22: 59	23: 59	24: 59	25: 59	27: 59	28: 59
30: 59	31: 59				
Hay 16 aciertos en la base# 59					
Hay 10 aciertos en la base# 53					

BspMI ACCTGCNNNNn			14		
11: 61	13: 61	14: 61	17: 61	18: 61	19: 61
20: 61	21: 61	22: 61	23: 61	24: 61	25: 61
30: 61	31: 61				
Hay 14 aciertos en la base# 61 Va en CDR1					

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

A. Lista de genes de cadena pesada muestreados				
AF008566	AF103367	HSA235674	HSU94417	S83240
AF035043	AF103368	HSA235673	HSU94418	SABVH369
AF103026	AF103369	HSA240559	HSU96389	SADEIGVH
af103033	AF103370	HSCB201	HSU96391	SAH2IGVH
AF103061	af103371	HSIGGVHC	HSU96392	SDA3IGVH
Af103072	AF103372	HSU44791	HSU96395	SIGVHTTD
af103078	AF158381	HSU44793	HSZ93849	SUK4IGVH
AF103099	E05213	HSU82771	HSZ93850	
AF103102	E05886	HSU82949	HSZ93851	
AF103103	E05887	HSU82950	HSZ93853	
AF103174	HSA235661	HSU82952	HSZ93855	
AF103186	HSA235664	HSU82961	HSZ93857	
af103187	HSA235660	HSU86522	HSZ93860	
AF103195	HSA235659	HSU86523	HSZ93863	
af103277	HSA235678	HSU92452	MCOMFRAA	
af103286	HSA235677	HSU94412	MCOMFRVA	
AF103309	HSA235676	HSU94415	582745	
af103343	HSA235675	HSU94416	S82764	

.....

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

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

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

1	VHSzy1	GTGtattactgtgc	(ON_SHC103)	(SEQ ID NO:25)
2	VHSzy2	GTAtattactgtgc	(ON_SHC323)	(SEQ ID NO:26)
3	VHSzy4	GTGtattactgtac	(ON_SHC349)	(SEQ ID NO:28)
4	VHSzy9	ATGtattactgtgc	(ON_SHC5a)	(SEQ ID NO:33)

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

Número de secuencias								79
Número de bases								29143
Número de emparejamientos erróneos								
Id	Mejor	0	1	2	3	4	5	
1	39	15	11	10	1	2	0	Seq1 gtgtattactgtgc (SEQ ID NO:25)
2	22	7	6	5	3	0	1	Seq2 gtAtattactgtgc (SEQ ID NO:26)
3	7	1	5	1	0	0	0	Seq4 gtgtattactgtAc (SEQ ID NO:28)
4	11	2	4	4	1	0	0	Seq9 ATgtattactgtgc (SEQ ID NO:33)
Grupo	25	26	20	5	2			

Número de emparejamientos erróneos									
Id	Mejor	0	1	2	3	4	5		
Acumulativo	25	51	71	76	78				
<p>Una secuencia tiene cinco emparejamientos erróneos con las secuencias 2, 4, y 9; se puntúa como el mejor para 2.</p> <p>Id es el número del adaptador.</p> <p>Mejor es el número de secuencia para la que el adaptador identificado fue el mejor disponible.</p> <p>El resto de la tabla muestra cómo de bien las secuencias se emparejan con los adaptadores. Por ejemplo, hay 10 secuencias que se emparejan con VHSzy1(Id=1 con 2 emparejamientos erróneos y son peores para todos los demás adaptadores. En esta muestra, el 90% vienen en 2 bases de uno de los cuatro adaptadores.</p>									

Tabla 13

La lista siguiente de enzimas se tomó de http://rebase.neb.com/cgi-bin/asymmlist .			
He eliminado las enzimas que a) cortan en el sitio de reconocimiento, b) cortan en ambos lados del sitio de reconocimiento, o c) tienen menos de 2 bases entre el sitio de reconocimiento y el de corte más cercano.			
REBASE Enzimas 04/13/2001			
Enzimas de restricción de Tipo II con secuencias de reconocimiento asimétricas:			
Enzimas	Secuencia de Reconocimiento	Isoesquizómeros	Proveedores
AarI	CACCTGCNNNN^NNNN_	-	y
AceIII	CAGCTCNNNNNNN^NNNN_	-	-
Bbr7I	GAAGACNNNNNNN^NNNN_	-	-
BbvI	GCAGCNNNNNNN^NNNN_		y
BbvII	GAAGACNN^NNNN_		
Bce83I	CTTGAGNNNNNNNNNNNNNN^_	-	-
BceAI	ACGGCNNNNNNNNNNNN^NN_	-	y
BceFI	ACGGCNNNNNNNNNNNN^N_	-	-
BciVI	GTATCCNNNNN_N^	BfuI	y
BfiI	ACTGGGNNNNN_N^	Bmri	y
BinI	GGATCNNNN^N_		
BscAI	GCATCNNNN^NN_	-	-
BseRI	GAGGAGNNNNNNNN^_	-	y
BsmFI	GGGACNNNNNNNNNN^NNNN_	BspLU11III	y
BspMI	ACCTGCNNNN^NNNN_	Acc36I	y
Ecil	GGCGGANNNNNNNNNN^_	-	y
Eco57I	CTGAAGNNNNNNNNNNNNNN^_	BspKT5I	y
FauI	CCCGCNNNN^NN_	BstFZ438I	y
FokI	GGATGNNNNNNNNNN^NNNN_	BstPZ418I	y
GsuI	NN^ CTGGAGNNNNNNNNNNNNNN^_	-	y
HgaI	GACGCNNNNN^NNNNN_	-	y

Enzimas	Secuencia de Reconocimiento	Isoesquizómeros	Proveedores
HphI	GGTGANNNNNNNN N^	AsuHPI	y
MboII	GAAGANNNNNNNN_N^	-	y
MlyI	GAGTCNNNNN^	SchI	y
MmeI	TCCRACNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN_NN^	-	-
MnII	CCTCNNNNNNN_N^	-	y
PleI	GAGTCNNNN^N_	PpsI	y
RleAI	CCCACANNNNNNNNNN_NNN^	-	-
SfaNI	GCATCNNNNN^NNNN_	BspST5I	y
SspD5I	GGTGANNNNNNNNN^	-	-
Sth132I	CCCGNNNN^NNNN_	-	-
StsI	GGATGNNNNNNNNNN^NNNN_	-	-
TaqII	GACCGANNNNNNNNNN_NN^, CACCCANNNNNNNNNN_NN^	-	-
TthIIII	CAARCANNNNNNNNNN_NN^	-	-
UbaPI	CGAACG	-	-
La notación es ^ significa corta la cadena superior y _ significa corta la cadena inferior. Si la cadena superior e inferior se cortan en el mismo sitio, sólo aparece ^.			

(FOK)act	5'-cAcAtccgTg TTgTT cAcggaTgTg-3' a revoir para los ADN emies
(VHEx881)	5'-AATAgTAgAc TgcAgTgTcc TcAgcccTTA AgcTgTTcAT cTgcAAGTAgAgATATTcT TAGAgTTgTc TcTAgAcTTA gTgAAgcg-3'
i observe que	VHEx881 es el complemento inverso del ON siguiente
i	[RC] 5'-cgCttcacTaag-
i	Scab.....
i	3-23 sintético como en la Tabla 206
i	TTCT AGA gac aac ctc taag aat act ctc tac ttg cag atg XbaI...
i	laac agC TTA AGg gct gag gac acT GCA Gtc tac tat t-3' AflII...
(VHBA881)	5'-cgCttcacT aag TCT AGA gac aac ctc taag aat act ctc tac ttg cag atg aac agC TTA AGg gct gag gac acT GCA Gtc tac tat gt gcg ag-3'
(VHBB881)	5'-cgCttcacT aag TCT AGA gac aac ctc taag aat act ctc tac ttg cag atg aac agC TTA AGg gct gag gac acT GCA Gtc tac tat gt Acg ag-3'
(VH881PCR)	5'-cgCttcacT aag TCT AGA gac aac-3'

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

<i>FokI</i> - para ADNds, I representa sitios de secisión
sitios de escisión 5'-cacGGATGtg--nnnnnnnn nnnnnnn-3'(SEQ ID NO:15)
<p>3'-gtgCCTACac--nnnnnnnnnn nnn-5' (SEQ ID NO:16)</p> <p>RECONO cimiento de <i>FokI</i></p>
Caso I
5'...gtg tatt-actgtgc..Sustrato....-3' (SEQ ID NO:17)
<p>3'-cac-ataa tgacacg┐</p> <p>gtGTAGGcac\ 5'- caCATCCgtg/ (SEQ ID NO:18)</p>
Caso II
5'...gtgtatt agac-tgc..Sustrato....-3'(SEQ ID NO:19)
<p>┐cacataa-tctg acg-5'</p> <p>/gtgCCTACac \cacGGATGtg-3' (SEQ ID NO:20)</p>
Caso III (Caso I girado 180 grados)
<p>/gtgCCTACac-5'</p> <p>\cacGGATGtg┐</p> <p>gtgtctt acag-tcc-3' Adaptador (SEQ ID NO:21)</p>
3'...cacagaa-tgtc agg..sustrato....-5'(SEQ ID NO:22)
Caso IV (Caso II girado 180 grados)
<p>3'- gtGTAGGcac\ (SEQ ID NO:23)</p> <p>┐caCATCCgtg/</p> <p>5'-gag tctc-actgagc</p>
Sustrato 3'...ctc-agag tgactcg...-5'(SEQ ID NO:24)
Adaptadores <i>FokI</i> mejorados
<i>FokI</i> - para ADNds, I representa sitios de secisión
Caso I
Tallo 11, bucle 5, tallo 11, reconocimiento 17
<p>5'-...catgtg tatt-actgtgc.. Sustrato-3'</p> <p>3'-gtacac-ataa tgacacg┐</p> <p>gtGTAGGcacG T</p> <p>5'- caCATCCgtgc C</p> <p>┐TT┐</p>

Caso II	
Tallo 10, bucle 5, tallo 10, reconocimiento 18	
	<pre> 5' - ...gtgtatt agac-tgctgcc... Sustrato-3' T₁ T₁ T gtgCCTACac-5' C cacGGATGtg-3' T₁ </pre>
Caso III (Caso I girado 180 grados)	
Tallo 11, bucle 5, tallo 11, reconocimiento 20	
	<pre> T₁ T TgtgCCTACac-5' G AcacGGATGtg-3' T₁ T₁ gtgtctt acag-tccattctg-3' Adaptador 3' - ...cacagaa-tgtc aggtaagac.. sustrato-5' </pre>
Caso IV (Caso II girado 180 grados)	
Tallo 11, bucle 4, tallo 11, reconocimiento 17	
	<pre> 3' - gtGTAGGcacc T₁ T₁ T caCATCCgtgg T₁ C T₁ T₁ 5' - atcgag tctc-actgagc Sustrato 3' - ...tagctc-agag tgactcg...-5' </pre>
BseRI	
	<pre> sitios de escisión 5' - cacGAGGAGnnnnnnnnnn nnnnn-3' 3' - gtgctcctcnnnnnnnnn nnnnnn-5' RECONO cimiento de BseRI </pre>
Tallo 11, bucle 5, tallo 11, reconocimiento 19	
	<pre> 3' -gaacat cg-ttaagccagta.....5' T₁ T₁ T cttgta-gc aattcgggtcat-3' C GCTGAGGAGTC-3' T cgactcctcag-5' T₁ </pre> <p>Un adaptador para BseRI para escindir el sustrato anterior.</p>

! AIII...

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

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

(VH881PCR) 5'-cgCttcacTaag|TCT|AGA|gac|aac-3'

Tabla 17: Kappa, bases 12-30

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

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

Tabla 18 Adaptadores URE de Lambda bases 13.3 a 19.3

Número de secuencias 128									
Número de emparejamientos erróneos									
Id	Nrot	0	1	2	3	4	5	6	7 8 Nombre Secuencia Forma punteada
1	58	45	7	1	0	0	2	2	1 · VL133-2a2 gtccttggacagtcgac gtccttggacagtcgac
2	16	10	1	0	1	0	1	0	2 VL133-3l ggcccttgggacagacagtc .g.cttg.....a.ag.
3	17	6	0	0	4	1	1	5	0 VL133-2c gtccttggacagtcagtcag.
4	37	3	0	10	4	4	3	7	4 2 VL133-1c ggccccagggcagagggtc .g.c.a.g....ag.g.
128	64	8	11	5	8	5	11	11	5
64	72	83	88	96	101	112	123	128	
Tallo Bucle , Tallo Reconocimiento									
(VL133-2a2) 5'-cAcATccgTg TTgTT cAcggATgTg gATcgAcTgTccAaggAgAc-3'									
[RC] 5'-gtctcttggacagtcgac cAcATccgTg AAcAA cAcggATgTg-3'									
Reconocimiento Tallo Bucle , Tallo									
Tallo Bucle , Tallo Reconocimiento									
(VL133-3l) 5'-cAcATccgTg TTgTT cAcggATgTg gAcTgTcTgTccAaggcc-3'									
[RC] 5'-ggcccttgggacagacagtc cAcATccgTg AAcAA cAcggATgTg-3'									
Reconocimiento Tallo Bucle , Tallo									
Tallo Bucle , Tallo Reconocimiento									
(VL133-2c) 5'-cAcATccgTg TTgTT cAcggATgTg gAcTgAcTgTccAaggAgAc-3'									
[RC] 5'-gtctcttggacagtcagtc cAcATccgTg AAcAA cAcggATgTg-3'									
Reconocimiento Tallo Bucle , Tallo									
Tallo Bucle , Tallo Reconocimiento									
(VL133-1c) 5'-cAcATccgTg TTgTT cAcggATgTg gAcTcTgcccTggggcc-3'									
[RC] 5'-ggccccagggcagagggtc cAcATccgTg AAcAA cAcggATgTg-3'									

Qué pasa en la cadena superior:

```

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

```

```

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

```

Tabla 19: Escisión de 75 cadenas ligeras humanas.

Enzima	Reconocimiento*	Nch	Ns	Localización planeada del sitio
AfeI	AGCgct	0	0	
Af1II	Cttaag	0	0	HC FR3
AgeI	Accggt	0	0	
AscI	GGcgcc	0	0	Después de LC
BglII	Agatct	0	0	
BsiWI	Cgtacg	0	0	
BspDI	ATcgat	0	0	
BssHII	Gcgccg	0	0	
BstBI	TTcgaa	0	0	
DrallI	CACNNNgTg	0	0	
EagI	Cggccg	0	0	
FseI	GGCCGGcc	0	0	
FspI	TGCgca	0	0	
HpaI	GTTaac	0	0	
MfeI	Caattg	0	0	HC FR1
MluI	Acgctg	0	0	
NcoI	Ccatgg	0	0	Señal de cadena pesada
NheI	Gctagc	0	0	HC/conector de anclaje
NotI	GCggccgc	0	0	In conector después de HC
NruI	TCGcga	0	0	

Enzima	Reconocimiento*	Nch	Ns	Localización planeada del sitio
PacI	TTAATtaa	0	0	
PmeI	GTTTaaac	0	0	
PmlI	CACgtg	0	0	
PvuI	CGATcg	0	0	
SacII	CCGCgg	0	0	
Sall	Gtcgac	0	0	
SfiI	GGCCNNNNnggcc	0	0	Señal de Cadena Pesada
Sgfi	GCGATcgc	0	0	
SnaBI	TACgta	0	0	
StuI	AGGcct	0	0	
XbaI	Tctaga	0	0	HC FR3
AatII	GACGTc	1	1	
AclI	AAcgtt	1	1	
Asel	ATtaat	1	1	
BsmI	GAATGCN	1	1	
BspEI	Tccgga	1	1	HC FR1
BstXI	CCANNNNNTGG	1	1	HC FR2
DrdI	GACNNNNnngtc	1	1	
HindIII	Aagctt	1	1	
PciI	Acatgt	1	1	
SapI	gaagagc	1	1	
Scal	AGTact	1	1	
SexAI	Accwgg	1	1	
SpeI	Actagt	1	1	
TliI	Ctcgag	1	1	
XhoI	Ctcgag	1	1	
BcgI	cgannnnntgc	2	2	

Enzima	Reconocimiento*	Nch	Ns	Localización planeada del sitio
BlnI	GCtnagc	2	2	
BssSI	Ctcgtg	2	2	
BstAPI	GCANNNNntgc	2	2	
Espl	GCtnagc	2	2	
KasI	Ggcgcc	2	2	
PfiMI	CCANNNNntgg	2	2	
XmnI	GAANNnnttc	2	2	
ApaLI	Gtgcac	3	3	seq señal LC
NaeI	GCCggc	3	3	
NgoMI	Gccggc	3	3	
PvuII	CAGctg	3	3	
RsrII	CGgwccg	3	3	
BsrBI	GAGcgg	4	4	
BsrDI	GCAATGNNn	4	4	
BstZ17I	GTAtac	4	4	
EcoRI	Gaattc	4	4	
SphI	GCATGc	4	4	
SspI	AATatt	4	4	
AccI	GTmkac	5	5	
BclI	Tgatca	5	5	
BsmBI	Nnnnnngagacg	5	5	
BsrGI	Tgtaca	5	5	
Oral	TTTaaa	6	6	
NdeI	CAatg	6	6	HC FR4
Swal	ATTTaaat	6	6	
BamHI	Ggatcc	7	7	
SacI	GAGCTc	7	7	

Enzima	Reconocimiento*	Nch	Ns	Localización planeada del sitio
BciVI	GTATCCNNNNNN	8	8	
BsaBI	GATNNnnatc	8	8	
Nsil	ATGCA ^t	8	8	
Bsp120I	Gggccc	9	9	CH1
Apal	GGGCCc	9	9	CH1
PspOOM1	Gggccc	9	9	
BspHI	Tcatga	9	11	
EcoRV	GATatc	9	9	
AhdI	GACNNNngtc	11	11	
BbsI	GAAGAC	11	14	
Psil	TTA ^{ta}	12	12	
BsaI	GGTCTC ^{Nnnnn}	13	15	
XmaI	Cccggg	13	14	
AvaI	Cycgrg	14	16	
BglI	GCCNNNNnggc	14	17	
AlwNI	CAGNNNctg	16	16	
BspMI	ACCTGC	17	19	
XcmI	CCANNNNNnnntgg	17	26	
BstEII	Ggt ^{nacc}	19	22	HC FR4
Sse8387I	CCTGCA ^{gg}	20	20	
AvrII	Cctagg	22	22	
HincII	GTYrac	22	22	
BsgI	GTGCAG	27	29	
MscI	TGGcca	30	34	
BseRI	NNnnnnnnnctcctc	32	35	
Bsu36I	CCtnagg	35	37	
PstI	CTGCA ^g	35	40	

Enzima	Reconocimiento*	Nch	Ns	Localización planeada del sitio
Ecil	nnnnnnnnntccgcc	38	40	
PpuMI	RGgwccy	41	50	
Styl	Ccwwgg	44	73	
EcoO109I	RGgnccy	46	70	
Acc65I	Ggtacc	50	51	
KpnI	GGTACc	50	51	
BpmI	ctccag	53	82	
Avall	Ggwcc	71	124	

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

Tabla 20: Escisión de 79 cadenas pesadas humanas

Enzima	Reconocimiento	Nch	Ns	Localización planeada del sitio
AfeI	AGCgct	0	0	
AflII	Cttaag	0	0	HC FR3
Ascl	GGcgcgcc	0	0	Después de LC
BsiWI	Cgtacg	0	0	
BspDI	ATcgat	0	0	
BssHII	Gcgcgc	0	0	
FseI	GGCCGGcc	0	0	
HpaI	GTTaac	0	0	
NheI	Gctagc	0	0	Conector HC
NotI	Gcggccgc	0	0	En conector, HC/anclaje
NruI	TCGcga	0	0	
NsiI	ATGCAt	0	0	
Pacl	TTAATtaa	0	0	
PciI	Acatgt	0	0	
PmeI	GTTTaaac	0	0	

Enzima	Reconocimiento	Nch	Ns	Localización planeada del sitio
PvuI	CGATcg	0	0	
RsrII	CGgwccg	0	0	
SapI	gaagagc	0	0	
SfiI	GGCCIJNNNnggcc	0	0	Seq señal HC
Sgfi	GCGATcgc	0	0	
Swal	ATTTaaat	0	0	
AclI	AAcggt	1	1	
AgeI	Accggt	1	1	
Asel	ATtaat	1	1	
AvrII	Cctagg	1	1	
BsmI	GAATGCN	1	1	
BsrBI	GAGcgg	1	1	
BsrDI	GCAATGNNn	1	1	
DraI	TTTaaa	1	1	
FspI	TGCgca	1	1	
HindIII	Aagctt	1	1	
MfeI	Caattg	1	1	HC FR1
NaeI	GCCggc	1	1	
NgoMI	Gccggc	1	1	
SpeI	Actagt	1	1	
Acc65I	Ggtacc	2	2	
BstBI	TTcgaa	2	2	
KpnI	GGTACc	2	2	
MluI	Acgcgt	2	2	
NcoI	Ccatgg	2	2	Seq señal En HC
NdeI	CAtatg	2	2	HC FR4
PmlI	CACgtg	2	2	

Enzima	Reconocimiento	Nch	Ns	Localización planeada del sitio
XcmI	CCANNNNNnnnntgg	2	2	
BcgI	cgannnnnntgc	3	3	
BclI	Tgatca	3	3	
BglI	GCCNNNNnggc	3	3	
BsaBI	GATNNnnatc	3	3	
BsrGI	Tgtaca	3	3	
SnaBI	TACgta	3	3	
Sse8387I	CCTGCAGg	3	3	
ApaLI	Gtgcac	4	4	Señal LC/FR1
BspHI	Tcatga	4	4	
BssSI	Ctcgtg	4	4	
Psil	TTAtaa	4	5	
SphI	GCATGc	4	4	
AhdI	GACNNNNngtc	5	5	
BspEI	Tccgga	5	5	HC FR1
MscI	TGGcca	5	5	
SacI	GAGCTc	5	5	
Scal	AGTact	5	5	
SexAI	AccwggT	5	6	
Sspl	AATatt	5	5	
TliI	Ctcgag	5	5	
XhoI	Ctcgag	5	5	
BbsI	GAAGAC	7	8	
BstAPI	GCANNNNntgc	7	8	
BstZ17I	GTAtac	7	7	
EcoRV	GATatc	7	7	
EcoRI	Gaattc	8	8	

Enzima	Reconocimiento	Nch	Ns	Localización planeada del sitio
BlnI	GCtnagc	9	9	
Bsu36I	CCtnagg	9	9	
DraIII	CACNNNgtg	9	9	
EspI	GCtnagc	9	9	
StuI	AGGcct	9	13	
XbaI	Tctaga	9	9	HC FR3
Bsp120I	Gggccc	10	11	CH1
ApaI	GGGCCc	10	11	CH1
PspOoMI	Gggccc	10	11	
BciVI	GTATCCNNNNNN	11	11	
SaII	Gtcgac	11	12	
DrdI	GACNNNNnngtc	12	12	
KasI	Ggcgcc	12	12	
XmaI	Cccggg	12	14	
BglII	Agatct	14	14	
HincII	GTYrac	16	18	
BamHI	Ggatcc	17	17	
PfiMI	CCANNNNntgg	17	18	
BsmBI	Nnnnnngagacg	18	21	
BstXI	CCANNNNNntgg	18	19	HC FR2
XmnI	GAANNnttc	18	18	
SacII	CCGCgg	19	19	
PstI	CTGCAg	20	24	
PvuII	CAGctg	20	22	
AvaI	Cycgrg	21	24	
EagI	Cggccg	21	22	
AatII	GACGTc	22	22	

Enzima	Reconocimiento	Nch	Ns	Localización planeada del sitio
BspMI	ACCTGC	27	33	
AccI	GTmkac	30	43	
StyI	Ccwwgg	36	49	
AlwNI	CAGNNNctg	38	44	
BsaI	GGTCTCNnnnn	38	44	
PpuMI	RGgwccy	43	46	
BsgI	GTGCAG	44	54	
BseRI	NNnnnnnnnctcctc	48	60	
Ecil	nnnnnnnnntccgcc	52	57	
BstEII	Ggtnacc	54	61	HC Fr4, 47/79 tienen uno
EcoO109I	RGgnccy	54	86	
Bpml	ctccag	60	121	
Avall	Ggwcc	71	140	

Tabla 21: MALIA3, anotado

! MALIA3 9532 bases

```

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

```

```

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

```

```

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

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

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

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

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

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

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

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

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

```

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

143 144 145 146 147 148 149 150 151 152
A S T K G P S V F P
2769 gcc tcc acc aaG GGC CcA tCG GTC TTC ccc
BspI20I.
ApaI....

153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165 166 167
L A P S S K S T S G G T A A L
2799 ctg gca ccC TCC TCc aag agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg
BseRI... (2/2)

168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180 181 182
G C L V K D Y F P E P V T V S
2844 ggc tgc ctg GTC AAG GAC TAC TTC CCc gaA CCG GTg acg gtg tCG
AgeI....

183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195 196 197
W N S G A L T S G V H T F P A
2889 tgg aac tca GGC GCC ctg acc agc ggc gtc cac acc ttc ccg gct
KasI... (1/4)

198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210 211 212
V L Q S S G L Y S L S S V V T
2934 gtc cta cag tCt agc GGa ctc tac tcc ctc agc agc gta gtg acc
(Bsu36I...) (inactivado)

213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225 226 227
V P S S S L G T Q T Y I C N V
2979 gtg ccC tCt tct agc tTG Ggc acc cag acc tac atC tgc aac gtg
(BstXI.....) N.B. destrucción de sitios BstXI y Bpml.

228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239 240 241 242
N H K P S N T K V D K K V E P
3024 aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aaa gtt gag ccc

243 244 245
K S C A A A H H H H H H S A
3069 aaa tct tgt GCG GCC GcT cat cac cac cat cat cac tct gct
NotI.....

E Q K L I S E E D L N G A A
3111 gaa caa aaa ctc atc tca gaa gag gat ctg aat ggt gcc gca

D I N D D R M A S G A
3153 GAT ATC aac gat gat cgt atg gct AGC ggc gcc
sitio de escisión de rEK..... NheI... KasI...
EcoRV..

Dominio 1 -----
A E T V E S C L A
3183 gct gaa act gtt gaa agt tgt tta gca

K P H T E I S F
3210 aaa ccc cat aca gaa aat tca ttt

T N V W K D D K T
3234 aCT AAC GTC TGG AAA GAC GAC AAA Act

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

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

!      329 330 331 332 333 334 335 336 337 338 339 340 341 342 343
!      i  I  D  L  C  T  V  S  I  K  K  G  N  S  N  E
!      iv                                     M1 K
5730 att gat tta tgt act gtt tcc att aaa aaa ggt aat tca aAT Gaa
Comienzo de IV

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

```

```

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

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

```

Tabla 21B: Secuencia de MALIA3, condensada

LOCUS ORIGIN	MALIA3	9532	CIRCULAR
1	AATGCTACTA	CTATTAGTAG	AATTGATGCC
61	ATAGCTAAAC	AGGTTATTGA	CCATTTGCGA
121	CGTTCGCAGA	ATTGGGAATC	AACGTGTACA
181	GTTGCATATT	TAAAAACATG	TGAGCTACAG
241	TCCGCAAAAA	TGACCTCTTA	TCAAAAGGAG
361	TCTTTCGGGC	TTCTCTTTAA	TCTTTTTGAT
421	CAGGGTAAAG	ACCTGATTTT	TGATTTATGG
481	TTTGAGGGGG	ATTCAATGAA	TATTTATGAC
541	AAACATTTTA	CTATTACCCC	CTCTGGCAAA
601	GGTTTTTATC	GTCGTCTGGT	AAACGAGGGT
661	AATTCCTTTT	GGCGTTATGT	GTTGAATGTG
721	ATGAATCTTT	CTACCTGTAA	TAATGTTGTT
781	TCTTCCCAAC	GTCCTGACTG	GTATAATGAG
841	CAATGATTAA	AGTTGAAATT	AAACCATCTC
901	CAGGTCAGGG	CAAGCCTTAT	TTACTGAATG
961	AATATCCGGT	TCTTGTCAAG	ATTACTCTTG
1021	TGTACACCGT	TCATCTGTCC	TCTTTCAAAG
1081	GTCGCGCCT	CGTTCCGGCT	AAGTAACATG
1141	CAGGCGATGA	TACAAATCTC	CGTTGTACTT
1201	CAAAGATGAG	TGTTTTAGTG	TATTTCTTCG
1261	GTGGCATTAC	GTATTTTACC	CGTTTAAATG
1321	CAAAGCCTCT	GTAGCCGTTG	CTACCCTCGT
1381	CGATCCCGCA	AAAGCGGCCT	TTACTCCCTT
1441	TGCGTGGGCG	ATGGTTGTTG	TCATTGTCCG
1501	ATTCACCTCG	AAAGCAAGCT	GATAAACCGA
1561	TTTTTGGAGA	TTTTCAACGT	GAAAAAATTA
1621	TATTCTCACA	GTGCACAGTC	TGTCGTGACG
1681	CAGAGGGTCA	CCATCTCCTG	CACTGGGAGC
1741	CACTGGTACC	AGCAGCTTCC	AGGAACAGCC
1801	CGGCCCTCAG	GGGTCCCTGA	CCGATTCTCT
1861	GCCATCACTG	GGCTCCAGGC	TGAGGATGAG
1921	AGCCTGAGTG	GCCTTTATGT	CTTCGGAAGT
1981	AAGGCCAACC	CCACTGTAC	TCTGTTCCCG
2041	GCCACACTAG	TGTGTCTGAT	CAGTGACTTC
2101	GCAGATAGCA	GCCCCGTCAA	GGCGGGAGTG
2161	AACAAGTACG	CGGCCAGCAG	CTATCTGAGC
2221	AGCTACAGCT	GCCAGGTCAC	GCATGAAGGG
2281	GAATGTTTCA	AATAAACCGC	CTCCACCGGG
2341	TAATGAAATA	CCTATTGCCT	ACGGCAGCCG
2401	CCATGGCCGA	AGTTCAATTG	TTAGAGTCTG
2461	TACGTCTTTC	TTGCGCTGCT	TCCGGATTCA
2521	GCCAAAGCTC	TGGTAAAGGT	TTGGAGTGGG
2581	CTTACTATGC	TGACTCCGTT	AAAGGTCGCT
2641	CTCTCTACTT	GCAGATGAAC	AGCTTAAAGG
2701	AAGACTATGA	AGGTACTGGT	TATGCTTTTC
2761	TCTCTAGTGC	CTCCACCAAG	GGCCCCATCG
2821	CCTCTGGGGG	CACAGCGGCC	CTGGGCTGCC
2881	CGGTGTCTGT	GAACTCAGGC	GCCCTGACCA
2941	AGTCTAGCGG	ACTCTACTCC	CTCAGCAGCG
3001	CCCAGACCTA	CATCTGCAAC	GTGAATCACA
3061	TTGAGCCCAA	ATCTTGTCGG	GCCGCTCATC
3121	TCATCTCAGA	AGAGGATCTG	AATGGTGCCG
3181	CCGCTGAAAC	TGTTGAAAGT	TGTTTAGCAA
3241	TCTGGAAAGA	CGACAAAAC	TTAGATCGTT
			ACGCTAACTA
			TGAGGGTTGT
			CTGTGGAATG

3301	CTACAGGCGT	TGTAGTTTGT	ACTGGTGACG	AAACTCAGTG	TTACGGTACA	TGGGTTCCCTA
3361	TTGGGCTTGC	TATCCCTGAA	AATGAGGGTG	GTGGCTCTGA	GGGTGGCGGT	TCTGAGGGTG
3421	GCGGTTCTGA	GGGTGGCGGT	ACTAAACCTC	CTGAGTACGG	TGATACACCT	ATTCCGGGCT
3481	ATACTTATAT	CAACCCCTCTC	GACGGCACTT	ATCCGCCTGG	TACTGAGCAA	AACCCCGCTA
3541	ATCCTAATCC	TTCTCTTGAG	GAGTCTCAGC	CTCTTAATAC	TTTCATGTTT	CAGAATAATA
3601	GGTTCGAAA	TAGGCAGGGG	GCATTAACCTG	TTTATACGGG	CACTGTTACT	CAAGGCACCTG
3661	ACCCGCTTAA	AACTTATTAC	CAGTACACTC	CTGTATCATC	AAAAGCCATG	TATGACGCTT
3721	ACTGGAACGG	TAAATTGAGA	GACTGCGCTT	TCCATTCTGG	CTTTAATGAA	GATCCATTCCG
3781	TTTGTGAATA	TCAAGGCCAA	TCGTCTGACC	TGCCTCAACC	TCCTGTCAAT	GCTGGCGGCG
3841	GCTCTGGTGG	TGGTTCTGGT	GGCGGCTCTG	AGGGTGGTGG	CTCTGAGGGT	GGCGGTTCTG
3901	AGGGTGGCGG	CTCTGAGGGA	GGCGGTTCCG	GTGGTGGCTC	TGGTCCCGGT	GATTTTGATT
3961	ATGAAAAGAT	GGCAAACGCT	AATAAGGGGG	CTATGACCGA	AAATGCCGAT	GAAAACGCGC
4021	TACAGTCTGA	CGCTAAAGGC	AAACTTGATT	CTGTGCTAC	TGATTACGGT	GCTGCTATCG
4081	ATGGTTTCAT	TGGTGACGTT	TCCGGCCTTG	CTAATGGTAA	TGGTGCTACT	GGTGATTTTG
4141	CTGGCTTAA	TTCCCAAATG	GCTCAAGTCG	GTGACGGTGA	TAATTCACCT	TTAATGAATA
4201	ATTTCCGTCA	ATATTTACCT	TCCCTCCCTC	AATCGGTTGA	ATGTCGCCCT	TTTGTCTTTA
4261	GCGCTGTGAA	ACCATATGAA	TTTTCTATTG	ATTGTGACAA	AATAAACTTA	TTCCGTGGTG
4321	TCTTTGCGTT	TCTTTTATAT	GTTGCCACCT	TTATGTATGT	ATTTTCTACG	TTTGCTAACA
4381	TAGTTCGCTA	TAAGGAGTCT	TAATCATGCC	AGTTCTTTTG	GGTATTCGCG	GATTTATGCG
4441	TTTCCTCGGT	TTCTTCTGCG	TAACCTTTGTT	CGGCTATCTG	CTTACTTTTC	TTAAAAAGGG
4501	CTTCGCTAAG	ATAGCTATTG	CTATTTTCATT	GTTTCTTGCT	CTTATTATTG	GGCTTAACCTC
4561	AATTCCTGTG	GGTTATCTCT	CTGATATTAG	CGCTCAATTA	CCCTCTGACT	TTGTTTCAGGG
4621	TGTTCACTTA	ATTCTCCCGT	CTAATGCGCT	TCCCTGTTTT	TATGTTATTTC	TTCTGTAAAA
4681	GGCTGCTATT	TTCATTTTTG	ACGTTAAACA	AAAAATCGTT	TCTTATTTGG	ATTGGGATAA
4741	ATAATATGGC	TGTTTATTTT	GTAACCTGGCA	AATTAGGCTC	TGGAAAGACG	CTCGTTAGCG
4801	TTGGTAAGAT	TCAGGATAAA	ATTGTAGCTG	GGTGCAAAAT	AGCAACTAAT	CTTGATTTAA
4861	GGTTCAAAAA	CCTCCGCAAA	TCGGGAGGTT	TCGCTAAAAA	GCCTCGCGTT	CTTAGAATAC
4921	CGGATAAGCC	TTCTATATCT	GATTTGCTTG	CTATTGGGCG	CGGTAATGAT	TCCTACGATG
4981	AAAATAAAAA	CGGCTTGCTT	GTTCTCGATG	AGTGCGGTAC	TTGGTTTAAT	ACCCGTTCTT
5041	GGAAATGATA	GGAAAGACAG	CCGATTATTG	ATTGGTTTCT	ACATGCTCGT	AAATTAGGAT
5101	GGGATATTAT	TTTTCTTGTT	CAGGACTTAT	CTATTGTTGA	TAAACAGGCG	CGTCTGCAT
5161	TAGCTGAACA	TGTTGTTTAT	TGTCGTCGTC	TGGACAGAAAT	TACTTTACCT	TTTGTGCGTA
5221	CTTTATATTC	TCTTATTACT	GGCTCGAAAA	TGCCTCTGCC	TAAATTACAT	GTTGGCGTTG
5281	TTAAATATGG	CGATTCTCAA	TTAAGCCCTA	CTGTTGAGCG	TTGGCTTTAT	ACTGGTAAGA
5341	ATTTGTATAA	CGCATATGAT	ACTAAACAGG	CTTTTTCTAG	TAATTATGAT	TCCGGTGTTT
5401	ATTCTTATTT	AACGCCTTAT	TTATCACACG	GTCGGTATTT	CAAACCATTA	AATTTAGGTC
5461	AGAAGATGAA	ATTAACATAA	ATATATTTGA	AAAAGTTTTC	TCGCGTTCTT	TGCTTTGCGA
5521	TTGGATTGTC	ATCAGCATTT	ATATATAAGT	ATATAACCCA	ACCTAAGCCG	GAGGTTAAAA
5581	AGGTAGTCTC	TCAGACCTAT	GATTTTGATA	AATTCACCTAT	TGACTCTTCT	CAGCGTCTTA
5641	ATCTAAGCTA	TCGTATGTT	TTCAAGGATT	CTAAGGGAAA	ATTAATTAAT	AGCGACGATT
5701	TACAGAAGCA	AGGTTATTCA	CTCACATATA	TTGATTTATG	TACTGTTTCC	ATTAAAAAAG
5761	GTAATTCAAAA	TGAAATTGTT	AAATGTAATT	AATTTTGTTT	TCTTGATGTT	TGTTTCATCA
5821	TCTTCTTTTG	CTCAGGTAAT	TGAAATGAAT	AATTCGCCCTC	TGCGCGGATT	TGTAACCTGG
5881	TATTCAAAGC	AATCAGGCGA	ATCCGTTATT	GTTTCTCCCG	ATGTAAAAGG	TACTGTTACT
5941	GTATATTTCAT	CTGACGTTAA	ACCTGAAAAT	CTACGCAATT	TCTTTATTTT	TGTTTTACGT
6001	GCTAATAATT	TTGATATGGT	TGGTTCAATT	CCTTCCATAA	TTCAGAAGTA	TAATCCAAAC
6061	AATCAGGATT	ATATTGATGA	ATTGCCATCA	TCTGATAATC	AGGAATATGA	TGATAATTCC
6121	GCTCCTTCTG	GTGGTTTCTT	TGTTCCGCAA	AATGATAATG	TTACTCAAAC	TTTTAAAAAT
6181	AATAACGTTT	GGGCAAAGGA	TTTAATACGA	GTTGTGCAAT	TGTTTGTAAT	GTCTAATACT
6241	TCTAAATCCT	CAAATGTATT	ATCTATTGAC	GGCTCTAATC	TATTAGTTGT	TTCTGCACCT
6301	AAAGATATTT	TAGATAACCT	TCCTCAATTC	CTTTCTACTG	TTGATTTGCC	AACTGACCAG
6361	ATATTGATTG	AGGGTTTGAT	ATTTGAGGTT	CAGCAAGGTG	ATGCTTTAGA	TTTTTCATTT
6421	GCTGCTGGCT	CTCAGCGTGG	CACTGTTGCA	GGCGGTGTTA	ATACTGACCG	CCTCACCTCT
6481	GTTTTATCTT	CTGCTGGTGG	TTGCTTCCGT	ATTTTTAATG	GCGATGTTTT	AGGGCTATCA
6541	GTTGCGGCAT	TAAAGACTAA	TAGCCATTCA	AAAATATTGT	CTGTGCCACG	TATTCTTACG
6601	CTTTCAGGTC	AGAAGGGTTC	TATCTCTGTT	GGCCAGAATG	TCCCTTTTAT	TACTGGTTCGT
6661	GTGACTGGTG	AATCTGCCAA	TGTAAATAAT	CCATTTTCAGA	CGATTGAGCG	TCAAAATGTA
6721	GGTATTTCCA	TGAGCGTTTT	TCCTGTTGCA	ATGGCTGGCG	GTAATATTGT	TCTGGATATT

6781	ACCAGCAAGG	CCGATAGTTT	GAGTTCCTCT	ACTCAGGCAA	GTGATGTTAT	TACTAATCAA
6841	AGAAGTATTG	CTACAACGGT	TAATTTGCGT	GATGGACAGA	CTCTTTTACT	CGGTGGCCTC
6901	ACTGATTATA	AAAACACTTC	TCAAGATTCT	GGCGTACCGT	TCCTGTCTAA	AATCCCTTTA
6961	ATCGGCCTCC	TGTTTAGCTC	CCGCTCTGAT	TCCAACGAGG	AAAGCACGTT	ATACGTGCTC
7021	GTCAAAGCAA	CCATAGTAGC	CGCCCTGTAG	CGCGCATTAA	AGCGCGGCGG	GTGTGGTGGT
7081	TACGCGCAGC	GTGACCGCTA	CACTTGCCAG	CGCCCTAGCG	CCCGCTCCTT	TCGCTTTCCT
7141	CCCTTCCTTT	CTCGCCACGT	TCGCCGGCTT	TCCCCGTCAA	GCTCTAAATC	GGGGGCTCCC
7201	TTTAGGGTTC	CGATTTAGTG	CTTTACGGCA	CCTCGACCCC	AAAAAAGTTG	ATTTGGGTGA
7261	TGGTTCACGT	AGTGGGCCAT	CGCCCTGATA	GACGGTTTTT	CGCCCTTTGA	CGTTGGAGTC
7321	CACGTTCTTT	AATAGTGGAC	TCTTGTTCCA	AACTGGAACA	ACACTCAACC	CTATCTCGGG
7381	CTATTCTTTT	GATTTATAAG	GGATTTTGCC	GATTCGGAA	CCACCATCAA	ACAGGATTTT
7441	CGCCTGCTGG	GGCAAACCAG	CGTGGACCGC	TTGCTGCAAC	TCTCTCAGGG	CCAGGCGGTG
7501	AAGGGCAATC	AGCTGTTGCC	CGTCTCACTG	GTGAAAAGAA	AAACCACCCT	GGATCCAAGC
7561	TTGCAGGTGG	CACTTTTCGG	GGAAATGTGC	GCGGAACCCC	TATTTGTTTA	TTTTTCTAAA
7621	TACATTCAAA	TATGTATCCG	CTCATGAGAC	AATAACCCTG	ATAAATGCTT	CAATAATATT
7681	GAAAAAGGAA	GAGTATGAGT	ATTCAACATT	TCCGTGTCGC	CCTTATTCCC	TTTTTTGCGG
7741	CATTTTGCCT	TCCTGTTTTT	GCTCACCCAG	AAACGCTGGT	GAAAGTAAAA	GATGCTGAAG
7801	ATCAGTTGGG	CGCACGAGTG	GGTTACATCG	AACTGGATCT	CAACAGCGGT	AAGATCCTTG
7861	AGAGTTTTCG	CCCCGAAGAA	CGTTTTCCAA	TGATGAGCAC	TTTTAAAGTT	CTGCTATGTC
7921	ATACACTATT	ATCCCGTATT	GACGCCGGGC	AAGAGCAACT	CGGTGCGCCG	GCGCGGTATT
7981	CTCAGAATGA	CTTGTTGAG	TACTCACAG	TCACAGAAAA	GCATCTTACG	GATGGCATGA
8041	CAGTAAGAGA	ATTATGCACT	GCTGCCATAA	CCATGAGTGA	TAACACTGCG	GCCAACCTTAC
8101	TTCTGACAAC	GATCGGAGGA	CCGAAGGAGC	TAACCGCTTT	TTTGACAAAC	ATGGGGGATC
8161	ATGTAACCTG	CCTTGATCGT	TGGGAACCGG	AGCTGAATGA	AGCCATACCA	AACGACGAGC
8221	GTGACACCAC	GATGCCTGTA	GCAATGCCAA	CAACGTTGCG	CAAACCTATTA	ACTGGCGAAC
8281	TACTTACTCT	AGCTTCCCGG	CAACAATTAA	TAGACTGGAT	GGAGGCGGAT	AAAGTTGCAG
8341	GACCACTTCT	GCGCTCGGCC	CTTCCGGCTG	GCTGGTTTAT	TGCTGATAAA	TCTGGAGCCG
8401	GTGAGCGTGG	GTCTCGCGGT	ATCATTGCAG	CACTGGGGCC	AGATGGTAAG	CCCTCCCGTA
8461	TCGTAGTTAT	CTACACGACG	GGGAGTCAGG	CAACTATGGA	TGAACGAAAT	AGACAGATCG
8521	CTGAGATAGG	TGCCCTCACTG	ATTAAGCATT	GGTAACTGTC	AGACCAAGTT	TACTCATATA
8581	TACTTTAGAT	TGATTTAAAA	CTTCATTTTT	AATTTAAAAG	GATCTAGGTG	AAGATCCTTT
8641	TTGATAATCT	CATGACCAAA	ATCCCTTAAC	GTGAGTTTTT	GTTCCACTGT	ACGTAAGACC
8701	CCCAAGCTTG	TCGACTGAAT	GGCGAATGGC	GCTTTGCCTG	GTTTCCGGCA	CCAGAAGCGG
8761	TGCCGGAAAG	CTGGCTGGAG	TGCGATCTTC	CTGAGGCCGA	TACTGTCTGC	GTCCCCCTCA
8821	ACTGGCAGAT	GCACGGTTAC	GATGCGCCCA	TCTACACCAA	CGTAACCTAT	CCCATTACGG
8881	TCAATCCGCC	GTTTGTTCCT	ACGGAGAATC	CGACGGGTTG	TTACTCGCTC	ACATTTAATG
8941	TTGATGAAAG	CTGGCTACAG	GAAGGCCAGA	CGCGAATTAT	TTTTGATGGC	GTTCCCTATTG
9001	GTTAAAAAAT	GAGCTGATTT	AACAAAAATT	TAACGCGAAT	TTTAACAAAA	TATTAACGTT
9061	TACAATTTAA	ATATTTGCTT	ATACAATCTT	CCTGTTTTTG	GGGCTTTTCT	GATTATCAAC
9121	CGGGGTACAT	ATGATTGACA	TGCTAGTTTT	ACGATTACCG	TTCATCGATT	CTCTTGTTTG
9181	CTCCAGACTC	TCAGGCAATG	ACCTGATAGC	CTTTGTAGAT	CTCTCAAAAA	TAGCTACCCT
9241	CTCCGGCATG	AATTTATCAG	CTAGAACGGT	TGAATATCAT	ATTGATGGTG	ATTTGACTGT
9301	CTCCGGCCTT	TCTCACCCCT	TTGAATCTTT	ACCTACACAT	TACTCAGGCA	TTGCATTTAA
9361	AATATATGAG	GGTTCTAAAA	ATTTTTATCC	TTGCGTTGAA	ATAAAGGCTT	CTCCCGCAAA
9421	AGTATTACAG	GGTCATAATG	TTTTTGGTAC	AACCGATTTA	GCTTTATGCT	CTGAGGCTTT
9481	ATTGCTTAAT	TTTGCTAATT	CTTTGCCTTG	CCTGTATGAT	TTATTGGATG	TT

Tabla 22: Cebadores usados en amplificación RACE:

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

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

Todos los ON están escritos 5' a 3'.	
REadapters (6)	
ON_20SK15012	gggAggATggAgAcTgggTc
ON_20SK15L12	gggAAgATggAgAcTgggTc
ON_20SK15A17	gggAgAgTggAgAcTgAgTc
ON_20SK15A27	gggTgccTggAgAcTgcgTc
ON_20SK15A11	gggTggcTggAgAcTgcgTc
ON_20SK15B3	gggAgTcTggAgAcTgggTc
Puentes (6)	
kapbri1012	gggAggATggAgAcTgggTcATcTggATgTcTTgTgcAcTgTgAcAgAgg
kapbri1L12	gggAAgATggAgAcTgggTcATcTggATgTcTTgTgcAcTgTgAcAgAgg
kapbrilA17	gggAgAgTggAgAcTgggTcATcTggATgTcTTgTgcAcTgTgAcAgAgg
kapbri1A27	gggTgccTggAgAcTgggTcATcTggATgTcTTgTgcAcTgTgAcAgAgg
kapbri1A11	gggTggcTggAgAcTgggTcATcTggATgTcTTgTgcAcTgTgAcAgAgg
kapbrilB3	gggAgTcTggAgAcTgggTcATcTggATgTcTTgTgcAcTgTgAcAgAgg
Extensor (5' biotinilado)	
kapextl bio	ccTcTgTcAcAgTgcAcAAgAcATccAgATgAcccAgTcTcc
Cebadores	
kaPCRTl	ccTcTgTcAcAgTgcAcAAgAc
kapfor	5'-aca ctc tcc cct gtt gaa gct ctt-3'

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

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

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

Tabla 25: h3401-h2 capturada Mediante CJ con BsmAI

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

```

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

```

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

```

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

```

```

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

```

```

(SFPRMET) 5'-ctg tct gaa cG GCC cag ccG-3'
(TOPFR1A) 5'-ctg tct gaa cG GCC cag ccG GCC atg gcc-
            gaa|gtt|CAA|TTG|tta|gag|tct|ggg|-
            |ggc|ggg|ctt|gtt|cag|cct|ggg|ggg|tct|tta-3'
(BOTFR1B) 3'-caa|gtc|gga|cca|cca|aga|aat|gca|gaa|aga|acg|cga|-
            |cga|agg|cct|aag|tga|aag-5' ! cadena inferior
(BOTFR2) 3'-acc|caa|gcg|-
            |gtt|cga|gga|cca|ttt|cca|aac|ctc|acc|caa|aga|-5' ! bottom strand
(BOTFR3) 3'- a|cga|ctg|agg|caa|ttt|cca|gcg|aag|-
            |tga|tag|aga|tct|ctg|ttg|aga|ttc|tta|tga|gag|atg|aac|gtc|tac|-
            |ttg|tcg|aat|tcc|cga|ctc|ctg|tga-5'
(F06) 5'-gC|TTA|AGg|gct|gag|gac|aCT|GCA|Gtc|tac|tat|tgc|gct|aaa|-
            |gac|tat|gaa|ggg|act|ggg|tat|gct|ttc|gaC|ATA|TGg|ggg|c-3'
(BOTFR4) 3'-cga|aag|ctg|tat|acc|cca|gtt|cca|-
            |tga|tac|cag|tgg|cag|aga|tca-
            cgg agg tgg ttc ccg ggt agc cag aag ggg-5' ! bottom strand
(BOTPRCPRIM) 3'-gg ttc ccg ggt agc cag aag ggg-5'

```

! CDR1 diversidad

```

!
! (ON-vgC1) 5'-|gct|TCC|GGA|ttc|act|ttc|tct|<1>|TAC|<1>|atg|<1>|
!      CDR1 .....6859
!      |tgg|gtt|cgC|CAa|gct|ccT|GG-3'

```

! <1> significa una mezcla equimolar de {ADEF GHIKLMNPQRSTVWY}; no C
(no es una secuencia)

! CDR2 diversidad

```

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

```

! <1> es una mezcla equimolar de {ADEF GHIKLMNPQRSTVWY}; no C

! <2> es una mezcla equimolar de {YR WVG S}; no ACDEF GHIKLMNPQT

! <3> es una mezcla equimolar de {PS}; no ACDEF GHIKLMNPQRTVWY

Tabla 28: Relleno usado en VH

1 TCCGGAGCTT CAGA TCTGTT TQCCTTTTGT TGGGGTGGTG CAGATCGCGT TACGGAGATC
 61 GACCGACTGC TTGAGCAAAA GCCACGCTTA ACTGCTGATC AGGCATGGGA TGTTATTGCG
 121 CAAACCAGTC GTCAGGATCT TAACCTGAGG CTTTTTTTAC CTA CTCTCTGCA AGCAGCGACA
 181 TCTGGTTTGA CACAGAGCGA TCCGCGTCGT CAGTTGGTAG AAACA TTAAC AC GTTGGGAT
 241 GGCA TCAATT TGCTTAATGA TGATGGTAA ACCTGGCAGC AGCCAGGCTC TGCCATCCTG
 301 AACGTTTGGC TGACCAGTAT GTTGAAGCGT ACCGTAGTGG CTGCCGTACC TATGCCATTT
 361 GATAAGTGGT ACAGCGCCAG TGGCTACGAA ACAACCCAGG ACGCCCCAAC TGGTTCGCTG
 421 AATAAAGTG TTGGAGCAAA AATTTTGTAT GAGGCGGTGC AGGGAGACAA ATCACC AATC
 481 CCACAGGCGG TTGATCTGTT TGCTGGGAAA CCACAGCAGG AGGTTGTGTT GGCTGCGCTG
 541 GAAGATACCT GGGAGACTCT TTCCAAACGC TATGGCAATA ATGTGAGTAA CTGGAAACA
 601 CCTGCAATGG CCTTAACGTT CCGGGCAAAT AATTCTTTG GTGTACCGCA GGCCGCGACG
 661 GAAGAAACGC GTCA TCAGGC GGAGTATCAA AACCGTGGA CAGAAACGA TATGATTGTT
 721 TTCTCACCAA CGACAAGCGA TCGTCTCTGT CTTGCTGCG ATGTGGTCCG ACCCGGTGAG
 781 AGTGGGTTTA TTGCTCCCGA TGGAACAGTT GATAAGCACT ATGAAGATCA GCTGAAAATG
 841 TACGAAAATT TTGGCCGTAA GTCGCTCTGG TTAACGAAGC AGGATGTGGA GGCGCATAG
 901 GAGTCGTCTA GA

Tabla 29: Secuencia de ADN de pCES5

```

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

```

!BciVI GTATCCNNNNNN	2	140	1667
!Eco57I CTGAAG	1	301	
!-"- ctcag	2	1349	
!AvaI Cycgrg	3	319	2347 6137
!BsiHKA I GWGCWc	3	401	2321 4245
!HgiA I GWGCWc	3	401	2321 4245
!BglI gcannnnntcg	1	461	
!ScaI AGTact	1	505	
!PvuI CGATcg	3	616	3598 5926
!FspI TGCgca	2	763	5946
!BglI GCCNNNNnggc	3	864	2771 5952
!BpmI CTGGAG	1	898	
!-"- ctccag	1	4413	
!BsaI GGTCTC Nnnnn	1	916	
!AhdI GACNNNNngtc	1	983	
!EamI I05I GACNNNNngtc	1	983	
!DrdI GACNNNNngtc	3	1768	6197 6579
!SapI gaagagc	1	1998	
!PvuII CAGctg	3	2054	3689 5896
!PflMI CCANNNNNntgg	3	2233	3943 3991
!HindIII Aagctt	1	2235	
!ApaLI Gtcac	1	2321	
!BspMI Nnnnnnnngcaggt	1	2328	
!-"- ACCTGCNNNNn	2	3460	
!PstI CTGCAG	1	2335	
!AccI GTmkac	2	2341	2611
!HincII GTYrac	2	2341	3730
!Sall Gtcgac	1	2341	
!TliI Ctcgag	1	2347	
!XhoI Ctcgag	1	2347	
!BbsI gcttc	2	2383	4219
!BipI GCtnagc	1	2580	
!EspI GCtnagc	1	2580	
!SgrAI CRccggyg	1	2648	
!AgeI Accggt	2	2649	4302
!AscI GGcgcc	1	2689	
!BssHII Gcgcc	1	2690	

!SfiI GGCCNNNNnggcc	1	2770	
!NaeI GCCggc	2	2776	6349
!NgoMIV Gccggc	2	2776	6349
!BtgI Ccrygg	3	2781	3553 5712
!DsaI Ccrygg	3	2781	3553 5712
!NcoI Ccatgg	1	2781	
!StyI Ccwwgg	3	2781	4205 4472
!MfeI Caattg	1	2795	
!BspEI Tccgga	1	2861	
!BglII Agatct	1	2872	
!BclI Tgatca	1	2956	
!Bsu36I CCtnagg	3	3004	4143 4373
!XcmI CCANNNNNnnnnntgg	1	3215	
!MluI Acgcgt	1	3527	
!HpaI GTTaac	1	3730	
!XbaI Tctaga	1	3767	
!			
!AflII Cttaag	1	3811	
!BsmI NGcattc	1	3821	
!"- GAATGCN	1	4695	
!RsrII CGgwccg	1	3827	
!NheI Gctagc	1	4166	
!BstEII Ggtnacc	1	4182	
!BsmBI CGTCTCNnnnn	2	4188	6625
!"- Nnnnnngagacg	1	6673	
!ApaI GGGCCc	1	4209	
!BamI GRGCYc	3	4209	4492 6319
!BspI20I Gggccc	1	4209	
!PspOMI Gggccc	1	4209	
!BseRI NNnnnnnnnnctcctc	1	4226	
!"- GAGGAGNNNNNNNNNN	1	4957	
!EcoNI CCTNNnnnagg	1	4278	
!PfiFI GACNngtc	1	4308	
!TthI11I GACNngtc	1	4308	
!KasI Ggcgcc	2	4327	5967
!BstXI CCANNNNNntgg	1	4415	
!NotI GCggccgc	1	4507	

```

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

```

```

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

```



```

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

```

```

1441  tcgctctgct aatcctgtta ccagtggtcg ctgccagtg cgataagtcg tgcctaccg
1501  ggttggtact aagacgatag ttaccggata aggcgcagcg gtcgggctga acgggggggtt
1561  cgtgcataca gccagcctg gagcgaaacga cctacaccga actgagatac ctacagcgtg
1621  agcattgaga aagcgccacg ctcccgaag ggagaaaggc ggacagGTAT CCggttaagcg
!      BciVI.. (2 of 2)
1681  gcagggtcgg aacaggagag cgCACGAGgg agcttcagg gggaaacgcc tggtatctt
!      BssSI.(2/2)
1741  atagtcctgt cgggttgcg caccctgac ttgagcgctg attttgtga tgcctgtag
1801  gggggcggag cctatggaaa aacgccagca acgcgccctt ttacggctc ctggccttt
1861  gctggcctt tgcACATG Tctttcctg cgttatcccc tgattctgtg gataaccgta
!      PciI...
1921  ttaccgctt tgagttagct gataccgctc gccgcagccg aacgaccgag cgcagcgagt
1981  cagttagcga ggaagcgGAA GAGCgccccaa tacgcaaacc gcctctcccc gcgcgttggc
!      Sapl....
2041  cgattcatta atgCAGCTGg cagcagaggt ttcccgactg gaaagcgggc agtgagcgca
!      PvuII.(1/3)
2101  acgcaatTAA TGTgagtag ctactcatt aggcacccca ggcTTTACAc ttatgcttc
!      ..-35..   Plac      ..-10.
2161  cggctcgtat gttgtgtgga attgtgagcg gataacaati tcacaCAGGA AACAGCTATG
!      M13Rev_seq_primer
2221  ACcatgatta cgCCAAGCTT TGGagcctt ttttggaga ttitcaac
!      PfiMI.....
!      Hind3.
!  señal::conector::CLigera
!
!      1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
!      fM K K L L F A I P L V V P F Y
2269  gtg aaa aaa tta tta ttc gca att cct tta gtt gtt cct ttc tat
!
!      Conector ..... Final de FR4
!      16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30
!      S H S A Q V Q L Q V D L E I K
2314  tct cac aGT GCA Cag gtc caa CTG CAG GTC GAC CTC GAG atc aaa
!      ApaLI..... PstI... XhoI...
!      BspMI...
!      SalI...
!      AccI...(1/2)

```

```

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

```

```

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

```

```

!  ----FR1-----
!   46 47 48
!   A S G
! 2858 |gct|TCC|GGA|
!      | BspEI |
!
!   Relleno para CDR1, FR2 y CDR2 ----->
!   No hay codones de parada en este relleno.
! 2867          gcttcAGATC Tgtttgcctt
!              BglII..
! 2887 ttgtggggg ggtgcagatc gcgttacgga gatcgaccga ctgcttgagc aaaagccacg
! 2947 citaactgcT GATCAGgcat gggatgttat tcgccaaacc agtcgtcagg atcttaacct
!      BclI...
! 3007 gaggctttt ttacctactc tgcaagcagc gacatctggt ttgacacaga gcgatccgcg
! 3067 tcgtcagttg gtagaaacat taacacgttg ggaigggatc aatttgctta atgatgatgg
! 3127 taaaacctgg cagcagccag gctctgccat cctgaacgtt tggctgacca gtatgttgaa
! 3187 gcgtaccgta gtggctgccg tacctatgCC Atttgataag TGGtacagcg ccagtggcta
!      XcmI.....
! 3247 cgaacaacc caggacggcc caactggttc gctgaatata agtgttggag caaaaatttt
! 3307 gtagtagggc gtgcagggag acaaatcacc aatccacag gcggttgatc tgtttgctgg
! 3367 gaaaccacag caggaggttg tgttggttgc gctggagat accctgggaga cttttccaa
! 3427 acgctatggc aataatgtga gtaactggaa aacacctgca atggccttaa cgttccgggc
! 3487 aaataatttc ttgtgttac cgcaggccgc agcggaagaa ACGCGTcatc aggcggaglia
!      MluI..
! 3547 tcaaaaccgt ggaacagaaa acgatatgat tgttttcca ccaacgaca gcgatcgtcc
! 3607 tglgcttggc tgggatggg tcgcacccgg tcagagtggg ttatlgctc ccgatggaac
! 3667 agttgataag cactatgaag atcagctgaa aatgtacgaa aatttggcc gtaagtcgt
!      PvuII.
! 3727 ctgGTTAACg aagcaggatg tggaggcgca taaggagtgc
!      HpaI..
!      HincII(2/2)
!
!  -----FR3-----
!      4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16
!      93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105
!      S R D N S K N T L Y L Q M
! 3767 [TCT]AGA|gac|aac|tct|aag|aat|act|ctc|tac|ttg|cag|atg|

```

```

!      | XbaI |
!
!      ---FR3----->|
!      17 18 19 20
!      106 107 108 109
!      N S L s l s i r s g
3806 |aac|agC|TTA|AG t ctg agc att CGG TCC G
!      |AflII|      RsrII..
!
!      q h s p t .
3834 gg caa cat tct cca aac tga ccagacga cacaacggc
3872 ttacgctaaa tcccgcgcat gggatggtaa agagggtggcg tcttctgtgg cctggactca
3932 tcagatgaag gccaaaaatt ggcaggagtg gacacagcag gcagcgaaac aagcactgac
3992 catcaactgg tactatgctg atgtaaagg caatatgggt tatgttcata ctggtgctta
4052 tccagatcgt caatcaggcc algalccgag attacccgtt cctggtagcg gaaaatggga
4112 ctggaaaggg ctattgccit ttgaaatgaa ccctaagggt tataaccccc ag
4164 aa GCTAGC ctgcggcttc
!      NheI..
!
4182 G|GTC|ACC|      gtc tca agc
!      |BstEII|
!

!      136 137 138 139 140 141 142 143 144 145 146 147 148 149 150
!      A S T K G P S V F P L A P S S
4198 gcc tcc acc aag ggc cca tct gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc
!
!      151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165
!      K S T S G G T A A L G C L V K
4243 aag agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag
!
!      166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180
!      D Y F P E P V T V S W N S G A
4288 gac tac ttc ccc gaa ccg gtc acg glg tct tgg aac tca ggc gcc
!

```

```

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

```

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

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

```

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

```

! 571
!
5803 taa GAATTC
! EcoRI.
5812 actggccgt cgtttacaa cgtcgtgact gggaaaaccc tggcgttacc caacttaac
5871 gccttgcagc acatccccct ttgccagct ggcgtaatag cgaagaggcc cgcacCGATC
! Pvul..
5931 Gcccttccca acagtTGGCG Agcctgaatg gcgaatGGCG CCtgatgcgg tattttctcc
! ...Pvul... (3/3) FspI... (2/2) KasI...(2/2)
5991 ttacgatct gtgcggtatt tcacaccgca tataaattgt aaacgttaat attttgttaa
6051 aaticgcgtt aaattttgt taaatcagct cattttttaa ccaataggcc gaaatcggca
6111 aaatcccTTA TAAatcaaaa gaatagcccg agatagggtt gagtgttgtt ccagtttggga
! Psil..
6171 acaagagtcc actattaaag aacgtggact ccaacgtcaa agggcgaaaa accgtctatc
6231 agggcgatgg ccCACTacGT Gaaccatcac ccaaatcaag tttttgggg tcgagggtgcc
! DrallI....
6291 gtaaagcact aaatcggaaac cctaaaggga gcccccgatt tagagcttga cggggaaaGC
! NgoMIV..
6351 CGGCgaacgt ggcgagaaag gaagggaaga aagcgaaagg agcggggcgt agggcgctgg
! ..NgoMIV.(2/2)
6411 caagtgtagc ggtcacgctg cgcgtaacca ccacaccgc cgcgcttaac gcgccgttac
6471 agggcgcgta ctatggtgc ttgacgggt gcagtcacag tacaatctgc tctgatgccg
6531 calagttaag ccagccccga caccgcca caccgciga cgcgccctga cgggcttgc
6591 tgctcccggc atccgcttac agacaagctg tgaccgtctc cgggagctgc atgtgtcaga
6651 ggtttcacc gtcacaccg aaacgcgcga

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

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

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

Tabla 31: Oligonucleótidos Puente/Extensor

ON_Lam1aB7(rc)	GTGCTGACTCAGCCACCCTC.	20
ON_Lam2aB7(rc)	GCCCTGACTCAGCCTGCCTC.	20
ON_Lam31B7(rc)	GAGCTGACTCAGG.ACCCTGC	20
ON_Lam3rB7(rc)	GAGCTGACTCAGCCACCCTC.	20
ON_LamHf1cBrg(rc)	CCTCGACAGCGAAGTGCACAGAGCGTCTTGACTCAGCC.....	38
ON_LamHf1cExt	CCTCGACAGCGAAGTGCACAGAGCGTCTTG.....	30
ON_LamHf2b2Brg(rc)	CCTCGACAGCGAAGTGCACAGAGCGCTTTGACTCAGCC.....	38
ON_LamHf2b2Ext	CCTCGACAGCGAAGTGCACAGAGCGCTTTG.....	30
ON_LamHf2dBrg(rc)	CCTCGACAGCTAAGTGCACAGAGCGCTTTGACTCAGCC.....	38
ON_LamHf2dExt	CCTCGACAGCGAAGTGCACAGAGCGCTTTG.....	30
ON_LamHf31Brg(rc)	CCTCGACAGCGAAGTGCACAGAGCGAATTGACTCAGCC.....	38
ON_LamHf31Ext	CCTCGACAGCGAAGTGCACAGAGCGAATTG.....	30
ON_LamHf3rBrg(rc)	CCTCGACAGCGAAGTGCACAGTACGAATTGACTCAGCC.....	38
ON_LamHf3rExt	CCTCGACAGCGAAGTGCACAGTACGAATTG.....	30
ON_lamPlePCR	CCTCGACAGCGAAGTGCACAG.....	21
Consenso		

Tabla 32: Oligonucleótidos usados para hacer el ADNss localmente
bicatenario

Adaptadores (8)

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

Tabla 33: Pares Puente/extensor

Puentes (2)
H43.XABrl
5'ggtgtaagtgaTCTAGtgacaactctaagaatactctacttgcagatgaacagCTTtAgg ctgaggaacaCTGCAGtctactattgtgcgaga-3'
H43.XABr2
5'ggtgtaagtgaTCTAGtgacaactctaagaatactctacttgcagatgaacagCTTtAgg ctgaggaacaCTGCAGtctactattgtgcgaaa-3'
Extensor
H43.XAExt
5'ATAgTAGaCTgcAgTgTccTcAgccctTAagcTgTTCATcTgcAAgTAgaAgTATTcTTAg AgTtGtCTcTAGATcACTAcAcc-3'

Tabla 34: Cebadores de PCR

Cebadores	
H43.XAPCR2	gactgggTgTAgTgATcTAg
Hucmnest	ctttcttgttgccgtggggtg

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

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

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

! No cortadoras

! BclI Tgatca	BsiWI Cgtacg	BssSI Cacgag
! BstZ17I GTAtac	BtrI CACgtg	EcoRV GATatc
! FseI GGCCGGcc	HpaI GTTaac	MluI Acgcgt
! PmeI GTTTaaac	PmlI CACgtg	PpuMI RGgwccy
! RsrII CGgwccg	SapI GCTCTTC	SexAI Accwgg
! SgfI GCGATcgc	SgrAI CRccggyg	SphI GCATGc
! StuI AGGcct	XmaI Cccggg	

! cortadoras

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

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

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

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```



```

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

```

```

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

```

```

9045 atG ACT GAG AAC GCT GAC GAG aat gct ttg caa agc gat gcc aag ggt
      c a t c t a c g c a g t c t c t a c !W.T.
!
      K L D S V A T D Y G A A I D G F
9093 aag tta gac agc gTC GCG Acc gac tat GGC GCC gcc ATC GAc ggc ttt
      a c t t t c t t t c t t t t t t c !W.T.
      NruI.... KasI...(3/4)
!
      I G D V S G L A N G N G A T G D
9141 atc ggc gat gtc agt ggt tTG GCC Aac ggc aac gga gcc acc gga gac
      t t c t t c c c t t t t t t t t t !W.T.
      MscI...(3/3)
!
      F A G S N S Q M A Q V G D G D N
9189 ttc GCA GGT tcG AAT TCt cag atg gcC CAG GTT GGA GAT GGg gac aac
      t t c t t c a t a c t c t t t !W.T.
      BspMI.. (2/2) XcmI.....
      EcoRI...
!
      S P L M N N F R Q Y L P S L P Q
9237 agt ccg ctt atg aac aac ttt aga cag tac ctt ccg tct ctt ccg cag
      tca t t a t t c c t a t t a t c c t a !W.T.
!
      S V E C R P F V F S A G K P Y E
9285 agt gtc gag tgc cgt cca ttc gtt ttc tct gcc ggc aag cct tac gag
      tcg t a t c t t c t agc t t a a t a !W.T.
!
      F S I D C D K I N L F R
9333 ttc aGC Atc gac TGC gat aag atc aat ctt ttC CGC
      t t c t t t c a a c t a c t !W.T.
      BstAPI..... SacII...
      Final Dominio 3
!
      G V F A F L L Y V A T F M Y V F
9369 GGc gtt ttc gct ttc ttg cta tac gtc gct act ttc atg tac gtt ttc
      t c t g t c t t a t t c c t t a t !W.T.
      comienzo del segmento transmembrana
!
      S T F A N I L R N K E S
9417 aGC ACT TTC GCC AAT ATT TTA Cgc aac aaa gaa agc
      t c t g t t c a c g t t t a g t c t !W.T.
      Anclaje intracelular.
!
9453 tag tga tct CCT AGG
      AvrII..
!
9468 aag ccc gcc taa tga gcg ggc ttt ttt ttt ct ggt
      | terminador trp |
!
Final casete Fab
!
9503 ATGCAT CCTGAGG ccgat actgtcgtcg tcccctcaaa ctggcagatg
      NsiI.. Bsu36I. (3/3)
9551 cacggttacg atgcgcccac ctacaccaac gtgacctatc ccattacggt caatccgccc
9611 tttgttccca cggagaatcc gacgggttgt tactcgctca catttaatgt tgatgaaagc
9671 tggctacagg aaggccagac gcgaattatt tttgatggcg ttccatttgg ttaaaaaaatg
9731 agctgattta acaaaaaattt aaTgcgaatt ttaacaaaat attaacgttt acaATTAAAA
      SwaI...
9791 Tatttgctta tacaatcttc ctgttttttg ggcttttctg attatcaacc GGGGTAc
9850 ATG att gac atg cta gtt tta cga tta ccg ttc atc gat tct ctt gtt tgc
!
Comienzo gen II
9901 tcc aga ctc tca ggc aat gac ctg ata gcc ttt gtA GAT CTc tca aaa ata
      BglII...
9952 gct acc ctc tcc ggc atT aat tta tca gct aga acg gtt gaa tat cat att
10003 gat ggt gat ttg act gtc tcc ggc ctt tct cac cct ttt gaa tct tta cct
10054 aca cat tac tca ggc att gca ttt aaa ata tat gag ggt tct aaa aat ttt
10105 tat cct tgc gtt gaa ata aag gct tct ccc gca aaa gta tta cag ggt cat
10156 aat gtt ttt ggt aca acc gat tta gct tta tgc tct gag gct tta ttg ctt
10207 aat ttt gct aat tct ttg cct tgc ctg tat gat tta ttg gat gtt !
! gen II continúa
! ----- Fin de la Tabla -----

```

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

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

```

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

```

```

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

```

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

```

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

```

```

!      119 120 121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133
!      G   G   S   E   G   G   G   T   K   P   P   E   Y   G   D
355 |ggT|GGA|TCC|gaA|ggA|ggT|ggA|acC|aaG|ccG|ccG|gaA|taT|ggC|gaC|
!      c   t   t   g   t   c   t   t   a   t   t   g   c   t   t   ! W.T.
!      BamHI.. (2/2)
!
!      134 135 136 137 138 139 140 141 142 143 144 145 146 147 148
!      T   P   I   P   G   Y   T   Y   I   N   P   L   D   G   T
400 |acT|ccG|atA|CCT|GGT|taC|acC|taC|atT|aaT|ccG|TtA|gaT|ggA|acC|
!      a   t   t   g   c   t   t   t   c   c   t   c   c   c   c   t   ! W.T.
!      SexAI....
!
!      149 150 151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163
!      Y   P   P   G   T   E   Q   N   P   A   N   P   N   P   S
445 |taC|ccT|ccG|ggC|acC|gaA|caG|aaT|ccT|gcC|aaC|ccG|aaC|ccA|AGC|
!      T   G   t   t   t   g   a   c   c   t   t   t   t   t   t   t   ! W.T.
!      HindIII...
!
!      164 165 166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178
!      L   E   E   S   Q   P   L   N   T   F   M   F   Q   N   N
490 |TTA|gaA|gaA|AGC|caA|ccG|TtA|aaC|acC|ttT|atg|ttC|caA|aaC|aaC|
!      c   t   G   G   t   c   t   g   t   c   t   t   t   c   t   g   t   t   ! W.T.
!      HindIII.
!
!      179 180 181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193
!      R   F   R   N   R   Q   G   A   L   T   V   Y   T   G   T
535 |CgT|ttT|AgG|aaC|CgT|caA|gGT|GCT|CtT|acC|gTG|TAC|AcT|ggA|acC|
!      a   g   c   c   a   t   a   g   g   g   a   t   a   t   t   t   g   c   t   ! W.T.
!      HgiAI... BsrGI...
!
!      194 195 196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208
!      V   T   Q   G   T   D   P   V   K   T   Y   Y   Q   Y   T
580 |gtC|acC|caG|GGT|ACC|gaT|ccT|gtC|aaG|acC|taC|taT|caA|taT|acC|
!      t   t   a   c   t   c   c   t   a   t   t   c   g   c   t   ! W.T.
!      KpnI...
!
!      209 210 211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223
!      P   V   S   S   K   A   M   Y   D   A   Y   W   N   G   K
625 |ccG|gtC|TCG|AGT|aaG|gcT|atg|taC|gaT|gcC|taT|tgg|aaT|ggC|aaG|
!      t   a   a   t   c   a   c   t   c   t   c   c   t   a   ! W.T.
!      BsaI....
!      XhoI....
!
!      224 225 226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238
!      F   R   D   C   A   F   H   S   G   F   N   E   D   P   F
670 |ttT|CgT|gaT|tgT|gcC|ttT|caC|AGC|ggT|ttC|aaC|gaa|gac|CCt|ttT|
!      C   A   a   C   c   t   c   t   t   c   t   t   G   T   a   c   ! W.T.
!
!      239 240 241 242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253
!      V   C   E   Y   Q   G   Q   S   S   D   L   P   Q   P   P
715 |gtC|tgC|gaG|taC|caG|ggT|caG|AGT|AGC|gaT|TtA|ccG|caG|ccA|CCG|
!      t   t   a   t   a   c   a   t   c   g   t   c   t   c   c   g   t   a   t   ! W.T.
!      DrdI.....
!      AgeI.....
!
!      Dominio 2-----> Conector 2----->
!      254 255 256 257 258 259 260 261 262 263 264 265 266 267 268
!      V   N   A   G   G   G   S   G   G   G   S   G   G   G   S
760 |GTT|AAC|gcG|ggT|ggT|ggT|AGC|ggC|ggA|ggC|AGC|ggC|ggT|ggT|AGC|
!      c   t   t   c   c   c   t   c   t   t   t   t   t   t   t   t   ! W.T.
!      AgeI.....
!      HpaI...

```



```

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

```

```

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

```

Tabla 39: ON para hacer deleciones en III

```

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

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

```

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

	Entrada totales)	(cfu	Salida totales)	(cfu	Proporción salida/entrada
R1-ox seleccionado en phOx-BSA	4,5 x 10 ¹²		3,4 x 10 ⁵		7,5 x 10 ⁻⁸
R2-Strep seleccionado en lechos Strep	9,2 x 10 ¹²		3 x 10 ⁸		3,3 x 10 ⁻⁵

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

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

5 LISTADO DE SECUENCIAS

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

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

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

15 <130> DYAX/002 CIP2

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

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

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

<160> 635

<170> PatentIn Ver. 2.1

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

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

30 <400> 1
catgtgtatt actgtgc 17

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

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

<400> 2
 cacatccgtg cttctgcac ggatgtggca cagtaataca catg 44

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

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

10 <400> 3
 gtgtattaga ctgctgcc 18

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

15 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 4
 20 ggcagcagtc taatacacca catccgtgtt cttcacggat gtg 43

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

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

<400> 5
 cacatccgtg ttgttacac ggatgtgggt tottacagtc cattctg 47

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

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

<400> 6
 35 cagaatggac tgtaagacac 20

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

40 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 7
 atcagctctc actgagccac atccgtgggt ttccacggat gtg 43

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

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

<400> 8
 50 gctcagtgag actcgat 17

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

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

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

<400> 9
 cacgaggagn nnnnnnnnnn nnnn 24

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

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

<400> 10
 20 atgaccgaat tgctacaag 19

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

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

<400> 11
 gactctcag cttctgtcg aggagtcctt gtagcaattc ggatcat 46

30 <210> 12
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

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

35 <400> 12
 His His His His His His
 1 5

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

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

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

<400> 13
 gtctcnnnnn 10

50 <210> 14
 <211> 11

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 5 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(6)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 10 <400> 14
 nnnnnngaga c 11

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

 15 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

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

 <400> 15
 cacg gatgtg nnnnnnnnnn nnnn 24

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

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

 <220>
 30 <221> base_modificada
 <222> (1)..(14)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 16
 nnnnnnnnnn nnnncacatc cggtg 24

 35 <210> 17
 <211> 14
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 17
 gtgtattact gtgc 14

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

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

 <400> 18
 50 cacatccgtg cacg gatgtg gcacagtaat acac 34

 <210> 19
 <211> 14

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 5 <400> 19
 gtgtattaga ctgc 14

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

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

 <400> 20
 gcagtcta acaccacatc cgtgcacgga tgtg 34

 15 <210> 21
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 21
 cacatccgtg cacggatgtg gtgtcttaca gtcc 34

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

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

 <400> 22
 30 ggactgtaag acac 14

 <210> 23
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 23
 gagtctcact gagccacatc cgtgcacgga tgtg 34

 <210> 24
 40 <211> 14
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 45 <400> 24
 gctcagtgag actc 14

 <210> 25
 <211> 14
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 25
 gtgtattact gtgc 14

 <210> 26
 <211> 14
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 26
 10 gtatattact gtgc 14

 <210> 27
 <211> 14
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 27
 gtgtattact gtaa 14

 <210> 28
 20 <211> 14
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 25 <400> 28
 gtgtattact gtac 14

 <210> 29
 <211> 14
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 29
 ttgtattact gtgc 14

 35 <210> 30
 <211> 14
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 30
 ttgtatcact gtgc 14

 <210> 31
 <211> 14
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 31
 50 acatattact gtgc 14

 <210> 32
 <211> 14

<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

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

5 <400> 32
acgtattact gtgc 14

<210> 33
<211> 14
<212> ADN
10 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 33
atgtattact gtgc 14

15 <210> 34
<211> 101
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 34
agggtcacca tgaccagggg cactgtccatc agcacagcct acatgabcga gctgagcagg 60
20 ctgagatctg acgacacggc cgtgtattac tgtgagagag a 101

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

25 <400> 35
agagtcacca ttaccagggg cacatccgag agcacagcct acatggagct gagcagcctg 60
agatctgaag acacggcgtgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 36
<211> 98
<212> ADN
30 <213> Homo sapiens

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

<210> 37
<211> 98
<212> ADN
35 <213> Homo sapiens

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

<210> 38
<211> 98
<212> ADN
40 <213> Homo sapiens

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

45 <210> 39
<211> 98
<212> ADN
<213> Homo sapiens

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

<210> 40
 <211> 98
 5 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

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

<210> 41
 10 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

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

15 <210> 42
 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 42
 20 agagtcacca ttaccgcgga cgaatccacg agcacagcct acatggagct gagcagcctg 60
 agatctgagg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98

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

25 <400> 43
 agagtcacca ttaccgcgga caaatccacg agcacagcct acatggagct gagcagcctg 60
 agatctgagg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 44
 <211> 98
 <212> ADN
 30 <213> Homo sapiens

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

<210> 45
 <211> 100
 35 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 45
 aggctcacca tcaccaagga cacctccaaa aaccaggtgg tccttacaat gaccaacatg 60
 gacctgtgg acacagccac atattactgt gcacacagac 100

<210> 46
 40 <211> 100
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

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

45 <210> 47
 <211> 100

<212> ADN
<213> Homo sapiens

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

5 <210> 48
<211> 98
<212> ADN
<213> Homo sapiens

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

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

15 <400> 49
cgattcacca tctccagaga caacgccaaag aactccctgt atctgcaa at gaacagcctg 60
agagctgagg acacggcctt gtattactgt gcaaaagata 100

<210> 50
<211> 98
<212> ADN
20 <213> Homo sapiens

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

<210> 51
<211> 98
25 <212> ADN
<213> Homo sapiens

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

<210> 52
<211> 98
30 <212> ADN
<213> Homo sapiens

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

35 <210> 53
<211> 98
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 53
cgattcacca tctccagaga caacgccaaag aactccctgt atctgcaa at gaacagcctg 60
40 agagccgagg acacggcctt gtatcactgt gcgagaga 98

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

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

<210> 55
 <211> 98
 5 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

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

<210> 56
 10 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

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

15 <210> 57
 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

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

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

25 <400> 58
 cgattcacca tctccagaga caattccaag aacacgctgt atctgcaa at gaacagcctg 60
 agagctgagg acacggctgt gtattactgt gcgaaaga 98

<210> 59
 <211> 98
 <212> ADN
 30 <213> Homo sapiens

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

<210> 60
 <211> 100
 35 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

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

<210> 61
 <211> 98
 40 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

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

45 <210> 62
 <211> 98

<212> ADN
<213> Homo sapiens

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

5 <210> 63
<211> 98
<212> ADN
<213> Homo sapiens

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

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

15 <400> 64
agattcacca tctccagaga caattccaag aacacgctgt atcttcaa at gggcagcctg 60
agagctgagg acatggctgt gtattactgt gcgagaga 98

<210> 65
<211> 98
<212> ADN
20 <213> Homo sapiens

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

<210> 66
<211> 98
25 <212> ADN
<213> Homo sapiens

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

<210> 67
30 <211> 98
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 67
aggttcacca tctccagaga tgattcaa ag aacacggcgt atctgcaa at gaacagcctg 60
aaaaccgagg acacggccgt gtattactgt actagaca 98

35 <210> 68
<211> 98
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 68
cgattcacca tctccagaga caacgcca ag aacacgctgt atctgcaa at gaacagcctg 60
40 agagccgagg acacggctgt gtattactgt gcaagaga 98

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

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

<210> 70
 <211> 98
 5 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

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

<210> 71
 10 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

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

15 <210> 72
 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 72
 20 cgagttacca tatcagtaga cacgtctaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
 actgccgcgg acacggccgt gtattactgt gcgagaga 98

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

25 <400> 73
 cgagtcacca tatcagtaga caggccaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
 accgccgcgg acacggccgt gtattactgt gccagaga 98

<210> 74
 <211> 98
 <212> ADN
 30 <213> Homo sapiens

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

<210> 75
 <211> 98
 35 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

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

<210> 76
 40 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

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

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

5 <400> 77
 cgagtcacca tatccgtaga cacgtccaag aaccagttct ccctgaagct gagctctgtg 60
 accgccgcag acacggctgt gtattactgt gcgagaca 98

<210> 78
 <211> 98
 <212> ADN
 10 <213> Homo sapiens

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

<210> 79
 <211> 98
 15 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

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

<210> 80
 <211> 98
 20 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

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

25 <210> 81
 <211> 98
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

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

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

35 <400> 82
 cacgtcacca tctcagctga caagtccatc agcactgcct acctgcagtg gagcagcctg 60
 aaggcctcgg acaccgccat gtattactgt gcgaga 96

<210> 83
 <211> 98
 <212> ADN
 40 <213> Homo sapiens

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

<210> 84
 <211> 98
 45 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

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

<210> 85
 <211> 11
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 10 <222> (3)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 85
 gcnnnnnnng c 11

<210> 86
 <211> 10
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

20 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(7)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 86
 25 caynnnnrtg 10

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

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (6)..(11)
 35 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 87
 gagtcnnnnn n 11

<210> 88
 <211> 11
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(6)
 45 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 88
 nnnnnngaga c 11

50 <210> 89
 <211> 10

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 5 <220>
 <221> base modificada
 <222> (4)..(7)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 10 <400> 89
 gaannnnnttc 10

 <210> 90
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de nucleótidos 3-23 FR3 sintética

 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(90)

 20 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (3)
 <223> A, T, C o G

 <220>
 25 <221> base_modificada
 <222> (9)
 <223> A, T, C o G

 <220>
 30 <221> base_modificada
 <222> (12)
 <223> A, T, C o G

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (21)
 35 <223> A, T, C o G

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (30)
 <223> A, T, C o G

 40 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (36)
 <223> A, T, C o G

 <220>
 45 <221> base_modificada
 <222> (51)
 <223> A, T, C o G

 <220>
 50 <221> base_modificada
 <222> (57)
 <223> A, T, C o G

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (60)
 55 <223> A, T, C o G

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

5 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (72)
 <223> A, T, C o G

10 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (75)
 <223> A, T, C o G

15 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (78)
 <223> A, T, C o G

20 <220>
 <221> base modificada
 <222> (87)
 <223> A, T, C o G

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

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

25 <210> 91
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

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

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

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

30 <210> 92
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 92
 agttctccct gcagctgaac tc 22

40 <210> 93
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

45 <400> 93
 cactgtatct gcaaatgaac ag 22

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

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

<400> 94
 ccctgtatct gcaaatgaac ag 22

10 <210> 95
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

15 <400> 95
 ccgcctacct gcagtggagc ag 22

<210> 96
 <211> 22
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 96
 cgctgtatct gcaaatgaac ag 22

25 <210> 97
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 30 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

<400> 97
 cggcatalct gcagatctgc ag 22

<210> 98
 <211> 22
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 98
 40 cggcgtatct gcaaatgaac ag 22

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

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

<400> 99
 ctgcctacct gcagtggagc ag 22

<210> 100
 50 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

- <220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética
- <400> 100
tcgcctatct gcaaatgaac ag 22
- 5 <210> 101
<211> 63
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial
- <220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
- 10 <400> 101
cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct acttgcagat gaacagctta 60
agg 63
- <210> 102
<211> 45
15 <212> ADN
<213> Secuencia Artificial
- <220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
- 20 <400> 102
caagtagaga gtattcttag agttgtctct agacttagtg aagcg 45
- <210> 103
<211> 54
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial
- 25 <220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
- <400> 103
cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct acttgcagct gaac 54
- 30 <210> 104
<211> 54
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial
- <220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
- 35 <400> 104
cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct acttgcaaat gaac 54
- <210> 105
<211> 54
<212> ADN
40 <213> Secuencia Artificial
- <220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
- <400> 105
cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct acttgcagtg gagc 54
- 45 <210> 106
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial
- <220>
50 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador

<400> 106
 cgcttcacta agtctagaga c 21

 <210> 107
 <211> 22
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 107
 10 acatggagct gagcagcctg ag 22

 <210> 108
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 108
 acatggagct gagcaggctg ag 22

 <210> 109
 20 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 25 <400> 109
 acatggagct gaggagcctg ag 22

 <210> 110
 <211> 22
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 110
 acctgcagtg gagcagcctg aa 22

 35 <210> 111
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 111
 atctgcaaat gaacagcctg aa 22

 <210> 112
 <211> 22
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 112
 50 atctgcaaat gaacagcctg ag 22

 <210> 113
 <211> 22

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 5 <400> 113
 atctgcaaat gaacagtctg ag 22

 <210> 114
 <211> 22
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 114
 atctgcagat ctgcagccta aa 22

 15 <210> 115
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 115
 atcttcaaat gaacagcctg ag 22

 <210> 116
 <211> 22
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 116
 30 atcttcaaat gggcagcctg ag 22

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

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

 <400> 117
 ccctgaagct gagctctgtg ac 22

 <210> 118
 40 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 45 <400> 118
 ccctgcagct gaactctgtg ac 22

 <210> 119
 <211> 22
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 119
 tccttacaat gaccaacatg ga 22

 <210> 120
 <211> 22
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 120
 10 tccttaccat gaccaacatg ga 22

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

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 121
 acatggagct gagcagcctg ag 22

 <210> 122
 20 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 25 <400> 122
 ccctgaagct gagctctgtg ac 22

 <210> 123
 <211> 54
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 123
 cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct actgcagat gaac 54

 35 <210> 124
 <211> 60
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 124 cgcttcactc agtctagaga taacagtaaa aatactttgt actgcagct gagcagcctg 60

 <210> 125
 <211> 60
 <212> ADN
 45 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 125
 cgcttcactc agtctagaga taacagtaaa aatactttgt actgcagct gagctctgtg 60

 50 <210> 126
 <211> 52

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 5 <400> 126
 tcagctgcaa gtacaaagta ttttactgt tatctctaga ctgagtgaag cg 52
 <210> 127
 <211> 24
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 127
 cgcttcactc agtctagaga taac 24
 15 <210> 128
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 128
 ccgtgtatta ctgtgcgaga ga 22
 <210> 129
 <211> 22
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 129
 30 ctgtgtatta ctgtgcgaga ga 22
 <210> 130
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 130
 ccgtgtatta ctgtgcgaga gg 22
 <210> 131
 40 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 45 <400> 131
 ccgtgtatta ctgtgcaaca ga 22
 <210> 132
 <211> 22
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 132
 ccatgtatta ctgtgcaaga ta 22

 <210> 133
 <211> 22
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 133
 10 ccgtgtatta ctgtgcggca ga 22

 <210> 134
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 134
 ccacatatta ctgtgcacac ag 22

 20 <210> 135
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 25 <400> 135
 ccacatatta ctgtgcacgg at 22

 <210> 136
 <211> 22
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 136
 ccacgtatta ctgtgcacgg at 22

 35 <210> 137
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 137
 ccttgtatta ctgtgcaaaa ga 22

 <210> 138
 <211> 22
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 138
 50 ctgtgtatta ctgtgcaaga ga 22

 <210> 139
 <211> 22

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 5 <400> 139
 ccgtgtatta ctgtaccaca ga 22

 <210> 140
 <211> 22
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 140
 cctgtatca ctgtgcgaga ga 22

 15 <210> 141
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 141
 ccgtatatta ctgtgcgaaa ga 22

 <210> 142
 <211> 22
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 142
 30 ctgtgtatta ctgtgcgaaa ga 22

 <210> 143
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 143
 ccgtgtatta ctgtactaga ga 22

 <210> 144
 40 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 45 <400> 144
 ccgtgtatta ctgtgctaga ga 22

 <210> 145
 <211> 22
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 145
 ccgtgtatta ctgtactaga ca 22

5 <210> 146
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

10 <400> 146
 ctgtgtatta ctgtaagaaa ga 22

<210> 147
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 147
 ccgtgtatta ctgtgcgaga aa 22

20 <210> 148
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

25 <400> 148
 ccgtgtatta ctgtgccaga ga 22

<210> 149
 <211> 22
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 149
 ctgtgtatta ctgtgcgaga ca 22

35 <210> 150
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 150
 ccatgtatta ctgtgcgaga ca 22

<210> 151
 <211> 20
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 151
 50 ccatgtatta ctgtgcgaga 20

<210> 152
 <211> 21

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 5 <400> 152
 ccgtgtatta ctgtgcgaga g 21

 <210> 153
 <211> 21
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 153
 ctgtgtatta ctgtgcgaga g 21

 15 <210> 154
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 154
 ccgtgtatta ctgtgcgaga g 21

 <210> 155
 <211> 21
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 155
 30 ccgtatatta ctgtgcgaaa g 21

 <210> 156
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 156
 ctgtgtatta ctgtgcgaaa g 21

 <210> 157
 40 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 45 <400> 157
 ctgtgtatta ctgtgcgaga c 21

 <210> 158
 <211> 21
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 158
 ccatgtatta ctgtgcgaga c 21

 <210> 159
 <211> 20
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 159
 10 ccatgtatta ctgtgcgaga 20

 <210> 160
 <211> 94
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 160
 ggtgtagtga tctagtgaca actctaagaa tactctctac ttgcagatga acagcttttag 60
 ggctgaggac actgcagtct actattgtgc gaga 94

 <210> 161
 20 <211> 94
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 25 <400> 161
 ggtgtagtga tctagtgaca actctaagaa tactctctac ttgcagatga acagcttttag 60
 ggctgaggac actgcagtct actattgtgc gaaa 94

 <210> 162
 <211> 85
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 162
 atagtagact gcagtgtcct cagcccttaa gctgttcctc tgcaagtaga gagtattctt 60
 agagttgtct ctagatcact acacc 85

 35 <210> 163
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 163
 ggtgtagtga tctagagaca ac 22

 <210> 164
 <211> 55
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 164
 ggtgtagtga aacagcttta gggctgagga cactgcagtc tactattgtg cgaga 55
 <210> 165
 <211> 55
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 165
 10 ggtgtagtga aacagcttta gggctgagga cactgcagtc tactattgtg cgaaa 55
 <210> 166
 <211> 46
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 166
 atagtagact gcaggtcct cagcccttaa gctgtttcac tacacc 46
 <210> 167
 20 <211> 46
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 25 <400> 167
 ggtgtagtga aacagcttaa gggctgagga cactgcagtc tactat 46
 <210> 168
 <211> 26
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 168
 ggtgtagtga aacagcttaa gggctg 26
 35 <210> 169
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética
 <400> 169
 agttctccct gcagctgaac tc 22
 <210> 170
 <211> 22
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética
 <400> 170
 50 cactgtatct gcaaatgaac ag 22
 <210> 171
 <211> 22

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 5 <400> 171
 ccctgtatct gcaaatgaac ag 22

 <210> 172
 <211> 22
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 172
 ccgcctacct gcagtggagc ag 22

 15 <210> 173
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 173
 cgctgtatct gcaaatgaac ag 22

 <210> 174
 <211> 22
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 174
 30 cggcatatct gcagatctgc ag 22

 <210> 175
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 175
 cggcgtatct gcaaatgaac ag 22

 <210> 176
 40 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 45 <400> 176
 ctgcctacct gcagtggagc ag 22

 <210> 177

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

	<220>		
	<223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética		
	<400> 177		
	tcgcctatct gcaaatgaac ag	22	
5	<210> 178		
	<211> 22		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
10	<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético		
	<400> 178		
	acatggagct gagcagcctg ag	22	
	<210> 179		
	<211> 22		
15	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
	<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético		
	<400> 179		
20	acatggagct gagcaggctg ag	22	
	<210> 180		
	<211> 22		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
25	<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético		
	<400> 180		
	acatggagct gaggagcctg ag	22	
	<210> 181		
30	<211> 22		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
	<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético		
	<400> 181		
35	acctgcagtg gagcagcctg aa	22	
	<210> 182		
	<211> 22		
	<212> ADN		
40	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
	<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético		
	<400> 182		
	atctgcaaat gaacagcctg aa	22	
45	<210> 183		
	<211> 22		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
50	<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético		
	<400> 183		
	atctgcaaat gaacagcctg ag	22	

<210> 184
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 184
 atctgcaaat gaacagtctg ag 22

10 <210> 185
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

15 <400> 185
 atctgcagat ctgcagccta aa 22

<210> 186
 <211> 22
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 186
 atcttcaaat gaacagcctg ag 22

25 <210> 187
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 187
 atcttcaaat gggcagcctg ag 22

<210> 188
 <211> 22
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 188
 40 ccctgaagct gagctctgtg ac 22

<210> 189
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 189
 ccctgcagct gaactctgtg ac 22

<210> 190
 50 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

	<220>		
	<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético		
	<400> 190		
	tccttacaat gaccaacatg ga	22	
5	<210> 191		
	<211> 22		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
10	<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético		
	<400> 191		
	tccttaccat gaccaacatg ga	22	
	<210> 192		
	<211> 22		
15	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
	<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético		
	<400> 192		
20	ccgtgtatta ctgtgcgaga ga	22	
	<210> 193		
	<211> 22		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
25	<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético		
	<400> 193		
	ctgtgtatta ctgtgcgaga ga	22	
	<210> 194		
30	<211> 22		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
	<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético		
35	<400> 194		
	ccgtgtatta ctgtgcgaga gg	22	
	<210> 195		
	<211> 22		
	<212> ADN		
40	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
	<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético		
	<400> 195		
	ccgtgtatta ctgtgcaaca ga	22	
45	<210> 196		
	<211> 22		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
50	<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético		
	<400> 196		
	ccatgtatta ctgtgcaaga ta	22	

<210> 197
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 197
 ccgtgtatta ctgtgcggca ga 22

10 <210> 198
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

15 <400> 198
 ccacatatta ctgtgcacac ag 22

<210> 199
 <211> 22
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 199
 ccacatatta ctgtgcacgg at 22

25 <210> 200
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 200
 ccacgtatta ctgtgcacgg at 22

<210> 201
 <211> 22
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 201
 40 ccttgtatta ctgtgcaaaa ga 22

<210> 202
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 202
 ctgtgtatta ctgtgcaaga ga 22

<210> 203
 50 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

- <220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
- <400> 203
ccgtgtatta ctgtaccaca ga 22
- 5 <210> 204
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial
- <220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
- 10 <400> 204
ccttgtatca ctgtgcgaga ga 22
- <210> 205
<211> 22
15 <212> ADN
<213> Secuencia Artificial
- <220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
- 20 <400> 205
ccgtatatta ctgtgcgaaa ga 22
- <210> 206
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial
- 25 <220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
- <400> 206
ctgtgtatta ctgtgcgaaa ga 22
- 30 <210> 207
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial
- <220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
- 35 <400> 207
ccgtgtatta ctgtactaga ga 22
- <210> 208
<211> 22
<212> ADN
40 <213> Secuencia Artificial
- <220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
- <400> 208
ccgtgtatta ctgtgctaga ga 22
- 45 <210> 209
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial
- <220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
- 50 <400> 209
ccgtgtatta ctgtactaga ca 22

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

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

<400> 210
 ctgtgtatta ctgtaagaaa ga 22

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

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

15 <400> 211
 ccgtgtatta ctgtgcgaga aa 22

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

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

<400> 212
 ccgtgtatta ctgtgccaga ga 22

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

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

<400> 213
 ctgtgtatta ctgtgcgaga ca 22

<210> 214
 <211> 22
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 214
 40 ccatgtatta ctgtgcgaga ca 22

<210> 215
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 215
 ccatgtatta ctgtgcgaga aa 22

50 <210> 216
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 216
 caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggata caccttcacc 90

<210> 217
 <211> 90
 5 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 217
 caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60
 tcctgcaagg cttctggata caccttcact 90

<210> 218
 10 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 218
 caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggata caccttcacc 90

15 <210> 219
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 219
 20 caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggata caccttcacc 90

<210> 220
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 220
 caggtccagc tgggtacagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg tttccggata caccctcact 90

<210> 221
 <211> 90
 <212> ADN
 30 <213> Homo sapiens

<400> 221
 cagatgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaaga ctgggtcctc agtgaaggtt 60
 tcctgcaagg cttccggata caccttcacc 90

<210> 222
 <211> 90
 35 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 222
 caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60
 tcctgcaagg catctggata caccttcacc 90

<210> 223
 40 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 223
 caaatgcagc tgggtgcagtc tgggcctgag gtgaagaagc ctggggacctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggatt cacctttact 90

<210> 224
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5 <400> 224
 caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggagg caccttcagc 90

<210> 225
 <211> 90
 <212> ADN
 10 <213> Homo sapiens

<400> 225
 caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggagg caccttcagc 90

<210> 226
 <211> 90
 15 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 226
 gaggtccagc tgggtacagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggctac agtgaaaatc 60
 tcctgcaagg tttctggata caccttcacc 90

<210> 227
 <211> 90
 20 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 227
 cagatcacct tgaaggagtc tggtcctacg ctggtgaaac ccacacagac cctcacgctg 60
 acctgcacct tctctgggtt ctcactcagc 90

25 <210> 228
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 228
 caggtcacct tgaaggagtc tggtcctgtg ctggtgaaac ccacagagac cctcacgctg 60
 30 acctgcaccg tctctgggtt ctcactcagc 90

<210> 229
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

35 <400> 229
 caggtcacct tgaaggagtc tggtcctgctg ctggtgaaac ccacacagac cctcacactg 60
 acctgcacct tctctgggtt ctcactcagc 90

<210> 230
 <211> 90
 <212> ADN
 40 <213> Homo sapiens

<400> 230
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt 90

<210> 231
 <211> 90
 45 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 231
 gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat 90

<210> 232
 <211> 90
 5 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 232
 caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtcaagc ctggagggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 233
 10 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 233
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

15 <210> 234
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 234
 20 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtaaagc ctgggggggc ccttagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt 90

<210> 235
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 235
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggt gtggtacggc ctgggggggc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat 90

<210> 236
 <211> 90
 <212> ADN
 30 <213> Homo sapiens

<400> 236
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ctggtcaagc ctgggggggc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 237
 <211> 90
 35 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 237
 gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc 90

<210> 238
 40 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 238
 caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 239
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5 <400> 239
 caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 240
 <211> 90
 <212> ADN
 10 <213> Homo sapiens

<400> 240
 caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 241
 <211> 90
 15 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 241
 caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt 90

<210> 242
 <211> 90
 20 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 242
 gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggagtc gtggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

25 <210> 243
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 243
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
 30 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 244
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

35 <400> 244
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc cagggcggtc cctgagactc 60
 tcctgtacag cttctggatt caccttcagt 90

<210> 245
 <211> 90
 <212> ADN
 40 <213> Homo sapiens

<400> 245
 gaggtgcagc tgggtggagc tggaggaggc ttgatccagc ctgggggggc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctgggtt caccgtcagt 90

<210> 246
 <211> 90
 45 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 246
gagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 247
 <211> 90
 5 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 247
gagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt 90

<210> 248
 10 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 248
gagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtccagc ctggagggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

15 <210> 249
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 249
 20 **gagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgaaactc 60**
tcctgtgcag cctctgggtt caccttcagt 90

<210> 250
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 250
gagggtgcagc tgggtggagtc cgggggaggc ttagttcagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt 90

<210> 251
 <211> 90
 <212> ADN
 30 <213> Homo sapiens

<400> 251
gagggtgcagc tgggtggagtc tcggggagtc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt 90

<210> 252
 <211> 90
 35 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 252
cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggggac cctgtccctc 60
acctgcgctg tctctggttg ctccatcagc 90

<210> 253
 40 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 253
cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggacac cctgtccctc 60
acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc 90

<210> 254
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5 <400> 254
 caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc 90

<210> 255
 <211> 90
 <212> ADN
 10 <213> Homo sapiens

<400> 255
 cagctgcagc tgcaggagtc cggctcagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
 acctgcgctg tctctggtgg ctccatcagc 90

<210> 256
 <211> 90
 15 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 256
 caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc 90

<210> 257
 <211> 90
 20 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 257
 caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc 90

25 <210> 258
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 258
 caggtgcagc tacagcagtg gggcgcagga ctgttgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
 30 acctgcgctg tctatggtgg gtccttcagt 90

<210> 259
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

35 <400> 259
 cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc 90

<210> 260
 <211> 90
 <212> ADN
 40 <213> Homo sapiens

<400> 260
 caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt 90

<210> 261
 <211> 90
 45 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 261
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccgtcagc 90

<210> 262
<211> 90
5 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 262
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcgctg tctctggtta ctccatcagc 90

<210> 263
10 <211> 90
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 263
gaggtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc 60
tcctgtaagg gttctggata cagctttacc 90

<210> 264
15 <211> 90
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 264
gaagtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaggatc 60
20 tcctgtaagg gttctggata cagctttacc 90

<210> 265
<211> 90
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 265
25 caggtacagc tgcagcagtc aggtccagga ctggtgaagc cctcgcagac cctctcactc 60
acctgtgccca tctccgggga cagtgtctct 90

<210> 266
<211> 90
<212> ADN
30 <213> Homo sapiens

<400> 266
caggtgcagc tgggtgcaatc tgggtctgag ttgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt 60
tcctgcaagg cttctggata caccttcact 90

<210> 267
<211> 22
35 <212> ADN
<213> Secuencia Artificial

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

<400> 267
40 ccgtgtatta ctgtgcgaga ga 22

<210> 268
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

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

<400> 268
 ctgtgtatta ctgtgcgaga ga 22

 <210> 269
 <211> 22
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 269
 10 ccgtgtatta ctgtgcgaga gg 22

 <210> 270
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 270
 ccgtatatta ctgtgcgaaa ga 22

 20 <210> 271
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 25 <400> 271
 ctgtgtatta ctgtgcgaaa ga 22

 <210> 272
 <211> 22
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 272
 ctgtgtatta ctgtgcgaga ca 22

 35 <210> 273
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 273
 ccatgtatta ctgtgcgaga ca 22

 <210> 274
 <211> 22
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 274
 50 ccatgtatta ctgtgcgaga aa 22

 <210> 275
 <211> 69

<212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 275
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

 5 <210> 276
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 276
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 10 atcacttgc 69

 <210> 277
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 15 <400> 277
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

 <210> 278
 <211> 69
 <212> ADN
 20 <213> Homo sapiens

 <400> 278
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

 <210> 279
 <211> 69
 25 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 279
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

 <210> 280
 <211> 69
 30 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 280
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

 35 <210> 281
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 281
 aacatccaga tgaccagtc tccatctgcc atgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 40 atcacttgt 69

 <210> 282
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 282
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgt 69

<210> 283
 <211> 69
 5 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 283
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgt 69

<210> 284
 <211> 69
 10 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 284
 gccatccagt tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

15 <210> 285
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 285
 gccatccagt tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 20 atcacttgc 69

<210> 286
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 286
 gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgt 69

<210> 287
 <211> 69
 <212> ADN
 30 <213> Homo sapiens

<400> 287
 gacatccaga tgaccagtc tccatcttct gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgt 69

<210> 288
 <211> 69
 35 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 288
 gacatccagt tgaccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

<210> 289
 <211> 69
 40 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 289
 gccatccgga tgaccagtc tccattctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

45 <210> 290
 <211> 69

<212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 290
 gccatccgga tgaccagtc tccatcctca ttctctgcat ctacaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgt 69

 5 <210> 291
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 291
 gtcacttgga tgaccagtc tccatcctta ctctctgcat ctacaggaga cagagtcacc 60
 atcagttgt 69
 10

 <210> 292
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 15 <400> 292
 gccatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

 <210> 293
 <211> 69
 <212> ADN
 20 <213> Homo sapiens

 <400> 293
 gacatccaga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc 69

 <210> 294
 <211> 69
 25 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 294
 gatattgtga tgaccagac tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60
 atctcctgc 69

 <210> 295
 30 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 295
 gatattgtga tgaccagac tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60
 atctcctgc 69

 35 <210> 296
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 296
 gatgttgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccttgga gccggcctcc 60
 atctcctgc 69
 40

 <210> 297
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 45 <400> 297
 gatgttgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccttgga gccggcctcc 60
 atctcctgc 69

<210> 298
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5 <400> 298
 gatattgtga tgaccagac tccactctct ctgtccgtca cccctggaca gccggcctcc 60
 atctcctgc 69

<210> 299
 <211> 69
 <212> ADN
 10 <213> Homo sapiens

<400> 299
 gatattgtga tgaccagac tccactctct ctgtccgtca cccctggaca gccggcctcc 60
 atctcctgc 69

<210> 300
 <211> 69
 <212> ADN
 15 <213> Homo sapiens

<400> 300
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgtccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
 atctcctgc 69

<210> 301
 <211> 69
 <212> ADN
 20 <213> Homo sapiens

<400> 301
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgtccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
 atctcctgc 69

25 <210> 302
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 302
 gatattgtga tgaccagac tccactctcc tcacctgtca cccttggaca gccggcctcc 60
 30 atctcctgc 69

<210> 303
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

35 <400> 303
 gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgc 69

<210> 304
 <211> 69
 <212> ADN
 40 <213> Homo sapiens

<400> 304
 gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgc 69

<210> 305
 <211> 69
 <212> ADN
 45 <213> Homo sapiens

```

<400> 305
gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgc 69

<210> 306
<211> 69
5 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 306
gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgc 69

<210> 307
10 <211> 69
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 307
gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgc 69

15 <210> 308
<211> 69
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 308
20 gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgc 69

<210> 309
<211> 69
<212> ADN
<213> Homo sapiens

25 <400> 309
gaaattgtaa tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgc 69

<210> 310
<211> 69
<212> ADN

30 <213> Homo sapiens

<400> 310
gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
atcaactgc 69

<210> 311
<211> 69
35 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 311
gaaacgacac tcacgcagtc tccagcattc atgtcagcga ctccaggaga caaagtcaac 60
atctcctgc 69

<210> 312
40 <211> 69
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 312
gaaattgtgc tgactcagtc tccagacttt cagtctgtga ctccaaagga gaaagtcacc 60
atcacctgc 69

```

<210> 313
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5 <400> 313
gaaattgtgc tgactcagtc tccagacttt cagtctgtga ctccaaagga gaaagtcacc 60
atcacctgc 69

<210> 314
 <211> 69
 <212> ADN
 10 <213> Homo sapiens

<400> 314
gatgttgtga tgacacagtc tccagctttc ctctctgtga ctccagggga gaaagtcacc 60
atcacctgc 69

<210> 315
 <211> 66
 15 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 315
cagtctgtgc tgactcagcc accctcgggtg tctgaagccc ccaggcagag ggtcaccatc 60
tcctgt 66

<210> 316
 <211> 66
 20 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 316
cagtctgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
tcctgc 66

25 <210> 317
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 317
cagtctgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc 60
 30 **tcctgt 66**

<210> 318
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

35 <400> 318
cagtctgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc 60
tcctgt 66

<210> 319
 <211> 66
 <212> ADN
 40 <213> Homo sapiens

<400> 319
cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tcctgc 66

<210> 320
 <211> 66
 45 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 320
 cagtctgccc tgactcagcc tccctccgcg tccgggtctc ctggacagtc agtcaccatc 60
 tcctgc 66

<210> 321
 <211> 66
 5 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 321
 cagtctgccc tgactcagcc tcgctcagtg tccgggtctc ctggacagtc agtcaccatc 60
 tcctgc 66

<210> 322
 10 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 322
 cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
 tcctgc 66

15 <210> 323
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 323
 20 cagtctgccc tgactcagcc tccctccgtg tccgggtctc ctggacagtc agtcaccatc 60
 tcctgc 66

<210> 324
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 324
 cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
 tcctgc 66

<210> 325
 <211> 66
 <212> ADN
 30 <213> Homo sapiens

<400> 325
 tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc 60
 acctgc 66

<210> 326
 <211> 66
 35 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 326
 tcctatgagc tgactcagcc actctcagtg tcagtggccc tgggacagac ggccaggatt 60
 acctgt 66

<210> 327
 40 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 327
 tcctatgagc tgacacagcc accctcgggtg tcagtgtccc caggacaaac ggccaggatc 60
 acctgc 66

45 <210> 328
 <211> 66

<212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 328
 tcctatgagc tgacacagcc accctcgggtg tcagtgtccc taggacagat ggccaggatc 60
 acctgc 66

 5 <210> 329
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 329
 tcttctgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc 60
 10 acatgc 66

 <210> 330
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 15 <400> 330
 tcctatgtgc tgactcagcc accctcagtg tcagtggccc caggaaagac ggccaggatt 60
 acctgt 66

 <210> 331
 <211> 66
 <212> ADN
 20 <213> Homo sapiens

 <400> 331
 tcctatgagc tgacacagct accctcgggtg tcagtgtccc caggacagac agccaggatc 60
 acctgc 66

 <210> 332
 <211> 66
 25 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 332
 tcctatgagc tgatgcagcc accctcgggtg tcagtgtccc caggacagac ggccaggatc 60
 acctgc 66

 <210> 333
 <211> 66
 30 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 333
 tcctatgagc tgacacagcc atcctcagtg tcagtgtctc cgggacagac agccaggatc 60
 acctgc 66

 35 <210> 334
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 334
 ctgcctgtgc tgactcagcc ccgctctgca tctgccttgc tgggagcctc gatcaagctc 60
 40 acctgc 66

 <210> 335
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 335
 cagcctgtgc tgactcaatc atcctctgcc tctgcttccc tgggatactc ggtcaagctc 60
 acctgc 66

<210> 336
 <211> 66
 5 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 336
 cagcctgtgc tgactcaatc gccctctgcc tctgcctccc tgggagcctc ggtcaagctc 60
 acctgc 66

<210> 337
 10 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 337
 cagcctgtgc tgactcagcc accttccctc tccgcattctc ctggagaatc cggcagactc 60
 acctgc 66

15 <210> 338
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 338
 20 caggctgtgc tgactcagcc ggcttccctc tctgcattctc ctggagcattc agccagtctc 60
 acctgc 66

<210> 339
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 339
 cagcctgtgc tgactcagcc atcttcccat tctgcattctc ctggagcattc agtcagactc 60
 acctgc 66

<210> 340
 <211> 66
 <212> ADN
 30 <213> Homo sapiens

<400> 340
 aattttatgc tgactcagcc ccaactctgtg tcggagtctc cggggaagac ggtaaccatc 60
 tcctgc 66

<210> 341
 <211> 66
 35 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 341
 cagactgtgg tgactcagga gccctcactg actgtgtccc caggagggac agtcactctc 60
 acctgt 66

<210> 342
 40 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 342
 caggctgtgg tgactcagga gccctcactg actgtgtccc caggagggac agtcactctc 60
 acctgt 66

<210> 343
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5 <400> 343
 cagactgtgg tgacccagga gccatcggtc tcagtgtccc ctggaggagac agtcacactc 60
 acttgt 66

<210> 344
 <211> 66
 <212> ADN
 10 <213> Homo sapiens

<400> 344
 cagcctgtgc tgactcagcc accttctgca tcagcctccc tgggagcctc ggtcacactc 60
 acctgc 66

<210> 345
 <211> 66
 15 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 345
 caggcagggc tgactcagcc accctcggtg tccaagggct tgagacagac cgccacactc 60
 acctgc 66

<210> 346
 <211> 11
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

25 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (1) .. (6)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 346
 30 nnnnnngact c 11

<210> 347
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

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

<400> 347
 gagtcnnnnn n 11

<210> 348
 <211> 11
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 50 <221> base_modificada

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

 <400> 348
 gcnnnnnnng c 11

 5 <210> 349
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 10 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (11)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 15 <400> 349
 acctgcnnnn n 11

 <210> 350
 <211> 25
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 350
 cacatccgtg ttgtcacgg atgtg 25

 25 <210> 351
 <211> 88
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 351
 aatagtagac tgcagtgtcc tcagccctta agctgttcat ctgcaagtag agagtattct 60
 tagagttgtc tctagactta gtgaagcg 88

 <210> 352
 <211> 88
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 352
 cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct acttgcagat gaacagctta 60
 agggctgagg acactgcagt ctactatt 88

 40 <210> 353
 <211> 95
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 353
 cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct acttgcagat gaacagctta 60
 agggctgagg acactgcagt ctactattgt gcgag 95

<210> 354
 <211> 95
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 354
 cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct acttgcagat gaacagctta 60
 agggctgagg acactgcagt ctactattgt acgag 95

10 <210> 355
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

15 <400> 355
 cgcttcacta agtctagaga caac 24

<210> 356
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (8) .. (15)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

25 <400> 356 cacctgcnnn nnnnn 15

<210> 357
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (17)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

35 <400> 357
 cagctcnnnn nnnnnnn 17

40 <210> 358
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

45 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (17)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

50 <400> 358
 gaagacnnnn nnnnnnn 17

<210> 359
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (6) .. (17)
 10 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 359
 gcagcnnnnn nnnnnnn 17

<210> 360
 <211> 12
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 20 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (12)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 360
 gaagacnnnn nn 12

25 <210> 361
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (22)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

35 <400> 361
 cttgagnnnn nnnnnnnnnn nn 22

<210> 362
 <211> 19
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 45 <222> (6) .. (19)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 362
 acggcnnnnn nnnnnnnnn 19

<210> 363
 <211> 18
 50 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 <221> base_modificada
 5 <222> (6) .. (18)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 363
 acggcnnnnn nnnnnnnn 18

 <210> 364
 10 <211> 12
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 15 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (12)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 364
 20 gtatccnnnn nn 12

 <210> 365
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (11)
 30 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 365
 actgggnnnn n 11

 <210> 366
 <211> 10
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (6) .. (10)
 40 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 366
 ggatcnnnnn 10

 45 <210> 367
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 <221> base_modificada

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

 <400> 367
 gcacnnnnn n 11

 5 <210> 368
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 10 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (16)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 15 <400> 368
 gaggagnnnn nnnnnn 16

 <210> 369
 <211> 19
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 25 <222> (6) .. (19)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 369
 gggacnnnnn nnnnnnnnn 19

 <210> 370
 30 <211> 14
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 35 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (14)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 370
 40 acctgcnnnn nnnn 14

 <210> 371
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 <221> base modificada
 <222> (7) .. (17)
 50 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 371
 ggcggannnn nnnnnnn 17

<210> 372
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (22)

10 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 372
 ctgaagnnnn nnnnnnnnnn nn 22

<210> 373
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (6) .. (11)

20 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 373
 cccgcnnnnn n 11

25 <210> 374
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

30 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (6) .. (18)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

35 <400> 374
 ggatgnnnnn nnnnnnnn 18

<210> 375
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (22)

45 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 375
 ctggagnnnn nnnnnnnnnn nn 22

<210> 376
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

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

<220>
 <221> base_modificada
 5 <222> (6)..(15)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 376
 gacgcnnnnn nnnnn 15

<210> 377
 10 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

15 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (6) .. (13)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 377
 20 ggtgannnnn nnn 13

<210> 378
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (6) .. (13)
 30 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 378
 gaagannnnn nnn 13

<210> 379
 <211> 10
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

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

<400> 379
 gagtcnnnnn 10

45 <210> 380
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada

<222> (7) .. (26)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 380
 tccracnnnn nnnnnnnnnn nnnnnn 26

 5 <210> 381
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 10 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (5) .. (11)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 15 <400> 381
 cctcnnnnnn n 11

 <210> 382
 <211> 10
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 <221> base_modificada
 25 <222> (6) .. (10)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 382
 gagtcnnnnn 10

 <210> 383
 30 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 35 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (18)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 383
 40 cccacannnn nnnnnnnn 18

 <210> 384
 <211> 14
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (6) .. (14)
 50 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 384
 gcatcnnnnn nnnn 14

<210> 385
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (6) .. (13)
 10 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 385
 ggtgannnnn nnn 13

<210> 386
 <211> 12
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (5) .. (12)
 20 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 386
 cccgnnnnnn nn 12

25 <210> 387
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (6) .. (19)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

35 <400> 387
 ggatgnnnnn nnnnnnnnn 19

<210> 388
 <211> 17
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (17)
 45 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 388
 gaccgannnn nnnnnnn 17

<210> 389
 <211> 17
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 <221> base_modificada
 5 <222> (7) .. (17)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 389
 caccannnnnn nnnnnnn 17

 <210> 390
 10 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 15 <220>
 <221> base modificada
 <222> (7) .. (17)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 390
 20 caarcannnnnn nnnnnnn 17

 <210> 391
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 391
 gctgtgtatt actgtgcgag 20

 <210> 392
 30 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 35 <400> 392
 gccgtgtatt actgtgcgag 20

 <210> 393
 <211> 20
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 393
 gccgtatatt actgtgcgag 20

 <210> 394
 45 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 50 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Sonda sintética

 <400> 394
 gccgtgtatt actgtacgag 20

<210> 395
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 395
 gccatgtatt actgtgcgag 20

10 <210> 396
 <211> 25
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

15 <400> 396
 cacatccgtg ttgtcacgg atgtg 25

<210> 397
 <211> 88
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 397
 aatagtagac tgcagtgccc tcagccctta agctgttcat ctgcaagtag agagtattct 60
 tagagttgtc tctagactta gtgaagcg 88

25 <210> 398
 <211> 95
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

30 <400> 398
 cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct acttgcagat gaacagctta 60
 agggctgagg acactgcagt ctactattgt gcgag 95

<210> 399
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 399
 40 cgcttcacta agtctagaga caac 24

<210> 400
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 400
 cacatccgtg ttgtcacgg atgtgggagg atggagactg ggctc 44

50 <210> 401
 <211> 44

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 5 <400> 401
 cacatccgtg ttgtcacgg atgtgggaga gtggagactg agtc 44
 <210> 402
 <211> 44
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 402
 cacatccgtg ttgtcacgg atgtgggtgc ctggagactg cgtc 44
 15 <210> 403
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 403
 cacatccgtg ttgtcacgg atgtgggtgg ctggagactg cgtc 44
 <210> 404
 <211> 34
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 404
 30 cctctactct tgtcacagt cacaagacat ccag 34
 <210> 405
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 405
 cctctactct tgtcacagt 20
 <210> 406
 40 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 45 <400> 406
 ggaggatgga ctggatgtct tgtgcactgt gacaagagta gagg 44
 <210> 407
 <211> 44
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 407
 ggagagtgga ctggatgtct tgtgcactgt gacaagagta gagg 44
 <210> 408
 <211> 44
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 408
 10 ggtgcctgga ctggatgtct tgtgcactgt gacaagagta gagg 44
 <210> 409
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 409
 ggtggctgga ctggatgtct tgtgcactgt gacaagagta gagg 44
 <210> 410
 20 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 410
 25 cacatccgtg ttgtcacgg atgtggactg actgtccagg agac 44
 <210> 411
 <211> 44
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 411
 cacatccgtg ttgtcacgg atgtggactg tctgtccaa ggcc 44
 <210> 412
 35 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 412
 40 cacatccgtg ttgtcacgg atgtggactg actgtccagg agac 44
 <210> 413
 <211> 44
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 413
 50 cacatccgtg ttgtcacgg atgtggaccc tctgcctgg ggcc 44
 <210> 414
 <211> 59

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 5 <400> 414
 cctctgactg agtgcacaga gtgctttaac ccaaccggct agtgtagcg gttccccgg 59

 <210> 415
 <211> 69
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 415
 cctctgactg agtgcacaga gtgctttaac ccaaccggct agtgtagcg gttccccggg 60
 acagtcgat 69

 15 <210> 416
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 416
 cctctgactg agtgcacaga gtgctttaac ccaaccggct agtgtagcg gttccccggg 60
 acagacagt 69

 <210> 417
 <211> 69
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 417
 cctctgactg agtgcacaga gtgctttaac ccaaccggct agtgtagcg gttccccggg 60
 acagtcagt 69
 30

 <210> 418
 <211> 70
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 418
 cctctgactg agtgcacaga gtgctttaac ccaaccggct agtgtagcg gtstccccgg 60
 ggcagagggt 70

 40 <210> 419
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 45 <400> 419
 cctctgactg agtgcacaga gtgc 24

 <210> 420
 <211> 13

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

5 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (5)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

10 <400> 420
 ggccnnnnng gcc 13
 <210> 421
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

20 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4) .. (12)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

25 <400> 421
 ccannnnnnn nntgg 15
 <210> 422
 <211> 12
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

35 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4) .. (9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

40 <400> 422
 cgannnnnt gc 12
 <210> 423
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

50 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4) .. (8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

55 <400> 423
 gccnnnnng c 11
 <210> 424
 <211> 10
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

60 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

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

5 <400> 424
 gatnnnnatc 10

<210> 425
 <211> 11
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 15 <222> (4) .. (8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 425
 gacnnnnngt c 11

<210> 426
 <211> 11
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia Artificial

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

25 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4) .. (8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 426
 30 gcannnnntg c 11

<210> 427
 <211> 12
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (12)
 40 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 427
 gtatccnnnn nn 12

<210> 428
 <211> 12
 <212> ADN
 45 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (4) .. (9)
 50 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 428
 gacnnnnng tc 12

 <210> 429
 <211> 11
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 10 <221> base_modificada
 <222> (4) .. (8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 429
 ccannnnntg g 11

 15 <210> 430
 <211> 12
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

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

 25 <400> 430
 nnnnnngaga cg 12

 <210> 431
 <211> 12
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 <221> base_modificada
 35 <222> (4) .. (9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 431
 ccannnnnt gg 12

 <210> 432
 40 <211> 10
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 45 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4) .. (7)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 432
 50 gaannnttc 10

 <210> 433
 <211> 11

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 5 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (11)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 10 <400> 433
 ggtctcnnnn n 11

 <210> 434
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (1) .. (10)
 20 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 434
 nnnnnnnnnn ctctc 16

 <210> 435
 <211> 15
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 30 <221> base_modificada
 <222> (1) .. (9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 435
 nnnnnnnnnt ccgcc 15

 35 <210> 436
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (5)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 45 <400> 436
 ggccnnnnng gcc 13

 <210> 437
 <211> 12
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

5 <400> 437
 ccannnnnnt gg 12

<210> 438
 <211> 12
 <212> ADN

10 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 15 <222> (4)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 438
 gacnnnnnng tc 12

<210> 439
 <211> 12
 <212> ADN

20 <213> Secuencia Artificial

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

25 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 439
 30 cgannnnnnt gc 12

<210> 440
 <211> 11
 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)

40 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 440
 gcannnnntg c 11

<210> 441
 <211> 11
 <212> ADN

45 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 50 <222> (4)..(8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 441
 ccannnnntg g 11

 <210> 442
 <211> 10
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 10 <221> base_modificada
 <222> (4)..(7)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 442
 gaannnnnttc 10

 15 <210> 443
 <211> 12
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

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

 25 <400> 443
 nnnnnngaga cg 12

 <210> 444
 <211> 12
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 <221> base_modificada
 35 <222> (7)..(12)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 444
 gtatccnnnn nn 12

 <210> 445
 40 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 45 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)
 <223> A, C, G, otra o desconocida

 <400> 445
 50 gacnnnnngt c 11

 <210> 446
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 5 <222> (7)..(11)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 446
 ggtctcnnnn n 11

10 <210> 447
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

15 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

20 <400> 447
 gccnnnnnngg c 11

<210> 448
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(12)
 30 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 448
 ccannnnnnn nntgg 15

35 <210> 449
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base modificada
 <222> (1)..(10)
 40 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 449
 nnnnnnnnnn ctctc 16

45 <210> 450
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada

<222> (1)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 450
 nnnnnnnnt ccgcc 15

 5 <210> 451
 <211> 9532
 <212> ADN
 <213> Organismo Desconocido

 10 <220>
 <223> Descripción de Organismo Desconocido: Secuencia de nucleótidos MALIA3

 <220>
 <221> CDS
 <222> (1579)..(1638)

 15 <220>
 <221> CDS
 <222> (2343)..(3443)

 <220>
 <221> CDS
 <222> (3945)..(4400)

 20 <220>
 <221> CDS
 <222> (4406)..(4450)

 <220>
 <221> CDS
 25 <222> (4746)..(5789)

 <400> 451

```

aatgctacta ctattagtag aattgatgcc accttttcag ctcgcgcccc aaatgaaaat 60
atagctaaac aggttattga ccatttgcga aatgtatcta atggtcaaac taaatctact 120
cgttcgcaga attggaatc aactgttaca tggaatgaaa cttccagaca ccgtacttta 180
gttgcatatt taaaacatgt tgagctacag caccagattc agcaattaag ctctaagcca 240
tccgcaaaaa tgacctctta tcaaaaggag caattaaagg tactctctaa tcctgacctg 300
ttggagtttg cttccggtct ggttcgcttt gaagctcgaa ttaaaacgcg atatttgaag 360
tctttcgggc ttctctctaa tctttttgat gcaatccgct ttgcttctga ctataatagt 420
cagggtaaag acctgatttt tgatttatgg tcattctcgt tttctgaact gtttaaagca 480
tttgaggggg attcaatgaa tatttatgac gattccgcag tattggacgc tatccagtct 540
aaacatttta ctattacccc ctctggcaaa acttcttttg caaaagcctc tcgctatttt 600
ggtttttatc gtcgtctggg aaacgagggg tatgatagtg ttgctcttac tatgcctcgt 660
aattcctttt ggcgttatgt atctgcatta gttgaatgtg gtattcctaa atctcaactg 720
atgaatcttt ctacctgtaa taatgttggt ccggttagttc gttttattaa cgtagatttt 780
tcttcccaac gtcctgactg gtataatgag ccagttctta aaatcgcata aggttaattca 840
caatgattaa agttgaaatt aaaccatctc aagcccaatt tactactcgt tctgggtgtt 900
ctcgtcaggg caagccttat tcaactgaatg agcagctttg ttacgttgat ttgggtaatg 960
aatatccggt tcttgtcaag attactcttg atgaaggcca gccagcctat gcgcctgggc 1020
tgtacaccgt tcactgtgcc tctttcaaag ttggtcagtt cggttccctt atgattgacc 1080
gtctgcgcct cgttccggct aagtaacatg gagcaggtcg cggatttcga cacaatttat 1140
caggcgatga tacaaatctc cgttgtactt tgtttcgcgc ttggtataat cgctgggggt 1200
caaagatgag tgttttagtg tattctttcg cctctttcgt tttaggttgg tgccttcgta 1260
gtggcattac gtattttacc cgtttaatgg aaacttcctc atgaaaaagt ctttagtcct 1320
caaagcctct gtagccgttg ctaccctcgt tccgatgctg tctttcgcgt ctgaggggtga 1380
cgatcccga aaagcggcct ttaactccct gcaagcctca gcgaccgaat atatcggtta 1440
tgcggtgggcg atggttggtg tcattgtcgg cgcaactatc ggtatcaagc tgtttaagaa 1500
attcacctcg aaagcaagct gataaaccga tacaattaaa ggctcctttt ggagcctttt 1560
tttttggaga ttttcaac gtg aaa aaa tta tta ttc gca att cct tta gtt 1611
Met Lys Lys Leu Leu Phe Ala Ile Pro Leu Val
1 5 10

gtt cct ttc tat tct cac agt gca cag tctgtcgtga cgcagccgcc 1658
Val Pro Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln

```

15	20	
ctcagtgtct ggggccccag ggcagagggg caccatctcc tgcactggga gcagctccaa	1718	
catcggggca ggttatgatg tacactggta ccagcagctt ccaggaacag cccccaaact	1778	
cctcatctat ggtaacagca atcggccctc aggggtccct gaccgattct ctggctccaa	1838	
gtctggcacc tcagcctccc tggccatcac tgggctccag gctgaggatg aggctgatta	1898	
ttactgccag tcctatgaca gcagcctgag tggcctttat gtcttcggaa ctgggaccaa	1958	
ggtcaccgtc ctaggtcagc ccaaggccaa cccactgtc actctgttcc cgccctcctc	2018	
tgaggagctc caagccaaca aggccacact agtgtgtctg atcagtgact tctaccggg	2078	
agctgtgaca gtggcctgga aggcagatag cagccccgtc aaggcgggag tggagaccac	2138	
cacaccctcc aaacaaagca acaacaagta cgcggccagc agctatctga gcctgacgcc	2198	
tgagcagtgg aagtcccaca gaagctacag ctgccaggtc acgcatgaag ggagcaccgt	2258	
ggagaagaca gtggccccta cagaatgttc ataataaacc gcctccaccg ggcgcgccaa	2318	
ttctatttca aggagacagt cata atg aaa tac cta ttg cct acg gca gcc	2369	
	Met Lys Tyr Leu Leu Pro Thr Ala Ala	25
gct gga ttg tta tta ctc gcg gcc cag ccg gcc atg gcc gaa gtt caa	2417	
Ala Gly Leu Leu Leu Leu Ala Ala Gln Pro Ala Met Ala Glu Val Gln		
30 35 40 45		
ttg tta gag tct ggt ggc ggt ctt gtt cag cct ggt ggt tct tta cgt	2465	
Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg		
50 55 60		
ctt tct tgc gct gct tcc gga ttc act ttc tct tcg tac gct atg tct	2513	
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser		
65 70 75		
tgg gtt cgc caa gct cct ggt aaa ggt ttg gag tgg gtt tct gct atc	2561	
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile		
80 85 90		
tct ggt tct ggt ggc agt act tac tat gct gac tcc gtt aaa ggt cgc	2609	
Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg		
95 100 105		
ttc act atc tct aga gac aac tct aag aat act ctc tac ttg cag atg	2657	
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met		
110 115 120 125		
aac agc tta agg gct gag gac act gca gtc tac tat tgc gct aaa gac	2705	
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Asp		
130 135 140		
tat gaa ggt act ggt tat gct ttc gac ata tgg ggt caa ggt act atg	2753	
Tyr Glu Gly Thr Gly Tyr Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met		

145										150										155									
gtc	acc	gtc	tct	agt	gcc	tcc	acc	aag	ggc	cca	tcg	gtc	ttc	ccc	ctg														
Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu														2801
		160					165					170																	
gca	ccc	tcc	tcc	aag	agc	acc	tct	ggg	ggc	aca	gcg	gcc	ctg	ggc	tgc														2849
Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys														
	175					180					185																		
ctg	gtc	aag	gac	tac	ttc	ccc	gaa	ccg	gtg	acg	gtg	tcg	tgg	aac	tca														2897
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser														
	190				195					200					205														
ggc	gcc	ctg	acc	agc	ggc	gtc	cac	acc	ttc	ccg	gct	gtc	cta	cag	tct														2945
Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser														
				210				215						220															
agc	gga	ctc	tac	tcc	ctc	agc	agc	gta	gtg	acc	gtg	ccc	tct	tct	agc														2993
Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser														
			225					230					235																
ttg	ggc	acc	cag	acc	tac	atc	tgc	aac	gtg	aat	cac	aag	ccc	agc	aac														3041
Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn														
		240				245					250																		
acc	aag	gtg	gac	aag	aaa	gtt	gag	ccc	aaa	tct	tgt	gcg	gcc	gct	cat														3089
Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Ala	Ala	Ala	His														
	255					260					265																		
cac	cac	cat	cat	cac	tct	gct	gaa	caa	aaa	ctc	atc	tca	gaa	gag	gat														3137
His	His	His	His	His	Ser	Ala	Glu	Gln	Lys	Leu	Ile	Ser	Glu	Glu	Asp														
					275					280					285														
ctg	aat	ggc	gcc	gca	gat	atc	aac	gat	gat	cgt	atg	gct	ggc	gcc	gct														3185
Leu	Asn	Gly	Ala	Ala	Asp	Ile	Asn	Asp	Asp	Arg	Met	Ala	Gly	Ala	Ala														
				290				295					300																
gaa	act	gtt	gaa	agt	tgt	tta	gca	aaa	ccc	cat	aca	gaa	aat	tca	ttt														3233
Glu	Thr	Val	Glu	Ser	Cys	Leu	Ala	Lys	Pro	His	Thr	Glu	Asn	Ser	Phe														
			305					310					315																
act	aac	gtc	tgg	aaa	gac	gac	aaa	act	tta	gat	cgt	tac	gct	aac	tat														3281
Thr	Asn	Val	Trp	Lys	Asp	Asp	Lys	Thr	Leu	Asp	Arg	Tyr	Ala	Asn	Tyr														
		320					325					330																	
gag	ggc	tgt	ctg	tgg	aat	gct	aca	ggc	gtt	gta	gtt	tgt	act	ggc	gac														3329
Glu	Gly	Cys	Leu	Trp	Asn	Ala	Thr	Gly	Val	Val	Val	Cys	Thr	Gly	Asp														
	335					340					345																		
gaa	act	cag	tgt	tac	ggc	aca	tgg	gtt	cct	att	ggg	ctt	gct	atc	cct														3377
Glu	Thr	Gln	Cys	Tyr	Gly	Thr	Trp	Val	Pro	Ile	Gly	Leu	Ala	Ile	Pro														
	350				355				360						365														
gaa	aat	gag	ggc	ggc	ggc	tct	gag	ggc	ggc	ggc	tct	gag	ggc	ggc	ggc														3425
Glu	Asn	Glu	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Gly	Gly	Gly														
			370					375							380														

tct gag ggt ggc ggt act aaacctcctg agtacggtga tacacctatt 3473
 Ser Glu Gly Gly Gly Thr
 385

ccgggctata cttatatcaa ccctctcgac ggcacttata cgcttggtac tgagcaaaac 3533
 cccgctaata ctaatccttc tcttgaggag tctcagcctc ttaatacttt catgtttcag 3593
 aataataggt tccgaaatag gcagggggca ttaactgttt atacgggcac tgttactcaa 3653
 ggcactgacc ccgttaaaac ttattaccag tacactcctg tatcatcaaa agccatgtat 3713
 gacgcttact ggaacggtaa attcagagac tgcgctttcc attctggcct taatgaagat 3773
 ccattcgttt gtgaatatca aggccaatcg tctgacctgc ctcaacctcc tgtcaatgct 3833
 ggcgcgggct ctggtggtgg ttctggtggc ggctctgagg gtggtggctc tgaggggtggc 3893
 ggttctgagg gtggcggtc tgagggaggc ggttccggtg gtggctctgg t tcc ggt 3950
 Ser Gly

gat ttt gat tat gaa aag atg gca aac gct aat aag ggg gct atg acc 3998
 Asp Phe Asp Tyr Glu Lys Met Ala Asn Ala Asn Lys Gly Ala Met Thr
 390 395 400 405

gaa aat gcc gat gaa aac gcg cta cag tct gac gct aaa ggc aaa ctt 4046
 Glu Asn Ala Asp Glu Asn Ala Leu Gln Ser Asp Ala Lys Gly Lys Leu
 410 415 420

gat tct gtc gct act gat tac ggt gct gct atc gat ggt ttc att ggt 4094
 Asp Ser Val Ala Thr Asp Tyr Gly Ala Ala Ile Asp Gly Phe Ile Gly
 425 430 435

gac gtt tcc ggc ctt gct aat ggt aat ggt gct act ggt gat ttt gct 4142
 Asp Val Ser Gly Leu Ala Asn Gly Asn Gly Ala Thr Gly Asp Phe Ala
 440 445 450

ggc tct aat tcc caa atg gct caa gtc ggt gac ggt gat aat tca cct 4190
 Gly Ser Asn Ser Gln Met Ala Gln Val Gly Asp Gly Asp Asn Ser Pro
 455 460 465

tta atg aat aat ttc cgt caa tat tta cct tcc ctc cct caa tcg gtt 4238
 Leu Met Asn Asn Phe Arg Gln Tyr Leu Pro Ser Leu Pro Gln Ser Val
 470 475 480 485

gaa tgt cgc cct ttt gtc ttt agc gct ggt aaa cca tat gaa ttt tct 4286
 Glu Cys Arg Pro Phe Val Phe Ser Ala Gly Lys Pro Tyr Glu Phe Ser
 490 495 500

att gat tgt gac aaa ata aac tta ttc cgt ggt gtc ttt gcg ttt ctt 4334
 Ile Asp Cys Asp Lys Ile Asn Leu Phe Arg Gly Val Phe Ala Phe Leu
 505 510 515

tta tat gtt gcc acc ttt atg tat gta ttt tct acg ttt gct aac ata 4382
 Leu Tyr Val Ala Thr Phe Met Tyr Val Phe Ser Thr Phe Ala Asn Ile
 520 525 530

ctg cgt aat aag gag tct taatc atg cca gtt ctt ttg ggt att ccg tta 4432

```

Leu Arg Asn Lys Glu Ser      Met Pro Val Leu Leu Gly Ile Pro Leu
535                          540                          545

tta ttg cgt ttc ctc ggt ttccttctgg taactttggt cggctatctg      4480
Leu Leu Arg Phe Leu Gly
550

cttacttttc ttaaaaaggg cttcggttaag atagctattg ctatttcatt gtttcttgct 4540
cttattattg ggcttaactc aattcttggtg gggtatctct ctgatattag cgctcaatta 4600
ccctctgact ttgttcaggg tggtcagtta attctcccgct ctaatgcgct tcctgtgttt 4660
tatgttattc tctctgtaaa ggctgctatt ttcatttttg acgttaaaca aaaaatcggt 4720

tcttatttgg attgggataa ataat atg gct gtt tat ttt gta act ggc aaa 4772
Met Ala Val Tyr Phe Val Thr Gly Lys
555                          560

tta ggc tct gga aag acg ctc gtt agc gtt ggt aag att cag gat aaa 4820
Leu Gly Ser Gly Lys Thr Leu Val Ser Val Gly Lys Ile Gln Asp Lys
565                          570                          575

att gta gct ggg tgc aaa ata gca act aat ctt gat tta agg ctt caa 4868
Ile Val Ala Gly Cys Lys Ile Ala Thr Asn Leu Asp Leu Arg Leu Gln
580                          585                          590                          595

aac ctc ccg caa gtc ggg agg ttc gct aaa acg cct cgc gtt ctt aga 4916
Asn Leu Pro Gln Val Gly Arg Phe Ala Lys Thr Pro Arg Val Leu Arg
600                          605                          610

ata ccg gat aag cct tct ata tct gat ttg ctt gct att ggg cgc ggt 4964
Ile Pro Asp Lys Pro Ser Ile Ser Asp Leu Leu Ala Ile Gly Arg Gly
615                          620                          625

aat gat tcc tac gat gaa aat aaa aac ggc ttg ctt gtt ctc gat gag 5012
Asn Asp Ser Tyr Asp Glu Asn Lys Asn Gly Leu Leu Val Leu Asp Glu
630                          635                          640

tgc ggt act tgg ttt aat acc cgt tct tgg aat gat aag gaa aga cag 5060
Cys Gly Thr Trp Phe Asn Thr Arg Ser Trp Asn Asp Lys Glu Arg Gln
645                          650                          655

ccg att att gat tgg ttt cta cat gct cgt aaa tta gga tgg gat att 5108
Pro Ile Ile Asp Trp Phe Leu His Ala Arg Lys Leu Gly Trp Asp Ile
660                          665                          670                          675

att ttt ctt gtt cag gac tta tct att gtt gat aaa cag gcg cgt tct 5156
Ile Phe Leu Val Gln Asp Leu Ser Ile Val Asp Lys Gln Ala Arg Ser
680                          685                          690

gca tta gct gaa cat gtt gtt tat tgt cgt cgt ctg gac aga att act 5204
Ala Leu Ala Glu His Val Val Tyr Cys Arg Arg Leu Asp Arg Ile Thr
695                          700                          705

tta cct ttt gtc ggt act tta tat tct ctt att act ggc tcg aaa atg 5252
Leu Pro Phe Val Gly Thr Leu Tyr Ser Leu Ile Thr Gly Ser Lys Met
710                          715                          720

```

cct ctg cct aaa tta cat gtt ggc gtt gtt aaa tat ggc gat tct caa 5300
 Pro Leu Pro Lys Leu His Val Gly Val Val Lys Tyr Gly Asp Ser Gln
 725 730 735

tta agc cct act gtt gag cgt tgg ctt tat act ggt aag aat ttg tat 5348
 Leu Ser Pro Thr Val Glu Arg Trp Leu Tyr Thr Gly Lys Asn Leu Tyr
 740 745 750 755

aac gca tat gat act aaa cag gct ttt tct agt aat tat gat tcc ggt 5396
 Asn Ala Tyr Asp Thr Lys Gln Ala Phe Ser Ser Asn Tyr Asp Ser Gly
 760 765 770

gtt tat tct tat tta acg cct tat tta tca cac ggt cgg tat ttc aaa 5444
 Val Tyr Ser Tyr Leu Thr Pro Tyr Leu Ser His Gly Arg Tyr Phe Lys
 775 780 785

cca tta aat tta ggt cag aag atg aaa tta act aaa ata tat ttg aaa 5492
 Pro Leu Asn Leu Gly Gln Lys Met Lys Leu Thr Lys Ile Tyr Leu Lys
 790 795 800

aag ttt tct cgc gtt ctt tgt ctt gcg att gga ttt gca tca gca ttt 5540
 Lys Phe Ser Arg Val Leu Cys Leu Ala Ile Gly Phe Ala Ser Ala Phe
 805 810 815

aca tat agt tat ata acc caa cct aag ccg gag gtt aaa aag gta gtc 5588
 Thr Tyr Ser Tyr Ile Thr Gln Pro Lys Pro Glu Val Lys Lys Val Val
 820 825 830 835

tct cag acc tat gat ttt gat aaa ttc act att gac tct tct cag cgt 5636
 Ser Gln Thr Tyr Asp Phe Asp Lys Phe Thr Ile Asp Ser Ser Gln Arg
 840 845 850

ctt aat cta agc tat cgc tat gtt ttc aag gat tct aag gga aaa tta 5684
 Leu Asn Leu Ser Tyr Arg Tyr Val Phe Lys Asp Ser Lys Gly Lys Leu
 855 860 865

att aat agc gac gat tta cag aag caa ggt tat tca ctc aca tat att 5732
 Ile Asn Ser Asp Asp Leu Gln Lys Gln Gly Tyr Ser Leu Thr Tyr Ile
 870 875 880

gat tta tgt act gtt tcc att aaa aaa ggt aat tca aat gaa att gtt 5780
 Asp Leu Cys Thr Val Ser Ile Lys Lys Gly Asn Ser Asn Glu Ile Val
 885 890 895

aaa tgt aat taattttgtt ttcttgatgt ttgtttcatc atcttctttt 5829
 Lys Cys Asn
 900

gctcaggtaa ttgaaatgaa taattcgcct ctgcgcgatt ttgtaacttg gtattcaaag 5889

caatcaggcg aatccggttat tgtttctccc gatgtaaaag gtactgttac tgtatattca 5949

tctgacgtta aacctgaaaa tctacgcaat ttctttattt ctgtttttacg tgctaataat 6009

tttgatatgg ttggttcaat tccttccata attcagaagt ataatccaaa caatcaggat 6069

tatattgatg aattgccatc atctgataat caggaatatg atgataattc cgctccttct 6129

ggtgggtttct ttgttccgca aaatgataat gttactcaaa cttttaaaat taataacgtt 6189
 cgggcaaagg atttaatacg agttgtcgaa ttgtttgtaa agtctaatac ttctaaatcc 6249
 tcaaatgtat tatctattga cggctctaata ctattagttg tttctgcacc taaagatatt 6309
 ttagataacc ttctcaatt cttttctact gttgatttgc caactgacca gatattgatt 6369
 gaggggttga tatttgaggt tcagcaaggt gatgctttag atttttcatt tgctgctggc 6429
 tctcagcgtg gcactgttgc aggcggtgtt aatactgacc gcctcacctc tgttttatct 6489
 tctgctggtg gttcgttcgg tatttttaat ggcgatgttt tagggctatc agttcgcgca 6549
 ttaaagacta atagccattc aaaaatattg tctgtgccac gtattcttac gctttcaggt 6609
 cagaagggtt ctatctctgt tggccagaat gtccctttta ttactggctg tgtgactggt 6669
 gaatctgcc aatgaaataa tccatttcag acgattgagc gtcaaaatgt aggtatttcc 6729
 atgagcgttt ttctgttgc aatggctggc ggtaatatgt ttctggatat taccagcaag 6789
 gccgatagtt tgagttcttc tactcaggca agtgatgtta ttactaatca aagaagtatt 6849
 gctacaacgg ttaatttgcg tgatggacag actcttttac tcggtggcct cactgattat 6909
 aaaaacactt ctcaagattc tggcgtaccg ttctgttcta aaatcccttt aatcggcctc 6969
 ctgttttagct cccgctctga ttccaacgag gaaagcacgt tatacgtgct cgtcaaagca 7029
 accatagtag gcgccctgta gcggcgcat aagcgcggcg ggtgtggtgg ttacgcgcag 7089
 cgtgaccgct acacttgcca gcgccctagc gcccgctcct ttcgctttct tcccttcctt 7149
 tctcgccacg ttccgcggct ttccccgtca agctctaaat cgggggctcc ctttaggggt 7209
 ccgatttagt gctttacggc acctcgacct caaaaaactt gatttgggtg atggttcacg 7269
 tagtgggcca tcgccctgat agacggtttt tcgccctttg acgttggagt ccacgttctt 7329
 taatagtgga ctcttgttcc aaactggaac aacactcaac cctatctcgg gctattcttt 7389
 tgatttataa gggattttgc cgatttcgga accaccatca aacaggattt tcgcctgctg 7449
 gggcaaacca gcgtggaccg cttgctgcaa ctctctcagg gccaggcggg gaagggaat 7509
 cagctgttgc ccgtctcact ggtgaaaaga aaaaccaccc tggatccaag cttgcaggtg 7569
 gcacttttcg gggaaatgtg cgcggaacct ctatttgttt atttttctaa atacattcaa 7629
 atatgtatcc gctcatgaga caataacctt gataaatgct tcaataatat tgaaaaagga 7689
 agagtatgag tattcaacat ttccgtgtcg cccttattcc cttttttgcg gcattttgcc 7749
 ttctgttttt tgctcaccca gaaacgctgg tgaaagtaaa agatgctgaa gatcagttgg 7809
 gcgcacgagt gggttacatc gaactggatc tcaacagcgg taagatcctt gagagttttc 7869

```

gccccgaaga acgtttttcca atgatgagca ctttttaaagt tctgctatgt catacactat 7929
tatcccgtat tgacgccggg caagagcaac tcggtcgccg ggcgcggtat tctcagaatg 7989
acttggttga gtactcacca gtcacagaaa agcatcttac ggatggcatg acagtaagag 8049
aattatgcag tgctgccata accatgagtg ataacactgc ggccaactta cttctgacaa 8109
cgatcggagg accgaaggag ctaaccgctt ttttgcacaa catgggggat catgtaactc 8169
gccttgatcg ttgggaaccg gagctgaatg aagccatacc aaacgacgag cgtgacacca 8229
cgatgcctgt agcaatgcc acaacgttgc gcaaactatt aactggcgaa ctacttactc 8289
tagcttcccg gcaacaatta atagactgga tggaggcgga taaagttgca ggaccacttc 8349
tgcgctcggc ccttcgggt ggctggttta ttgctgataa atctggagcc ggtgagcgtg 8409
ggtctcgcg tatcattgca gcaactgggc cagatggtaa gccctcccgt atcgtagtta 8469
tctacacgac ggggagtcag gcaactatgg atgaacgaaa tagacagatc gctgagatag 8529
gtgcctcact gattaagcat tggttaactgt cagaccaagt ttactcatat atactttaga 8589
ttgatttaaa acttcatttt taatttaaaa ggatctaggt gaagatcctt tttgataatc 8649
tcatgaccaa aatcccttaa cgtgagtttt cgttccactg tacgtaagac cccaagctt 8709
gtcgactgaa tggcgaatgg cgctttgcct ggtttccggc accagaagcg gtgccggaaa 8769
gctggctgga gtgcgatctt cctgaggccg atactgtcgt cgtcccctca aactggcaga 8829
tgcacggtta cgatgcgccc atctacacca acgtaacctt tcccattacg gtcaatccgc 8889
cgtttgttcc cacggagaat ccgacgggtt gttactcgct cacatttaat gttgatgaaa 8949
gctggctaca ggaaggccag acgcgaatta tttttgatgg cgttcctatt ggttaaaaaa 9009
tgagctgatt taacaaaaat ttaacgcgaa ttttaacaaa atattaacgt ttacaattta 9069
aatatttgct tatacaatct tcctgttttt ggggcttttc tgattatcaa ccggggtaca 9129
tatgattgac atgctagttt tacgattacc gttcatcgat tctcttgttt gctccagact 9189
ctcaggcaat gacctgatag cctttgtaga tctctcaaaa atagctaccc tctccggcat 9249
gaatttatca gctagaacgg ttgaatatca tattgatggt gatttgactg tctccggcct 9309
ttctcacctt tttgaatctt tacctacaca ttactcaggc attgcattta aaatatatga 9369
gggttctaaa aatttttatc cttgcgttga aataaaggct tctccgcaa aagtattaca 9429
gggtcataat gtttttggtt caaccgattt agctttatgc tctgaggctt tattgcttaa 9489
ttttgcta at tctttgcctt gcctgtatga tttattggat gtt 9532

```

<210> 452

<211> 20

<212> PRT

<213> Organismo Desconocido

<220>

<223> Descripción de Organismo Desconocido: secuencia peptídica MALIA3

<400> 452

Met Lys Lys Leu Leu Phe Ala Ile Pro Leu Val Val Pro Phe Tyr Ser
 1 5 10 15

His Ser Ala Gln
 20

5

<210> 453

<211> 367

<212> PRT

<213> Organismo Desconocido

<220>

10 <223> Descripción de Organismo Desconocido: Secuencia de la proteína MALIA3

<400> 453

Met Lys Tyr Leu Leu Pro Thr Ala Ala Ala Gly Leu Leu Leu Leu Ala
 1 5 10 15

Ala Gln Pro Ala Met Ala Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly
 20 25 30

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 35 40 45

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 50 55 60

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
 65 70 75 80

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 85 90 95

Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
 100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Asp Tyr Glu Gly Thr Gly Tyr Ala
 115 120 125

Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 130 135 140

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
 145 150 155 160

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro

```

                165                170                175
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
      180                185                190
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
      195                200                205
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
      210                215                220
Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
      225                230                235                240
Glu Pro Lys Ser Cys Ala Ala Ala His His His His His His Ser Ala
      245                250                255
Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn Gly Ala Ala Asp Ile
      260                265                270
Asn Asp Asp Arg Met Ala Gly Ala Ala Glu Thr Val Glu Ser Cys Leu
      275                280                285
Ala Lys Pro His Thr Glu Asn Ser Phe Thr Asn Val Trp Lys Asp Asp
      290                295                300
Lys Thr Leu Asp Arg Tyr Ala Asn Tyr Glu Gly Cys Leu Trp Asn Ala
      305                310                315                320
Thr Gly Val Val Val Cys Thr Gly Asp Glu Thr Gln Cys Tyr Gly Thr
      325                330                335
Trp Val Pro Ile Gly Leu Ala Ile Pro Glu Asn Glu Gly Gly Gly Ser
      340                345                350
Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Thr
      355                360                365

```

<210> 454

<211> 152

<212> PRT

5 <213> Organismo Desconocido

<220>

<223> Descripción de Organismo Desconocido: Secuencia de la proteína MALIA3

<400> 454

```

Ser Gly Asp Phe Asp Tyr Glu Lys Met Ala Asn Ala Asn Lys Gly Ala
  1          5          10          15
Met Thr Glu Asn Ala Asp Glu Asn Ala Leu Gln Ser Asp Ala Lys Gly
      20          25          30
Lys Leu Asp Ser Val Ala Thr Asp Tyr Gly Ala Ala Ile Asp Gly Phe
      35          40          45

```

Ile Gly Asp Val Ser Gly Leu Ala Asn Gly Asn Gly Ala Thr Gly Asp
50 55 60

Phe Ala Gly Ser Asn Ser Gln Met Ala Gln Val Gly Asp Gly Asp Asn
65 70 75 80

Ser Pro Leu Met Asn Asn Phe Arg Gln Tyr Leu Pro Ser Leu Pro Gln
85 90 95

Ser Val Glu Cys Arg Pro Phe Val Phe Ser Ala Gly Lys Pro Tyr Glu
100 105 110

Phe Ser Ile Asp Cys Asp Lys Ile Asn Leu Phe Arg Gly Val Phe Ala
115 120 125

Phe Leu Leu Tyr Val Ala Thr Phe Met Tyr Val Phe Ser Thr Phe Ala
130 135 140

Asn Ile Leu Arg Asn Lys Glu Ser
145 150

<210> 455

<211> 15

<212> PRT

5 <213> Organismo Desconocido

<220>

<223> Descripción de Organismo Desconocido: secuencia peptídica MALIA3

<400> 455

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

10 <210> 456

<211> 34B

<212> PRT

<213> Organismo Desconocido

<220>

15 <223> Descripción de Organismo Desconocido: Secuencia de la proteína MALIA3

<400> 456

Met Ala Val Tyr Phe Val Thr Gly Lys Leu Gly Ser Gly Lys Thr Leu
1 5 10 15

Val Ser Val Gly Lys Ile Gln Asp Lys Ile Val Ala Gly Cys Lys Ile
20 25 30

Ala Thr Asn Leu Asp Leu Arg Leu Gln Asn Leu Pro Gln Val Gly Arg
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Pro Arg Val Leu Arg Ile Pro Asp Lys Pro Ser Ile
50 55 60

Ser Asp Leu Leu Ala Ile Gly Arg Gly Asn Asp Ser Tyr Asp Glu Asn
 65 70 75 80
 Lys Asn Gly Leu Leu Val Leu Asp Glu Cys Gly Thr Trp Phe Asn Thr
 85 90 95
 Arg Ser Trp Asn Asp Lys Glu Arg Gln Pro Ile Ile Asp Trp Phe Leu
 100 105 110
 His Ala Arg Lys Leu Gly Trp Asp Ile Ile Phe Leu Val Gln Asp Leu
 115 120 125
 Ser Ile Val Asp Lys Gln Ala Arg Ser Ala Leu Ala Glu His Val Val
 130 135 140
 Tyr Cys Arg Arg Leu Asp Arg Ile Thr Leu Pro Phe Val Gly Thr Leu
 145 150 155 160
 Tyr Ser Leu Ile Thr Gly Ser Lys Met Pro Leu Pro Lys Leu His Val
 165 170 175
 Gly Val Val Lys Tyr Gly Asp Ser Gln Leu Ser Pro Thr Val Glu Arg
 180 185 190
 Trp Leu Tyr Thr Gly Lys Asn Leu Tyr Asn Ala Tyr Asp Thr Lys Gln
 195 200 205
 Ala Phe Ser Ser Asn Tyr Asp Ser Gly Val Tyr Ser Tyr Leu Thr Pro
 210 215 220
 Tyr Leu Ser His Gly Arg Tyr Phe Lys Pro Leu Asn Leu Gly Gln Lys
 225 230 235 240
 Met Lys Leu Thr Lys Ile Tyr Leu Lys Lys Phe Ser Arg Val Leu Cys
 245 250 255
 Leu Ala Ile Gly Phe Ala Ser Ala Phe Thr Tyr Ser Tyr Ile Thr Gln
 260 265 270
 Pro Lys Pro Glu Val Lys Lys Val Val Ser Gln Thr Tyr Asp Phe Asp
 275 280 285
 Lys Phe Thr Ile Asp Ser Ser Gln Arg Leu Asn Leu Ser Tyr Arg Tyr
 290 295 300
 Val Phe Lys Asp Ser Lys Gly Lys Leu Ile Asn Ser Asp Asp Leu Gln
 305 310 315 320
 Lys Gln Gly Tyr Ser Leu Thr Tyr Ile Asp Leu Cys Thr Val Ser Ile
 325 330 335
 Lys Lys Gly Asn Ser Asn Glu Ile Val Lys Cys Asn
 340 345

<210> 457

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

5

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador

<400> 457
 tggaagaggc acgttctttt cttt 24
 <210> 458
 <211> 24
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador
 <400> 458
 10 ctttctttg ttgccgttg ggtg 24
 <210> 459
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador
 <400> 459
 acactctccc ctgtgaagc tctt 24
 <210> 460
 20 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador
 25 <400> 460
 accgcctcca ccgggcgcgc cttattaaca ctctcccctg ttgaagctct t 51
 <210> 461
 <211> 23
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador
 <400> 461
 tgaacattct gtaggggcca ctg 23
 35 <210> 462
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador
 <400> 462
 agagcattct gcaggggcca ctg 23
 <210> 463
 <211> 50
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador
 <400> 463
 50 accgcctcca ccgggcgcgc cttattatga acattctgta gggggccactg 50
 <210> 464
 <211> 50

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador

 5 <400> 464
 accgcctcca cggggcgcgc cttattaaga gcattctgca ggggccactg 50

 <210> 465
 <211> 23
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador

 <400> 465
 cgactggagc acgaggacac tga 23

 15 <210> 466
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador

 <400> 466
 ggacactgac atggactgaa ggagta 26

 <210> 467
 <211> 20
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 467
 30 gggaggatgg agactgggtc 20

 <210> 468
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 468
 gggaagatgg agactgggtc 20

 <210> 469
 40 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 45 <400> 469
 gggagagtgg agactgagtc 20

 <210> 470
 <211> 20
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 470
 ggggtgcctgg agactgcgtc 20
 <210> 471
 <211> 20
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 471
 10 ggggtgcctgg agactgcgtc 20
 <210> 472
 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 472
 gggaggatgg agactgggtc atctggatgt cttgtgcact gtgacagagg 50
 20 <210> 473
 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 25 <400> 473
 ggggaagatgg agactgggtc atctggatgt cttgtgcact gtgacagagg 50
 <210> 474
 <211> 50
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 474
 gggagagtgg agactgggtc atctggatgt cttgtgcact gtgacagagg 50
 35 <210> 475
 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 475
 ggggtgcctgg agactgggtc atctggatgt cttgtgcact gtgacagagg 50
 <210> 476
 <211> 50
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 476
 50 ggggtgcctgg agactgggtc atctggatgt cttgtgcact gtgacagagg 50
 <210> 477
 <211> 50

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 5 <400> 477
 gggagtctgg agactgggtc atctggatgt cttgtgcact gtgacagagg 50

 <210> 478
 <211> 42
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 478
 cctctgtcac agtgcacaag acatccagat gaccagctct cc 42

 15 <210> 479
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador

 <400> 479
 cctctgtcac agtgcacaag ac 22

 <210> 480
 <211> 24
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador

 <400> 480
 30 acactctccc ctgttgaagc tctt 24

 <210> 481
 <211> 668
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 35 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(668)\

 <400> 481

```

agt gca caa gac atc cag atg acc cag tct cca gcc acc ctg tct gtg 48
Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val
1 5 10 15

tct cca ggg gaa agg gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag agt gtt 96
Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val
20 25 30

agt aac aac tta gcc tgg tac cag cag aaa cct ggc cag gtt ccc agg 144
Ser Asn Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Val Pro Arg
35 40 45

ctc ctc atc tat ggt gca tcc acc agg gcc act gat atc cca gcc agg 192
Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Asp Ile Pro Ala Arg
50 55 60

ttc agt ggc agt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc aga 240
Phe Ser Gly Ser Gly Thr Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg
65 70 75 80

ctg gag cct gaa gat ttt gca gtg tat tac tgt cag cgg tat ggt agc 288
Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Gly Ser
85 90 95

tca ccg ggg tgg acg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gaa atc aaa cga 336
Ser Pro Gly Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag cag 384
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc tat 432
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa tcg 480
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc acc 528

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

tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag aaa 576
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg cct 624
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

gtc aca aag agc ttc aac aaa gga gag tgt aag ggc gaa ttc gc 668
Val Thr Lys Ser Phe Asn Lys Gly Glu Cys Lys Gly Glu Phe Ala
210 215 220

```

<210> 482

<211> 223

<212> PRT

<213> Homo sapiens

5

<400> 482

Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val
1 5 10 15

Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val
20 25 30

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

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

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg
65 70 75 80

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

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

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

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

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

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

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

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

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

<210> 483

<211> 13

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

10

<400> 483

agccaccctg tct 13

<210> 484

<211> 700

<212> ADN

15

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(699)

<400> 484

```

agt gca caa gac atc cag atg acc cag tct cct gcc acc ctg tct gtg 48
Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val
1      .      5      10      15

tct cca ggt gaa aga gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag gtg tct 96
Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Val Ser
      20      25      30

cca ggg gaa aga gcc acc ctc tcc tgc aat ctt ctc agc aac tta gcc 144
Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Asn Leu Leu Ser Asn Leu Ala
      35      40      45

tgg tac cag cag aaa cct ggc cag gct ccc agg ctc ctc atc tat ggt 192
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly
      50      55      60

gct tcc acc ggg gcc att ggt atc cca gcc agg ttc agt ggc agt ggg 240
Ala Ser Thr Gly Ala Ile Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly
      65      70      75

tct ggg aca gag ttc act ctc acc atc agc agc ctg cag tct gaa gat 288
Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser Glu Asp
      85      90      95

ttt gca gtg tat ttc tgt cag cag tat ggt acc tca ccg ccc act ttc 336
Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Gly Thr Ser Pro Thr Phe
      100      105      110

ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa cga act gtg gct gca cca tct 384
Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser
      115      120      125

gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag cag ttg aaa tct gga act gcc 432
Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala
      130      135      140

tct gtt gtg tgc ccg ctg aat aac ttc tat ccc aga gag gcc aaa gta 480
Ser Val Val Cys Pro Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
      145      150      155

cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa tcg ggt aac tcc cag gag agt 528
Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser
      165      170      175

gtc aca gag cag gac aac aag gac agc acc tac agc ctc agc agc acc 576
Val Thr Glu Gln Asp Asn Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr
      180      185      190

ctg acg ctg agc aaa gta gac tac gag aaa cac gaa gtc tac gcc tgc 624
Leu Thr Leu Ser Lys Val Asp Tyr Glu Lys His Glu Val Tyr Ala Cys
      195      200      205

gaa gtc acc cat cag ggc ctt agc tcg ccc gtc acg aag agc ttc aac 672
Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn
      210      215      220

agg gga gag tgt aag aaa gaa ttc gtt t 700
Arg Gly Glu Cys Lys Lys Glu Phe Val
      225      230

```

<210> 485

<211> 233

<212> PRT

<213> Homo sapiens

5

<400> 485

```

Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val
 1           5           10           15

Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Val Ser
          20           25           30

Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Asn Leu Leu Ser Asn Leu Ala
          35           40           45

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly
          50           55           60

Ala Ser Thr Gly Ala Ile Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly
          65           70           75           80

Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser Glu Asp
          85           90           95

Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Gly Thr Ser Pro Pro Thr Phe
          100           105           110

Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser
          115           120           125

Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala
          130           135           140

Ser Val Val Cys Pro Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
          145           150           155           160

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser
          165           170           175

Val Thr Glu Gln Asp Asn Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr
          180           185           190

Leu Thr Leu Ser Lys Val Asp Tyr Glu Lys His Glu Val Tyr Ala Cys
          195           200           205

Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn
          210           215           220

Arg Gly Glu Cys Lys Lys Glu Phe Val
          225           230

```

<210> 486

<211> 419

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de nucleótidos de 3-23 VH sintética

<220>

<221> CDS

<222> (12)..(419)

<400> 486

```

ctgtctgaac g gcc cag ccg gcc atg gcc gaa gtt caa ttg tta gag tct 50
      Ala Gln Pro Ala Met Ala Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser
          1              5              10

ggt ggc ggt ctt gtt cag cct ggt ggt tct tta cgt ctt tct tgc gct 98
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
      15              20              25

gct tcc gga ttc act ttc tct tcg tac gct atg tct tgg gtt cgc caa 146
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln
      30              35              40              45

gct cct ggt aaa ggt ttg gag tgg gtt tct gct atc tct ggt tct ggt 194
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly
          50              55              60

ggc agt act tac tat gct gac tcc gtt aaa ggt cgc ttc act atc tct 242
Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
          65              70              75

aga gac aac tct aag aat act ctc tac ttg cag atg aac agc tta agg 290
Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg
          80              85              90

gct gag gac act gca gtc tac tat tgc gct aaa gac tat gaa ggt act 338
Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Asp Tyr Glu Gly Thr
          95              100              105

ggt tat gct ttc gac ata tgg ggt caa ggt act atg gtc acc gtc tct 386
Gly Tyr Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser
      110              115              120              125

agt gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc 419
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
          130              135

```

<210> 487

<211> 136

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

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

5

<400> 487
Ala Gln Pro Ala Met Ala Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly
1 5 10 15
Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
20 25 30
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
35 40 45
Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
50 55 60
Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
65 70 75 80
Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
85 90 95
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Asp Tyr Glu Gly Thr Gly Tyr Ala
100 105 110
Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120 125
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135

<210> 488

<211> 20

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador

<400> 488

ctgtctgaac ggcccagccg 20

<210> 489

<211> 83

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 489

ctgtctgaac ggcccagccg gccatggccg aagttcaatt gttagagtct ggtggcggtc 60
ttgttcagcc tgggtgttct tta 83

<210> 490

<211> 54

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 490

gaaagtgaat ccggaagcag cgcaagaaag acgtaaagaa ccaccaggct gaac 54

<210> 491

<211> 42

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 491

agaaaccac tccaaacctt taccaggagc ttggcgaacc ca 42

<210> 492
 <211> 94
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 492
agtgtcctca gcccttaagc tgttcacatctg caagtagaga gtattccttag agttgtctct 60
agagatagtg aagcgacctt taacggagtc agca 94

10 <210> 493
 <211> 81
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

15 <400> 493
gcttaagggc tgaggacact gcagtctact attgcgctaa agactatgaa ggtactgggt 60
atgctttcga catatggggt c 81

<210> 494
 <211> 72
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 494
ggggaagacc gatgggccct tgggtggaggc actagagacg gtgaccatag taccttgacc 60
tatgtcgaaa gc 72

25 <210> 495
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador

30 <400> 495
ggggaagacc gatgggccct tgg 23

<210> 496
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base modificada
 <222> (22)..(24)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (28)..(30)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

45 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (34)..(36)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

50 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (34)..(36)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

- <220>
<223> nnn codifica cualquier aminoácido excepto Cys
- <400> 496
gcttccggat tcactttctc tnnntacnnn atgnnnntggg ttgcgcaagc tcctgg 56
- 5 <210> 497
<211> 68
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial
- <220>
10 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
- <220>
<221> base_modificada
<222> (19)..(21)
<223> A, T, C or G
- 15 <220>
<221> base_modificada
<222> (25)..(30)
<223> A, T, C or G
- 20 <220>
<221> base_modificada
<222> (40)..(42)
<223> A, T, C or G
- 25 <220>
<221> base_modificada
<222> (46)..(48)
<223> A, T, C or G
- <400> 497
ggtttggagt gggtttctnn nactnnnnnn tctgggtggcn nnactnnnta tgctgactcc 60
gttaaagg 68
- 30 <210> 498
<211> 912
<212> ADN
<213> Escherichia coli
- <400> 498
tccggagctt cagatctgtt tgcctttttg tgggggtggtg cagatcgcgt tacggagatc 60
gaccgactgc ttgagcaaaa gccacgctta actgctgatac aggcattggga tggatttcgc 120
caaaccagtc gtcaggatct taacctgagg ctttttttac ctactctgca agcagcgaca 180
tctgggtttga cacagagcga tccgcgtcgt cagttggtag aaacattaac acgttgggat 240
ggcatcaatt tgcttaataa tgatggtaaa acctggcagc agccaggctc tgccatcctg 300
aacgtttggc tgaccagtat gttgaagcgt accgtagtgg ctgccgtacc tatgccattt 360
gataagtggc acagcgccag tggctacgaa acaaccagg acggcccaac tggttcgctg 420
aatataagtg ttggagcaaa aattttgtat gaggcggtgc agggagacaa atcaccaatc 480
ccacaggcgg ttgatctgtt tgctgggaaa ccacagcagg aggttgtgtt ggctgcgctg 540
gaagatacct gggagactct ttccaaacgc tatggcaata atgtgagtaa ctggaaaaca 600
cctgcaatgg ccttaacggt ccgggcaaat aatttctttg gtgtaccgca ggccgcagcg 660
gaagaaacgc gtcacagcgc ggagtatcaa aaccgtggaa cagaaaacga tatgattgtt 720
ttctcaccac cgacaagcga tcgtcctgtg cttgcctggg atgtggctgc acccggtcag 780
agtgggttta ttgctccgca tggaaacagt gataagcact atgaagatca gctgaaaatg 840
tacgaaaatt ttggccgtaa gtcgctctgg ttaacgaagc aggatgtgga ggcgcataag 900
gagtcgtcta ga 912
- 35 <210> 499
<211> 10
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial
- <220>
40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
- <220> .
<221> base_modificada

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

 <400> 499
 gatnnnnatc 10

 5 <210> 500
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 10 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(15)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 15 <400> 500
 nnnnnnnnnn nnnnngtccc 20

 <210> 501
 <211> 11
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 <221> base_modificada
 25 <222> (4)..(8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 501
 gcannnnntg c 11

 <210> 502
 30 <211> 10
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 35 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (9)..(7)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 502
 40 gacnnnngtc 10

 <210> 503
 <211> 12
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(7)
 50 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 503
 nnnnnnngcg gg 12

<210> 504
 <211> 12
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (7)..(12)

10 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 504
 gtatccnnnn nn 12

<210> 505
 <211> 12
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(9)

20 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 505
 gcannnnnnt cg 12

25 <210> 506
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

30 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

35 <400> 506
 gccnnnnngg c 11

<210> 507
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (7)..(11)

45 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 507
 ggtctcnnnn n 11

<210> 508
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

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

<220>
 <221> base_modificada
 5 <222> (4)..(11)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 508
 gacnnnnngt c 11

<210> 509
 10 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

15 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 509
 20 gacnnnnngt c 11

<210> 510
 <211> 12
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada

30 <222> (4)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 510
 gacnnnnng tc 12

<210> 511
 <211> 11
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 40 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 511 ccannnnntg g 11

<210> 512
 45 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

50 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 512
 nnnnnnnnng caggt 15

 <210> 513
 <211> 11
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 10 <221> base_modificada
 <222> (7)..(11)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 513
 acctgcnnnn n 11

 15 <210> 514
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (5)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 25 <400> 514
 ggccnnnnng gcc 13

 <210> 515
 <211> 15
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 <221> base_modificada
 35 <222> (4)..(12)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 515
 ccannnnnnn nntgg 15

 <210> 516
 <211> 11
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 45 <221> base_modificada
 <222> (7)..(11)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 516
 50 cgtctcnnnn n 11

 <210> 517
 <211> 12

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 5 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(6)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 10 <400> 517
 nnnnnngaga cg 12

 <210> 518
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(10)
 20 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 518
 nnnnnnnnnn ctctc 16

 <210> 519
 <211> 16
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 30 <221> base_modificada
 <222> (7)..(16)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 519
 gaggagnnnn nnnnnn 16

 35 <210> 520
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 45 <400> 520
 cctnnnnnag g 11

 <210> 521
 <211> 12
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

5 <400> 521
 ccannnnnnnt gg 12

<210> 522
 <211> 6680
 <212> ADN

10 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de nucleótidos del vector pCES5

<220>
 <221> CDS

15 <222> (201)..(1058)

<220>
 <221> CDS
 <222> (2269)..(2682)

20 <220>
 <221> CDS
 <222> (2723)..(2866)

<220>
 <221> CDS
 <222> (3767)..(3850)

25 <220>
 <221> CDS
 <222> (4198)..(5799)

<400> 522

```

gacgaaaggg cctcgtgata cgcctatattt tatagggttaa tgtcatgata ataatggttt 60
cttagacgtc aggtggcact tttcggggaa atgtgcgcgg aaccctatt tgtttatttt 120
tctaaataca ttcaaataatg tatccgctca tgagacaata accctgataa atgcttcaat 180
aatattgaaa aaggaagagt atg agt att caa cat ttc cgt gtc gcc ctt att 233
          Met Ser Ile Gln His Phe Arg Val Ala Leu Ile
              1              5              10

ccc ttt ttt gcg gca ttt tgc ctt cct gtt ttt gct cac cca gaa acg 281
Pro Phe Phe Ala Ala Phe Cys Leu Pro Val Phe Ala His Pro Glu Thr
          15              20              25

ctg gtg aaa gta aaa gat gct gaa gat cag ttg ggt gcc cga gtg ggt 329
Leu Val Lys Val Lys Asp Ala Glu Asp Gln Leu Gly Ala Arg Val Gly
          30              35              40

tac atc gaa ctg gat ctc aac agc ggt aag atc ctt gag agt ttt cgc 377
Tyr Ile Glu Leu Asp Leu Asn Ser Gly Lys Ile Leu Glu Ser Phe Arg
          45              50              55

ccc gaa gaa cgt ttt cca atg atg agc act ttt aaa gtt ctg cta tgt 425
Pro Glu Glu Arg Phe Pro Met Met Ser Thr Phe Lys Val Leu Leu Cys
          60              65              70              75

ggc gcg gta tta tcc cgt att gac gcc ggg caa gag caa ctc ggt cgc 473
Gly Ala Val Leu Ser Arg Ile Asp Ala Gly Gln Glu Gln Leu Gly Arg
          80              85              90

cgc ata cac tat tct cag aat gac ttg gtt gag tac tca cca gtc aca 521
Arg Ile His Tyr Ser Gln Asn Asp Leu Val Glu Tyr Ser Pro Val Thr
          95              100              105

gaa aag cat ctt acg gat ggc atg aca gta aga gaa tta tgc agt gct 569
Glu Lys His Leu Thr Asp Gly Met Thr Val Arg Glu Leu Cys Ser Ala
          110              115              120

gcc ata acc atg agt gat aac act gcg gcc aac tta ctt ctg aca acg 617
Ala Ile Thr Met Ser Asp Asn Thr Ala Ala Asn Leu Leu Leu Thr Thr
          125              130              135

atc gga gga ccg aag gag cta acc gct ttt ttg cac aac atg ggg gat 665
Ile Gly Gly Pro Lys Glu Leu Thr Ala Phe Leu His Asn Met Gly Asp
          140              145              150              155

cat gta act cgc ctt gat cgt tgg gaa ccg gag ctg aat gaa gcc ata 713
His Val Thr Arg Leu Asp Arg Trp Glu Pro Glu Leu Asn Glu Ala Ile
          160              165              170

cca aac gac gag cgt gac acc acg atg cct gta gca atg gca aca acg 761
Pro Asn Asp Glu Arg Asp Thr Thr Met Pro Val Ala Met Ala Thr Thr
          175              180              185

ttg cgc aaa cta tta act ggc gaa cta ctt act cta gct tcc cgg caa 809

```

Leu	Arg	Lys	Leu	Leu	Thr	Gly	Glu	Leu	Leu	Thr	Leu	Ala	Ser	Arg	Gln	
		190					195					200				
caa	tta	ata	gac	tgg	atg	gag	gcg	gat	aaa	gtt	gca	gga	cca	ctt	ctg	857
Gln	Leu	Ile	Asp	Trp	Met	Glu	Ala	Asp	Lys	Val	Ala	Gly	Pro	Leu	Leu	
	205					210					215					
cgc	tcg	gcc	ctt	ccg	gct	ggc	tgg	ttt	att	gct	gat	aaa	tct	gga	gcc	905
Arg	Ser	Ala	Leu	Pro	Ala	Gly	Trp	Phe	Ile	Ala	Asp	Lys	Ser	Gly	Ala	
220					225					230					235	
ggc	gag	cgt	ggg	tct	cgc	ggc	atc	att	gca	gca	ctg	ggg	cca	gat	ggc	953
Gly	Glu	Arg	Gly	Ser	Arg	Gly	Ile	Ile	Ala	Ala	Leu	Gly	Pro	Asp	Gly	
			240						245					250		
aag	ccc	tcc	cgt	atc	gta	gtt	atc	tac	acg	acg	ggg	agt	cag	gca	act	1001
Lys	Pro	Ser	Arg	Ile	Val	Val	Ile	Tyr	Thr	Thr	Gly	Ser	Gln	Ala	Thr	
			255					260					265			
atg	gat	gaa	cga	aat	aga	cag	atc	gct	gag	ata	ggc	gcc	tca	ctg	att	1049
Met	Asp	Glu	Arg	Asn	Arg	Gln	Ile	Ala	Glu	Ile	Gly	Ala	Ser	Leu	Ile	
		270					275					280				
aag	cat	tgg	taactgtcag	accaaagttta	ctcatatata	ctttagattg										1098
Lys	His	Trp														
	285															
atttaaaact	tcatttttaa	ttttaaagga	tctaggtgaa	gatacctttt	gataatctca											1158
tgacaaaaat	cccttaacgt	gagttttcgt	tccactgagc	gtcagacccc	gtagaaaaga											1218
tcaaaggatc	ttcttgagat	cctttttttc	tgcgcgtaat	ctgctgcttg	caaacaaaaa											1278
aaccaccgct	accagcggtg	gtttgtttgc	cggatcaaga	gctaccaact	ctttttccga											1338
aggtaactgg	cttcagcaga	gcgcagatac	caaatactgt	ccttctagt	tagccgtagt											1398
taggccacca	cttcaagaac	tctgtagcac	cgctacata	cctcgctctg	ctaactctgt											1458
taccagtggc	tgctgccagt	ggcgataagt	cgtgtcttac	cgggttgac	tcaagacgat											1518
agttaccgga	taaggcgag	cggtcgggct	gaacgggggg	ttcgtgcata	cagcccagct											1578
tggagcgaac	gacctacacc	gaactgagat	acctacagcg	tgagcattga	gaaagcgcca											1638
cgtttcccga	aggagagaaag	gcggacaggt	atccggtaag	cggcaggggc	ggaacaggag											1698
agcgcacgag	ggagcttcca	gggggaaacg	cctggatatct	ttatagtcct	gtcgggtttc											1758
gccacctctg	acttgagcgt	cgatttttgt	gatgctcgtc	aggggggagg	agcctatgga											1818
aaaacgccag	caacgcggcc	tttttacggt	tcctggcctt	ttgctggcct	tttgtcaca											1878
tgttctttcc	tgcgttatcc	cctgattctg	tggataaccg	tattaccgcc	tttgagttag											1938
ctgataccgc	tcgccgcagc	cgaacgaccg	agcgcagcga	gtcagttagc	gaggaagcgg											1998
aagagcgccc	aatacgcaaa	ccgcctctcc	ccgcgcgttg	gccgattcat	taatgcagct											2058

```

ggcacgacag gtttcccgac tggaaagcgg gcagtgagcg caacgcaatt aatgtgagtt 2118
agctcactca ttaggcaccc caggctttac actttatgct tccggctcgt atgttggtgtg 2178
gaattgtgag cggataacaa tttcacacag gaaacagcta tgaccatgat tacgccaagc 2238
tttgagagcct tttttttgga gattttcaac gtg aaa aaa tta tta ttc gca att 2292
                               Met Lys Lys Leu Leu Phe Ala Ile
                               290

cct tta gtt gtt cct ttc tat tct cac agt gca cag gtc caa ctg cag 2340
Pro Leu Val Val Pro Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln Val Gln Leu Gln
295                               300                               305                               310

gtc gac ctc gag atc aaa cgt gga act gtg gct gca cca tct gtc ttc 2388
Val Asp Leu Glu Ile Lys Arg Gly Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
                               315                               320                               325

atc ttc ccg cca tct gat gag cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt 2436
Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val
                               330                               335                               340

gtg tgc ctg ctg aat aac ttc tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg 2484
Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp
                               345                               350                               355

aag gtg gat aac gcc ctc caa tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca 2532
Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr
                               360                               365                               370

gag cag gac agc aag gac agc acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg 2580
Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr
375                               380                               385                               390

ctg agc aaa gca gac tac gag aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc 2628
Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val
                               395                               400                               405

acc cat cag ggc ctg agt tca ccg gtg aca aag agc ttc aac agg gga 2676
Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly
                               410                               415                               420

gag tgt taataaggcg cgccaattct atttcaagga gacagtcata atg aaa tac 2731
Glu Cys                               Met Lys Tyr
                               425

cta ttg cct acg gca gcc gct gga ttg tta tta ctc gcg gcc cag ccg 2779
Leu Leu Pro Thr Ala Ala Ala Gly Leu Leu Leu Leu Ala Ala Gln Pro
                               430                               435                               440

gcc atg gcc gaa gtt caa ttg tta gag tct ggt ggc ggt ctt gtt cag 2827
Ala Met Ala Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
445                               450                               455

cct ggt ggt tct tta cgt ctt tct tgc gct gct tcc gga gcttcagatc 2876
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
460                               465                               470

```

tgtttgcctt tttgtgggt ggtgcagatc gcgttacgga gatcgaccga ctgcttgagc 2936
 aaaagccacg cttactgct gatcaggcat gggatgttat tcgccaaacc agtcgtcagg 2996
 atcttaacct gaggtttttt ttacctactc tgcaagcagc gacatctggt ttgacacaga 3056
 gcgatccgcy tcgtcagttg gtagaaacat taacacgttg ggatggcatc aatttgctta 3116
 atgatgatgg taaaacctgg cagcagccag gctctgccat cctgaacggt tggctgacca 3176
 gtatgttgaa gcgtaccgta gtggctgccg tacctatgcc atttgataag tggtagacgcy 3236
 ccagtggcta cgaaacaacc caggacggcc caactggttc gctgaatata agtgttgag 3296
 caaaaatttt gtatgaggcy gtgcaggag acaaatcacc aatcccacag gcggttgatc 3356
 tgtttgctgg gaaaccacag caggaggttg tgttgctgc gctggaagat acctgggaga 3416
 ctctttccaa acgctatggc aataatgtga gtaactggaa aacacctgca atggccttaa 3476
 cgttccgggc aaataatttc tttggtgtac cgcaggccgc agcggaagaa acgcgtcatc 3536
 aggcggagta tcaaaaccgt ggaacagaaa acgatatgat tgttttctca ccaacgacaa 3596
 gcgatcgctc tgtgcttgcc tgggatgtgg tcgcaccgcy tcagagtggg tttattgctc 3656
 ccgatggaac agttgataag cactatgaag atcagctgaa aatgtacgaa aattttggcc 3716
 gtaagtcgct ctggttaacg aagcaggatg tggaggcgca taaggagtcg tct aga 3772
 Ser Arg
 gac aac tct aag aat act ctc tac ttg cag atg aac agc tta agt ctg 3820
 Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Ser Leu
 475 480 485 490
 agc att cgg tcc ggg caa cat tct cca aac tgaccagacg acacaaacgg 3870
 Ser Ile Arg Ser Gly Gln His Ser Pro Asn
 495 500
 cttacgctaa atcccgcgca tgggatggta aagaggtggc gtctttgctg gcctggactc 3930
 atcagatgaa ggccaaaaat tggcaggagt ggacacagca ggcagcgaaa caagcactga 3990
 ccatcaactg gtactatgct gatgtaaacg gcaatattgg ttatgttcat actggtgctt 4050
 atccagatcg tcaatcaggc catgatccgc gattaccgt tcctggtacg ggaaaatggg 4110
 actggaaagg gctattgcct tttgaaatga accctaaggt gtataacccc cagaagctag 4170
 cctgcggctt cggtcaccgt ctcaagc gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc 4224
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 505
 ccc ctg gca ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg 4272
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 510 515 520 525

ggc tgc ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg	4320
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp	
530 535 540	
aac tca ggc gcc ctg acc agc ggc gtc cac acc ttc ccg gct gtc cta	4368
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu	
545 550 555	
cag tcc tca gga ctc tac tcc ctc agc agc gta gtg acc gtg ccc tcc	4416
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser	
560 565 570	
agc agc ttg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc	4464
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro	
575 580 585	
agc aac acc aag gtg gac aag aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gcg gcc	4512
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Ala Ala	
590 595 600 605	
gca cat cat cat cac cat cac ggg gcc gca gaa caa aaa ctc atc tca	4560
Ala His His His His His His Gly Ala Ala Glu Gln Lys Leu Ile Ser	
610 615 620	
gaa gag gat ctg aat ggg gcc gca tag act gtt gaa agt tgt tta gca	4608
Glu Glu Asp Leu Asn Gly Ala Ala Thr Val Glu Ser Cys Leu Ala	
625 630 635	
aaa cct cat aca gaa aat tca ttt act aac gtc tgg aaa gac gac aaa	4656
Lys Pro His Thr Glu Asn Ser Phe Thr Asn Val Trp Lys Asp Asp Lys	
640 645 650	
act tta gat cgt tac gct aac tat gag ggc tgt ctg tgg aat gct aca	4704
Thr Leu Asp Arg Tyr Ala Asn Tyr Glu Gly Cys Leu Trp Asn Ala Thr	
655 660 665	
ggc gtt gtg gtt tgt act ggt gac gaa act cag tgt tac ggt aca tgg	4752
Gly Val Val Val Cys Thr Gly Asp Glu Thr Gln Cys Tyr Gly Thr Trp	
670 675 680	
gtt cct att ggg ctt gct atc cct gaa aat gag ggt ggt ggc tct gag	4800
Val Pro Ile Gly Leu Ala Ile Pro Glu Asn Glu Gly Gly Gly Ser Glu	
685 690 695 700	
ggt ggc ggt tct gag ggt ggc ggt tct gag ggt ggc ggt act aaa cct	4848
Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Thr Lys Pro	
705 710 715	
cct gag tac ggt gat aca cct att ccg ggc tat act tat atc aac cct	4896
Pro Glu Tyr Gly Asp Thr Pro Ile Pro Gly Tyr Thr Tyr Ile Asn Pro	
720 725 730	
ctc gac ggc act tat ccg cct ggt act gag caa aac ccc gct aat cct	4944
Leu Asp Gly Thr Tyr Pro Pro Gly Thr Glu Gln Asn Pro Ala Asn Pro	
735 740 745	
aat cct tct ctt gag gag tct cag cct ctt aat act ttc atg ttt cag	4992
Asn Pro Ser Leu Glu Glu Ser Gln Pro Leu Asn Thr Phe Met Phe Gln	

750	755	760	
aat aat agg ttc cga aat agg cag ggt gca tta act gtt tat acg ggc Asn Asn Arg Phe Arg Asn Arg Gln Gly Ala Leu Thr Val Tyr Thr Gly 765 770 775 780			5040
act gtt act caa ggc act gac ccc gtt aaa act tat tac cag tac act Thr Val Thr Gln Gly Thr Asp Pro Val Lys Thr Tyr Tyr Gln Tyr Thr 785 790 795			5088
cct gta tca tca aaa gcc atg tat gac gct tac tgg aac ggt aaa ttc Pro Val Ser Ser Lys Ala Met Tyr Asp Ala Tyr Trp Asn Gly Lys Phe 800 805 810			5136
aga gac tgc gct ttc cat tct ggc ttt aat gag gat cca ttc gtt tgt Arg Asp Cys Ala Phe His Ser Gly Phe Asn Glu Asp Pro Phe Val Cys 815 820 825			5184
gaa tat caa ggc caa tcg tct gac ctg cct caa cct cct gtc aat gct Glu Tyr Gln Gly Gln Ser Ser Asp Leu Pro Gln Pro Pro Val Asn Ala 830 835 840			5232
ggc ggc ggc tct ggt ggt ggt tct ggt ggc ggc tct gag ggt ggc ggc Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly 845 850 855 860			5280
tct gag ggt ggc ggt tct gag ggt ggc ggc tct gag ggt ggc ggt tcc Ser Glu Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser 865 870 875			5328
ggt ggc ggc tcc ggt tcc ggt gat ttt gat tat gaa aaa atg gca aac Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Asp Phe Asp Tyr Glu Lys Met Ala Asn 880 885 890			5376
gct aat aag ggg gct atg acc gaa aat gcc gat gaa aac gcg cta cag Ala Asn Lys Gly Ala Met Thr Glu Asn Ala Asp Glu Asn Ala Leu Gln 895 900 905			5424
tct gac gct aaa ggc aaa ctt gat tct gtc gct act gat tac ggt gct Ser Asp Ala Lys Gly Lys Leu Asp Ser Val Ala Thr Asp Tyr Gly Ala 910 915 920			5472
gct atc gat ggt ttc att ggt gac gtt tcc ggc ctt gct aat ggt aat Ala Ile Asp Gly Phe Ile Gly Asp Val Ser Gly Leu Ala Asn Gly Asn 925 930 935 940			5520
ggt gct act ggt gat ttt gct ggc tct aat tcc caa atg gct caa gtc Gly Ala Thr Gly Asp Phe Ala Gly Ser Asn Ser Gln Met Ala Gln Val 945 950 955			5568
ggt gac ggt gat aat tca cct tta atg aat aat ttc cgt caa tat tta Gly Asp Gly Asp Asn Ser Pro Leu Met Asn Asn Phe Arg Gln Tyr Leu 960 965 970			5616
cct tct ttg cct cag tcg gtt gaa tgt cgc cct tat gtc ttt ggc gct Pro Ser Leu Pro Gln Ser Val Glu Cys Arg Pro Tyr Val Phe Gly Ala 975 980 985			5664

ggt aaa cca tat gaa ttt tct att gat tgt gac aaa ata aac tta ttc 5712
 Gly Lys Pro Tyr Glu Phe Ser Ile Asp Cys Asp Lys Ile Asn Leu Phe
 990 995 1000

cgt ggt gtc ttt gcg ttt ctt tta tat gtt gcc acc ttt atg tat gta 5760
 Arg Gly Val Phe Ala Phe Leu Leu Tyr Val Ala Thr Phe Met Tyr Val
 1005 1010 1015 1020

ttt tcg acg ttt gct aac ata ctg cgt aat aag gag tct taataagaat 5809
 Phe Ser Thr Phe Ala Asn Ile Leu Arg Asn Lys Glu Ser
 1025 1030

tcaactggccg tcgtttttaca acgtcgtgac tgggaaaacc ctggcggttac ccaacttaat 5869
 cgccttgcag cacatccccc ttctgccagc tggcgtaata gcgaagaggc ccgcaccgat 5929
 cgcccttccc aacagttgcg cagcctgaat ggcgaaatggc gcctgatgcg gtattttctc 5989
 cttacgcac tgtgcggtat ttacacaccgc atataaattg taaacgttaa tattttgtta 6049
 aaattcgcgt taaatttttg ttaaatcagc tcatttttta accaataggc cgaaatcggc 6109
 aaaatccctt ataaatcaaa agaataagccc gagatagggt tgagtgttgt tccagtttgg 6169
 aacaagagtc cactattaaa gaacgtggac tccaacgtca aaggcgcaaa aaccgtctat 6229
 cagggcgatg gccactacg tgaaccatca cccaaatcaa gttttttggg gtcgaggtgc 6289
 cgtaaagcac taaatcgga ccctaaaggg agccccgat ttagagcttg acggggaaaag 6349
 ccggcgaaacg tggcgagaaa ggaagggaag aaagcgaaaag gagcggggcg tagggcgctg 6409
 gcaagtgtag cggtcacgct gcgcgtaacc accacaccgc ccgcgcttaa tgcgccgcta 6469
 cagggcgctg actatggttg ctttgacggg tgcagtctca gtacaatctg ctctgatgcc 6529
 gcatagttaa gccagccccg acaccgcga acaccgcgtg acgcgccctg acgggcttgt 6589
 ctgctccccg catccgctta cagacaagct gtgaccgtct ccgggagctg catgtgtcag 6649
 aggtttttcac cgtcatcacc gaaacgcgcg a 6680

<210> 523

<211> 286

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de proteína del vector pCES5

<400> 523

Met Ser Ile Gln His Phe Arg Val Ala Leu Ile Pro Phe Phe Ala Ala
 1 5 10 15

Phe Cys Leu Pro Val Phe Ala His Pro Glu Thr Leu Val Lys Val Lys
 20 25 30

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

<210> 524

<211> 138

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de proteína del vector pCES5

<400> 524

```

Met Lys Lys Leu Leu Phe Ala Ile Pro Leu Val Val Pro Phe Tyr Ser
 1           5           10           15
His Ser Ala Gln Val Gln Leu Gln Val Asp Leu Glu Ile Lys Arg Gly
          20           25           30
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
          35           40           45
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
          50           55           60
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
          65           70           75           80
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
          85           90           95
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
          100          105          110
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
          115          120          125
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
          130          135

```

<210> 525

<211> 48

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de proteína del vector pCES5

<400> 525

```

Met Lys Tyr Leu Leu Pro Thr Ala Ala Ala Gly Leu Leu Leu Leu Ala
 1           5           10           15
Ala Gln Pro Ala Met Ala Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly
          20           25           30
Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
          35           40           45

```

<210> 526

<211> 28

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de proteína del vector pCES5

<400> 526

```

Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
 1           5           10           15
Ser Leu Ser Ile Arg Ser Gly Gln His Ser Pro Asn
          20           25

```

<210> 527

<211> 533

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de proteína del vector pCES5

<400> 527

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

Ser Glu Gly Gly Gly Thr Lys Pro Pro Glu Tyr Gly Asp Thr Pro Ile
 210 215 220
 Pro Gly Tyr Thr Tyr Ile Asn Pro Leu Asp Gly Thr Tyr Pro Pro Gly
 225 230 235 240
 Thr Glu Gln Asn Pro Ala Asn Pro Asn Pro Ser Leu Glu Glu Ser Gln
 245 250 255
 Pro Leu Asn Thr Phe Met Phe Gln Asn Asn Arg Phe Arg Asn Arg Gln
 260 265 270
 Gly Ala Leu Thr Val Tyr Thr Gly Thr Val Thr Gln Gly Thr Asp Pro
 275 280 285
 Val Lys Thr Tyr Tyr Gln Tyr Thr Pro Val Ser Ser Lys Ala Met Tyr
 290 295 300
 Asp Ala Tyr Trp Asn Gly Lys Phe Arg Asp Cys Ala Phe His Ser Gly
 305 310 315 320
 Phe Asn Glu Asp Pro Phe Val Cys Glu Tyr Gln Gly Gln Ser Ser Asp
 325 330 335
 Leu Pro Gln Pro Pro Val Asn Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 340 345 350
 Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly
 355 360 365
 Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Asp
 370 375 380
 Phe Asp Tyr Glu Lys Met Ala Asn Ala Asn Lys Gly Ala Met Thr Glu
 385 390 395 400
 Asn Ala Asp Glu Asn Ala Leu Gln Ser Asp Ala Lys Gly Lys Leu Asp
 405 410 415
 Ser Val Ala Thr Asp Tyr Gly Ala Ala Ile Asp Gly Phe Ile Gly Asp
 420 425 430
 Val Ser Gly Leu Ala Asn Gly Asn Gly Ala Thr Gly Asp Phe Ala Gly
 435 440 445
 Ser Asn Ser Gln Met Ala Gln Val Gly Asp Gly Asp Asn Ser Pro Leu
 450 455 460
 Met Asn Asn Phe Arg Gln Tyr Leu Pro Ser Leu Pro Gln Ser Val Glu
 465 470 475 480
 Cys Arg Pro Tyr Val Phe Gly Ala Gly Lys Pro Tyr Glu Phe Ser Ile
 485 490 495
 Asp Cys Asp Lys Ile Asn Leu Phe Arg Gly Val Phe Ala Phe Leu Leu
 500 505 510
 Tyr Val Ala Thr Phe Met Tyr Val Phe Ser Thr Phe Ala Asn Ile Leu
 515 520 525
 Arg Asn Lys Glu Ser
 530

<210> 528

<211> 30

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 528
 acctcactgg cttccggatt cactttctct 30
 <210> 529
 <211> 42
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 529
 10 agaaaccac tccaaacctt taccaggagc ttggcgaacc ca 42
 <210> 530
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 530
 ggaaggcagt gatctagaga tagtgaagcg accttaacg gagtcagcat a 51
 <210> 531
 20 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 25 <400> 531
 ggaaggcagt gatctagaga tag 23
 <210> 532
 <211> 20
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 532
 gtgctgactc agccaccctc 20
 35 <210> 533
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 533
 gccctgactc agcctgcctc 20
 <210> 534
 <211> 20
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 534
 50 gagctgactc aggaccctgc 20
 <210> 535
 <211> 20

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

5 <400> 535
 gagctgactc agccaccctc 20
 <210> 536
 <211> 38
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 536
 cctcgacagc gaagtcaca gagcgtttg actcagcc 38

15 <210> 537
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 537
 cctcgacagc gaagtcaca gagcgtttg 30
 <210> 538
 <211> 38
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 538
 30 cctcgacagc gaagtcaca gagcgtttg actcagcc 38
 <210> 539
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 539
 cctcgacagc gaagtcaca gagcgtttg 30
 <210> 540
 40 <211> 38
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

45 <400> 540
 cctcgacagc taagtcaca gagcgtttg actcagcc 38
 <210> 541
 <211> 30
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 541
 cctcgacagc gaagtcaca gagcgcttg 30

 <210> 542
 <211> 38
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 542
 10 cctcgacagc gaagtcaca gagcgaattg actcagcc 38

 <210> 543
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 543
 cctcgacagc gaagtcaca gagcgaattg 30

 <210> 544
 20 <211> 38
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 25 <400> 544
 cctcgacagc gaagtcaca gtacgaattg actcagcc 38

 <210> 545
 <211> 30
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 545
 cctcgacagc gaagtcaca gtacgaattg 30

 35 <210> 546
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <400> 546
 cctcgacagc gaagtcaca g 21

 <210> 547
 <211> 21
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 547
 50 ccgtgtatta ctgtgcgaga g 21

 <210> 548
 <211> 21

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 5 <400> 548
 ctgtgtatta ctgtgcgaga g 21

 <210> 549
 <211> 21
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 549
 ccgtatatta ctgtgcgaaa g 21

 15 <210> 550
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 550
 ctgtgtatta ctgtgcgaaa g 21

 <210> 551
 <211> 21
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 551
 30 ctgtgtatta ctgtgcgaga c 21

 <210> 552
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <400> 552
 ccatgtatta ctgtgcgaga c 21

 <210> 553
 40 <211> 94
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 45 <400> 553
ggtgtagtga tctagtgaca actctaagaa tactctctac ttgcagatga acagcttttag 60
ggctgaggac actgcagtct actattgtgc gaga 94

 <210> 554
 <211> 94
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 554
 ggtgtagtga tctagtgaca actctaagaa tactctctac ttgcagatga acagctttag 60
 ggctgaggac actgcagtct actattgtgc gaaa 94

5 <210> 555
 <211> 85
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

10 <400> 555
 atagtagact gcagtgctct cagcccttaa gctgttcac tgcaagtaga gagtattctt 60
 agagttgtct ctagatcact acacc 85

<210> 556
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador

<400> 556
 20 gactgggtgt agtgatctag 20

<210> 557
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador

<400> 557
 cttttcttg ttgccgttg ggtg 24

30 <210> 558
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

35 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 558
 40 nnnnnnnng caggt 15

<210> 559
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (7)..(11)
 50 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 559
 acctgcnnnn n 11

 <210> 560
 <211> 10
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 10 <221> base modificada
 <222> (4)..(7)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 560
 gatnnnnatc 10

 15 <210> 561
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (7)..(16)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 25 <400> 561
 gaggagnnnn nnnnnn 16

 <210> 562
 <211> 16
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 <221> base_modificada
 35 <222> (1)..(10)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 562
 nnnnnnnnnn ctctc 16

 <210> 563
 <211> 10
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 <221> base_modificada
 45 <222> (7)..(10)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 563
 50 ctcttcnnnn 10

 <210> 564
 <211> 11

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 5 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(5)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 10 <400> 564
 nnnnngaaga g 11

 <210> 565
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(15)
 20 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 565
 nnnnnnnnnn nnnnngtccc 20

 <210> 566
 <211> 12
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 30 <221> base_modificada
 <222> (4)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 566
 gacnnnnnng tc 12

 35 <210> 567
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (7)..(11)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 45 <400> 567
 cgtctcnnnn n 11

 <210> 568
 <211> 12
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (7) .. (12)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

5 <400> 568
 gtatccnnnn nn 12

<210> 569
 <211> 12
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

15 <400> 569
 gcannnnnnt cg 12

<210> 570
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (9)..(8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

25 <400> 570
 gccnnnnngg c 11

<210> 571
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (7)..(11)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

35 <400> 571
 ggtctcnnnn n 11

<210> 572
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

45 <400> 571
 ggtctcnnnn n 11

<210> 572
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 572
 gacnnnnngt c 11

<210> 573
 <211> 11
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 10 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 573
 gacnnnnngt c 11

15 <210> 574
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

25 <400> 574
 ccannnnntg g 11

<210> 575
 <211> 15
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia Artificial

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

<220>
 35 <221> base_modificada
 <222> (4)..(12)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 575
 ccannnnnnn nntgg 15

<210> 576
 <211> 13
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia Artificial

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

45 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (5)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

<400> 576
 50 ggccnnnnng gcc 13

<210> 577
 <211> 12

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 5 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(9)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 10 <400> 577
 ccannnnnnt gg 12

 <210> 578
 <211> 11
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4)..(8)
 20 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 578
 cctnnnnnag g 11

 <210> 579
 <211> 10
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

 <220>
 30 <221> base_modificada
 <222> (4)..(7)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 <400> 579
 gacnnnngtc 10

 35 <210> 580
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (4) .. (12)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida

 45 <400> 580
 ccannnnnnn nntgg 15

 <210> 581
 <211> 11
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia Artificial

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


```

<220>
<221> base_modificada
<222> (4)..(8)
<223> A, T, C, G, otra o desconocida

5  <400> 581
    gcannnnntg c      11

    <210> 582
    <211> 10251
    <212> ADN
10  <213> Secuencia Artificial

    <220>
    <223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de nucleótidos de CJRA05

    <220>
    <221> CDS
15  <222> (1578)..(1916)

    <220>
    <221> CDS
    <222> (2388)..(2843)

    <220>
    <221> CDS
20  <222> (2849)..(2893)

    <220>
    <221> CDS
    <222> (3189)..(4232)

    <220>
25  <221> CDS
    <222> (7418)..(8119)

    <220>
    <221> CDS
30  <222> (8160)..(9452)

    <400> 582
    aatgctacta ctattagtag aattgatgcc accttttcag ctcgcgcccc aaatgaaaat 60

    atagctaaac aggttattga ccatttgcca aatgtatcta atggtcaaac taaatctact 120

    cgttcgcaga attgggaatc aactgttata tggaatgaaa cttccagaca ccgtacttta 180

```

```

gttgcatatt taaaacatgt tgagctacag cattatattc agcaattaag ctctaagcca 240
tccgcacaaaa tgacctctta tcaaaaggag caattaaagg tactctctaa tcctgacctg 300
ttggagtttg ctcccggtct gggtcgcttt gaagctcgaa ttaaacgcg atatttgaag 360
tctttcgggc ttctctctaa tctttttgat gcaatccgct ttgcttctga ctataatagt 420
cagggtaaag acctgatttt tgatttatgg tcattctcgt tttctgaact gtttaaagca 480
tttgaggggg attcaatgaa tatttatgac gattccgcag tattggacgc tatccagtct 540
aaacatttta ctattacccc ctctggcaaa acttcttttg caaaagcctc tcgctatttt 600
ggtttttata gtcgtctggg aaacgagggt tatgatagtg ttgctcttac tatgcctcgt 660
aattcctttt ggcgttatgt atctgcatta gttgaatgtg gtattcctaa atctcaactg 720
atgaatcttt ctacctgtaa taatgttggt ccgtagttc gttttattaa cgtagatttt 780
tcttcccaac gtctgactg gtataatgag ccagttctta aaatcgcata aggtaattca 840
caatgattaa agttgaaatt aaaccatctc aagcccaatt tactactcgt tctgggtgtt 900
ctcgtcaggg caagccttat tcaactgaatg agcagctttg ttacgttgat ttgggtaatg 960
aatatccggt tcttgtcaag attactcttg atgaaggcca gccagcctat gcgcctggtc 1020
tgtacaccgt tcatctgtcc tctttcaaag ttggtcagtt cggttccctt atgattgacc 1080
gtctgcgcct cggtccgggt aagtaacatg gagcaggtcg cggatttcga cacaatttat 1140
caggcgatga tacaatctc cgttgtactt tgtttcgcgc ttggtataat cgctgggggt 1200
caaagatgag tgtttttagtg tattcttttg cctctttcgt tttaggttg tgccttcgta 1260
gtggcattac gtattttacc cgtttaatgg aaacttcctc atgaaaaagt ctttagtcct 1320
caaagcctct gtagccgttg ctaccctcgt tccgatgctg tctttcgtg ctgaggggtga 1380
cgatcccgcg aaagcggcct ttaactccct gcaagcctca gcgaccgaat atatcggtta 1440
tgcgtgggcg atggttggtg tcattgtcgg cgcaactatc ggtatcaagc tgtttaagaa 1500
attcacctcg aaagcaagct gataaaccga tacaattaaa ggctcctttt ggagcctttt 1560

ttttggagat tttcaac gtg aaa aaa tta tta ttc gca att cct tta gtt 1610
          Met Lys Lys Leu Leu Phe Ala Ile Pro Leu Val
              1              5              10

gtt cct ttc tat tct ggc gcg gcc gaa tca cat cta gac ggc gcc gct 1658
Val Pro Phe Tyr Ser Gly Ala Ala Glu Ser His Leu Asp Gly Ala Ala
          15              20              25

gaa act gtt gaa agt tgt tta gca aaa tcc cat aca gaa aat tca ttt 1706
Glu Thr Val Glu Ser Cys Leu Ala Lys Ser His Thr Glu Asn Ser Phe
          30              35              40

```

```

act aac gtc tgg aaa gac gac aaa act tta gat cgt tac gct aac tat 1754
Thr Asn Val Trp Lys Asp Asp Lys Thr Leu Asp Arg Tyr Ala Asn Tyr
    45                50                55

gag ggc tgt ctg tgg aat gct aca ggc gtt gta gtt tgt act ggt gac 1802
Glu Gly Cys Leu Trp Asn Ala Thr Gly Val Val Val Cys Thr Gly Asp
    60                65                70                75

gaa act cag tgt tac ggt aca tgg gtt cct att ggg ctt gct atc cct 1850
Glu Thr Gln Cys Tyr Gly Thr Trp Val Pro Ile Gly Leu Ala Ile Pro
                80                85                90

gaa aat gag ggt ggt ggc tct gag ggt ggc ggt tct gag ggt ggc ggt 1898
Glu Asn Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly
                95                100                105

tct gag ggt ggc ggt act aaacctcctg agtacggtga tacacctatt 1946
Ser Glu Gly Gly Gly Thr
    110

ccgggctata cttatatcaa ccctctcgac ggcacttata cgcctggtac tgagcaaaac 2006

cccgctaata ctaatccttc tcttgaggag tctcagcctc ttaatacttt catgtttcag 2066

aataataggt tccgaaatag gcagggggca ttaactgttt atacgggcac tggtactcaa 2126

ggcactgacc ccgttaaaac ttattaccag tacactcctg tatcatcaaa agccatgtat 2186

gacgcttact ggaacggtaa attcagagac tgcgctttcc attctggctt taatgaggat 2246

ttatttgttt gtgaatatca aggccaatcg tctgacctgc ctcaacctcc tgtcaatgct 2306

ggcggcggtt ctggtggtgg ttctggtggc ggctctgagg gtggtggctc tgagggaggc 2366

ggttccggtg gtggctctgg t tcc ggt gat ttt gat tat gaa aag atg gca 2417
Ser Gly Asp Phe Asp Tyr Glu Lys Met Ala
                115                120

aac gct aat aag ggg gct atg acc gaa aat gcc gat gaa aac gcg cta 2465
Asn Ala Asn Lys Gly Ala Met Thr Glu Asn Ala Asp Glu Asn Ala Leu
    125                130                135

cag tct gac gct aaa ggc aaa ctt gat tct gtc gct act gat tac ggt 2513
Gln Ser Asp Ala Lys Gly Lys Leu Asp Ser Val Ala Thr Asp Tyr Gly
    140                145                150                155

gct gct atc gat ggt ttc att ggt gac gtt tcc ggc ctt gct aat ggt 2561
Ala Ala Ile Asp Gly Phe Ile Gly Asp Val Ser Gly Leu Ala Asn Gly
                160                165                170

aat ggt gct act ggt gat ttt gct ggc tct aat tcc caa atg gct caa 2609
Asn Gly Ala Thr Gly Asp Phe Ala Gly Ser Asn Ser Gln Met Ala Gln
                175                180                185

gtc ggt gac ggt gat aat tca cct tta atg aat aat ttc cgt caa tat 2657
Val Gly Asp Gly Asp Asn Ser Pro Leu Met Asn Asn Phe Arg Gln Tyr
    190                195                200

```

tta cct tcc ctc cct caa tcg gtt gaa tgt cgc cct ttt gtc ttt ggc	2705
Leu Pro Ser Leu Pro Gln Ser Val Glu Cys Arg Pro Phe Val Phe Gly	
205 210 215	
gct ggt aaa cca tat gaa ttt tct att gat tgt gac aaa ata aac tta	2753
Ala Gly Lys Pro Tyr Glu Phe Ser Ile Asp Cys Asp Lys Ile Asn Leu	
220 225 230 235	
ttc cgt ggt gtc ttt gcg ttt ctt tta tat gtt gcc acc ttt atg tat	2801
Phe Arg Gly Val Phe Ala Phe Leu Leu Tyr Val Ala Thr Phe Met Tyr	
240 245 250	
gta ttt tct acg ttt gct aac ata ctg cgt aat aag gag tct taatc atg	2851
Val Phe Ser Thr Phe Ala Asn Ile Leu Arg Asn Lys Glu Ser Met	
255 260 265	
cca gtt ctt ttg ggt att ccg tta tta ttg cgt ttc ctc ggt	2893
Pro Val Leu Leu Gly Ile Pro Leu Leu Leu Arg Phe Leu Gly	
270 275 280	
ttccttctgg taactttggt cggctatctg cttacttttc ttaaaaaggg cttcggttaag	2953
atagctattg ctatttcatt gtttcttgct cttattattg ggcttaactc aattcttggtg	3013
ggttatctct ctgatattag cgctcaatta ccctctgact ttgttcaggg tggtcagtta	3073
attctcccgt ctaatgcgct tccctgtttt tatgttattc tctctgtaaa ggctgctatt	3133
ttcatttttg acgttaaaca aaaaatcggt tcttatttgg attgggataa ataat atg	3191
Met	
gct gtt tat ttt gta act ggc aaa tta ggc tct gga aag acg ctc gtt	3239
Ala Val Tyr Phe Val Thr Gly Lys Leu Gly Ser Gly Lys Thr Leu Val	
285 290 295	
agc gtt ggt aag att cag gat aaa att gta gct ggg tgc aaa ata gca	3287
Ser Val Gly Lys Ile Gln Asp Lys Ile Val Ala Gly Cys Lys Ile Ala	
300 305 310	
act aat ctt gat tta agg ctt caa aac ctc ccg caa gtc ggg agg ttc	3335
Thr Asn Leu Asp Leu Arg Leu Gln Asn Leu Pro Gln Val Gly Arg Phe	
315 320 325	
gct aaa acg cct cgc gtt ctt aga ata ccg gat aag cct tct ata tct	3383
Ala Lys Thr Pro Arg Val Leu Arg Ile Pro Asp Lys Pro Ser Ile Ser	
330 335 340 345	
gat ttg ctt gct att ggg cgc ggt aat gat tcc tac gat gaa aat aaa	3431
Asp Leu Leu Ala Ile Gly Arg Gly Asn Asp Ser Tyr Asp Glu Asn Lys	
350 355 360	
aac ggc ttg ctt gtt ctc gat gag tgc ggt act tgg ttt aat acc cgt	3479
Asn Gly Leu Leu Val Leu Asp Glu Cys Gly Thr Trp Phe Asn Thr Arg	
365 370 375	
tct tgg aat gat aag gaa aga cag ccg att att gat tgg ttt cta cat	3527
Ser Trp Asn Asp Lys Glu Arg Gln Pro Ile Ile Asp Trp Phe Leu His	
380 385 390	

gct cgt aaa tta gga tgg gat att att ttt ctt gtt cag gac tta tct	3575
Ala Arg Lys Leu Gly Trp Asp Ile Ile Phe Leu Val Gln Asp Leu Ser	
395 400 405	
att gtt gat aaa cag gcg cgt tct gca tta gct gaa cat gtt gtt tat	3623
Ile Val Asp Lys Gln Ala Arg Ser Ala Leu Ala Glu His Val Val Tyr	
410 415 420 425	
tgt cgt cgt ctg gac aga att act tta cct ttt gtc ggt act tta tat	3671
Cys Arg Arg Leu Asp Arg Ile Thr Leu Pro Phe Val Gly Thr Leu Tyr	
430 435 440	
tct ctt att act ggc tcg aaa atg cct ctg cct aaa tta cat gtt ggc	3719
Ser Leu Ile Thr Gly Ser Lys Met Pro Leu Pro Lys Leu His Val Gly	
445 450 455	
gtt gtt aaa tat ggc gat tct caa tta agc cct act gtt gag cgt tgg	3767
Val Val Lys Tyr Gly Asp Ser Gln Leu Ser Pro Thr Val Glu Arg Trp	
460 465 470	
ctt tat act ggt aag aat ttg tat aac gca tat gat act aaa cag gct	3815
Leu Tyr Thr Gly Lys Asn Leu Tyr Asn Ala Tyr Asp Thr Lys Gln Ala	
475 480 485	
ttt tct agt aat tat gat tcc ggt gtt tat tct tat tta acg cct tat	3863
Phe Ser Ser Asn Tyr Asp Ser Gly Val Tyr Ser Tyr Leu Thr Pro Tyr	
490 495 500 505	
tta tca cac ggt cgg tat ttc aaa cca tta aat tta ggt cag aag atg	3911
Leu Ser His Gly Arg Tyr Phe Lys Pro Leu Asn Leu Gly Gln Lys Met	
510 515 520	
aaa tta act aaa ata tat ttg aaa aag ttt tct cgc gtt ctt tgt ctt	3959
Lys Leu Thr Lys Ile Tyr Leu Lys Lys Phe Ser Arg Val Leu Cys Leu	
525 530 535	
gcg att gga ttt gca tca gca ttt aca tat agt tat ata acc caa cct	4007
Ala Ile Gly Phe Ala Ser Ala Phe Thr Tyr Ser Tyr Ile Thr Gln Pro	
540 545 550	
aag ccg gag gtt aaa aag gta gtc tct cag acc tat gat ttt gat aaa	4055
Lys Pro Glu Val Lys Lys Val Val Ser Gln Thr Tyr Asp Phe Asp Lys	
555 560 565	
ttc act att gac tct tct cag cgt ctt aat cta agc tat cgc tat gtt	4103
Phe Thr Ile Asp Ser Ser Gln Arg Leu Asn Leu Ser Tyr Arg Tyr Val	
570 575 580 585	
ttc aag gat tct aag gga aaa tta att aat agc gac gat tta cag aag	4151
Phe Lys Asp Ser Lys Gly Lys Leu Ile Asn Ser Asp Asp Leu Gln Lys	
590 595 600	
caa ggt tat tca ctc aca tat att gat tta tgt act gtt tcc att aaa	4199
Gln Gly Tyr Ser Leu Thr Tyr Ile Asp Leu Cys Thr Val Ser Ile Lys	
605 610 615	
aaa ggt aat tca aat gaa att gtt aaa tgt aat taattttgtt ttcttgatgt	4252

Lys Gly Asn Ser Asn Glu Ile Val Lys Cys Asn
620 625

```

ttgtttcatc atcttctttt gctcaggtaa ttgaaatgaa taattcgcct ctgcgcgatt 4312
ttgtaacttg gtattcaaag caatcaggcg aatccggtat tgtttctccc gatgtaaaag 4372
gtactgttac tgtatattca tctgacgta aacctgaaaa tctacgcaat ttctttattt 4432
ctgtttttac tgcaaataat tttgatatgg taggttctaa cccttccatt attcagaagt 4492
ataatccaaa caatcaggat tatattgatg aattgccatc atctgataat caggaatatg 4552
atgataattc cgctccttct ggtggtttct ttgttccgca aaatgataat gttactcaaa 4612
cttttaaaat taataacgtt cgggcaaagg atttaatacg agttgtcgaa ttgtttgtaa 4672
agtctaatac ttctaaatcc tcaaatgtat tatctattga cggctctaata ctattagttg 4732
ttagtgctcc taaagatatt ttagataacc ttctcaatt cctttcaact gttgatttgc 4792
caactgacca gatattgatt gagggtttga tatttgaggt tcagcaaggt gatgctttag 4852
atttttcatt tgctgctggc tctcagcgtg gcactgttgc aggcggtgtt aatactgacc 4912
gcctcacctc tgttttatct tctgctggtg gttcgttcgg tatttttaata ggcgatgttt 4972
tagggctatc agttcgcgca ttaaagacta atagccattc aaaaatattg tctgtgccac 5032
gtattcttac gctttcaggt cagaaggggt ctatctctgt tggccagaat gtccctttta 5092
ttactggtcg tgtgactggt gaatctgcc aatgtaataa tccatttcag acgattgagc 5152
gtcaaaatgt aggtatttcc atgagcgttt ttctgttgc aatggctggc ggtaatatg 5212
ttctggatat taccagcaag gccgatagtt tgagttcttc tactcaggca agtgatgtta 5272
ttactaatca aagaagtatt gctacaacgg ttaatttgcg tgatggacag actcttttac 5332
tcggtggcct cactgattat aaaaacactt ctcaggattc tggcgtaccg ttctgtctta 5392
aaatcccttt aatcggcctc ctgttttagct cccgctctga ttctaacgag gaaagcacgt 5452
tatacgtgct cgtcaaagca accatagtac gcgccctgta gcggcgcatt aagcgcggcg 5512
ggtgtggtgg ttacgcgcag cgtgaccgct acacttgcca gcgccctagc gcccgctcct 5572
ttcgttttct tcccttctt tctcgccacg ttcgccggtt tccccgtca agctctaaat 5632
cgggggctcc ctttagggtt ccgatttagt gctttacggc acctcgaccc caaaaaactt 5692
gatttggttg atggttcacg tagtgggcca tcgccctgat agacggtttt tcgccctttg 5752
acgttgaggt ccacgttctt taatagtgga ctcttggtcc aaactggaac aacactcaac 5812
cctatctcgg gctattcttt tgatttataa gggattttgc cgatttcgga accaccatca 5872
aacaggattt tcgctgctg gggcaaacca gcgtggaccg cttgctgcaa ctctctcagg 5932

```

```

gccaggcggg gaagggcaat cagctgttgc ccgtctcact ggtgaaaaga aaaaccaccc 5992
tggatccaag cttgcagggt gcacttttcg gggaaatgtg cgcggaaccc ctatttgttt 6052
atTTTTctaa atacattcaa atatgtatcc gctcatgaga caataaccct gataaatgct 6112
tcaataatat tgaaaaagga agagtatgag tattcaacat ttccgtgtcg cccttattcc 6172
ctTTTTtgcg gcattttgcc ttctgtttt tgctcaccca gaaacgctgg tgaaagtaaa 6232
agatgctgaa gatcagttgg gcgcactagt gggttacatc gaactggatc tcaacagcgg 6292
taagatcctt gagagttttc gcccgaaga acgttttcca atgatgagca cttttaaaagt 6352
tctgctatgt ggcgcggtat tatcccgtat tgacgccggg caagagcaac tcggtcgccg 6412
catacactat tctcagaatg acttggttga gtactacca gtcacagaaa agcatcttac 6472
ggatggcatg acagtaagag aattatgcag tgctgccata accatgagtg ataactatgc 6532
ggccaactta cttctgacaa cgatcggagg accgaaggag ctaaccgctt ttttgcaaa 6592
catgggggat catgtaactc gccttgatcg ttgggaaccg gagctgaatg aagccatacc 6652
aaacgacgag cgtgacacca cgatgcctgt agcaatggca acaacgttgc gcaaactatt 6712
aactggcgaa ctacttactc tagcttcccg gcaacaatta atagactgga tggaggcgga 6772
taaagtgtga ggaccacttc tgcgctcggc ccttcggct ggctggttta ttgctgataa 6832
atctggagcc ggtgagcgtg ggtctcggcg tatcattgca gcactggggc cagatggtaa 6892
gccctccgt atcgtagtta tctacacgac ggggagtcag gcaactatgg atgaacgaaa 6952
tagacagatc gctgagatag gtgcctcact gattaagcat tggtaactgt cagaccaagt 7012
ttactcatat atactttaga ttgatttaaa acttcatttt taatttaaaa ggatctaggt 7072
gaagatcctt tttgataatc tcatgaccaa aatcccttaa cgtgagtttt cgttccactg 7132
tacgtaagac cccaagctt gtcgactgaa tggcgaatgg cgctttgcct ggtttccggc 7192
accagaagcg gtgccgaaa gctggctgga gtgcgatctt cctgacgctc gagcgcaacg 7252
caattaatgt gagttagctc actcattagg cccccaggc tttaacttt atgcttccgg 7312
ctcgtatggt gtgtggaatt gtgagcgat aacaatttca cacaggaaac agctatgacc 7372
atgattacgc caagctttgg agcctttttt ttggagattt tcaac gtg aaa aaa tta 7429
                                     Met Lys Lys Leu
                                     630

tta ttc gca att cct tta gtt gtt cct ttc tat tct cac agt gca caa 7477
Leu Phe Ala Ile Pro Leu Val Val Pro Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln
    635                640                645

gac atc cag atg acc cag tct cca gcc acc ctg tct ttg tct cca ggg 7525

```

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	
650						655					660					
gaa	aga	gcc	acc	ctc	tcc	tgc	agg	gcc	agt	cag	ggt	gtt	agc	agc	tac	7573
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Val	Ser	Ser	Tyr	
665					670					675					680	
tta	gcc	tgg	tac	cag	cag	aaa	cct	ggc	cag	gct	ccc	agg	ctc	ctc	atc	7621
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	
				685					690					695		
tat	gat	gca	tcc	aac	agg	gcc	act	ggc	atc	cca	gcc	agg	ttc	agt	ggc	7669
Tyr	Asp	Ala	Ser	Asn	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	
			700					705					710			
agt	ggg	cct	ggg	aca	gac	ttc	act	ctc	acc	atc	agc	agc	cta	gag	cct	7717
Ser	Gly	Pro	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Glu	Pro	
		715						720				725				
gaa	gat	ttt	gca	gtt	tat	tac	tgt	cag	cag	cgt	aac	tgg	cat	ccg	tgg	7765
Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Arg	Asn	Trp	His	Pro	Trp	
	730					735					740					
acg	ttc	ggc	caa	ggg	acc	aag	gtg	gaa	atc	aaa	cga	act	gtg	gct	gca	7813
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	
	745				750					755					760	
cca	tct	gtc	ttc	atc	ttc	ccg	cca	tct	gat	gag	cag	ttg	aaa	tct	gga	7861
Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	
			765						770					775		
act	gcc	tct	gtt	gtg	tgc	ctg	ctg	aat	aac	ttc	tat	ccc	aga	gag	gcc	7909
Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	
			780					785					790			
aaa	gta	cag	tgg	aag	gtg	gat	aac	gcc	ctc	caa	tcg	ggt	aac	tcc	cag	7957
Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	
		795					800					805				
gag	agt	gtc	aca	gag	cgg	gac	agc	aag	gac	agc	acc	tac	agc	ctc	agc	8005
Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Arg	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	
		810				815					820					
agc	acc	ctg	acg	ctg	agc	aaa	gca	gac	tac	gag	aaa	cac	aaa	gtc	tac	8053
Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	
		825			830					835					840	
gcc	tgc	gaa	gtc	acc	cat	cag	ggc	ctg	agc	tcg	ccc	gtc	aca	aag	agc	8101
Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	
			845					850						855		
ttc	aac	agg	gga	gag	tgt	taataaggcg	cgccaattct	atttcaagga								8149
Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys											
			860													
gacagtcata	atg	aaa	tac	cta	ttg	cct	acg	gca	gcc	gct	gga	ttg	tta			8198
	Met	Lys	Tyr	Leu	Leu	Pro	Thr	Ala	Ala	Ala	Gly	Leu	Leu			
			865					870					875			

tta ctc gcg gcc cag ccg gcc atg gcc gaa gtt caa ttg tta gag tct Leu Leu Ala Ala Gln Pro Ala Met Ala Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser 880 885 890	8246
ggt ggc ggt ctt gtt cag cct ggt ggt tct tta cgt ctt tct tgc gct Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala 895 900 905	8294
gct tcc gga ttc act ttc tct act tac gag atg cgt tgg gtt cgc caa Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Glu Met Arg Trp Val Arg Gln 910 915 920	8342
gct cct ggt aaa ggt ttg gag tgg gtt tct tat atc gct cct tct ggt Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ala Pro Ser Gly 925 930 935	8390
ggc gat act gct tat gct gac tcc gtt aaa ggt cgc ttc act atc tct Gly Asp Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser 940 945 950 955	8438
aga gac aac tct aag aat act ctc tac ttg cag atg aac agc tta agg Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg 960 965 970	8486
gct gag gac act gca gtc tac tat tgt gcg agg agg ctc gat ggc tat Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Leu Asp Gly Tyr 975 980 985	8534
att tcc tac tac tac ggt atg gac gtc tgg ggc caa ggg acc acg gtc Ile Ser Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val 990 995 1000	8582
acc gtc tca agc gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala 1005 1010 1015	8630
ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu 1020 1025 1030 1035	8678
gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly 1040 1045 1050	8726
gcc ctg acc agc ggc gtc cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser 1055 1060 1065	8774
gga ctc tac tcc ctc agc agc gta gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu 1070 1075 1080	8822
ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr 1085 1090 1095	8870
aag gtg gac aag aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gcg gcc gca cat cat	8918

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Ala Ala Ala His His
 1100 1105 1110 1115
 cat cac cat cac ggg gcc gca gaa caa aaa ctc atc tca gaa gag gat 8966
 His His His His Gly Ala Ala Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp
 1120 1125 1130
 ctg aat ggg gcc gca tag gct agc tct gct wsy ggy gay tty gay tay 9014
 Leu Asn Gly Ala Ala Gln Ala Ser Ser Ala Ser Gly Asp Phe Asp Tyr
 1135 1140 1145
 gar aar atg gct aaw gcy aay aar ggs gcy atg acy gar aay gcy gay 9062
 Glu Lys Met Ala Asn Ala Asn Lys Gly Ala Met Thr Glu Asn Ala Asp
 1150 1155 1160
 gar aay gck ytr car wsy gay gcy aar ggy aar ytw gay wsy gtc gck 9110
 Glu Asn Ala Leu Gln Ser Asp Ala Lys Gly Lys Leu Asp Ser Val Ala
 1165 1170 1175
 acy gay tay ggy gcy gcc atc gay ggy tty aty ggy gay gtc wsy ggy 9158
 Thr Asp Tyr Gly Ala Ala Ile Asp Gly Phe Ile Gly Asp Val Ser Gly
 1180 1185 1190 1195
 ytk gcy aay ggy aay ggy gcy acy ggw gay tty gcw ggy tck aat tcy 9206
 Leu Ala Asn Gly Asn Gly Ala Thr Gly Asp Phe Ala Gly Ser Asn Ser
 1200 1205 1210
 car atg gcy car gty ggw gay gk gay aay wsw cck ytw atg aay aay 9254
 Gln Met Ala Gln Val Gly Asp Gly Asp Asn Ser Pro Leu Met Asn Asn
 1215 1220 1225
 tty mgw car tay ytw cck tcy cty cck car wsk gty gar tgy cgy ccw 9302
 Phe Arg Gln Tyr Leu Pro Ser Leu Pro Gln Ser Val Glu Cys Arg Pro
 1230 1235 1240
 tty gty tty wsy gcy ggy aar ccw tay gar tty wsy aty gay tgy gay 9350
 Phe Val Phe Ser Ala Gly Lys Pro Tyr Glu Phe Ser Ile Asp Cys Asp
 1245 1250 1255
 aar atm aay ytw tty cgy ggy gty tty gck tty ytk yta tay gty gcy 9398
 Lys Ile Asn Leu Phe Arg Gly Val Phe Ala Phe Leu Leu Tyr Val Ala
 1260 1265 1270 1275
 acy tty atg tay gtw tty wsy ack tty gcy aay atw ytr cgy aay aar 9446
 Thr Phe Met Tyr Val Phe Ser Thr Phe Ala Asn Ile Leu Arg Asn Lys
 1280 1285 1290
 gar wsy tagtgatctc ctaggaagcc cgcctaata gcgggctttt tttttctggt 9502
 Glu Ser
 atgcatcctg aggccgatac tgctgcgtc ccctcaaact ggcagatgca cggttacgat 9562
 gcgcccattc acaccaacgt gacctatccc attacggtca atccgccgtt tgttcccacg 9622
 gagaatccga cgggttggtta ctgcgtcaca tttaatgttg atgaaagctg gctacaggaa 9682
 gccagacgc gaattatttt tgatggcggt cctattggtt aaaaaatgag ctgatttaac 9742

aaaaatttaa tgcgaatttt aacaaaatat taacgtttac aatttaaata ttgcttata 9802
 caatcttcct gtttttgggg cttttctgat tatcaaccgg ggtacatatg attgacatgc 9862
 tagttttacg attaccgttc atcgattctc ttgtttgctc cagactctca ggcaatgacc 9922
 tgatagcctt tgtagatctc tcaaaaatag ctaccctctc cggcattaat ttatcagcta 9982
 gaacgggtga atatcatatt gatggtgatt tgactgtctc cggcctttct cacccttttg 10042
 aatctttacc tacacattac tcaggcattg catttaaaat atatgagggt tctaaaaatt 10102
 tttatccttg cgttgaaata aaggcttctc ccgcaaaagt attacagggt cataatgttt 10162
 ttggtacaac cgatttagct ttatgctctg aggcctttatt gcttaatttt gctaattctt 10222
 tgccttgccct gtatgattta ttggatgtt 10251

<210> 583

<211> 113

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de proteína de CJRA05

<400> 583

Met	Lys	Lys	Leu	Leu	Phe	Ala	Ile	Pro	Leu	Val	Val	Pro	Phe	Tyr	Ser
1				5					10					15	
Gly	Ala	Ala	Glu	Ser	His	Leu	Asp	Gly	Ala	Ala	Glu	Thr	Val	Glu	Ser
			20					25					30		
Cys	Leu	Ala	Lys	Ser	His	Thr	Glu	Asn	Ser	Phe	Thr	Asn	Val	Trp	Lys
		35					40					45			
Asp	Asp	Lys	Thr	Leu	Asp	Arg	Tyr	Ala	Asn	Tyr	Glu	Gly	Cys	Leu	Trp
	50					55					60				
Asn	Ala	Thr	Gly	Val	Val	Val	Cys	Thr	Gly	Asp	Glu	Thr	Gln	Cys	Tyr
65					70				75					80	
Gly	Thr	Trp	Val	Pro	Ile	Gly	Leu	Ala	Ile	Pro	Glu	Asn	Glu	Gly	Gly
				85				90						95	
Gly	Ser	Glu	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Gly	Gly	Gly
			100					105					110		
Thr															

<210> 584

<211> 152

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de proteína de CJRA05

<400> 584

```

Ser Gly Asp Phe Asp Tyr Glu Lys Met Ala Asn Ala Asn Lys Gly Ala
 1           5           10           15

Met Thr Glu Asn Ala Asp Glu Asn Ala Leu Gln Ser Asp Ala Lys Gly
      20           25           30

Lys Leu Asp Ser Val Ala Thr Asp Tyr Gly Ala Ala Ile Asp Gly Phe
      35           40           45

Ile Gly Asp Val Ser Gly Leu Ala Asn Gly Asn Gly Ala Thr Gly Asp
      50           55           60

Phe Ala Gly Ser Asn Ser Gln Met Ala Gln Val Gly Asp Gly Asp Asn
      65           70           75           80

Ser Pro Leu Met Asn Asn Phe Arg Gln Tyr Leu Pro Ser Leu Pro Gln
      85           90           95

Ser Val Glu Cys Arg Pro Phe Val Phe Gly Ala Gly Lys Pro Tyr Glu
      100          105          110

Phe Ser Ile Asp Cys Asp Lys Ile Asn Leu Phe Arg Gly Val Phe Ala
      115          120          125

Phe Leu Leu Tyr Val Ala Thr Phe Met Tyr Val Phe Ser Thr Phe Ala
      130          135          140

Asn Ile Leu Arg Asn Lys Glu Ser
145           150

```

<210> 585

<211> 15

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia peptídica de CJRA05

<400> 585

```

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

```

<210> 586

<211> 348

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

15

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de proteína de CJRA05

<400> 586

```

Met Ala Val Tyr Phe Val Thr Gly Lys Leu Gly Ser Gly Lys Thr Leu
 1           5           10           15

Val Ser Val Gly Lys Ile Gln Asp Lys Ile Val Ala Gly Cys Lys Ile
      20           25           30

Ala Thr Asn Leu Asp Leu Arg Leu Gln Asn Leu Pro Gln Val Gly Arg
      35           40           45

Phe Ala Lys Thr Pro Arg Val Leu Arg Ile Pro Asp Lys Pro Ser Ile
      50           55           60

Ser Asp Leu Leu Ala Ile Gly Arg Gly Asn Asp Ser Tyr Asp Glu Asn
      65           70           75           80

Lys Asn Gly Leu Leu Val Leu Asp Glu Cys Gly Thr Trp Phe Asn Thr
      85           90           95

Arg Ser Trp Asn Asp Lys Glu Arg Gln Pro Ile Ile Asp Trp Phe Leu
      100          105          110

His Ala Arg Lys Leu Gly Trp Asp Ile Ile Phe Leu Val Gln Asp Leu
      115          120          125

Ser Ile Val Asp Lys Gln Ala Arg Ser Ala Leu Ala Glu His Val Val
      130          135          140

Tyr Cys Arg Arg Leu Asp Arg Ile Thr Leu Pro Phe Val Gly Thr Leu
      145          150          155          160

Tyr Ser Leu Ile Thr Gly Ser Lys Met Pro Leu Pro Lys Leu His Val
      165          170          175

Gly Val Val Lys Tyr Gly Asp Ser Gln Leu Ser Pro Thr Val Glu Arg
      180          185          190

Trp Leu Tyr Thr Gly Lys Asn Leu Tyr Asn Ala Tyr Asp Thr Lys Gln
      195          200          205

Ala Phe Ser Ser Asn Tyr Asp Ser Gly Val Tyr Ser Tyr Leu Thr Pro
      210          215          220

Tyr Leu Ser His Gly Arg Tyr Phe Lys Pro Leu Asn Leu Gly Gln Lys
      225          230          235          240

Met Lys Leu Thr Lys Ile Tyr Leu Lys Lys Phe Ser Arg Val Leu Cys
      245          250          255

Leu Ala Ile Gly Phe Ala Ser Ala Phe Thr Tyr Ser Tyr Ile Thr Gln
      260          265          270

Pro Lys Pro Glu Val Lys Lys Val Val Ser Gln Thr Tyr Asp Phe Asp
      275          280          285

Lys Phe Thr Ile Asp Ser Ser Gln Arg Leu Asn Leu Ser Tyr Arg Tyr

```

290					295					300					
Val	Phe	Lys	Asp	Ser	Lys	Gly	Lys	Leu	Ile	Asn	Ser	Asp	Asp	Leu	Gln
305					310					315					320
Lys	Gln	Gly	Tyr	Ser	Leu	Thr	Tyr	Ile	Asp	Leu	Cys	Thr	Val	Ser	Ile
				325					330					335	
Lys	Lys	Gly	Asn	Ser	Asn	Glu	Ile	Val	Lys	Cys	Asn				
			340					345							

<210> 587

<211> 234

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de proteína de CJRA05

<400> 587

Met Lys Lys Leu Leu Phe Ala Ile Pro Leu Val Val Pro Phe Tyr Ser
1 5 10 15

His Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Gly
35 40 45

Val Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 . 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Pro Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asn
100 105 110

Trp His Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Arg Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 588
 <211> 431
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

- 5 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de proteína de CJRA05

<400> 588

```

Met Lys Tyr Leu Leu Pro Thr Ala Ala Ala Gly Leu Leu Leu Leu Ala
 1          5          10          15

Ala Gln Pro Ala Met Ala Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly
      20          25          30

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
      35          40          45

Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Glu Met Arg Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
      50          55          60

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ala Pro Ser Gly Gly Asp Thr
      65          70          75          80

Ala Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
      85          90          95

Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
      100          105          110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Leu Asp Gly Tyr Ile Ser Tyr
      115          120          125

Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
      130          135          140

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
      145          150          155          160

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
      165          170          175

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
      180          185          190

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

```

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
 210 215 220
 Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
 225 230 235 240
 Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Ala Ala Ala His His His His His
 245 250 255
 His Gly Ala Ala Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn Gly
 260 265 270
 Ala Ala Gln Ala Ser Ser Ala Ser Gly Asp Phe Asp Tyr Glu Lys Met
 275 280 285
 Ala Asn Ala Asn Lys Gly Ala Met Thr Glu Asn Ala Asp Glu Asn Ala
 290 295 300
 Leu Gln Ser Asp Ala Lys Gly Lys Leu Asp Ser Val Ala Thr Asp Tyr
 305 310 315 320
 Gly Ala Ala Ile Asp Gly Phe Ile Gly Asp Val Ser Gly Leu Ala Asn
 325 330 335
 Gly Asn Gly Ala Thr Gly Asp Phe Ala Gly Ser Asn Ser Gln Met Ala
 340 345 350
 Gln Val Gly Asp Gly Asp Asn Ser Pro Leu Met Asn Asn Phe Arg Gln
 355 360 365
 Tyr Leu Pro Ser Leu Pro Gln Ser Val Glu Cys Arg Pro Phe Val Phe
 370 375 380
 Ser Ala Gly Lys Pro Tyr Glu Phe Ser Ile Asp Cys Asp Lys Ile Asn
 385 390 395 400
 Leu Phe Arg Gly Val Phe Ala Phe Leu Leu Tyr Val Ala Thr Phe Met
 405 410 415
 Tyr Val Phe Ser Thr Phe Ala Asn Ile Leu Arg Asn Lys Glu Ser
 420 425 430

<210> 589

<211> 5

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido ilustrativo

<400> 589

Glu Gly Gly Gly Ser
 1 5

10 <210> 590

<211> 1275

<212> ADN

<213> Organismo Desconocido

<220>

15 <221> CDS

<222> (1) .. (1272)

<220>

<223> Descripción de Organismo Desconocido: Secuencia de nucleótidos de M13

<400> 590

gtg	aaa	aaa	tta	tta	ttc	gca	att	cct	tta	gtt	gtt	cct	ttc	tat	tct	48
Met	Lys	Lys	Leu	Leu	Phe	Ala	Ile	Pro	Leu	Val	Val	Pro	Phe	Tyr	Ser	
1				5				10					15			
cac	tcc	gct	gaa	act	gtt	gaa	agt	tgt	tta	gca	aaa	ccc	cat	aca	gaa	96
His	Ser	Ala	Glu	Thr	Val	Glu	Ser	Cys	Leu	Ala	Lys	Pro	His	Thr	Glu	
			20					25					30			
aat	tca	ttt	act	aac	gtc	tgg	aaa	gac	gac	aaa	act	tta	gat	cgt	tac	144
Asn	Ser	Phe	Thr	Asn	Val	Trp	Lys	Asp	Asp	Lys	Thr	Leu	Asp	Arg	Tyr	
		35					40					45				
gct	aac	tat	gag	ggg	tgt	ctg	tgg	aat	gct	aca	ggc	gtt	gta	gtt	tgt	192
Ala	Asn	Tyr	Glu	Gly	Cys	Leu	Trp	Asn	Ala	Thr	Gly	Val	Val	Val	Cys	
	50					55					60					
act	ggg	gac	gaa	act	cag	tgt	tac	ggg	aca	tgg	gtt	cct	att	ggg	ctt	240
Thr	Gly	Asp	Glu	Thr	Gln	Cys	Tyr	Gly	Thr	Trp	Val	Pro	Ile	Gly	Leu	
	65				70					75					80	
gct	atc	cct	gaa	aat	gag	ggg	ggg	ggc	tct	gag	ggg	ggc	ggg	tct	gag	288
Ala	Ile	Pro	Glu	Asn	Glu	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	
				85					90					95		
ggg	ggc	ggg	tct	gag	ggg	ggc	ggg	act	aaa	cct	cct	gag	tac	ggg	gat	336
Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Pro	Pro	Glu	Tyr	Gly	Asp	
			100					105					110			
aca	cct	att	ccg	ggc	tat	act	tat	atc	aac	cct	ctc	gac	ggc	act	tat	384
Thr	Pro	Ile	Pro	Gly	Tyr	Thr	Tyr	Ile	Asn	Pro	Leu	Asp	Gly	Thr	Tyr	
		115					120					125				
ccg	cct	ggg	act	gag	caa	aac	ccc	gct	aat	cct	aat	cct	tct	ctt	gag	432
Pro	Pro	Gly	Thr	Glu	Gln	Asn	Pro	Ala	Asn	Pro	Asn	Pro	Ser	Leu	Glu	
		130				135					140					
gag	tct	cag	cct	ctt	aat	act	ttc	atg	ttt	cag	aat	aat	agg	ttc	cga	480
Glu	Ser	Gln	Pro	Leu	Asn	Thr	Phe	Met	Phe	Gln	Asn	Asn	Arg	Phe	Arg	
145					150					155					160	
aat	agg	cag	ggg	gca	tta	act	gtt	tat	acg	ggc	act	gtt	act	caa	ggc	528
Asn	Arg	Gln	Gly	Ala	Leu	Thr	Val	Tyr	Thr	Gly	Thr	Val	Thr	Gln	Gly	
				165					170					175		

act gac ccc gtt aaa act tat tac cag tac act cct gta tca tca aaa	576
Thr Asp Pro Val Lys Thr Tyr Tyr Gln Tyr Thr Pro Val Ser Ser Lys	
180 185 190	
gcc atg tat gac gct tac tgg aac ggt aaa ttc aga gac tgc gct ttc	624
Ala Met Tyr Asp Ala Tyr Trp Asn Gly Lys Phe Arg Asp Cys Ala Phe	
195 200 205	
cat tct ggc ttt aat gag gat cca ttc gtt tgt gaa tat caa ggc caa	672
His Ser Gly Phe Asn Glu Asp Pro Phe Val Cys Glu Tyr Gln Gly Gln	
210 215 220	
tcg tct gac ctg cct caa cct cct gtc aat gct ggc ggc ggc tct ggt	720
Ser Ser Asp Leu Pro Gln Pro Pro Val Asn Ala Gly Gly Gly Ser Gly	
225 230 235 240	
ggt ggt tct ggt ggc ggc tct gag ggt ggt ggc tct gag ggt ggc ggt	768
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly	
245 250 255	
tct gag ggt ggc ggc tct gag gga ggc ggt tcc ggt ggt ggc tct ggt	816
Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly	
260 265 270	
tcc ggt gat ttt gat tat gaa aag atg gca aac gct aat aag ggg gct	864
Ser Gly Asp Phe Asp Tyr Glu Lys Met Ala Asn Ala Asn Lys Gly Ala	
275 280 285	
atg acc gaa aat gcc gat gaa aac gcg cta cag tct gac gct aaa ggc	912
Met Thr Glu Asn Ala Asp Glu Asn Ala Leu Gln Ser Asp Ala Lys Gly	
290 295 300	
aaa ctt gat tct gtc gct act gat tac ggt gct gct atc gat ggt ttc	960
Lys Leu Asp Ser Val Ala Thr Asp Tyr Gly Ala Ala Ile Asp Gly Phe	
305 310 315 320	
att ggt gac gtt tcc ggc ctt gct aat ggt aat ggt gct act ggt gat	1008
Ile Gly Asp Val Ser Gly Leu Ala Asn Gly Asn Gly Ala Thr Gly Asp	
325 330 335	
ttt gct ggc tct aat tcc caa atg gct caa gtc ggt gac ggt gat aat	1056
Phe Ala Gly Ser Asn Ser Gln Met Ala Gln Val Gly Asp Gly Asp Asn	
340 345 350	
tca cct tta atg aat aat ttc cgt caa tat tta cct tcc ctc cct caa	1104
Ser Pro Leu Met Asn Asn Phe Arg Gln Tyr Leu Pro Ser Leu Pro Gln	
355 360 365	
tcg gtt gaa tgt cgc cct ttt gtc ttt agc gct ggt aaa cca tat gaa	1152
Ser Val Glu Cys Arg Pro Phe Val Phe Ser Ala Gly Lys Pro Tyr Glu	
370 375 380	
ttt tct att gat tgt gac aaa ata aac tta ttc cgt ggt gtc ttt gcg	1200
Phe Ser Ile Asp Cys Asp Lys Ile Asn Leu Phe Arg Gly Val Phe Ala	
385 390 395 400	
ttt ctt tta tat gtt gcc acc ttt atg tat gta ttt tct acg ttt gct	1248
Phe Leu Leu Tyr Val Ala Thr Phe Met Tyr Val Phe Ser Thr Phe Ala	
405 410 415	
aac ata ctg cgt aat aag gag tct taa	1275
Asn Ile Leu Arg Asn Lys Glu Ser	
420	

<210> 591
 <211> 424
 <212> PRT
 <213> Organismo Desconocido

5 <220>
 <223> Descripción de Organismo Desconocido: Secuencia de proteína de M13

<400> 591

```

Met Lys Lys Leu Leu Phe Ala Ile Pro Leu Val Val Pro Phe Tyr Ser
 1          5          10          15

His Ser Ala Glu Thr Val Glu Ser Cys Leu Ala Lys Pro His Thr Glu
      20          25          30

Asn Ser Phe Thr Asn Val Trp Lys Asp Asp Lys Thr Leu Asp Arg Tyr
      35          40          45

Ala Asn Tyr Glu Gly Cys Leu Trp Asn Ala Thr Gly Val Val Val Cys
      50          55          60

Thr Gly Asp Glu Thr Gln Cys Tyr Gly Thr Trp Val Pro Ile Gly Leu
      65          70          75          80

Ala Ile Pro Glu Asn Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu
      85          90          95

Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Thr Lys Pro Pro Glu Tyr Gly Asp
      100          105          110

Thr Pro Ile Pro Gly Tyr Thr Tyr Ile Asn Pro Leu Asp Gly Thr Tyr
      115          120          125

Pro Pro Gly Thr Glu Gln Asn Pro Ala Asn Pro Asn Pro Ser Leu Glu
      130          135          140

Glu Ser Gln Pro Leu Asn Thr Phe Met Phe Gln Asn Asn Arg Phe Arg
      145          150          155          160

Asn Arg Gln Gly Ala Leu Thr Val Tyr Thr Gly Thr Val Thr Gln Gly
      165          170          175

Thr Asp Pro Val Lys Thr Tyr Tyr Gln Tyr Thr Pro Val Ser Ser Lys
      180          185          190

Ala Met Tyr Asp Ala Tyr Trp Asn Gly Lys Phe Arg Asp Cys Ala Phe
      195          200          205

His Ser Gly Phe Asn Glu Asp Pro Phe Val Cys Glu Tyr Gln Gly Gln
      210          215          220

```

Ser Ser Asp Leu Pro Gln Pro Pro Val Asn Ala Gly Gly Gly Ser Gly
 225 230 235 240

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly
 245 250 255

Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
 260 265 270

Ser Gly Asp Phe Asp Tyr Glu Lys Met Ala Asn Ala Asn Lys Gly Ala
 275 280 285

Met Thr Glu Asn Ala Asp Glu Asn Ala Leu Gln Ser Asp Ala Lys Gly
 290 295 300

Lys Leu Asp Ser Val Ala Thr Asp Tyr Gly Ala Ala Ile Asp Gly Phe
 305 310 315 320

Ile Gly Asp Val Ser Gly Leu Ala Asn Gly Asn Gly Ala Thr Gly Asp
 325 330 335

Phe Ala Gly Ser Asn Ser Gln Met Ala Gln Val Gly Asp Gly Asp Asn
 340 345 350

Ser Pro Leu Met Asn Asn Phe Arg Gln Tyr Leu Pro Ser Leu Pro Gln
 355 360 365

Ser Val Glu Cys Arg Pro Phe Val Phe Ser Ala Gly Lys Pro Tyr Glu
 370 375 380

Phe Ser Ile Asp Cys Asp Lys Ile Asn Leu Phe Arg Gly Val Phe Ala
 385 390 395 400

Phe Leu Leu Tyr Val Ala Thr Phe Met Tyr Val Phe Ser Thr Phe Ala
 405 410 415

Asn Ile Leu Arg Asn Lys Glu Ser
 420

<210> 592

<211> 35

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 592

caacgatgat cgtatggcgc atgctgccga gacag 35

10 <210> 593

<211> 1355

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de nucleótidos de M13-III

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (1305)

<400> 593

gcg gcc gca cat cat cat cac cat cac ggg gcc gca gaa caa aaa ctc	48
Ala Ala Ala His His His His His His Gly Ala Ala Glu Gln Lys Leu	
1 5 10 15	
atc tca gaa gag gat ctg aat ggg gcc gca tag gct agc gat atc aac	96
Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn Gly Ala Ala Ala Ser Asp Ile Asn	
20 25 30	
gat gat cgt atg gct tct act gcy gar acw gty gaa wsy tgy ytr gcm	144
Asp Asp Arg Met Ala Ser Thr Ala Glu Thr Val Glu Ser Cys Leu Ala	
35 40 45	
aar ccy cay acw gar aat wsw tty acw aay gts tgg aar gay gay aar	192
Lys Pro His Thr Glu Asn Ser Phe Thr Asn Val Trp Lys Asp Asp Lys	
50 55 60	
acy ytw gat cgw tay gcy aay tay gar ggy tgy ytr tgg aat gcy acm	240
Thr Leu Asp Arg Tyr Ala Asn Tyr Glu Gly Cys Leu Trp Asn Ala Thr	
65 70 75	
ggc gty gtw gty tgy ack ggy gay gar acw car tgy tay ggy acr tgg	288
Gly Val Val Val Cys Thr Gly Asp Glu Thr Gln Cys Tyr Gly Thr Trp	
80 85 90 95	
gtk cck atw ggs ytw gcy atm cck gar aay gar ggy ggy ggy wsy gar	336
Val Pro Ile Gly Leu Ala Ile Pro Glu Asn Glu Gly Gly Gly Ser Glu	
100 105 110	
ggy ggy ggy wsy gar ggy ggy ggw tcy gar ggw ggy ggw acy aar cck	384
Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Thr Lys Pro	
115 120 125	
cck gar tay ggy gay acw cck atw cck ggy tay acy tay aty aay cck	432
Pro Glu Tyr Gly Asp Thr Pro Ile Pro Gly Tyr Thr Tyr Ile Asn Pro	
130 135 140	
ytm gay ggm acy tay cck cck ggy acy gar car aay ccy gcy aay cck	480
Leu Asp Gly Thr Tyr Pro Pro Gly Thr Glu Gln Asn Pro Ala Asn Pro	
145 150 155	
aay ccw wsy ytw gar gar wsy car cck ytw aay acy tty atg tty car	528
Asn Pro Ser Leu Glu Glu Ser Gln Pro Leu Asn Thr Phe Met Phe Gln	
160 165 170 175	
aay aay mgk tty mgr aay mgk car ggk gcw ytw acy gtk tay ack ggm	576
Asn Asn Arg Phe Arg Asn Arg Gln Gly Ala Leu Thr Val Tyr Thr Gly	
180 185 190	

acy gty acy car ggy acy gay ccy gty aar acy tay tay car tay acy	624
Thr Val Thr Gln Gly Thr Asp Pro Val Lys Thr Tyr Tyr Gln Tyr Thr	
195 200 205	
cck gtm tcr wsw aar gcy atg tay gay gcy tay tgg aay ggy aar tty	672
Pro Val Ser Ser Lys Ala Met Tyr Asp Ala Tyr Trp Asn Gly Lys Phe	
210 215 220	
mgw gay tgy gcy tty cay wsy ggy tty aay gar gay ccw tty gty tgy	720
Arg Asp Cys Ala Phe His Ser Gly Phe Asn Glu Asp Pro Phe Val Cys	
225 230 235	
gar tay car ggy car wsk wsy gay ytr cck car ccw cck gty aay gck	768
Glu Tyr Gln Gly Gln Ser Ser Asp Leu Pro Gln Pro Pro Val Asn Ala	
240 245 250 255	
ggy ggy ggy wsy ggy ggw ggy wsy ggy ggy ggy wsy gar ggy ggw ggy	816
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly	
260 265 270	
wsy gar ggw ggy ggy wsy ggr ggy ggy wsy ggy wsy ggy gay tty gay	864
Ser Glu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Asp Phe Asp	
275 280 285	
tay gar aar atg gcw aay gcy aay aar ggs gcy atg acy gar aay gcy	912
Tyr Glu Lys Met Ala Asn Ala Asn Lys Gly Ala Met Thr Glu Asn Ala	
290 295 300	
gay gar aay gcr ctr car wst gay gcy aar ggy aar ytw gay wsy gtc	960
Asp Glu Asn Ala Leu Gln Ser Asp Ala Lys Gly Lys Leu Asp Ser Val	
305 310 315	
gcy acw gay tay ggt gct gcy atc gay ggy tty aty ggy gay gty wsy	1008
Ala Thr Asp Tyr Gly Ala Ala Ile Asp Gly Phe Ile Gly Asp Val Ser	
320 325 330 335	
ggy ctk gct aay ggy aay ggw gcy acy ggw gay tty gcw ggy tck aat	1056
Gly Leu Ala Asn Gly Asn Gly Ala Thr Gly Asp Phe Ala Gly Ser Asn	
340 345 350	
tcy car atg gcy car gty ggw gay ggk gay aay wsw cck ytw atg aay	1104
Ser Gln Met Ala Gln Val Gly Asp Gly Asp Asn Ser Pro Leu Met Asn	
355 360 365	
aay tty mgw car tay ytw cck tcy cty cck car wsk gty gar tgy cgy	1152
Asn Phe Arg Gln Tyr Leu Pro Ser Leu Pro Gln Ser Val Glu Cys Arg	
370 375 380	
ccw tty gty tty wsy gcy ggy aar ccw tay gar tty wsy aty gay tgy	1200
Pro Phe Val Phe Ser Ala Gly Lys Pro Tyr Glu Phe Ser Ile Asp Cys	
385 390 395	
gay aar atm aay ytw ttc cgy ggy gty tty gck tty ytk yta tay gty	1248
Asp Lys Ile Asn Leu Phe Arg Gly Val Phe Ala Phe Leu Leu Tyr Val	
400 405 410 415	
gcy acy tty atg tay gtw tty wsy ack tty gcy aay atw ytr cgy aay	1296
Ala Thr Phe Met Tyr Val Phe Ser Thr Phe Ala Asn Ile Leu Arg Asn	

420

425

430

aar gar wsy tagtgatctc ctaggaagcc cgcctaata ga gcgggctttt	1345
Lys Glu Ser	

tttttctggt	1355
------------	------

<210> 594

<211> 434

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de proteína de M13-III

<400> 594

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

Val Ser Ser Lys Ala Met Tyr Asp Ala Tyr Trp Asn Gly Lys Phe Arg
 210 215 220

Asp Cys Ala Phe His Ser Gly Phe Asn Glu Asp Pro Phe Val Cys Glu
 225 230 235 240

Tyr Gln Gly Gln Ser Ser Asp Leu Pro Gln Pro Pro Val Asn Ala Gly
 245 250 255

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser
 260 265 270

Glu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Asp Phe Asp Tyr
 275 280 285

Glu Lys Met Ala Asn Ala Asn Lys Gly Ala Met Thr Glu Asn Ala Asp
 290 295 300

Glu Asn Ala Leu Gln Ser Asp Ala Lys Gly Lys Leu Asp Ser Val Ala
 305 310 315 320

Thr Asp Tyr Gly Ala Ala Ile Asp Gly Phe Ile Gly Asp Val Ser Gly
 325 330 335

Leu Ala Asn Gly Asn Gly Ala Thr Gly Asp Phe Ala Gly Ser Asn Ser
 340 345 350

Gln Met Ala Gln Val Gly Asp Gly Asp Asn Ser Pro Leu Met Asn Asn
 355 360 365

Phe Arg Gln Tyr Leu Pro Ser Leu Pro Gln Ser Val Glu Cys Arg Pro
 370 375 380

Phe Val Phe Ser Ala Gly Lys Pro Tyr Glu Phe Ser Ile Asp Cys Asp
 385 390 395 400

Lys Ile Asn Leu Phe Arg Gly Val Phe Ala Phe Leu Leu Tyr Val Ala
 405 410 415

Thr Phe Met Tyr Val Phe Ser Thr Phe Ala Asn Ile Leu Arg Asn Lys
 420 425 430

Glu Ser

<210> 595

<211> 22

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 595

cgttgatatac gctagcctat gc 22

10 <210> 596

<211> 30

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 596

gataggctta gctagcccggaagaacgaagg 30

<210> 597

<211> 37

20 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 597
 ctttcacagc ggtttcgcta gcgacccttt tgtctgc 37

<210> 598
 <211> 50
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 598
 10 ctttcacagc ggtttcgcta gcgacccttt tgcagcgag taccagggtc 50

<210> 599
 <211> 37
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 599
 gactgtctcg gcagcatgcg ccatacgatc atcggtg 37

20 <210> 600
 <211> 37
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

25 <220>
 <221> CDS
 <222> (2)..(25)

<400> 600
c aac gat gat cgt atg gcg cat gct gccgagacag tc 37
Asn Asp Asp Arg Met Ala His Ala
1 5

30 <210> 601
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 601
Asn Asp Asp Arg Met Ala His Ala
1 5

<210> 602
 <211> 37
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 602
 45 ctttcacagc ggtttcgatg cagacccttt tgtctgc 37

<210> 603
 <211> 50

- <212> ADN
<213> Secuencia Artificial
- <220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
- 5 <400> 603
ctttcacagc gggttgcagc cagacccttt tgcagcgag taccagggtc 50
- <210> 604
<211> 7
<212> PRT
10 <213> Secuencia Artificial
- <220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido ilustrativo
- <400> 604
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5
- 15 <210> 605
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial
- <220>
20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador
- <400> 605
cctcgacagc gaagtcaca g 21
- <210> 606
<211> 38
25 <212> ADN
<213> Secuencia Artificial
- <220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
- <400> 606
30 ggctgagtca agacgctctg tgcacttcgc tgcgagg 38
- <210> 607
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
- 35 <220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido ilustrativo <400> 607
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro
1 5
- <210> 608
<211> 22
40 <212> ADN
<213> Secuencia Artificial
- <220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador
- <400> 608
45 cctctgtcac agtcacaag ac 22
- <210> 609
<211> 42
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 609
 cctctgtcac agtgcacaag acatccagat gacccagtct cc 42

5 <210> 610
 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 610
 gggaggatgg agactgggtc gtctggatgt cttgtgcact gtgacagagg 50
 <210> 611
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido ilustrativo
 <400> 611
 Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 1 5 10

20 <210> 612
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador
 <400> 612
 gactgggtgt agtgatctag 20

30 <210> 613
 <211> 28
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 613
 ggtgtagtga tcttctagtg acaactct 28
 <210> 614
 <211> 6
 <212> PRT

40 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético
 <400> 614
 Val Ser Ser Arg Asp Asn
 1 5

45 <210> 615
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> CDS
 5 <222> (1)..(15)
 <400> 615
 tac tat tgt gcg aaa 15
 Tyr Tyr Cys Ala Lys
 1 5
 <210> 616
 <211> 5
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético
 <400> 616
 Tyr Tyr Cys Ala Lys
 1 5
 15
 <210> 617
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <400> 617
 ggtgccgata ggcttgcattg caccggagaa cgaagg 36
 25 <210> 618
 <211> 95
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 30 <400> 618
 cgcttcacta agtctagaga caactctaag aatactctct acttgcagat gaacagctta 60
 agggctgagg acactgcagt ctactattgt acgag 95
 <210> 619
 <211> 10
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 <221> base_modificada
 40 <222> (4) .. (7)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 619
 gatnnnnatc 10
 45 <210> 620
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Organismo Desconocido

- <220>
 <223> Descripción de Organismo Desconocido: Péptido derivado de MALIA3
- <400> 620
 Met Lys Leu Leu Asn Val Ile Asn Phe Val
 1 5 10
- 5 <210> 621
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
- <220>
 10 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido derivado de CJRA05
- <400> 621
 Met Ser Val Leu Val Tyr Ser Phe Ala Ser Phe Val Leu Gly Trp Cys
 1 5 10 15
 Leu Arg Ser Gly Ile Thr Tyr Phe Thr Arg Leu Met Glu
 20 25
- <210> 622
 <211> 15
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
- <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Secuencia de nucleótidos ilustrativa
- <400> 622
 20 ttttttttt ttttt 15
- <210> 623
 <211> 87
 <212> PRT
 <213> Organismo Desconocido
- 25 <220>
 <223> Descripción de Organismo Desconocido: Péptido derivado de MALIA3
- <400> 623
 Met Ile Lys Val Glu Ile Lys Pro Ser Gln Ala Gln Phe Thr Thr Arg
 1 5 10 15
 Ser Gly Val Ser Arg Gln Gly Lys Pro Tyr Ser Leu Asn Glu Gln Leu
 20 25 30
 Cys Tyr Val Asp Leu Gly Asn Glu Tyr Pro Val Leu Val Lys Ile Thr
 35 40 45
 Leu Asp Glu Gly Gln Pro Ala Tyr Ala Pro Gly Leu Tyr Thr Val His
 50 55 60
 Leu Ser Ser Phe Lys Val Gly Gln Phe Gly Ser Leu Met Ile Asp Arg
 65 70 75 80
 Leu Arg Leu Val Pro Ala Lys
 85
- <210> 624
 30 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Organismo Desconocido
- <220>
 <223> Descripción de Organismo Desconocido: Péptido derivado de MALIA3

<400> 624
 Met Ser Val Leu Val Tyr Ser Phe Ala Ser Phe Val Leu Gly Trp Cys
 1 5 10 15
 Leu Arg Ser Gly Ile Thr Tyr Phe Thr Arg Leu Met Glu
 20 25
 <210> 625
 <211> 10
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético
 <220>
 10 <221> base_modificada
 <222> (7)..(10)
 <223> A, T, C, G, otra o desconocida
 <400> 625
 ctcttcnnnn 10
 15 <210> 626
 <211> 87
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido derivado de CJRA05
 <400> 626
 Met Ile Lys Val Glu Ile Lys Pro Ser Gln Ala Gln Phe Thr Thr Arg
 1 5 10 15
 Ser Gly Val Ser Arg Gln Gly Lys Pro Tyr Ser Leu Asn Glu Gln Leu
 20 25 30
 Cys Tyr Val Asp Leu Gly Asn Glu Tyr Pro Val Leu Val Lys Ile Thr
 35 40 45
 Leu Asp Glu Gly Gln Pro Ala Tyr Ala Pro Gly Leu Tyr Thr Val His
 50 55 60
 Leu Ser Ser Phe Lys Val Gly Gln Phe Gly Ser Leu Met Ile Asp Arg
 65 70 75 80
 Leu Arg Leu Val Pro Ala Lys
 85
 <210> 627
 25 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido derivado de CJRA05
 30 <400> 627
 Met Lys Leu Leu Asn Val Ile Asn Phe Val
 1 5 10
 <210> 628
 <211> 19
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 628
 gacccagtct ccatcctcc 19

5 <210> 629
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

10 <400> 629
 gactcagtct ccactctcc 19

<210> 630
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 630
 gacgcagtct ccaggcacc 19

20 <210> 631
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

25 <400> 631
 gacgcagtct ccagccacc 19

<210> 632
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

<400> 632
 gtctcctgga cagtcgatc 19

35 <210> 633
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético

<400> 633
 ggccttgga cagacagtc 19

45 <210> 634
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

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

50 <400> 634
 gtctcctgga cagtcagtc 19

<210> 635
<211> 19
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

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

<400> 635
ggccccaggg cagagggtc 19

REIVINDICACIONES

1. Un método para producir una población o biblioteca de genes de inmunoglobulina que comprende las etapas de:

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

5 (ii) combinar la diversidad de la etapa (i) con diversidad natural en VH CDR3 capturada de la región de VH CDR3 de genes de inmunoglobulina de células B.

2. El método según la reivindicación 1, en el que la diversidad sintética se introduce tanto en VH CDR1 como en VH CDR2.

10 3. El método según la reivindicación 2, en el que la diversidad sintética se proporciona en una región marco humana 3-23 y en donde la diversidad sintética comprende:

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

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

20 4. Una biblioteca que comprende una colección de paquetes genéticos que presentan un miembro de una familia diversa de anticuerpos y que presentan colectivamente al menos una parte de la familia, estando codificados los anticuerpos presentados por secuencias de ADN que comprenden secuencias que codifican cada una

(a) una VH CDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos según la fórmula -X1-Y-X2-M-X3-, en la que X1, X2, y X3 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en A, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W, e Y, proporcionadas en una región marco humana 3-23;

25 (b) una VH CDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos según la fórmula X4-I-X5-X6-S-G-G-X7-T-X8-Y-A-D-S-V-K-G-, en la que X4 y X5 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en Y, R, W, V, G, y S, X6 se selecciona del grupo que consiste en P y S, y X7 y X8 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en A, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W, e Y; proporcionadas en una región marco humana 3-23; y

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

en donde las secuencias de ADN tienen diversidad sintética en dicha CDR1 y CDR2.

5. La biblioteca según la reivindicación 4, en la que dichas secuencias de ADN comprenden además una secuencia que codifica una cadena ligera de inmunoglobulina.

35 6. La biblioteca según la reivindicación 5, en la que dicha secuencia que codifica una cadena ligera de inmunoglobulina se captura de una célula B.

7. La biblioteca según la reivindicación 6, en la que dicha célula B se aísla de una muestra de sangre de un paciente autoinmune.

40 8. La biblioteca según la reivindicación 7, en la que el paciente autoinmune está diagnosticado con un trastorno seleccionado del grupo que consiste en lupus eritematoso sistémico, esclerosis sistémica, artritis reumatoide, síndrome antifosfolípido y vasculitis.

9. La biblioteca según cualquiera de las reivindicaciones 4 ó 5 a 8, en la que dichos paquetes genéticos son fagos M13.

10. La biblioteca según la reivindicación 9, en la que dichas secuencias de ADN están en un vector fago.

45 11. La biblioteca según la reivindicación 9 ó 10, en la que dicho fago comprende un gen iii de tipo salvaje y un gen iii truncado para la presentación de péptidos, polipéptidos o proteínas.

12. La biblioteca según cualquiera de las reivindicaciones 4 ó 5 a 8, en la que dichas secuencias de ADN están en un vector fagémido.

50 13. La biblioteca según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, en la que dichos péptidos, polipéptidos o proteínas presentados se presentan mediante un conector corto a la parte final del gen III de M13.

AMPLIFICAR GENES VH SIN
USAR SECUENCIAS VH

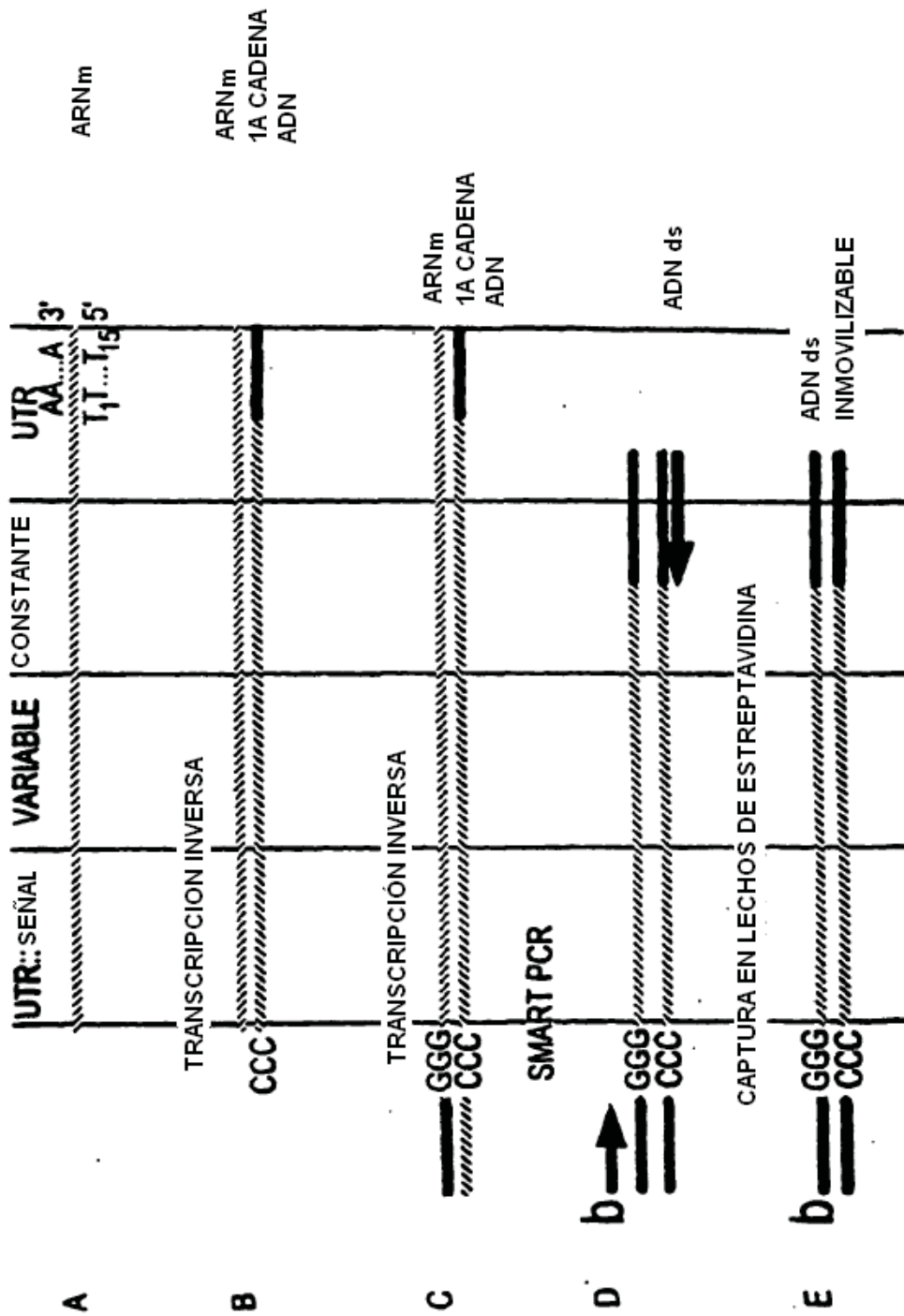


FIG. 1

AMPLIFICAR GENES VL SIN
USAR SECUENCIAS VL

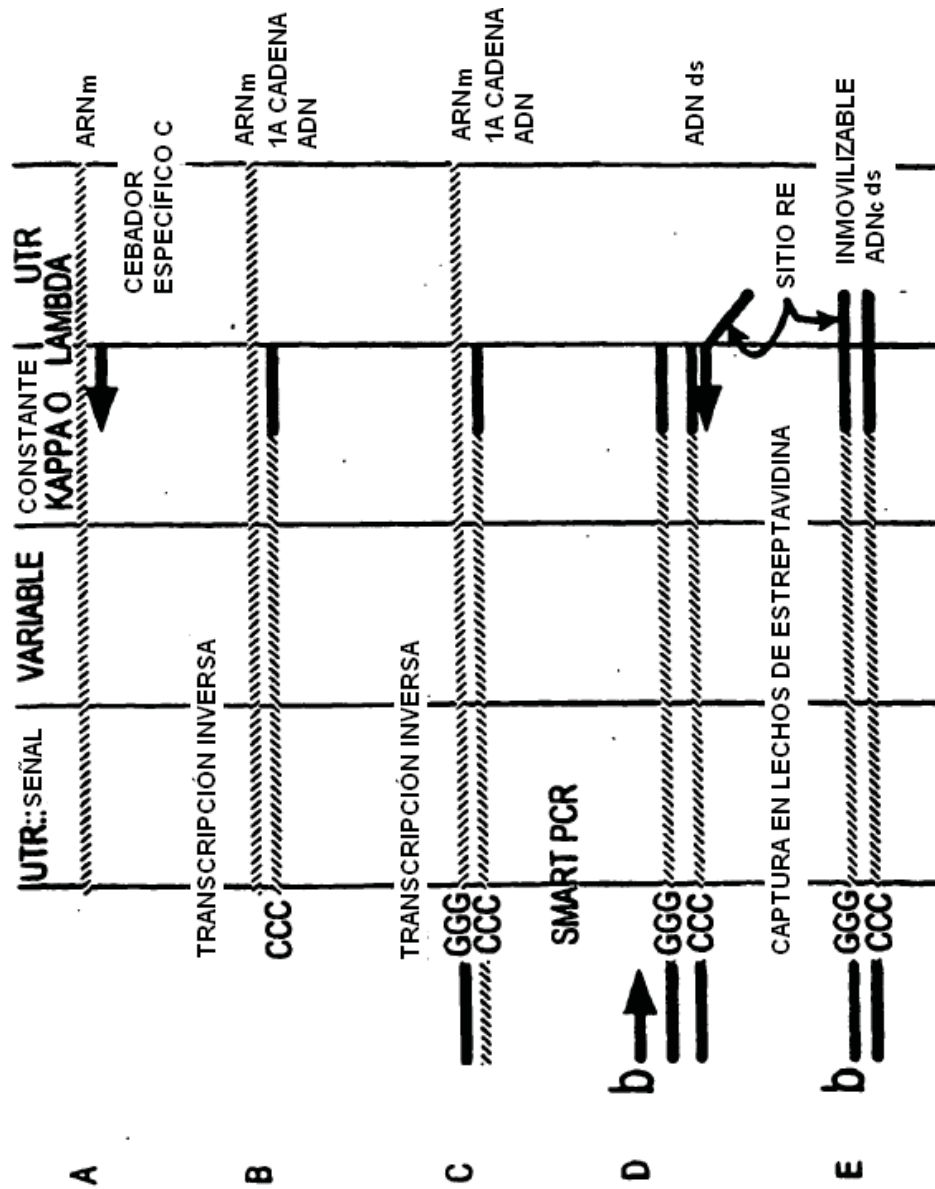


FIG. 2

Amplificación RACE de gen V de anticuerpo no sesgada

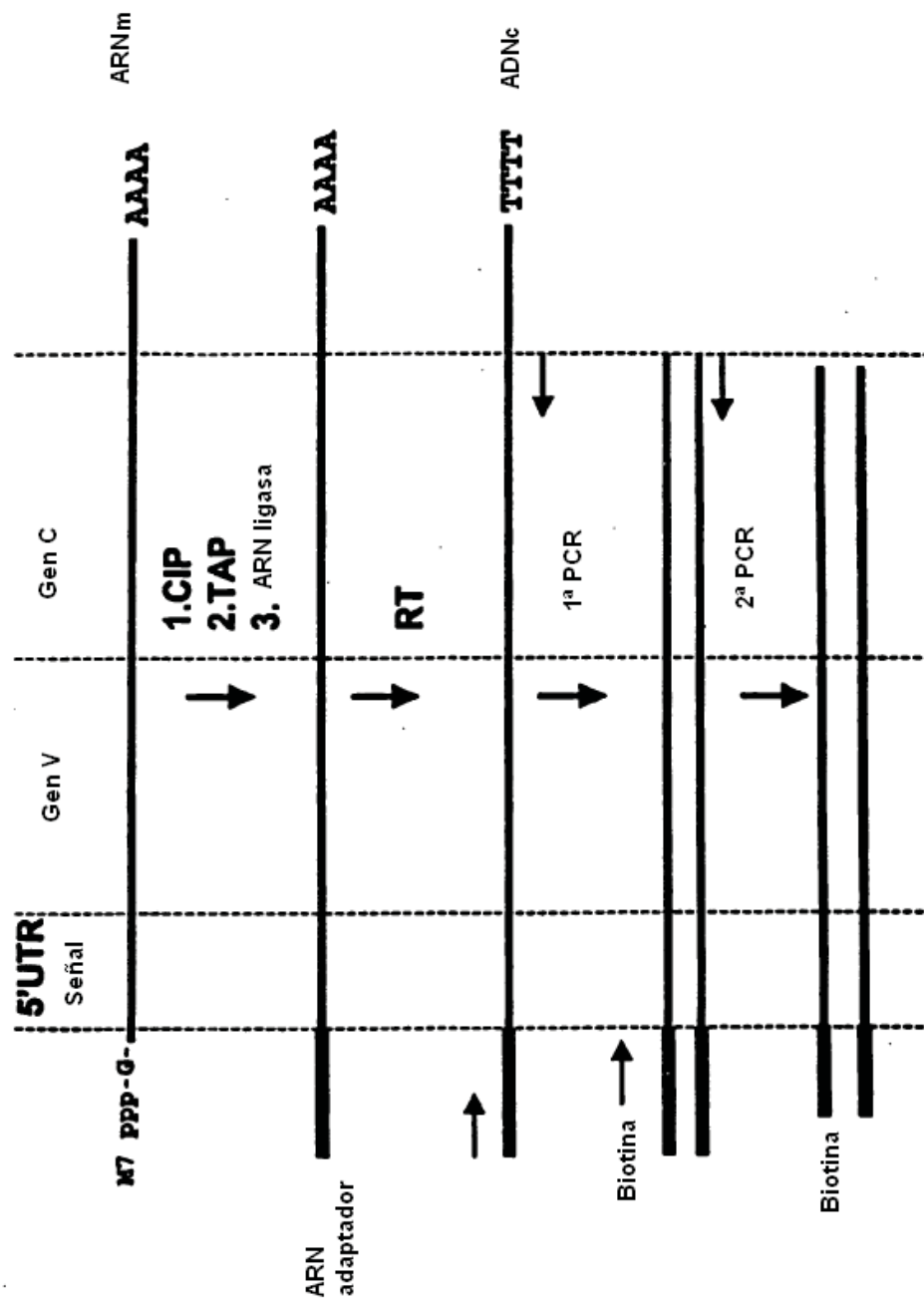


FIG. 3

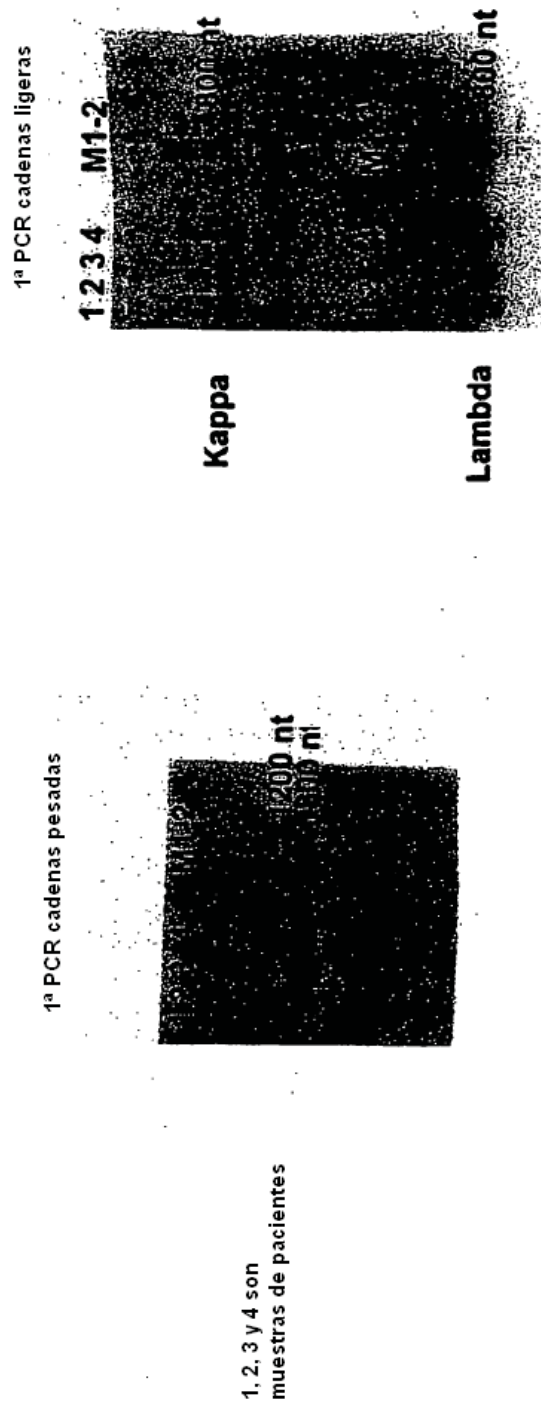


FIG. 4

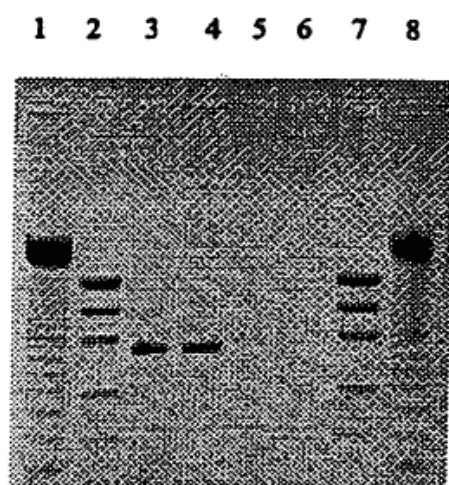


Figura 5. Análisis por gel del producto de PCR de la amplificación extensor-kappa
Aprox. 75ng/5μl → 15ng/μl

- 1- 100pb
- 2-LDM
- 3- 50ng de molde
- 4- 10ng de molde
- 5-ADNss no ligado
- 6- control negativo
- 7- LDM
- 8- 100pb

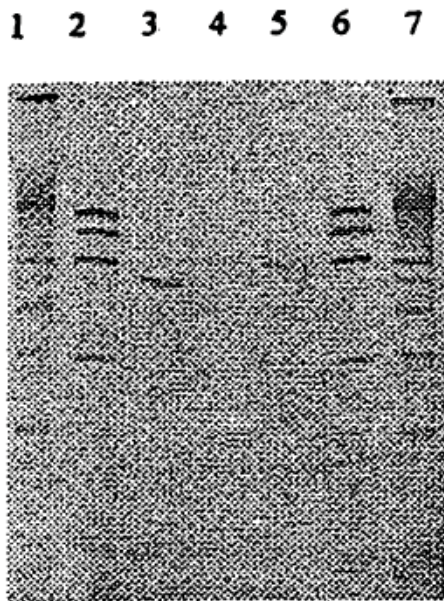
FIG. 5



Producto de PCR purificado por gel de la amplificación del extensor-kappa
Concentración: $\pm 35\text{ng}/\mu\text{l}$

1 - LDM
2 - $1\mu\text{l}$ purif.

FIG. 6



Análisis por gel de ADNss-**K** digerido

1µl de ADNss digerido $\approx$ **8ng** de ADNss

Volumen total de **50µl** = **400ng** de ADNss

→ **400ng ssDNA** de ADNss disponibles para ligación de los puentes-extensores

1 - 100pb

2 - LDM

3 - **1µl** de ADNss puro

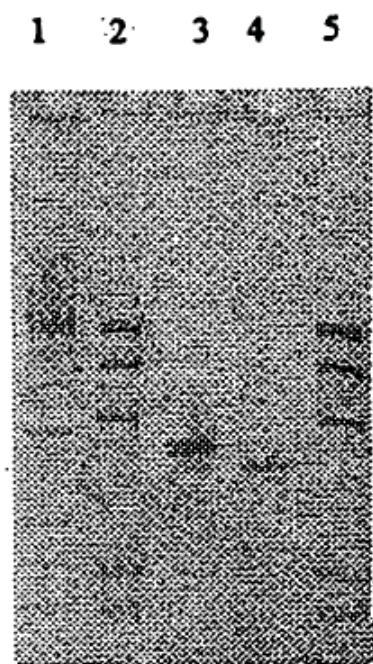
4 - **4µl** de lechos después de dig.

5 - **8µl** de lechos después de dig.

6 - LDM

7 - 100pb

FIG. 7



⊗ Análisis por gel de la ligación extensor-kappa escindida
20ng/5 μ l de material eluido $\rightarrow$ **4ng/ μ l**

- 1- 100pb
- 2 - LDM
- 3 - Mezcla de ligación, **4 μ l**
- 4 - ADNss no ligado
- 5 - LDM

FIG. 8

Escisión y ligación de cadenas ligeras Kappa

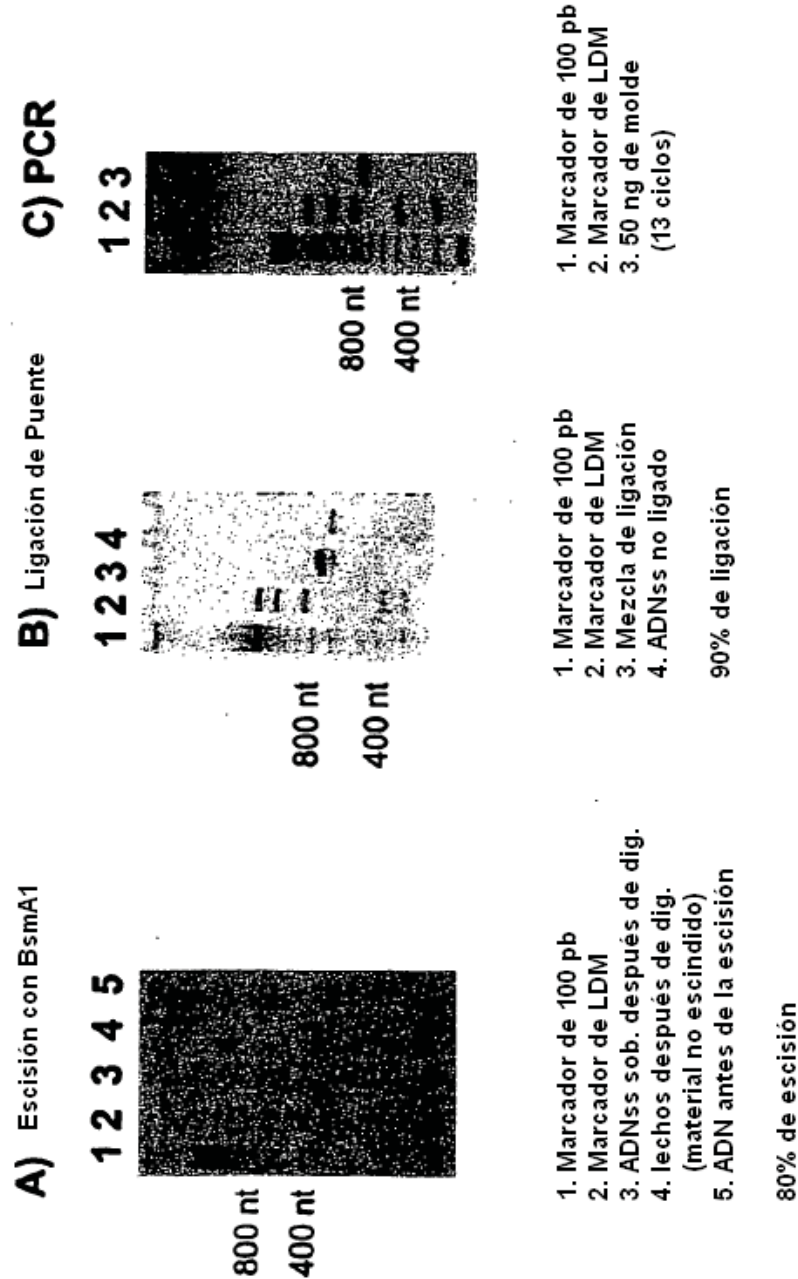


FIG. 9

VH-CDR1	VH-CDR2
1 Y 1 M 1	2 I 2 3 S G G 1 T 1 YADSVKG

FIG. 10

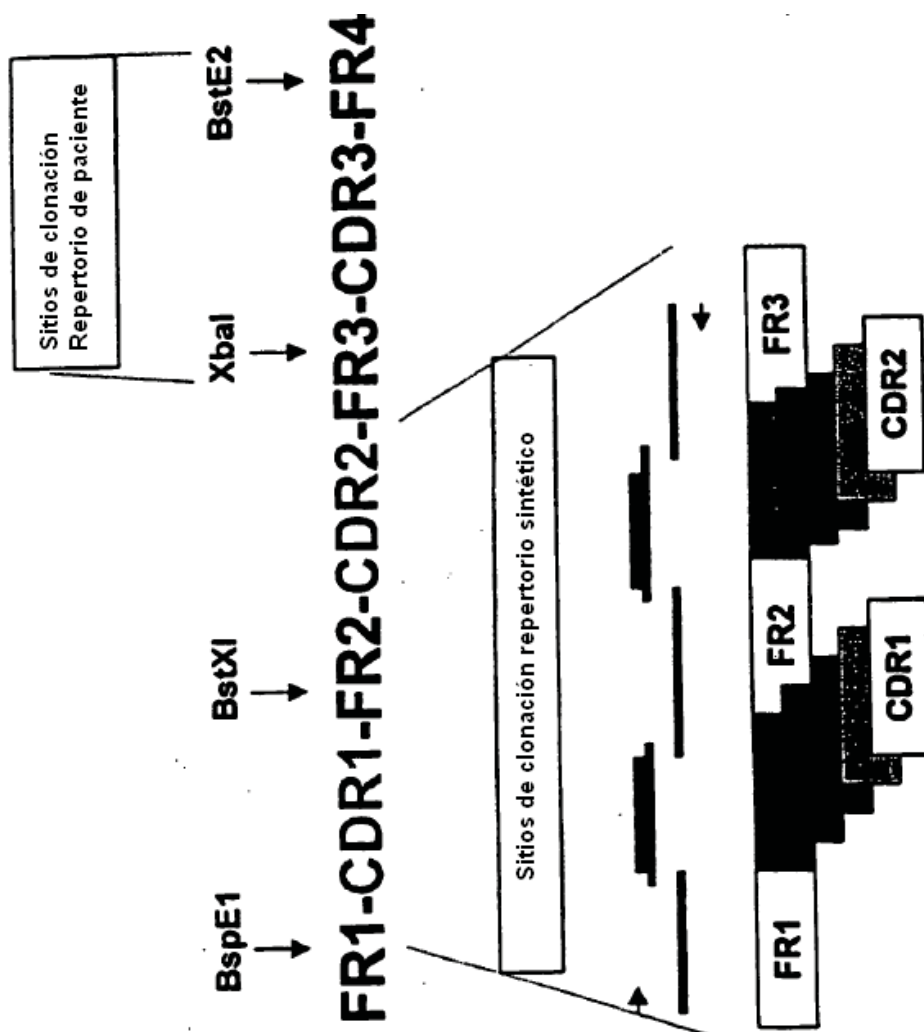


FIG. 11

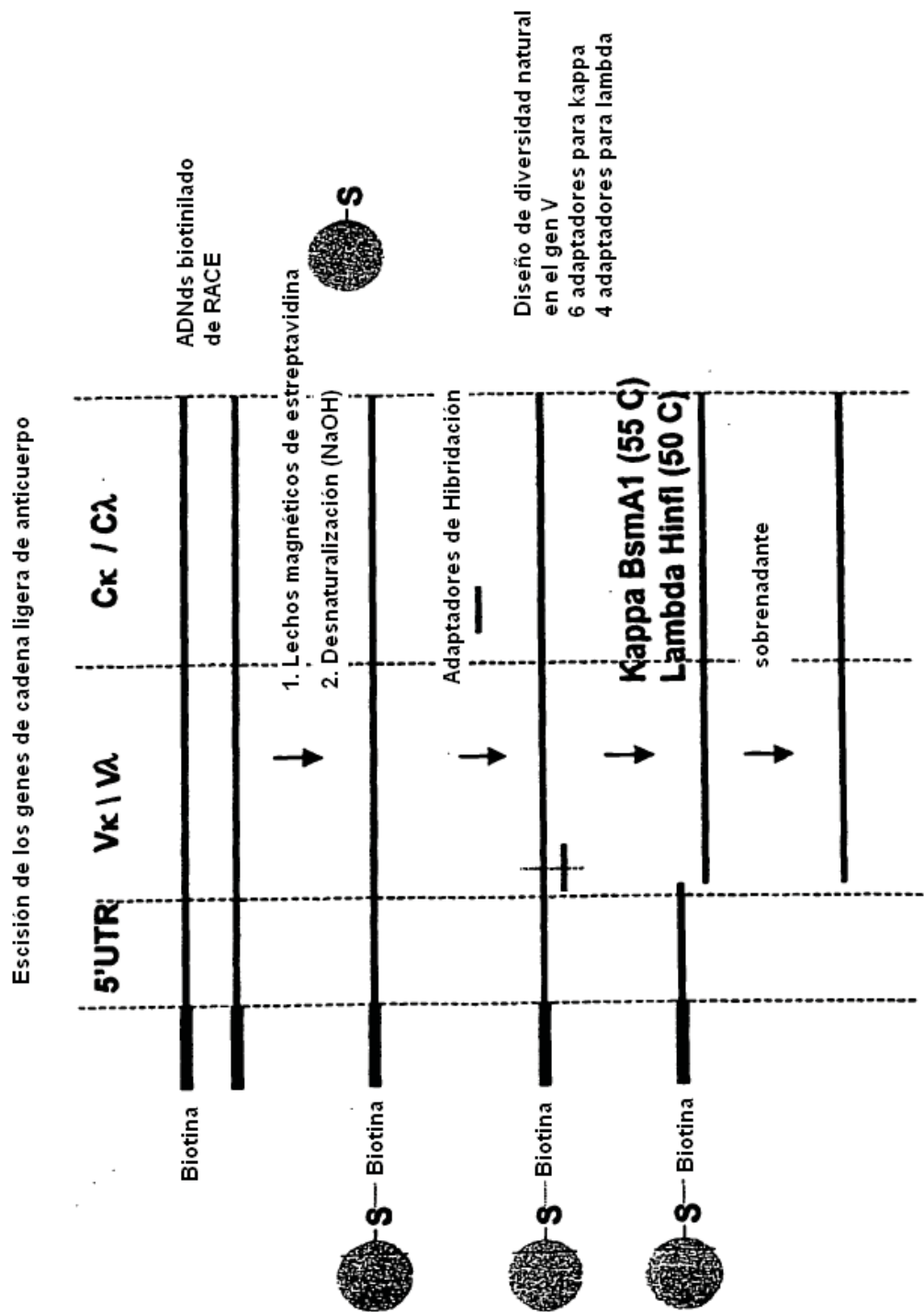


FIG. 12A

Ligación de cadenas ligeras escindidas

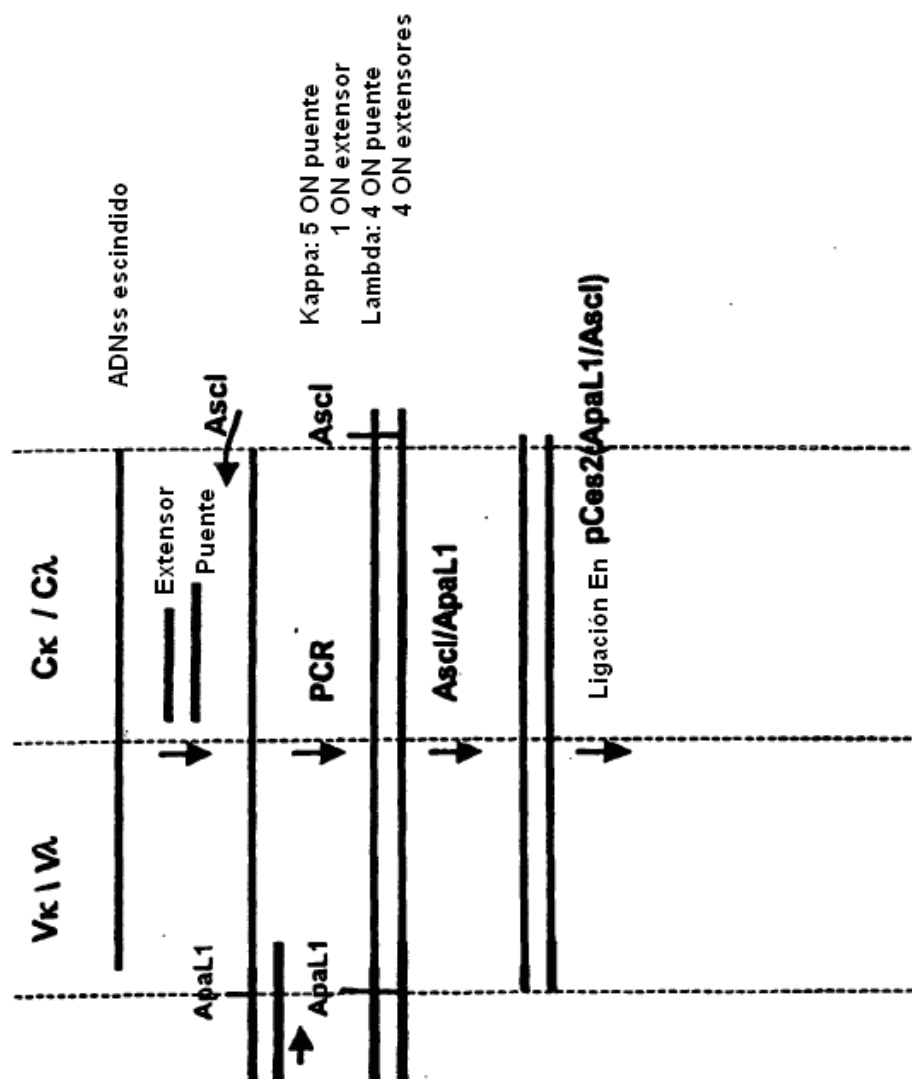


FIG. 12B

Figura 3: Escisión y ligación de cadenas ligeras lambda

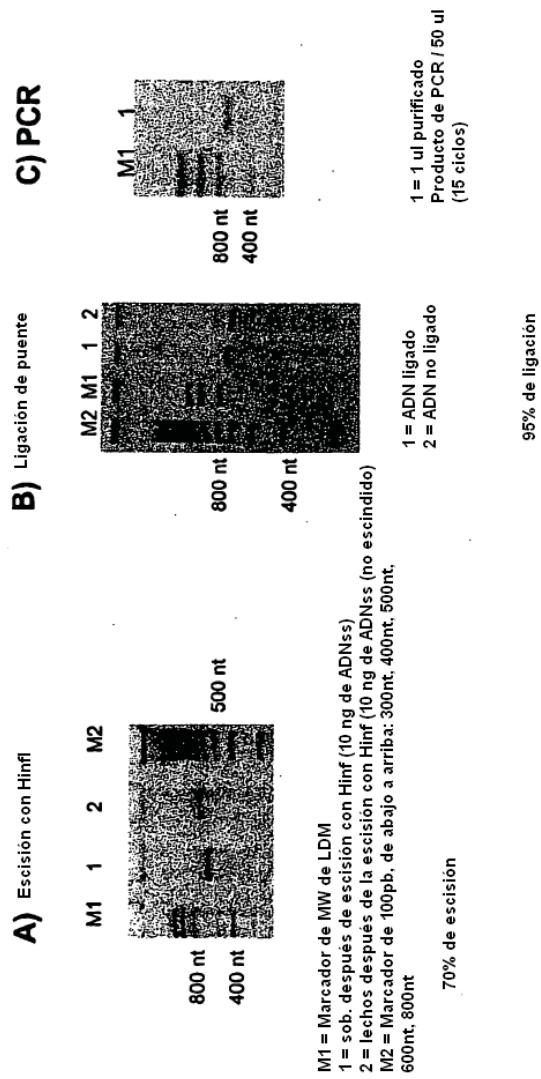


FIG. 13

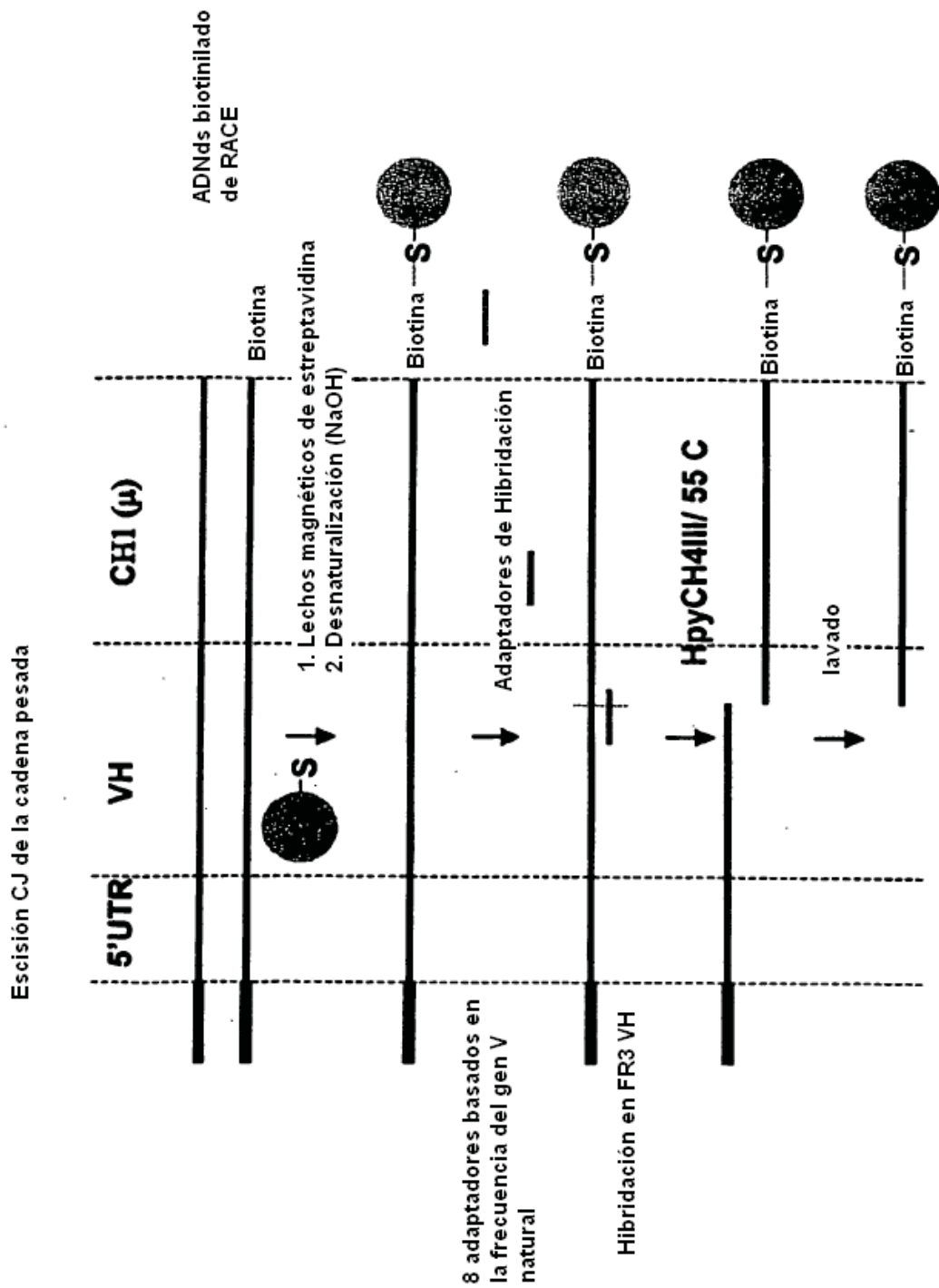


FIG.14A

Ligación de la diversidad CD3 de cadena pesada

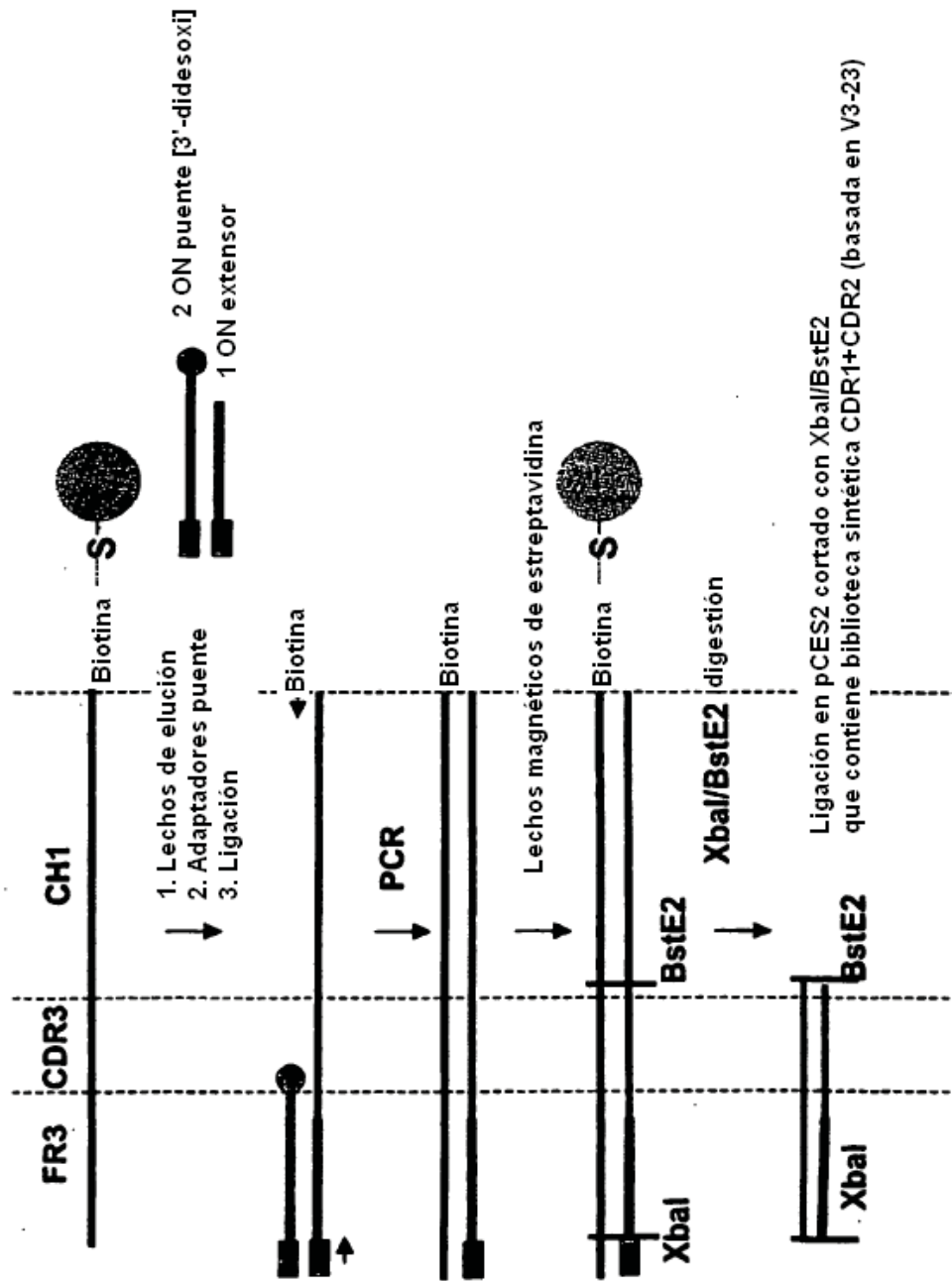


FIG. 14B

Escisión y ligación de Cadena Pesada

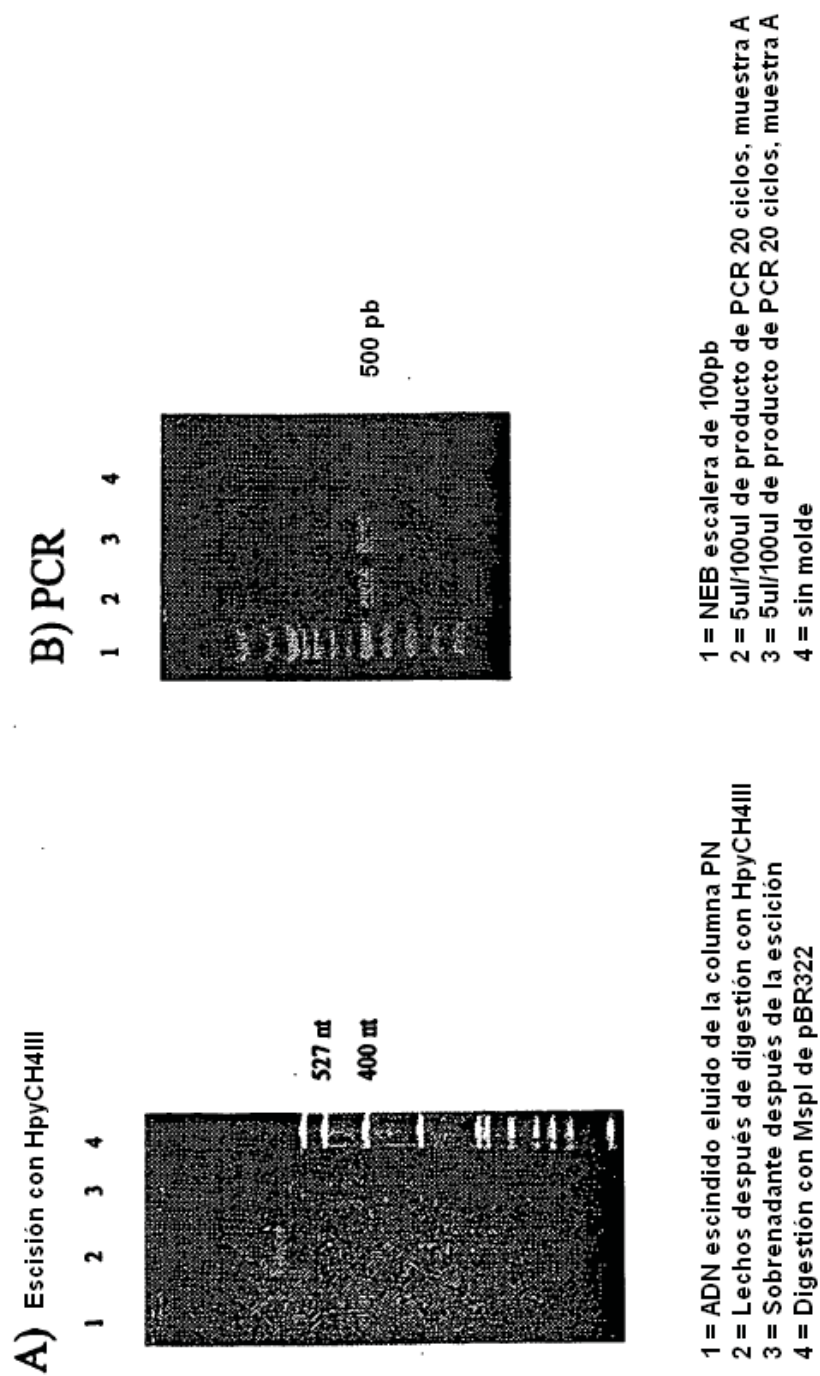


FIG. 15

Fago Dy3F31 (Sistema 3+3)

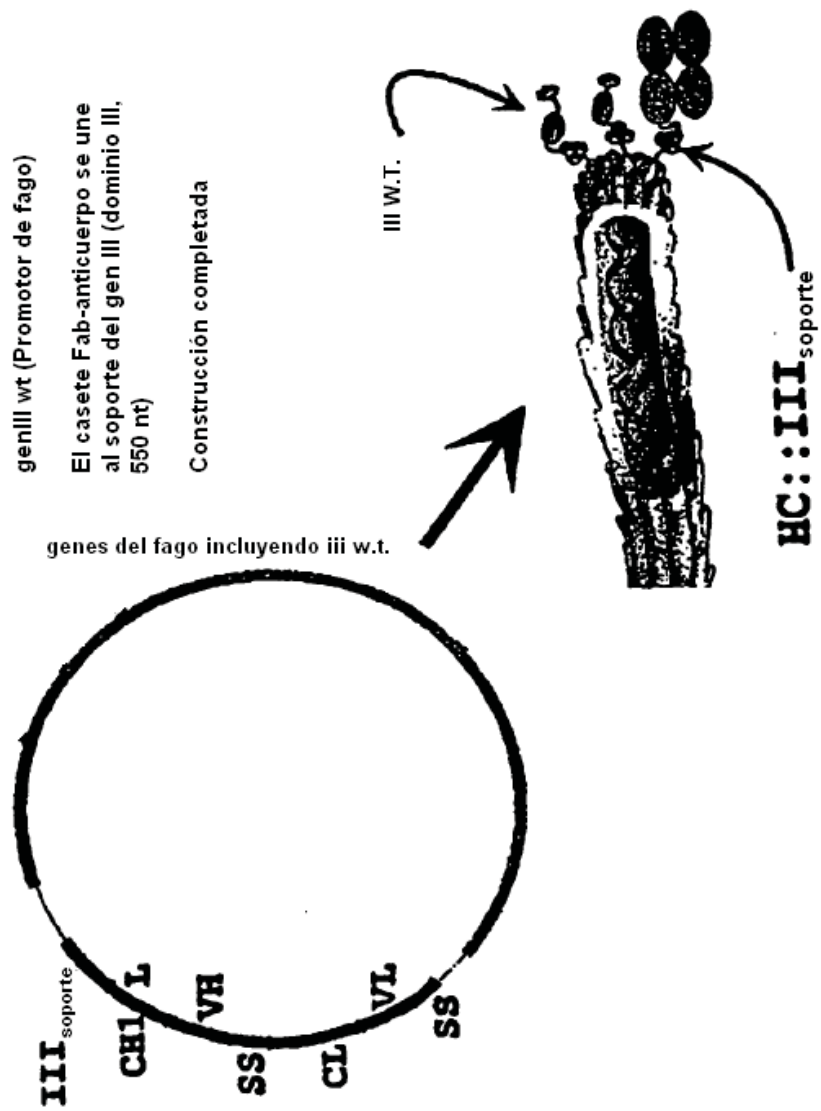


FIG. 16

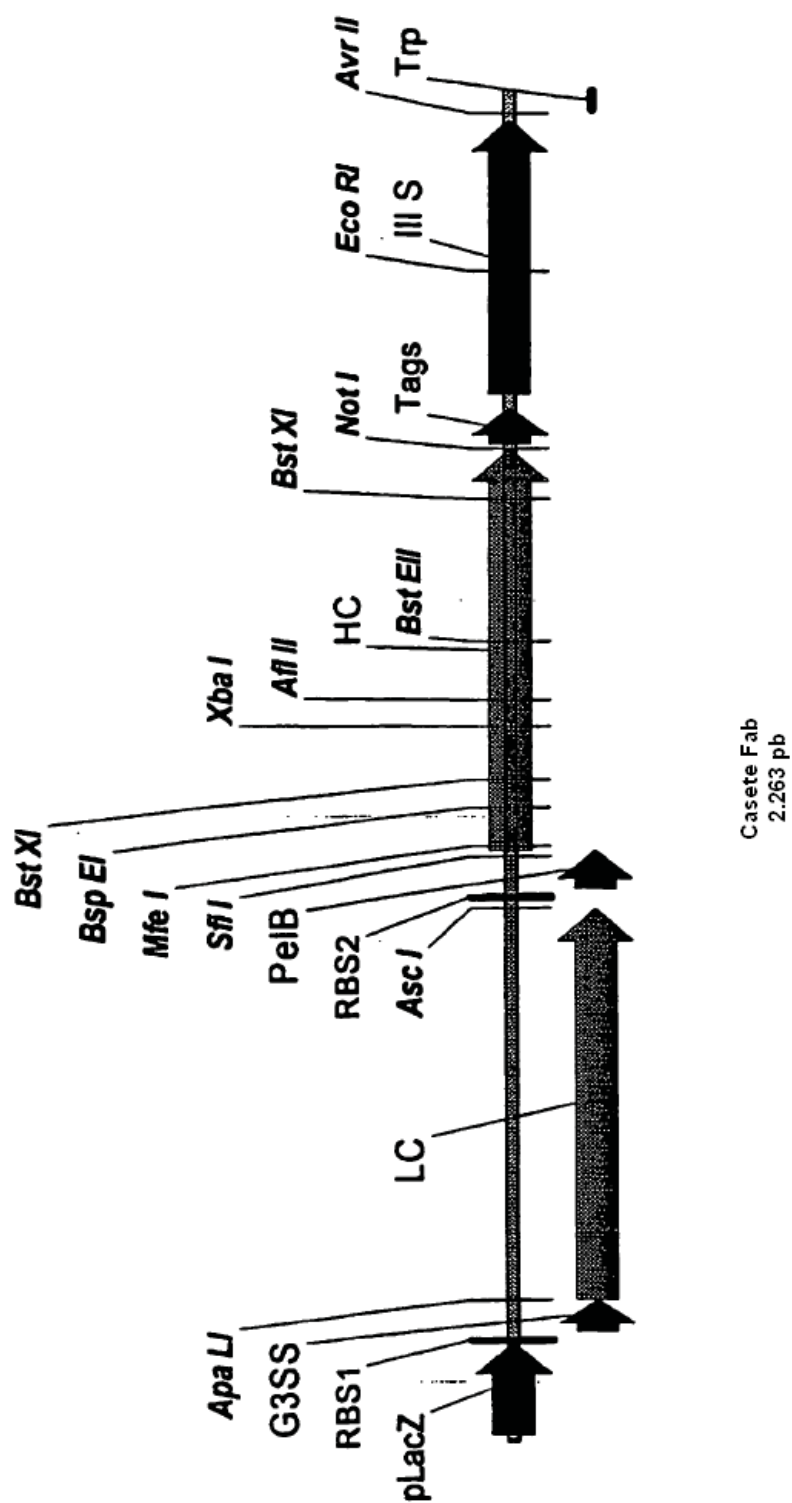


FIG. 17

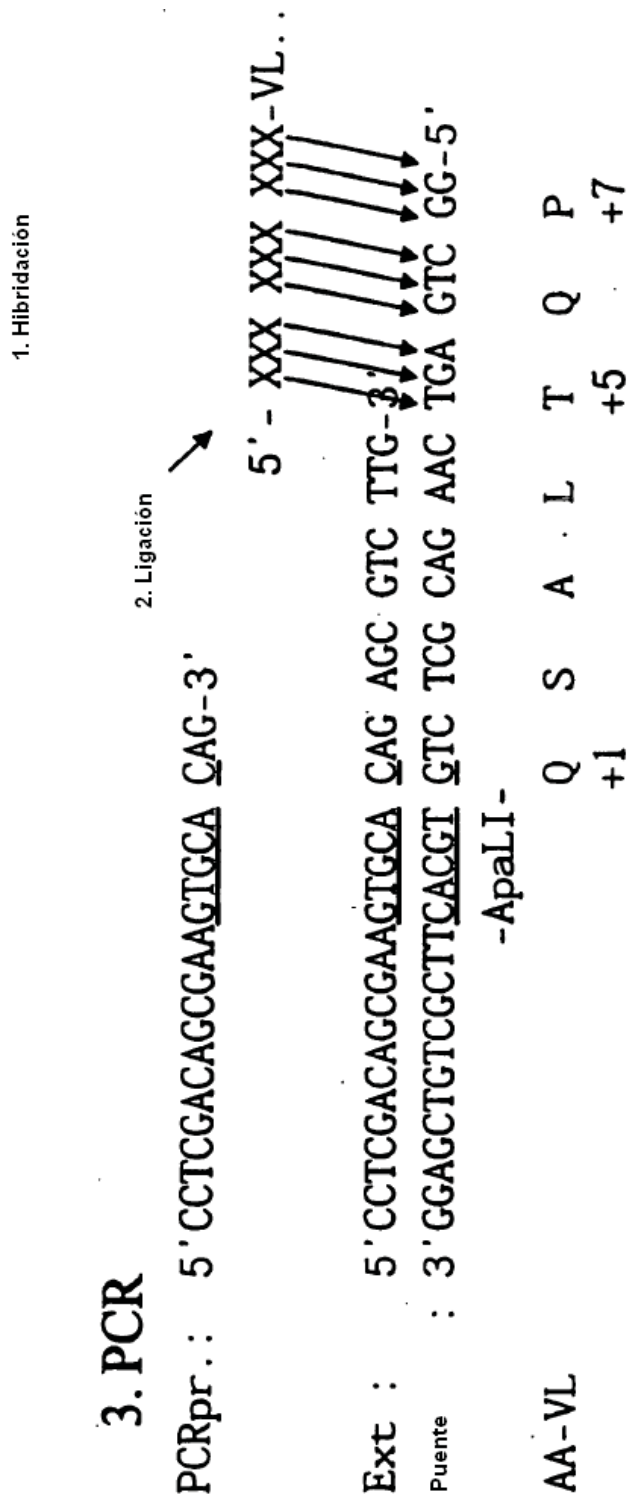


FIG. 18

3. PCR

PCRpr.: 5'-CCTCTGTCACA GTGCA CAA GAC-3'

1. Hibridación

5'-XXX-XXX X-VL...

2. Ligación

Ext : 5'-CCTCTGTCACA GTGCA CAA GAC ATC CAG ATG ACC CAG TCT CC
Pte : 3'-GG GGT AGG AGG G-5'

-ApaLI-

AA-VL

Q D I Q M T Q S P S S
+1 +8 +9 +10

FIG. 19

3. PCR

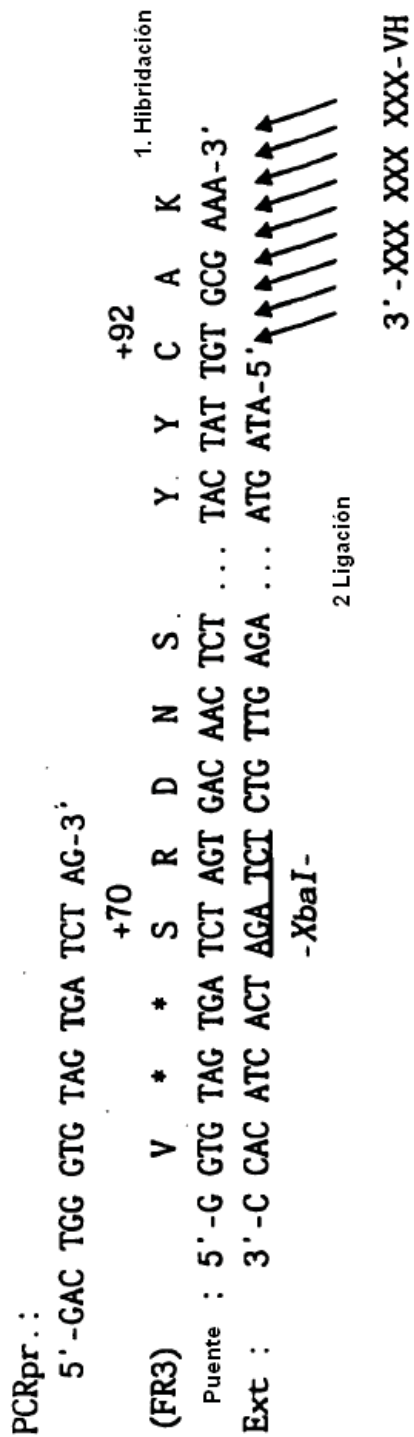


FIG. 20