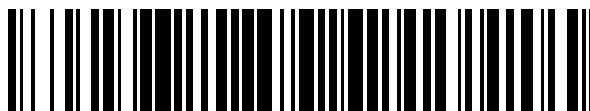


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 388 913**

51 Int. Cl.:
C12N 15/11 (2006.01)
C07K 14/15 (2006.01)
C12Q 1/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **00900645 .3**
96 Fecha de presentación: **21.01.2000**
97 Número de publicación de la solicitud: **1147187**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **24.10.2001**

54 Título: **Procedimiento de detección de un fragmento nucleico endógeno asociado a una enfermedad autoinmune**

30 Prioridad:
21.01.1999 FR 9900888

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
19.10.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
19.10.2012

73 Titular/es:
**BIO MERIEUX
CHEMIN DE L'ORME
69280 MARCY L'ETOILE, FR**

72 Inventor/es:
**PARANHOS-BACCALA, Glaucia;
MALLET, François y
VOISSET, Cécile**

74 Agente/Representante:
Curell Aguilá, Mireia

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

ES 2 388 913 T3

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de detección de un fragmento nucleico endógeno asociado a una enfermedad autoinmune.

- 5 La presente invención se refiere a un fragmento nucleico endógeno de tipo retroviral integrado al ADN del genoma humano.

Los retrovirus son unos virus de ARN que se replican mediante un proceso denominado de transcripción inversa, mediado por una ADN polimerasa dependiente de ARN denominada reverse transcriptasa (RT), codificada por el gen *pol*. El ARN retroviral comprende asimismo por lo menos dos genes adicionales que son los genes *gag* y *env*. El gen *gag* codifica para las proteínas del esqueleto, es decir para la matriz, la cápside y la nucleocápside. El gen *env* codifica para las proteínas de cubierta. La transcripción se regula mediante unas regiones promotoras situadas a nivel de los LTR (Long Terminal Repeat) que encuadra los extremos 5' y 3' terminales del genoma retroviral.

15 En el curso de la evolución, los humanos o sus ancestros han integrado en su genoma material de origen retroviral tras una infección. En efecto, durante la infección de una célula, la transcriptasa inversa hace una copia de ADN del ARN retroviral, pudiendo entonces esta copia de ADN integrarse eventualmente en el genoma humano. Los retrovirus pueden infectar las células germinales y transmitirse así a las generaciones futuras por transmisión Mendeliana vertical. Se habla entonces de retrovirus endógenos que están presentes en forma de ADN proviral integrado en el genoma de todas las células humanas. La mayoría de los retrovirus endógenos son silenciosos o defectivos. Sin embargo, algunos de ellos han podido conservar la totalidad o parte de sus propiedades iniciales y pueden ser activados en unas condiciones particulares. La expresión de los retrovirus endógenos puede ir desde la transcripción de genes víricos hasta la producción de partículas víricas.

25 Estos retrovirus endógenos pueden estar asociados directa o indirectamente al desarrollo de ciertas patologías.

Unas estructuras retrovirales endógenas pueden encontrarse en forma completa LTR-gag-pol-env-LTR o en formas truncadas.

30 Así, en una solicitud anterior de patente (PCT/FR98/01442), la solicitante ha cribado un banco de ADNc con la ayuda de una sonda Ppol-MSRV (SEC ID nº 18) y ha detectado unos clones solapantes que le han permitido reconstruir un ARN genómico putativo de 7582 nucleótidos. Este ARN genómico presenta una estructura R-U5-gag-pol-env-U3-R. Una interrogación "blastn" sobre varias bases de datos con la ayuda del genoma reconstruido ha permitido demostrar que existe una cantidad importante de secuencias genómicas (ADN) parecidas en el genoma humano que se han encontrado sobre varios cromosomas. Así, la solicitante ha demostrado la existencia de estructuras parciales de tipo retroviral en el genoma humano y ha considerado su papel potencial en el desarrollo de enfermedades autoinmunes, en fracasos de embarazo o en estados de embarazo patológicos.

40 A título de ejemplo, se puede citar como enfermedad autoinmune, la esclerosis en placas, la poliartritis reumatoide, el lupus eritematoso diseminado, la diabetes insulino-dependiente y/o las patologías que les están asociadas.

El aislamiento y la secuenciación de fragmentos de ADNc solapantes y la identificación de clones genómicos (ADN) que corresponden a los clones de ADN aislados, descritos en la solicitud de patente PCT citada anteriormente de la Solicitante se incorporan a la presente memoria a título de referencia.

45 Aislamiento y secuenciación de fragmentos de ADNc solapantes:

Las informaciones que se refieren a la organización de la nueva familia de retrovirus endógenos denominada por la solicitante HERV-W se obtuvieron ensayando un banco de ADNc placentario (Clontech cat#HL5014a) con las sondas Ppol-MSRV (SEC ID nº 18) y Penv-C15 (SEC ID nº 19) y practicando a continuación una técnica de "gen walking" con la ayuda de las nuevas secuencias obtenidas. Los experimentos se realizaron refiriéndose a las preconizaciones del fabricante del banco. Unas amplificaciones PCR sobre ADN se han utilizado también para comprender esta organización.

55 Se han seleccionado y secuenciado los clones siguientes:

- Clon c1.6A2 (SEC ID nº 20): región 5' no traducida de HERV-W y una parte de gag

- Clon c1.6A1 (SEC ID nº 21): gag y una parte de pol

- Clon cl.7A16 (SEC ID nº 22): región 3' de pol

- Clon cl.Pi22 (SEC ID nº 23): región 3' de pol y principio de env

- Clon c1.24.4 (SEC ID nº 24): ARN empalmado que comprende una parte de la región 5' no traducida de HERV-W, el final de pol y la región 5' de env

- Clon cl.C4C5. (SEC ID nº 25): final de env y región 3' no traducida de HERV-W
- Clon cl.PH74 (SEC ID nº 26): ARN sub-genómico: región 5' no traducida de HERV-W, final de pol, env, y región 3' no traducida de HERV-W
- Clon cl.PH7 (SEC ID nº 27): ARN multi-empalmado: región 5' no traducida de HERV-W, final de env y región 3' no traducida de HERV-W
- Clon cl.Pi5T (SEC ID nº 28): gen pol parcial y región U3-R
- Clon cl.44.4 (SEC ID nº 29): región R-U5, gen gag y gen pol parcial.

Con la ayuda de estos clones, procediendo a unas alineaciones de secuencias, se ha elaborado un modelo de secuencia total de HERV-W. Los ARN empalmados se pusieron en evidencia así como los sitios potenciales donantes y receptores de empalme. Mediante el estudio de la similitud con unos retrovirus existentes, se han definido las entidades LTR, gag, pol y env.

La organización genética putativa de HERV-W en forma ARN es la siguiente (SEC ID nº 30):

gen 1..7582

Localización de los clones en la secuencia de ARN genómica reconstruida

cl.6A2 (1321 pb) 1-1325 ;
 cl.PH74 (535+2229= 2764 pb) 72-606 y 5353-7582;
 cl.24.4 (491 + 1457= 1948 pb); 115-606 y 5353-6810;
 cl.44.4 (2372 pb) 115-2496;
 cl.PH7 (369+297= 666pb) 237-606 y 7017-7313; c1.6A1 (2938 pb) 586-3559.;
 cl.Pi5T (2785+566= 3351 pb) 2747-5557 y 7017-7582;
 c1.7A16 (1422 pb) 2908-4337;
 cl.Pi22 (317+1689 = 2006 pb) 3957-4273 y 4476-6168;
 c1.C4C5 (1116 pb) 6467-7582

5'LTR 1..120
 /nota="R of 5'LTR (extremo 5' inciertao"
 121..575
 /nota="U5 of 5'LTR"

diverso 579..596
 /nota="PBS primer binding site para RNAt-W"

diverso 606
 /nota="unión de empalme (sitio donante de empalme ATCCAAAGTG-GTGAGTAATA y sitio receptor de empalme CTTTTTTCAG-ATGGGAAACG clon RG083M05, GenBank accession AC000064)"

diverso 5353
 /nota="sitio receptor de empalme para el ORF1 (env)"

diverso 5560
 /nota="sitio donante de empalme"

ORF 5581..7194
 /nota="ORF1 env 538 AA" /producto="cubierta"

diverso 7017
 /nota="sitio receptor de empalme para ORF2 y ORF3"

ORF 7039..7194
 /nota="ORF2 52 AA"

ORF 7112..7255
 /nota="ORF3 48 AA"

diverso 7244..7254
 /nota="PPT polypurine tract"

3'LTR 7256..7582
 /nota="U3-R of 3' LTR (unión U3-R indeterminada)

diverso 7563..7569
 señal de poliadenilación

Identificación de clones genómicos (ADN) que corresponden a los clones de ADN aislados:

Una interrogación "blastn" sobre varias bases de datos, con la ayuda del genoma reconstruido, ha mostrado que existe una cantidad importante de secuencias parecidas en el genoma humano. Se han identificado

aproximadamente 400 secuencias en GenBank y más de 200 secuencias en el banco EST, la mayoría en antisentido. Las 4 secuencias más significativas en tamaño y en similitud son las secuencias de los clones genómicos (ADN) siguientes:

- 5 el clon humano RG083M05 (gb AC000064) cuya localización cromosómica es 7q21-7q22,
el clon humano BAC378 (gb U85196, gb AE000660) que corresponde al *locus* alfa delta del receptor de las células T, localizado en 14q11-12,
- 10 el cósmido humano Q11M15 (gb: AF045450) que corresponde a la región 21q22.3 del cromosoma 21,
el cósmido U134E6 (embl Z83850) sobre el cromosoma Zq22.

15 Se indica la localización de las regiones alineadas para cada uno de los clones, y la pertenencia a un cromosoma se indica entre corchetes (figura 6). Se indica el porcentaje de similitud (sin las amplias delecciones) entre las 4 secuencias y el ARN genómico reconstruido, así como la presencia de secuencias repetidas en cada extremo del genoma y el tamaño de los tramos de lectura (ORF) más grandes. Se han encontrado secuencias repetidas en los extremos de 3 de estos clones. La secuencia reconstruida está contenida íntegramente en el interior del clon RG083M05 (9,6 kb) y presenta una similitud de 96%. Sin embargo, el clon RG083M05 presenta una inserción de 2
20 Fb situada inmediatamente aguas abajo de la región 5' no traducida (5' UTR). Esta inserción se encuentra también en otros dos clones genómicos que presentan una delección de 2,3 kb inmediatamente aguas arriba de la región 3' no traducida (3' UTR). Ningún clon contenía los tres tramos de lectura (ORF) gag, pol y env funcionales. El clon RG083M05 muestra un ORF de 538 aminoácidos (AA) que corresponde a una cubierta entera. El cósmido Q11M15 contiene dos grandes ORF contiguos de 413 AA (tramo 0) y 305 AA (tramo + 1) que corresponden a una poliproteína
25 pol truncada.

Se ha descubierto y aislado ahora un fragmento nucleico endógeno, integrado al ADN del genoma humano, que comprende o consiste en por lo menos una parte del gen *gag* de un retrovirus endógeno asociado a una enfermedad autoinmune, o a fracasos de embarazo o a patologías del embarazo, codificando esta parte por lo menos, directa o
30 indirectamente, para un producto de expresión.

Ventajosamente, el fragmento definido anteriormente responde además a por lo menos cualquiera de las características siguientes:

- 35 comprende, o consiste en, dicho gen *gag* entero;
dicha parte del fragmento codifica por lo menos para la matriz y la cápside;
- 40 comprende, o consiste en, SEC ID nº 1, SEC ID nº 2, SEC ID nº 3, o el complementario de cualquiera de dichas secuencias;
está localizado sobre por lo menos uno de los cromosomas humanos 1, 3, 6, 7 y 16, preferentemente está localizado por lo menos en el cromosoma 3;
- 45 el producto de expresión de dicha parte es ARN mensajero;
el producto de expresión de dicha parte está inmunológicamente reconocida por unos anticuerpos presentes en una muestra biológica de un paciente que padece una enfermedad autoinmune, tal como la esclerosis en placas; preferentemente, el fluido biológico se selecciona de entre el suero, el plasma, el líquido sinovial y la orina.

50 Se describe asimismo un producto de transcripción endógeno, en el estado aislado, susceptible de ser obtenido mediante transcripción de por lo menos dicha parte del gen *gag* de un fragmento citado anteriormente.

La invención se refiere asimismo a un procedimiento de detección de un fragmento nucleico endógeno que pertenece al gen *gag* del retrovirus humano endógeno HERV-W, en una muestra de retrovirus humano endógeno HERV-W, en una muestra biológica, que comprende las etapas siguientes:

60 se efectúa previamente una etapa de extracción del ADN celular de dicha muestra, se realiza por lo menos un ciclo de amplificación del ADN celular, tal como mediante PCR, por medio de cebadores seleccionados de entre SEC ID nº 4 a SEC ID nº 9, y SEC ID nº 12 a SEC ID nº 17,

se efectúa una etapa de transcripción/traducción *in vitro* del producto amplificado,

65 se hace reaccionar el producto procedente de la etapa de transcripción/traducción con un suero o plasma de un paciente que presenta la esclerosis en placas, y

se detecta por lo menos un producto de expresión seleccionado de entre un ARN mensajero cuya traducción conduce a un polipéptido que consiste en SEC ID nº 31, y a un polipéptido que consiste en SEC ID nº 31.

La invención se refiere asimismo a un procedimiento para el estudio y/o el seguimiento de una proliferación celular seguida de una proliferación celular de las células T *in vitro* según la cual se ponen en contacto las células T de un paciente con o bien unos productos de transcripción/traducción (SEC ID nº 31), tales como los obtenidos según el procedimiento anterior, o bien unos péptidos de síntesis derivados de, o que pertenecen a, SEC ID nº 31.

Ventajosamente, la sonda está marcada por un trazador, tal como, por ejemplo, un trazador radioactivo o una enzima.

El fragmento citado anteriormente encuentra las aplicaciones siguientes:

Una proteína recombinante obtenida a partir de un casete de expresión en un hospedante bacteriano, caracterizada porque la secuencia proteica consiste en SEC ID nº 31; en particular el hospedante bacteriano es *E. coli*.

Un agente reactivo para la detección de una enfermedad autoinmune o un seguimiento de embarazo que comprende por lo menos un fragmento o una proteína descrita anteriormente;

La utilización de un fragmento o de una proteína descrita anteriormente para detectar, en una muestra biológica, una susceptibilidad a una enfermedad autoinmune o un seguimiento de embarazo; en particular, la enfermedad autoinmune es la esclerosis en placas.

Antes de exponer la presente invención con mayor detalle, se proporciona la definición de ciertos términos utilizados en la descripción y en las reivindicaciones.

La expresión "producto de expresión" significa cualquier producto derivado del ADN retroviral integrado en el genoma humano que incluye los productos de la transcripción (ARN mensajero) y los productos procedentes de la traducción del ARN mensajero obtenido. En este último caso, y a título de ejemplo, el producto puede ser un péptido, una proteína funcional o funcionalizable, es decir susceptible de volverse funcional.

Por parte que codifica, directa o indirectamente, para un producto de expresión, se entiende una parte que por sí misma comprende por lo menos la totalidad o parte de un marco de lectura abierto del cual se puede deducir una secuencia de aminoácidos, y cuya capacidad codificante puede ser inducida por unos elementos tales como, por ejemplo, los susceptibles de tener una actividad promotora. Esta definición incluye la variabilidad que se puede encontrar en la secuencia nucleica codificante, con la condición de que se respeten las condiciones anteriores.

Ejemplo 1: Localización del gen *gag* de la familia HERV-W sobre los cromosomas humanos mediante la técnica de transferencia Southern.

Con el fin de localizar el gen *gag* de la familia HERC-W, se ha hibridado una sonda que corresponde a este gen de MSRV sobre una membrana de nylon (Hybond® N+, Amersham) que contiene 5 µg de ADN de 24 híbridos somáticos de células [humana x roedores] (ADN genómico humano aislado: 22 cromosomas autosómicos y 2 cromosomas sexuales) y 3 ADN control (humano, ratón y hámster) digeridos por la enzima de restricción EcoRI.

La sonda utilizada es la siguiente: Pgag-C12 identificada por SEC ID nº 3, que corresponde a la región codificante (de 1056 pb) del clon MSRV gag C12.

1.1- Obtención del clon 2, C12, que contiene en 3' una parte homóloga al gen *pol*, que corresponde al gen proteasa, y una parte homóloga al gen *gag* que corresponde a la nucleocápside y una región 5' codificante, que corresponde al gen *gag*, más específicamente la matriz y la cápside de MSRV-1.

Se ha efectuado una amplificación mediante PCR sobre ARN total extraído a partir de 100 µl de plasma de un paciente que padece SEP. Se ha utilizado como control negativo, un control agua, tratado en las mismas condiciones. La síntesis de ADNc se realizó con 300 pmoles de un cebador aleatorio (ibco-BRL, Francia) y la transcriptasa inversa "Expand RT" (Boehringer Mannheim, Francia) según las condiciones preconizadas por la compañía. Se efectuó una amplificación por PCR (polymerase chain reaction) con la enzima *Taq* polimerasa (Perkin Elmer, Francia) utilizando 10 µl de ADNc en las condiciones siguientes: 94°C durante 2 min., 55°C durante 1 min., 72°C durante 2 min. y después 94°C durante 1 min., 55°C durante 1 min., 72°C durante 2 min. durante 30 ciclos y 72°C durante 7 min. y con un volumen de reacción final de 50 µl.

Los cebadores utilizados para la amplificación por PCR son los siguientes:

- cebador 5', identificado por SEC ID nº 4
5' CGG ACA TCC AAA GTG ATG GGA AAC G 3';

- cebador 3', identificado por SEC ID nº 5
5' GGA CAG GAA AGT AAG ACT GAG AAG GC 3'

Se ha realizado una segunda amplificación por PCR denominada "anidada" con unos cebadores 3' y 5' situados en el interior de la región ya amplificada. Esta segunda PCR se efectuó en las mismas condiciones experimentales que las utilizadas durante la primera PCR, utilizando 10 µl del producto de amplificación procedente de la primera PCR.

Los cebadores utilizados para la amplificación por PCR anidada son los siguientes:

- cebador 5', identificado por SEC ID nº 6
5' CCT AGA ACG TAT TCT GGA GAA TTG GG 3';
- cebador 3', identificado por SEC ID nº 7
5' TGG CTC TCA ATG GTC AAA CAT ACC CG 3'

Se ha obtenido un producto de amplificación de 1511 pb a partir del ARN extraído del plasma de paciente SEP. No se ha observado el fragmento correspondiente para el control agua. Este producto de amplificación se ha clonado de la manera siguiente.

El ADN amplificado se insertó en un plásmido con la ayuda del kit TA Cloning. Los 2 µl de disolución de ADN se han mezclado con 5 µl de agua destilada estéril, 1 µl de un tampón de ligación concentrado 10 veces "10X Ligation Buffer", 2 µl de "PCR[®] Vector" (25 ng/ml) y 1 µl de "T4 DNA ligase". Esta mezcla se incubó durante una noche a 14°C. Las etapas siguientes se realizaron de acuerdo con las instrucciones del kit TA cloning[®] (Invitrogen). La mezcla de ligación se esparció después de la transformación de la ligación en unas bacterias *E. coli*. Al final del procedimiento, las colonias blancas de bacterias recombinantes se transplantaron para ser cultivadas y permitir la extracción de los plásmidos incorporados según el procedimiento denominado de "mini preparación de ADN" (J. Sambrook, E.F. Fritsch y T. Maniatis, Molecular Cloning, a laboratory manual, Cold Spring Harbour Laboratory Press, 1989). La preparación de plásmido de cada colonia recombinante se cortó mediante la enzima de restricción *Eco* RI y se analizó sobre gel de agarosa. Se seleccionaron los plásmidos que poseen un inserto detectado bajo luz UV después del marcado del gel con bromuro de etidio, para la secuenciación del inserto, después de la hibridación con un cebador complementario del promotor T7 presente en el plásmido de clonación del TA Cloning kit[®]. La reacción previa a la secuenciación se efectuó a continuación según el método preconizado para la utilización del kit de secuenciación "Prism[®] Ready Reaction Amplitaq[®] FS, DyeDeoxy[™] Terminator" (Applied Biosystems, ref. 402119) y la secuenciación automática se realizó en los aparatos 373 A y 377 de Applied Biosystems, según las instrucciones del fabricante.

El clon obtenido, denominado C12, permite definir una región de 1511 pb que presenta una fase abierta de lectura en la región N-terminal de 1089 pb (fragmento 434-1521 de SEC ID nº 2) codificante para 363 aminoácidos (SEC ID nº 31) que corresponde a las regiones matriz y cápside del gen *gag*.

La secuencia nucleotídica de C12 está identificada por SEC ID nº 1. Se representa en la figura 2 con los tramos de lectura potenciales en aminoácidos.

1.2- obtención de la sonda gag cl2 MSRV

La sonda se ha obtenido después de la amplificación mediante PCR, a partir del plásmido pCR[™] vector (kit TA Cloning[®], Invitrogen) que contiene el inserto del clon: gag cl2 de MSRV, con la *Taq* polimerasa (Perkin Elmer, Francia) en las condiciones siguientes: 94°C durante 1 min., 55°C durante 1 min., 72°C durante 2 min. durante 35 ciclos y 72°C durante 7 min. y con un volumen de reacción final de 100 µl.

Los cebadores utilizados para la amplificación por PCR son los siguientes:

- cebador 5', identificado por SEC ID nº 12
5'-CTA GAA CGT ATT CTG GAG AAT TGG GA-3'
- cebador 3', identificado por SEC ID nº 13
5'-CCT AAG GCA GAC TTT TGA AG -3'

Se obtuvo un producto de amplificación de 1056 pb para gag cl2 de MSRV.

Después de la amplificación por PCR, el fragmento se analizó en gel de agarosa 1%. El fragmento detectado bajo luz UV, después del marcado con el gel, con bromuro de etidio, se cortó y se marcó con [α -P³²] con la ayuda de los cebadores aleatorios (Gibco-BRL, Francia) de acuerdo con las instrucciones del kit "Ready to go DNA labelling" (Pharmacia Biotech). Los nucleótidos no incorporados se han eliminado con una columna G-50 Quick Spin (Boehringer, Mannheim).

1.3- Transferencia southern

Las condiciones de hibridación son las siguientes:

- 5 Después de 4 horas de pre-hibridación (en 5x SSC, 1X Denhardt, 0,1% SDS, 50% formamida, 20 mM Tris-HCl pH = 7,5, 0,1 mg/ml de ADN de esperma de arenque), se hibridó la membrana de Nylon que contiene los cromosomas humanos (en 5x SSC, 1x Denhardt, 0,1% SDS, 50% formamida, 20 mM Tris-HCl pH = 7,5, 0,1 mg/ml de ADN de esperma de arenque, 5% de sulfato de dextrano) durante 18 horas a 42°C, con la sonda de ADN de 1056 pb (SEC ID nº 3) de gag cl2 marcada con ³²P. Después de la hibridación, se lavó la membrana
- 10 (The BIOS Monochromosomal Somatic Cell Hybrid blot, de Quantum Bioprobe) hibridada con la sonda gag en disolución 2x SSC, 0,2% SDS 2 veces durante 15 min., a temperatura ambiente, y (en 0,2x SSC = 0,2% SDS) 2 veces durante 15 min., a 45°C. Después del lavado, la membrana se expuso a la película de rayos X, a -80°C en presencia de una pantalla amplificadora.

- 15 Los resultados se representan en la tabla 1 siguiente.

En esta tabla:

- 20 m significa ratón ("mouse") y h significa hámster y corresponden a las células receptoras del ADN de cromosomas humanos.

la cifra indicada bajo cada cromosoma corresponde al número de bandas encontradas.

El número total de copias del gen gag es de 66.

Tabla 1

nº de cromosoma	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	x	y	ratón	hámster
rodent parent	m	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	m	m	h	h	m	m	h	h	h		
sonda gag	5	0	6	6	5	3	2	3	2	4	3	6	3	1	3	0	3	2	1	0	4	0	4	0	0	0

Ejemplo 2: Amplificación por PCR del gen *gag* de la familia HERV-W sobre cada uno de los cromosomas humanos aislados; verificación de la especificidad de las amplificaciones por transferencia southern; ensayo de transcripción-traducción "*in vitro*" (PTT) a partir de los productos de PCR, con el fin de verificar la capacidad codificante, localizar cuáles son los cromosomas humanos que presentan unos marcos de lectura abiertos para el gen *gag* de la familia HERV-W.

2.1- Amplificación por PCR

Para la amplificación del gen *gag* HERV-W, se ha efectuado una PCR sobre cada cromosoma humano aislado [NIGMS human/rodent somatic cell hybrid panel #2. The human monochromosomal NIGMS somatic hybrid mapping panel #2, descrito por H.L. Drwinga *et al.* y B.L. Dubois *et al.*) obtenido de Coriell Institute (Camden, NJ)] con la enzima *Taq* polimerasa (Perkin Elmer, Francia) utilizando: 40 pmol de cada cebador, 25 mM de cada dNTP (Pharmacia), 2,5 mM MgCl₂, 2,5 U de *Taq* polimerasa en el tampón PCR estándar (Perkin Elmer), y 300 ng ADN de cromosoma aislado en un volumen final de 100 µl. Las condiciones de PCR para amplificar la región *gag* son las siguientes: 3 min. a 94°C; después 1 min. a 94°C, 1 min. a 55°C, 3 min. a 72°C, durante 30 ciclos y 7 min. a 72°C.

Los cebadores utilizados para la amplificación por PCR del gen *gag* a partir de un ATG introducido en la secuencia *gag* HERV-W sobre cada cromosoma humano aislado son los siguientes:

- cebador 5', identificado por SEC ID nº 14
5' -TTT GGT AAT ACG ACT CAC TAT AGG GCA GCC ACC ATG GGA AAC
GTT CCC CCC GAG-3'

El cebador contiene la secuencia del promotor T7 RNA polimerasa, un "spacer", la secuencia Kozak (sitio de iniciación a la traducción en las eucariotas) y la secuencia 5' *gag* a partir de ATG de HERV-W.

- cebador 3', identificado mediante SEC ID nº 15
5'-TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTCAGGCTGCGCCAGTGTCCAGGAGAC-3'

El cebador contiene una cola de poli-A (para estabilizar a transcripción del ARN, representada por 18 bases T), un codón stop (representado por TCA) y la secuencia del gen proteasa (G+E+A) de MSRV-1.

Para la amplificación del gen *gag* HERV-W utilizando unos oligonucleótidos definidos en las regiones LTR y proteasa de HERV-W con la enzima *Taq* polimerasa (Perkin Elmer, Francia), las condiciones de PCR fueron las siguientes: 3 min. a 94°C; después 1 min. a 94°C, 1 min. a 60°C, 2 min. a 72°C, 35 ciclos; seguido de 7 min. a 72°C, con 50 ng de cada ADN monocromosómico.

Los cebadores utilizados para la amplificación, mediante PCR, del gen *gag* con la ayuda del oligonucleótido definido en la secuencia LTR HERV-W sobre cada cromosoma humano aislado, son los siguientes:

- cebador 5', identificado por SEC ID nº 16
5'-TGTCCGCTGTGCTCCTGATC-3'
- cebador 3', identificado por SEC ID nº 17
5'-TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTCAGGCTGCGCCAGTGTCCAGGAGAC-3'

El cebador contiene una cola de poli-A (para estabilizar la transcripción del ARN, representado por 18 bases T), un codón stop (representado por TCA) y la secuencia del gen proteasa de G+E+A de MSRV-1.

Las amplificaciones por PCR se efectuaron en el aparato MJ Research PTC200, Peltier Thermal cycler. Los productos de PCR (10 µl de cada producto PCR) se analizaron en un gel de agarosa al 1% en TBE 1X(Tris-HCl, borato, EDTA). Con el fin de verificar la especificidad de los productos de amplificación, se han analizado 3 µl de cada producto PCR en gel de agarosa y después se han transferido sobre una membrana de Nylon (Hybond®-N⁺, Amersham) (transferencia southern) con la ayuda de NaOH 0,4N. La hibridación con la sonda *gag* cl2 (1056 pb) (J. Sambrook *et al.*, 1989) se efectuó en las condiciones siguientes: después de 4 horas de pre-hibridación, (en 5x SSC, 1X Denhardt, 0,1% SDS, 50% formamida, 20 mM Tris-HCl pH = 7,5, 0,1 mg/ml de ADN de esperma de arenque), la membrana de Nylon se hibridó (en 5x SSC, 1x Denhardt, 0,1% SDS, 50% formamida, 20 mMTris-HCl pH = 7,5, 0,1 mg/ml de ADN de esperma de arenque, 5% de sulfato de dextrano) durante 18 horas a 42°C, con la sonda de ADN *gag* marcada con ³²P. Los productos de PCR *gag* de cada cromosoma humano aislado se lavaron en disolución de 2x SSC, 0,2% SDS 1 vez, durante 15 min. a temperatura ambiente; 0,2x SSC, 0,1% SDS 2 veces durante 15 min. cada lavado a 65°C, en 0,1x SSC, 0,1% SDS 2 veces durante 15 min. cada uno a 65°C, y en 0,1x SSC, 0,1% SDS 2 veces durante 30 min. cada uno a temperatura ambiente.

Se utilizó una parte del volumen restante (4 µl) de los productos de amplificación por PCR para el ensayo de transcripción-traducción *in vitro* PTT, (Roest PAM *et al.*, 1993) (Promega, Francia). Se utilizó el volumen restante

para la clonación en el vector pCR® 2.1-TOPO (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del kit, y para la secuenciación con el método preconizado para la utilización del kit de secuenciación "PRISM™ Ready Reaction Amplitaq® FS, DyeDeoxy™ Terminator" (Applied Biosystems, ref. 402119) y se realizó la secuenciación automática en los aparatos 373A y 377 de Applied Biosystems, según las instrucciones del fabricante.

La parte codificada (SEC ID nº 31) por el fragmento de 2009 pb (SEC ID nº 2) se amplificó mediante PCR con la enzima *Pwo* (5U/μl) (Boehringer Mannheim, Francia) utilizando 1 μl de la mini-preparación del ADN del clon *gag* (SEC ID nº 3) bajo las condiciones siguientes: 95°C durante 1 min., 60°C durante 1 min., 72°C durante 2 min. durante 25 ciclos y con un volumen de reacción final de 50 μl con la ayuda de los cebadores:

- cebador 5' (*Bam* HI) (SEC ID nº 8):
5' ATG GGA AAC GTT CCC CCC GAG 3' (21 meros), y
- cebador 3' (*Hind* III), identificado por SEC ID nº 9
5' GGC CTA AGG CAG ACT TTT GAA 3' (21 meros)

El fragmento obtenido después de PCR se linealizó mediante *Bam* HI e *Hind* III y se subclonó en los vectores de expresión pET28C y pET21C (NOVAGEN) linealizado por *Bam* HI e *Hind* III. La secuenciación del ADN del fragmento de 1089 pb en los dos vectores de expresión se realizó según el método preconizado para la utilización del kit de secuenciación "PRISM™ Ready Reaction Amplitaq® FS, DyeDeoxy™ Terminator" (Applied Biosystems, ref. 402119) y la secuenciación automática se realizó en los aparatos 373 A y 377 de Applied Biosystems, según las instrucciones del fabricante.

La expresión de la secuencia nucleotídica del fragmento de 1089 pb del clon *gag* por los vectores de expresión pET28C y pET21C está identificada mediante respectivamente SEC ID nº 10 y SEC ID nº 11.

2.2- Ensayo de transcripción-traducción *in vitro* (PTT, Promega)

Este ensayo se efectuó para localizar los cromosomas humanos que presentan unos marcos de lectura abiertos para el gen *gag* de la familia HERV-W.

En un volumen de reacción de 25 μl, se realizó la mezcla que contenía 12,5 μl de lisado de reticulocito de conejo TNT® (Promega), 1 μl de tampón de reacción TNT® (Promega), 0,5 μl de ARN polimerasa TNT® (Promega), 0,5 μl de mezcla con 1 mM de los aminoácidos menos metionina, 2 μl de ³⁵S-metionina (1.000 Ci/mmol) con 10 mCi/μl (Amersham), 0,5 μl de inhibidor de ribonucleasa RNasin® con 40 U/μl, 4 μl de productos de amplificación por PCR (equivalente a 1 μg) de cada cromosoma humano y 4 μl de agua. Esta mezcla se incubó a 30°C durante 90 minutos.

Las proteínas *gag* que corresponden a los productos de transcripción/traducción del gen *gag* de la familia HERV-W de cada cromosoma humano, amplificado por OCR, se pusieron en evidencia mediante electroforesis sobre gel de poliacrilamida al 10% en presencia de dodecil-sulfato de sodio (SDS)-PAGE después de la exposición del gel a la película de rayos X a temperatura ambiente en presencia de pantalla amplificadora.

Los resultados se presentan en la tabla 2 siguiente.

En esta tabla, la cifra indicada bajo cada cromosoma corresponde a la masa molecular (kDa) de las proteínas visualizadas en gel de poliacrilamida en presencia de SDS.

Tabla 2

n° de cromo rodent parent	n° de cromo rodent parent	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	x	y	agua
PCR gag	gag	28 23 18	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	m	14	m	h	m	m	h	h	h	-
				45 25 20 17	-		23 18 17	22			-	-	-	-		-										-

Ejemplo 3: expresión del clon gag en *Escherichia coli*, y reacción con sueros humanos

Se expresó la parte codificante SEC ID nº 2 en *Escherichia coli* y después se ensayaron los productos así expresados con respecto al suero de pacientes que padecen SEP, así como al suero de pacientes sanos.

Las construcciones pET28c-clon gag (1089 pb) y pET21C-clon gag (1089 pb) se sintetizan, en la cepa bacteriana BL21 (DE3), una proteína en fusión N y C terminal para el vector pET28C y C Terminal para el vector pET21C con 6 residuos de histidina, de masa molecular parecida de aproximadamente 45 kDa, puesta en evidencia mediante electroforesis sobre gel de poliacrilamida SDS-PAGE (U.K. Laemmli, Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, Nature, 1970, 227:680-685).

La reactividad de la proteína se demostró con respecto a un anticuerpo monoclonal anti-histidina (DIANOVA) mediante la técnica de transferencia western (H. Towbin *et al.*, Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications, Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 1979, 76:4350-4354).

Las proteínas recombinantes pET28c-clon gag (1089 pb) y pET21C-clon gag (1089 pb) se visualizaron en SDS-PAGE en la fracción insoluble después de la digestión enzimática de los extractos bacterianos con 50 µl de lisozima (10 mg/ml) y lisis por ultrasonidos.

Las propiedades antigénicas de los antígenos recombinantes pET28C-clon gag (1089 pb) y pET21C-clon gag (1089 pb) se ensayaron mediante transferencia western después de la solubilización del resto bacteriano con 2% de SDS y 50 mM de β-mercaptoetanol. Después de la incubación con los sueros de pacientes que padecen esclerosis en placas, los sueros de los controles neurológicos y los sueros de los controles de centro de transfusión sanguínea (CTS), se detectaron los inmunocomplejos con la ayuda de un suero de cabra anti-IgG y anti-IgM humano, acoplado a la fosfatasa alcalina.

Los resultados se presentan en la tabla 3 siguiente.

Tabla 3

Reactividad de sueros de pacientes que padecen esclerosis en placas y controles con la proteína recombinante de gag producida en *E. coli*^a

ENFERMEDAD	NÚMERO DE INDIVIDUOS ENSAYADOS	NÚMERO DE INDIVIDUOS POSITIVOS
SEP	15	6 2 (+++), 2 (++), 2 (+)
CONTROLES NEUROLÓGICOS	2	1(+++)
CONTROLES SANOS (CTS)	22	1(+/-)

(a) Las bandas pequeñas que contienen 1,5 µg de antígeno recombinante gag presentan una reactividad contra sueros diluidos al 1/100. La interpretación de transferencia western se basa en la presencia o la ausencia de una banda gag específica sobre las bandas pequeñas. Unos controles positivos y negativos están incluidos en cada experimento.

Estos resultados de muestran que, en las condiciones técnicas utilizadas, aproximadamente 40% de los sueros humanos afectados de esclerosis en placas ensayados reaccionan con la proteína recombinante gag.

Listado de secuencias

<110> BIO MERIEUX

<120> Fragmento nucleico endógeno asociado a una enfermedad autoinmune, procedimiento de marcado y reactivo

<130> SEP19-endógeno

<140>

<141>

<150> FR 9900888

<151> 21-01-1999

<160>31

<170> PatentIn Ver. 2.1

ES 2 388 913 T3

<210> 1
 <211>1511
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<400> 1
 cctagaacgt attctggaga attgggacca atgtgacact cagacgctaa gaaagaaacg 60
 atttatatct ttctgcagta ccgcctggcc acaatatcct cttcaaggga gagaaacctg 120
 gcttcctgag ggaagtataa attataacat catcttacag ctagacctct tctgtagaaa 180
 ggaggggcaaa tggagtgaag tgccatatgt gcaaactttc ttttcattaa gagacaactc 240
 acaattatgt aaaaagtgtg gtttatgccc tacaggaagc cctcagagtc cacctcccta 300
 ccccagcgtc ccctccccga ctccctcctc aactaataag gacccccctt taaccctaac 360
 ggtccaaaaag gagatagaca aaggggtaaa caatgaacca aagagtgcct atattccccg 420
 attatgcccc ctccaagcag tgagaggagg agaattcgcc ccagccagag tgccctgtacc 480
 tttttctctc tcagacttaa agcaaattaa aatagacctt ggtaaattct cagataacct 540
 tgacggctat attgatgttt tacaagggtt aggacaatcc tttgatctga catggagaga 600
 tataatgtta ctactaaatc agacactaac cccaaatgag agaagtgcct ctgtaactgc 660
 agcccagagag tttggcgatc tttgggtatc cagtcaggcc aacaatagga tgacaacaga 720
 ggaaagaaca actccacag gccagcaggc agttcccagt gtagaccctc attgggacac 780
 agaatcagaa catggagatt ggtgccacaa acatttgcta acttgcgtgc tagaaggact 840
 gagggaaaact aggaagaagc ctatgaatta ctcaatgatg tccactataa cacagggaaa 900
 ggaagaaaat ctactgctt ttctggacag actaaggag gcattgagga agcatacctc 960
 cctgtcacct gactctattg aaggccaact aatcttaaag gataagttaa tcactcagtc 1020
 agctgcagac attagaaaaa acttcaaaaag tctgccttag gcccgagca gaacttagaa 1080
 accctattta acttggcatc ctcaagtttt tataatagag atcaggagga gcaggcgaaa 1140
 cgggacaaac gggataaaaa aaaaaggggg ggtccactac tttagtcatg gccctcaggc 1200
 aagcagactt tggaggctct gcaaaaggga aaagctgggc aaatcaaatg cctaataagg 1260
 ctggcttcca gtgcggtcta caaggacact ttaaaaaaga ttatccaagt agaaataagc 1320
 cgcccccttg tccatgcccc ttacgtcaag ggaatcactg gaaggccac tgccccagg 1380
 gatgaagata ctctgagtca gaagccatta accagatgat ccagcagcag gactgagggt 1440
 gcccggggcg agcgccagcc catgccatca ccctcacaga gccccgggtg tgtttgacca 1500
 ttgagagcca a 1511

<210>2
 <211> 2009
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

10

<400> 2

ES 2 388 913 T3

atacgactac	tatagggcga	attggggccct	ctagatgcat	gctcgagcgg	ccgccagtgt	60
gatggatata	tgcagaattc	gccctttgtc	cgctgtgctc	ctgatccagc	gaggcgccca	120
ttgctgctcc	caattgggct	aaaggcttgc	cattgttccc	acacggctaa	gtgcccgggt	180
tcataccta	tgagctgaac	actagtcact	gggttccatg	gttctcttcc	atgacccacg	240
gcttctaata	gagctccta	actcaccaca	tggcccaaga	ttccattcct	tgggaatccgt	300
gaggccaaga	accccaggtc	agagaacacg	aggettgcga	ccgtcttgga	agtggccccg	360
cgccatcttg	ggagctctgg	gagcaaggac	ccccagtaa	cattttggca	accacaaagg	420
gacctccaaa	gcgatgggaa	acattccccc	caaggcaaaa	acgcccctaa	gatgtattct	480
ggagaattgg	gaccaatgtg	acactcagac	gctaagaaa	aaacgattta	tattcttctg	540
cagtaccgcc	tggccacaat	atcctcttca	agggagagaa	acctggcttc	ctgaggggaag	600
tataaattat	aacatcatct	tacagctaga	cctcttctgt	agaaaggagg	gcaaattggag	660
tgaagtgcc	tatgtgcaaa	ctttcttttc	attaagagac	aactcacaat	tatgtaaaaa	720
gtgtgggtta	tgcctacag	gaagccctca	gagtcacact	ccctacccca	ggtgtcccc	780
cccgactcct	tcctcaacta	ataaggaccc	ccctttaacc	caaacggtcc	aaaaggagat	840
agacaaaggg	gtaaacatg	aaccaaagag	tgccaatatt	ccccgattat	gccccctcca	900
agcagtgaga	ggaggagaat	tgggccagc	cagagtgcct	gtaccttttt	ctctctcaga	960
cttaaagcaa	attaaaatag	acctaggtaa	attctcagat	aacctgacg	gctatatattga	1020
tgttttacaa	gggttaggac	aatcctttga	tctgacatgg	agagatataa	tgttactact	1080
aatcagaca	ctaaccccaa	atgagagaag	tgccgctgta	actgcagccc	gagagtttgg	1140
cgatctttgg	tatctcagtc	aggtcaacaa	taggatgaca	acagaggaaa	gaacaactcc	1200
cacaggccag	caggcagttc	ccagtgtaga	ccctcattgg	gacacagaat	cagaacatgg	1260
agattgggtg	cacaaacatt	tgctaacttg	cgtgctagaa	ggactgagga	aaactaggaa	1320
gaagcctatg	aattactcaa	tgatgtccac	tataacacag	ggaaaggaag	aaaatcctac	1380
tgtttttctg	gacagactaa	gggaggcatt	gaggaagcat	acctccctgt	cacctgactc	1440
tattgaaggc	caactaatct	taaaggataa	gtttatcact	cagtcagctg	cagcatattag	1500
aaaaaacctt	aaaagtctgc	cttaggccc	gagcagaact	tagaaacctt	atttaacttg	1560
gcatcctcag	ttttttataa	tagagatcag	gaggagcagg	cgaaacggga	caaacgggat	1620
aaaaaaaaaa	gggggggtcc	actactttag	tcatggccct	caggcaagca	gactttggag	1680
gctctgga	agggaaaagc	tgggcaaatc	aatgcctaa	tagggctggc	ttccagtgcg	1740
gtctacaagg	acacttttaa	aaagattatc	caagtagaaa	taagccgccc	ccttgtccat	1800
gccccttacg	tcaagggaat	cactggaagg	cccactgccc	caggggatga	agataactctg	1860
agtcagaagc	cattaaccag	atgatccagc	agcaggactg	aggggtgccc	gggcgagcgc	1920
cagcccatgc	catcacccctn	acagagcccc	gggtatgctt	gaccatttag	agccaggagg	1980
ttaactgtct	cctggacact	ggcgagcc				2009

<210>3

<211>1056

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 3

ctagaacgta	ttctggagaa	ttgggaccaa	tgtgacactc	agacgctaag	aaagaaacga	60
tttatattct	tctgcagtac	cgccctggcca	caatatacctc	ttcaaggagg	agaaacctgg	120
cttcttgagg	gaagtataaa	ttataacatc	atcttacagc	tagacctctt	ctgtagaaag	180
gaggggcaaat	ggagtgaagt	gccatattgtg	caaactttct	tttcattaa	agacaactca	240
caattatgta	aaaagtgtgg	tttatgccct	acaggaagcc	ctcagagtcc	acctccctac	300
cccagcgtcc	cctccccgac	tccttctctca	actaataagg	accccccttt	aacccaaacg	360
gtccaaaagg	agatagacaa	aggggtaaac	aatgaaccaa	agagtgccaa	tattccccga	420
ttatgcccc	tccaagcagt	gagaggagga	gaattcggcc	cagccagagt	gcctgtacct	480
ttttctctct	cagacttaaa	gcaaattaaa	atagacctag	gtaaattctc	agataacctt	540
gacggctata	ttgatgtttt	acaagggtta	ggacaatcct	ttgatctgac	atggagagat	600
ataatgttac	tactaaatca	gacactaacc	ccaaatgaga	gaagtgcgc	tgtaactgca	660
gcccagaggt	ttggcgatct	ttgggtatctc	agtcaggcca	acaataggat	gacaacagag	720
gaaagaacaa	ctcccacagg	ccagcaggca	gttcccagtg	tagacctca	ttgggacaca	780
gaatcagaac	atggagattg	gtgccacaaa	catttgctaa	cttgcggtgct	agaaggactg	840
aggaaaacta	ggaagaagcc	tatgaattac	tcaatgatgt	ccactataac	acaggggaaag	900

ES 2 388 913 T3

gaagaaaatc ttactgcttt tctggacaga ctaagggagg cattgaggaa gcatacctcc 960
 ctgtcacctg actctattga aggccaacta atcttaaagg ataagtttat cactcagtca 1020
 gctgcagaca ttagaaaaaa cttcaaaagt ctgcct 1056

	<210> 4	
	<211> 25	
5	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 4	
10	cggacatcca aagtgatggg aaacg	25
	<210> 5	
	<211> 26	
	<212> ADN	
15	<213> Homo sapiens	
	<400> 5	
20	ggacaggaaa gtaagactga gaaggc	26
	<210> 6	
	<211> 26	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 6	
	cctagaacgt attctggaga attggg	26
30	<210> 7	
	<211> 26	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
35	<400> 7	
	tggctctcaa tggtaaaca taccg	26
	<210> 8	
40	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 8	
45	atgggaaacg ttccccga g	21
	<210> 9	
	<211> 21	
50	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 9	
55	ggcctaaggc agactttga a	21
	<210> 10	
	<211> 409	
	<212> PRT	
60	<213> Homo sapiens	
	<400> 10	

ES 2 388 913 T3

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

ES 2 388 913 T3

Tyr Leu Ser Gln Val Asn Asn Arg Met Thr Thr Glu Glu Arg Thr Thr
 275 280 285
 Pro Thr Gly Gln Gln Ala Val Pro Ser Val Asp Pro His Trp Asp Thr
 290 295 300
 Glu Ser Glu His Gly Asp Trp Cys His Lys His Leu Leu Thr Cys Val
 305 310 315 320
 Leu Glu Gly Leu Arg Lys Thr Arg Lys Lys Pro Met Asn Tyr Ser Met
 325 330 335
 Met Ser Thr Ile Thr Gln Gly Lys Glu Glu Asn Pro Thr Ala Phe Leu
 340 345 350
 Asp Arg Leu Arg Glu Ala Leu Arg Lys His Thr Ser Leu Ser Pro Asp
 355 360 365
 Ser Ile Glu Gly Gln Leu Ile Leu Lys Asp Lys Phe Ile Thr Gln Ser
 370 375 380
 Ala Ala Asp Ile Arg Lys Asn Phe Lys Ser Leu Pro Lys Leu Ala Ala
 385 390 395 400
 Ala Leu Glu His His His His His His
 405

<210> 11
 <211> 393
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 11

Met Ala Ser Met Thr Gly Gly Gln Gln Met Gly Arg Ile Met Gly Asn
 1 5 10 15
 Ile Pro Pro Lys Ala Lys Thr Pro Leu Arg Cys Ile Leu Glu Arg Ile
 20 25 30
 Leu Glu Asn Trp Asp Gln Cys Asp Thr Gln Thr Leu Arg Lys Lys Arg
 35 40 45
 Phe Ile Phe Phe Cys Ser Thr Ala Trp Pro Gln Tyr Pro Leu Gln Gly
 50 55 60
 Arg Glu Thr Trp Leu Pro Glu Gly Ser Ile Asn Tyr Asn Ile Ile Leu
 65 70 75 80
 Gln Leu Asp Leu Phe Cys Arg Lys Glu Gly Lys Trp Ser Glu Val Pro
 85 90 95
 Tyr Val Gln Thr Phe Phe Ser Leu Arg Asp Asn Ser Gln Leu Cys Lys
 100 105 110
 Lys Cys Gly Leu Cys Pro Thr Gly Ser Pro Gln Ser Pro Pro Pro Tyr
 115 120 125

ES 2 388 913 T3

Pro Ser Val Pro Ser Pro Thr Pro Ser Ser Thr Asn Lys Asp Pro Pro
 130 135 140
 Leu Thr Gln Thr Val Gln Lys Glu Ile Asp Lys Gly Val Asn Asn Glu
 145 150 155 160
 Pro Lys Ser Ala Asn Ile Pro Arg Leu Cys Pro Leu Gln Ala Val Arg
 165 170 175
 Gly Gly Glu Phe Gly Pro Ala Arg Val Pro Val Pro Phe Ser Leu Ser
 180 185 190
 Asp Leu Lys Gln Ile Lys Ile Asp Leu Gly Lys Phe Ser Asp Asn Pro
 195 200 205
 Asp Gly Tyr Ile Asp Val Leu Gln Gly Leu Gly Gln Ser Phe Asp Leu
 210 215 220
 Thr Trp Arg Asp Ile Met Leu Leu Leu Asn Gln Thr Leu Thr Pro Asn
 225 230 235 240
 Glu Arg Ser Ala Ala Val Thr Ala Ala Arg Glu Phe Gly Asp Leu Trp
 245 250 255
 Tyr Leu Ser Gln Ala Asn Asn Arg Met Thr Thr Glu Glu Arg Thr Thr
 260 265 270
 Pro Thr Gly Gln Gln Ala Val Pro Ser Val Asp Pro His Trp Asp Thr
 275 280 285
 Glu Ser Glu His Gly Asp Trp Cys His Lys His Leu Leu Thr Cys Val
 290 295 300
 Leu Glu Gly Leu Arg Lys Thr Arg Lys Lys Pro Met Asn Tyr Ser Met
 305 310 315 320
 Met Ser Thr Ile Thr Gln Gly Lys Glu Glu Asn Leu Thr Ala Phe Leu
 325 330 335
 Asp Arg Leu Arg Glu Ala Leu Arg Lys His Thr Ser Leu Ser Pro Asp
 340 345 350
 Ser Ile Glu Gly Gln Leu Ile Leu Lys Asp Lys Phe Ile Thr Gln Ser
 355 360 365
 Ala Ala Asp Ile Arg Lys Asn Phe Lys Ser Leu Pro Lys Leu Ala Ala
 370 375 380
 Ala Leu Glu His His His His His His
 385 390

<210> 12
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 12

10 ctagaacgta ttctggagaa ttggga

26

ES 2 388 913 T3

<210> 13
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 5 <400> 13
 cctaaggcag acttttgaag 20
 10 <210> 14
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 15 <400> 14
 ttggaata cgactcacta tagggcagcc accatgggaa acgttcccc cgag 54
 20 <210> 15
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 25 <400> 15
 tttttttt tttttttc aggctgcgcc agtgtccagg agac 44
 30 <210> 16
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 <400> 16
 35 tgtccgctgt gtcctgatc 20
 40 <210> 17
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 <400> 17
 45 tttttttt tttttttc aggctgcgcc agtgtccagg agac 44
 <210> 18
 <211> 678
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 50 <400> 18
 tcaggggatag ccccatcta tttggccagg cattagccca agacttgagc cagttctcat 60
 acctggatat tcttgtectt tggatatgcgg atgatttact tttagccgcc cgttcagaaa 120

ES 2 388 913 T3

```

ccttgtgcca tcaagccacc caagtgtctt taaatttccct cgccacctgt ggctacaagg 180
tttccaaacc aaaggctcag ctctgtctac agcagaaggc tattttaccct aaatacttag 240
ggctgaaatt atccaaaggc accagggccc tcagttagga atgtatccag cctatactgg 300
cttatectta tcccaaaacc ctaaaacaac taagaagggt ccttggcata ataggcataa 360
caggcataac aggtttctgc tgaatatgga ttcccaagta cggcaaaata gccagaccat 420
tatatacact aattaaggaa actcagaaag ccaataccca tttagtaaga tggacacctg 480
aagcagaggc agctttccag gccgtaaaaga acaccctaac ccaagcccca gtgttaagct 540
tgccagcggg gcaagacttt tctttctgtg tcacagaaaa aataggaata gctntagtag 600
tccttacaca ggtccgaggg accagcttgc aaccatggc atacctgagt aaggaaattg 660
atgtagtggc aaagggtt                                     678

```

<210> 19
 <211> 591
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

```

<400> 19
ccatggccat ctacactgaa caagatttat acaatcatgt cgtacctaag cccacaaca 60
aaagagtacc cattcttctt tttgttatca gagcaggagt gctaggcaga ctaggtagtg 120
gcattggcag tatcacaacc tctactcagt tctactacaa actatctcaa gaaataaatg 180
gtgacatgga acaggctcact gactccctgg tcaccttgca agatcaactt aactccctag 240
cagcagtagt ccttcaaaat cgaagagctt tagacttgct aaccgccaaa agagggggaa 300
cctgtttatt tttaggagaa gaacgctgtt attatgttaa tcaatccaga attgtcactg 360
agaaagttaa agaaattcga gatcgaatac aatgtagagc agaggagctt caaaacaccg 420
aacgctgggg cctcctcagc caatggatgc cctgggttct ccccttctta ggacctctag 480
cagctctaatt attgttactc ctctttggac cctgtatctt taacctcctt gttaagtttg 540
tctcttccag aattgaagct gtaaagctac agatggtctt acaaattctag a 591

```

<210> 20
 <211> 1321
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

```

<400> 20
caacaatcgg gatataaacc caggcattcg agctggcaac agcagccccc ctttgggtcc 60
cttccctttg tatgggagct gttttcatgc tatttcaactc tattaaatct tgcaactgca 120
ctcttctggt ccatgtttct tacggctcga gctgagcttt tgctcacctg ccaccactgc 180
tgtttgccac caccgcagac ctgccgctga ctcccatccc tctggatcct gcaggggtgc 240
cgctgtgctc ctgatccagc gaagcgccca ttgccgctcc caattgggct aaaggcttgc 300
cattgttctt gcacggctaa gtgcttgggt ttgttctaata tgagctgaac actagtcact 360
gggttccatg gttctcttct gtgacccacg gcttctaata gaactataac acttaccaca 420
tgccccaaaga ttccattcct tggaatccgt gaggccaaaga actccaggtc agagaatacg 480
aagcttgcca ccatcttgga agcggcctgc taccatcttg gaagtgggtc accaccatct 540
tgggagctct gtgagcaagg accccccggg aacatttttg caaccacgaa cggacatcca 600
aagtgatggg aaacgttccc cgcaagacaa aaacgcccct aagacgtatt ctggaaaatt 660
gggaacaatt tgaccctcag acactaagaa agaaacgact tatattcttc tgcagtgccg 720
cctggcactc ctgagggaag tataaattat aacaccatct tacagctaga cctcttttgt 780
agaaaaggca aatggagtga agtgccataa gtacaaactt tcttttcatt aagagacaac 840
tcacaattat gtaaaaagtg tgatttatgc cctacaggaa gccttcagag tctacctccc 900
tatcccagca tccccgactc cttccccact taataaggac ccccttcaa cccaaatggg 960
ccaaaaggag atagacaaaa gggtaaacag tgaaccaaag agtgccaata ttccccatt 1020
atgacccctc caagcagtgg gaggaagaga attcgcccca gccagagtgc atgtgccttt 1080
ttctctocca gacttaaagc aaataaaaaac agacttaggt aaattctcag ataaccctga 1140
tggtatatatt ggtgttttac aagggttagg acaattcttt gatctgacat ggagagatat 1200
atatgtcact gctaaatcag acactaacc ccaatgagag aagtgccacc ataactgcag 1260
cctgagagtt tggcgatctc tggatatctc gtcagggtcaa tgataggatg acaacagagg 1320

```

a

1321

<210> 21
<211> 2938
<212> ADN
<213> Homo sapiens

5

<400> 21

```

caacgacgga catccaaagt gatgggaaac gttccccgca agacaaaaac gccccctaaga 60
cgtattctgg agaattggga ccaatttgac cctcagacac taagaaagaa acgacttata 120
ttcttctgca gtgccgcctg gcactcctga gggaagtata aattataaca ccattcttaca 180
gctagacttc tttttagtaa aaggcaaatg gagtgaagtg ccataagtac aaactttctt 240
ttcattaaga gacaactcac aattatgtaa aaagtgtgat ttatgcccta caggaagcct 300
tcagagtcta cctccctatc ccagcatccc cgactccttc cccaactaat aaggaccccc 360
cttcaaccca aatggtccaa aaggagatag acaaaagggt aaacagtga ccaaagagt 420
ccaatattcc ccaattatga cccctcccaa gcagtgggag gaagagattc ggcccagcca 480
gagtgcattg gctttttctt ctcccagact taaagcaaat aaaaacagac ttaggtaaat 540
tctcagataa tcctgatggc tatattgatg ttttacaagg gttaggacaa ttctttgatc 600
tgacatggag agatataatg tctactgctaa atcagacact aaccccaaat gagagaagt 660
ccaccataac tgcagcctga gagtttggcg atctctggta tctcagtcag gtcaatgata 720
ggatgacaac agaggaaaga gatgatcccc acagccagca agcagttccc agtctasacc 780
ctcattgggg acacagaaat cagtaacatg ggagattggg gctgcagaca tttgctaact 840
tgtgtgctac aaggactaag gaaaactacg aagaaaatct acgaattact caatgatgtc 900
caccataaca caggggaagg gaagaaaatc ctactgcctt tctggagaga ctaagggagg 960
cattgaggaa gcgtgcctct ctgtcacctg actcttctga aggccaaacta atcttaaagc 1020
gtaagtttat cactcagtca gctgcagaca ttagaaaaaa cttcaaaagt ctgccgtagg 1080
cccggagcaa aacttagaaa ccctattgaa cttggcaacy tcggtttttt ataatagaga 1140
tcaggaggag caggcggaac aggacaaacg ggattaaaaa aaaggccacc gcttttagtca 1200
tgaccctcag gcaagtggac tttggaggct ctggaaaagg gaaaagctgg gcaaattgaa 1260
tgccataatg ggcttgcttc cagtgcgggtc tacaaggaca ctttaaaaaa gattgtccaa 1320
gtagaagtaa gccgccctt cgtccatgcc ccttatttca agggaatcac tgggaaggccc 1380
actgccccag gggacaaagg tcttttgagt cagaagccac taaccagatg atccagcagc 1440
aggactgagg gtgcctgggg caagcgccat cccctcaca gagccctggg 1500
tatgcttgac cattgagggc caggaaaggt gtctcctgga cactggtgag gtcttcttag 1560
tcttactctt ctgtcccga caactgtcct ccagatctgt cactatctga gggggctcta 1620
agacgggcag tctactagata cttctcccag ccactaagtt atgactgggg agctttattc 1680
ttttcacatg cttttctaata tatgcttgaa agccccacta ccttggttagg gagagacatt 1740
ctagcaaaag caggggccat tatacacctg aacataggag aaggaacacc cgtttgttgt 1800
cccctgcttg aggaaggaat taatcctgaa gtctgggcaa cagaaggaca atatggacga 1860
gcaagaatg cccgtcctgt tcaagttaaa ctaaggatt ccacttcctt tccctacca 1920
aggcagtag ccctcagacc caaggcccaa caaggattcc aaaagattgt taaggactta 1980
aaagcccaag gcttagtaaa accatgcata actccctgca gtaattccgt agtggattga 2040
ggaggcacag aaacccagtg gacagtggag ggttagtgca agatctcagg attatcaatg 2100
gaggccgttg tccttttata ccagctgta cctagccctt atactgtgct tccccaaata 2160
ccagagggaag cagagtgggt tacactcctg gaccttaagg atgccttctt ctgcacccct 2220
gtacatcctg actctcaatt cttgtttgcc tttgaagata cttcaaacc aacatctcaa 2280
ctcacctgga ctgttttacc ccaagggttc agggatagcc cccatctatt tggccaggca 2340
ttagcccaag acttgagcca atcctcatac ctggacactt gtccttcggt aggtggatga 2400
tttacttttg gccgccatt cagaaacctt gtgccatcaa gccacccaag cgtcttcaa 2460
tttctctgct acctgtggt acatgggttt caaaccaaag gctcaactct gctcacagca 2520
ggttacttag ggctaaaatt atccaaaggc accagggtccc tcagttagga acacatccag 2580
cctatactgg cttatcctca tcccaaaacc ctaaagcaac taaggggatt ccttggcgta 2640
ataggtttct gccgaaaatg gattcccagg tttggcgaaa tagccaggtc attaaataca 2700
ctaattaagg aaactcagaa agccaatacc catttagtaa gatggacaac tgaagtagaa 2760
gtggctttcc aggcctaac ccaagcccca gtgttaagtt tgccaacagg gcaagacttt 2820
tcttcatatg tcacagaaaa aacaggaata gctctaggag tccttacaca gatccgaggg 2880
atgagcttgc aacctgtggc gtacctgact aaggaaattg atgtagtggc aaagggtt 2938

```

<210> 22
<211> 1422
<212> ADN
<213> Homo sapiens

10

<400> 22

tcagggatag	ccccatcta	tttggccagg	cattagccca	agacttgagt	cagttatcat	60
acctggacac	tcttgtcctt	cagtatgtgg	atgatttact	tttagctgcc	tgttcagaaa	120
ccttgtgcca	tcaagccacc	caagcactct	taaatttcct	cgccacctgt	ggctacaagg	180
tttccaaaaga	gaagctcagc	tctgctcaca	gcaggttaaa	tacttaggac	taagattatc	240
caaaggcacc	aaggccctca	gtgaggaatg	tatccagcct	atactggctt	atcctcatct	300
caaaacccta	aagcaactaa	gagagttcct	tggcataaca	ggcttctgcc	gaatatggat	360
tccccaggta	tggcaaaata	gccaggccat	tatatacagt	aattaaggaa	actcagaaag	420
ccaataccca	tttaataaga	tggatacctg	aagccaaagt	ggctttccag	gcccctaaag	480
aaggccttaa	acccaagtcc	cagtgttaag	cttgccaacg	gggcaagact	tttctttata	540
catcacagaa	aaaaacagaa	acagctctgg	gagtccttac	acaggtccaa	gggacgagct	600
tgcaacccat	ggcatacctg	agtaaggaaa	ctgatgtagt	ggcaaagggg	tggcttcatt	660
gtttatgggt	agtgggtggca	gtagcagttg	tagtatctga	agcagttaaa	ataatacagg	720
ggagagatct	tactgtgtgg	acatctcatg	aggtgaacag	catactcact	gctaaaggag	780
acttgtggct	gtcagacaac	cgtttactta	aatatcaggc	tctattactt	gaaaggccag	840
tgtctgcaact	gtgcacttgt	gcaactctta	accagtcnc	atttcttcca	gacaatgaag	900
atagaatata	actgtcaaca	aataatttct	caaacctatg	ccactcgagg	ggaccttcta	960
gaagtccct	tgactgatcc	tgaccttcaa	cttgtatact	gatggaagtt	cctttgtaga	1020
aaaaggactt	caaaagcggg	gtatgcagtg	gtcagtgata	atggaatatt	tgaaagtatc	1080
ccctcactcc	aggaactagt	gcttagctgg	cagaactaat	agccttcatt	ggggcactag	1140
aattaggaga	aggaaaaagg	gtaaaataat	atacagactc	tgagtatgct	cacctagctn	1200
tccatgccca	tgaggcaata	tgacagagaa	gggaattcct	aacttccgag	ggacacaccta	1260
tcacacatca	ggaagccatt	aggagattat	tactggcagt	acagaaacct	aaagaggtgg	1320
aagtcttaca	ctgctggggg	catcagaaa	gaaagaaaag	ggaaatagaa	gggaattgcc	1380
aagcagatat	tgaagcaaaa	agagctgcaa	ggcaggaccc	tc		1422

<210> 23

5 <211> 2006

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 23

atgcagtggt	cagtgataat	ggaatacttg	aaagtaatcc	cctcactcca	ggaactagtg	60
ctcagctagc	agaactaata	gccctcactt	gggcactaga	attaggagaa	gaaaaaagg	120
caaatatata	tacagactct	aaatatgctt	acctagtcct	ccatgccc	gcagcaatat	180
ggaaagaaa	ggaattccta	acttctgaga	gaacacctat	caaacatcag	gaagccatta	240
ggaaattatt	attggctgta	cagaaaccta	aagaggtggc	agtcttacac	tgccgggggc	300
atcanaaagg	aaaggaaa	gaaaatactt	ttgcctgcaa	ctatccaatg	gaaattactt	360
aaaacccttc	atcaaaccct	tcacttaggc	atcgatagca	cccatcaa	ggccaaatca	420
ttattttactg	gaccaggcct	tttcaaaact	atcaagcaaa	tattcagggc	ctgtgaattg	480
tgccaaaaaa	ataatccctt	gcctcatcgc	caagctcctt	caggaaaaca	aaaaacaggc	540
cattaccctg	aaaaaaaactg	gcaactgatt	ttaccacaaa	gccccaaacct	cagggatttc	600
agtatctact	agtctgggta	aatactttca	cgggttgggc	aaaggccttc	ccctgtagga	660
cagaaaaggc	ccaagaggta	ataaaggcac	tagttcatga	aataattccc	agattcggac	720
ttccccgagg	cttacagagt	gacaatagcc	ctgctttcca	ggccacagta	accaggagg	780
tatccccaggc	gttaggtata	cgatatcact	tacactgcgc	ctgaaggcca	cagtcctcag	840
ggaaggtcga	gaaaatgaat	gaaatactca	aaggacatct	aaaaaagcaa	accaggaaa	900
cccacctcac	atggcctgct	ctgttgcceta	tagccttaaa	aagaatctgc	aactttcccc	960
aaaaagcagg	acttagccca	tacgaaatgc	tgtatggaag	gcccttcata	accaatgacc	1020
ttgtgcttga	ccaagacag	ccaacttagt	tgacagacatc	acctccttag	ccaaatatca	1080

10

ES 2 388 913 T3

acaagttctt	aaaacattac	aaggaaccta	tccctgagaa	gagggaaaag	aactattcca	1140
cccttgtgac	atggtattag	tcaagtcceet	tctctctaat	tcccatccc	tagatacatc	1200
ctgggaagga	ccctaccag	tcattttatt	tacccaact	gcggttaaag	tggtggagt	1260
ggtcttgat	acatcacact	tgagtcfaat	cctggatact	gccaaaggaa	cctgaaaatc	1320
caggagacaa	cgctagctat	tcctgtgaac	ctctagagga	tttgcgctg	ctcttcaaac	1380
aacaaccagg	aggaaagtaa	ctaaaatcat	aaatccccc	tgccctccc	ttatcatatt	1440
tttctcttta	ctgttctttt	accctctttc	actctcactg	cacccctcc	atgccgctgt	1500
atgaccagta	gtccccccta	ccaagagttt	ctatggagaa	tcagcgtcc	cggaaatatt	1560
gatgccccat	cgtataggag	tctttctaa	ggaaccccc	ccttcactgc	ccacacccat	1620
atgccccgca	actgctatca	ctctgccact	ctttgcatgc	atgcaaatac	tcattattgg	1680
acaggaaaaa	tgattaatcc	tagttgtcct	ggaggacttg	gagtcactgt	ctgttggaact	1740
tacttcaccc	aaactgggat	gtctgatggg	ggtggagtgc	aagatcaggc	aagagaaaaa	1800
catgtaaaag	aagtaatctc	ccaactcacc	cgggtacatg	gcacctctag	ccctacaaag	1860
gactagatct	ctcaaaaacta	catgaaacce	tccgtaccca	tactcgctg	gtaagcctat	1920
ttaataccac	cctcactggg	ctccatgagg	tctcgcccca	aaaccctact	aactgttgga	1980
tatgcctccc	cctgaacttc	aagcca				2006

<210> 24
 <211> 1948
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 24

actgcactct	tctgggtccat	gtttctttacg	gctcgagctg	agctttttgct	caccgtccac	60
cactgctggt	tgccaccacc	gcanacctgc	cgctgactcc	catccctctg	gatcctgcag	120
ggtgtccgct	gtgctcctga	tccagcgagg	cgcccatg	cgctcccaat	tggtctaaag	180
gcttgccatt	gtncctgcac	ggctaagtgc	ctgggtttgt	tctaattgag	ctgaacacta	240
ntcactgggt	tccatgggtc	tcttctgtga	cccacggctt	ctaatagaac	tataacactt	300
accacatggc	ccaagattcc	attccttggg	atccgtgagg	gcaagaactc	caggtcagag	360
aatacgaggc	ttgccaccat	cttggaagcg	gcctgctacc	atcttggaag	tggttcacca	420
ccatcttggg	agctctgtga	gcaaggacc	cccggtaaca	ttttggcaac	cacgaacgga	480
catccaaagt	gatacatcct	gggaaggacc	ctaccagtc	attttatcta	ccccactgc	540
ggttaaagtg	gctggagtgg	agtcttggat	acatcacact	tgagtcfaat	cctggatact	600
gccaaaggaa	cctgaaaatc	caggagacaa	cgctagctat	tcctgtgaac	ctctagagga	660
tttgcgctg	ctcttcaaac	aacaaccagg	aggaaagtaa	ctaaaatcat	aaatcccat	720
ggccctccct	tatcatattt	ttctctttac	tggtgtttca	ccctctttca	ctctcactgc	780
acccctcca	tgccgctgta	tgaccagtag	ctcccttac	caagagtctc	tatggagaat	840
gcagcgtccc	ggaaatattg	atgccccatc	gtataggagt	ctttgtaagg	gaacccccc	900
cttcactgcc	cacaccata	tgcccgcaa	ctgctatcac	tctgccactc	tttgcatgca	960
tgcaaatact	cattattgga	caggaaaaat	gattaatcct	agttgtcctg	gaggacttg	1020
agtcactgtc	tggtggactt	acttcaccca	aactgggatg	tctgatgggg	gtggagtcca	1080
agatcaggca	agagaaaaac	atgtaaaaga	agtaatctcc	caactcacc	gggtacatgg	1140
cacctctagc	ccctacaaag	gactagatct	ctcaaaacta	catgaaacc	tccgtaccca	1200
tactcgctg	gtaagcctat	ttaataccac	ctcactggg	ctccatgagg	tctcgcccca	1260
aaaccctact	aactgttgga	tatgcctccc	cctgaacttc	aggccatag	tttcaatccc	1320
tgtacctgaa	caatggaaca	acttcagcac	agaaataaac	accacttccg	ttttagtagg	1380
acctcttgtt	tccaatctgg	aaataaccca	tacctcaaac	ctcacctgtg	taaaatttag	1440
caatactaca	tacacaacca	actcccaatg	catcagggtg	gtaactctc	ccacacaaat	1500
agtctgccta	ccctcaggaa	tattttttgt	ctgtgggtacc	tcagcctatc	gttgtttgaa	1560
tggtctcttca	gaatctatgt	gcttctctc	attcttagtg	ccccctatgg	ccatctacac	1620
tgaacaagat	ttatacagtt	atgtcatatc	taagccccgc	aacaaaagag	taccattct	1680
tccttttgtt	ataggagcag	gagtgcctag	tgactagggt	actggcattg	gcggtatcac	1740
aacctctact	cagtcttact	acaaactatc	tcaagaacta	aatggggaca	tggaacgggt	1800
cgccgactcc	ctggtcacct	tgcaagatca	acttaactcc	ctagcagcag	tagtccttca	1860
aaatcgaaga	gcttttagact	tgctaaccgc	tgaaagaggg	ggaacctgtt	tatttttagg	1920
ggaagaatgc	tgttattatg	ttaatcaa				1948

<210> 25
 <211> 1136
 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 25

ccatggccat	ctacactgaa	caagatttat	acagttatgt	catactctaag	ccccgcaaca	60
aaagagtacc	cattcttcct	tttggttatag	gagcaggagt	gctaggtgca	ctaggtagctg	120
gcattggcgg	tatcacaacc	tctactcagt	tctactacaa	actatctcaa	gaactaaatg	180
gggacatgga	acgggtcgcc	gactccctgg	tcaccttgca	agatcaactt	aactccctag	240
cagcagtagt	ccttcaaaat	cgaagagctt	tagactcgct	aaccgctgaa	agagggggaa	300
cctgtttatt	tttaggggaa	gaatgctgtt	attatgttaa	tcaatccgga	atcgtagctg	360
agaaagttaa	agaaattcga	gatcgaatac	aacgtagagc	agaagagctt	cgaaacactg	420
gaccctgggg	cctcctcagc	caatggatgc	cctggattct	ccccctctta	ggacctctag	480
cagctataat	attgctactc	ctctttggac	cctgtatctt	taacctcctt	gttaactttg	540
tctcttccag	aatcgaagct	gtaaaactac	aaatggagcc	caagatgcag	tccaagacta	600
agatctaccg	cagacccctg	gaccggcctg	ctagcccacg	atctgatgtt	aatgacatca	660
aaggcacccc	tcctgaggaa	atctcagctg	cacaacctct	actacgcccc	aattcagcag	720
gaagcagtta	gagcggctgt	cggccaacct	ccccaacagc	acttaggttt	tcctgttgag	780
atgggggact	gagagacagg	actagctgga	tttccctaggc	tgactaagaa	tccctaagcc	840
tagctgggaa	ggtgaccaca	tccaccttta	aacacggggc	ttgcaactta	gttcacacct	900
gaccaatcag	agagctcact	aaaatgctaa	ttaggcaaa	acaggaggta	aagaaatagc	960
caatcatcta	ttgcatgaga	gcacagcagg	agggacaatg	atcgggatat	aaaccaagt	1020
cttcgagccg	gcaacggcaa	ccccctttgg	gtccccctcc	tttgtatggg	agctctgttt	1080
tcatgtctatt	tcactctatt	aaatcttgca	gctgcgaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaa	1136

5

<210> 26

<211> 2782

<212> ADN

<213> Homo sapiens

10

<400> 26

atgggagctg	ttttcatgct	atttcaactct	attaaatctt	gcaactgcac	tcttctggtc	60
catgtttctt	acggctcgag	ctgagctttt	gotcaccgtc	caccactgct	gtttgccacc	120
accgcagacc	tgccgctgac	tcccatecct	ctggatcctg	cagggtgtcc	gctgtgctcc	180
tgatccagcg	aagcgcccat	tgccgctccc	aattgggcta	aaggcttgcc	attgttctctg	240
cacggctaag	tgcttgggtt	tgttctaatt	gagctgaaca	ctagtcactg	ggttccatgg	300
ttctcttctg	tgaccacagg	cttctaatag	aactataaca	cttaccacat	ggcccaagat	360
tccattcctt	ggaatccgtg	aggccaacga	actccaggtc	agagaatacg	aagcttgcca	420
ccatcttgga	agcggcctgc	taccatcttg	gaagtgggtc	accaccatct	tgggagctct	480
gtgagcaagg	accccccggt	gacatttttg	cgaccacca	cggacatccc	aagtgatata	540
tcctgggaag	gaccctaccc	agtcatttta	tctaccccaa	ctgcgggtta	agtggctgga	600
gtggagtctt	ggatacatca	cacttgagtc	aaatcctgga	tactgccaaa	ggaacctgaa	660
aatccaggag	acaacgctag	ctattcctgt	gaacctctag	aggatttgcg	cctgctcttc	720
aaacaacaac	caggaggaaa	gtaactaaaa	tcataaatcc	ccatgggcct	cccttatcat	780
atttttctct	gtagtgttct	ttcaccctgt	ttcactctca	ctgcaccccc	tccatgccgc	840
tgtatgacca	gtagctcccc	tcaccagag	tttctatgga	gaatgcagcg	tcccggaaat	900
attgatgccc	catcgtatag	gagtctttct	aagggaaccc	ccaccttcac	tgcccacacc	960
catatgcccc	gcaactgcta	tcactctgcc	actctttgca	tgcatgcaaa	tactcattat	1020
tggacaggaa	aaatgattaa	tcctagtgtg	cctggaggac	ttggagtcac	tgtctgttgg	1080
acttacttca	cccaaactgg	tatgtctgat	gggggtggag	ttcaagatca	ggcaagagaa	1140
aaacatgtaa	aagaagtaat	ctcccaactc	accggggtag	atggcacctc	tagcccttac	1200
aaaggactag	atctctcaaa	actacatgaa	accctccgta	cccatactcg	cctggtaagc	1260
ctattttaata	ccaccctcac	tgggctccat	gaggtctcgg	cccaaaaccc	tactaactgt	1320
tggatatgcc	tccccctgaa	cttcaggcca	tatgtttcaa	tcctgttacc	tgaacaatgg	1380
aacaacttca	gcacagaaat	aaacaccact	tccgttttag	taggacctct	tgtttccaat	1440

ES 2 388 913 T3

```

gtggaataaa cccataacctc aaacctcacc tgtgtaaaaat ttagcaatac tacatacaca 1500
accaactccc aatgcatcag gtgggtaact cctcccacac aaatagtctg cctacctca 1560
ggaatatttt ttgtctgtgg tacctcagcc tatcgttgtt tgaatggctc ttcagaatct 1620
atgtgcttcc tctcattctt agtgccccct atgaccatct acaactgaaca agattttatac 1680
agttatgtca tatctaagcc ccgcaacaaa agagtaccca ttcttccttt tgttatagga 1740
gcaggagtgc taggtgcact aggtactggc attggcggta tcacaacctc tactcagttc 1800
tactacaaac tatctcaaga actaaatggg gacatggaac gggtcgccga ctccctgggc 1860
accttgcaag atcaacttaa ctccctagca gcagtagtcc ttcgaaatcg aagagcttta 1920
gacttgctaa ccgctgagag agggggaacc tgtttatttt taggggaaga atgctgttat 1980
tatgttaatc aatccggaat cgtcactgag aaagtgaag aaattccaga tcgaatacaa 2040
cgtatagcag aggagcttcg aaacactgga ccctggggcc tcctcagccg atggatgccc 2100
tggtattctc ccttcttagg acctctagca gctataatat tgctactcct ctttggaccc 2160
tgtatctttg acctccttgt taactttgtc tcttccagaa tcgaagctgt gaaactacaa 2220
atggagccca agatgcagtc caagactaag atctaccgca gacctctgga ccggcctgct 2280
agcccacgat ctgatgttaa tgacatcaaa ggcacccctc ctgaggaaat ctgagctgca 2340
caacctctac tacgccccaa ttcagcagga agcagttaga gcggtggtcg gccaacctcc 2400
ccaacagcac ttaggttttc ctggtgagat ggggggactga gagacaggac tagctggatt 2460
tcctaggctg actaagaatc cttaagccta ggtgggaagg tgaccacatc cacctttaaa 2520
cacggggctt gcaacttagc tcacacctga ccaatcagag agctcactaa aatgctaatt 2580
aggcaaagac aggaggtaaa gaaatagcca atcatttatt gcctgagagc acagcaggag 2640
ggacaatgat cgggatataa acccaagttt tcgagccggc aacggcaacc ccctttgggt 2700
cccctccctt tgtatgggag ctctgttttc atgctatttc actctattaa atcttgcaac 2760
tgcaaaaaaa aaaaaaaaaa aa                                     2782

```

<210> 27
 <211> 666
 5 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 27

```

tgtccgctgt gctcctgac cagcgaggcg cccattgccg ctcccaattg ggctaaaggc 60
ttgccattgt tctgcacgg ctaagtgcct gggttgttc taattgagct gaacactant 120
cactgggttc catggttctc ttctgtgacc cagcgcttct aatataacta taacacttac 180
cacatggccc aagattccat tccttggaat ccgtgaggcc aagaactcca ggtcagagaa 240
tacgaggctt gccaccatct tggaagcggc ctgctaccat cttggaagtg gttcaccacc 300
atcttgggag ctctgtgagc aaggaccccc cggtaacatt ttggcaacca cgaacggaca 360
tccaaagtga atcgaagctg taaaactaca aatggagccc aagatgcagt ccaagactaa 420
gatctaccgc agacccctgg accggcctgc tagcccacga tctgatgtta atgacatcaa 480
aggcaccctt cctgaggaaa tctcagctgc acaacctcta ctacgcccc attcagcagg 540
aagcagttag agcggtcgtc ggccaacctc cccaacagca cttaggtttt cctgttgaga 600
tgggggactg agagacagga ctagctggat ttcctaggct gactaagaat ccctaagcct 660
agctgg                                     666

```

10 <210> 28
 <211> 3372
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

15 <400> 28

```

gacttcccaa ataccagagg aagcagagtg gtttacagtc ctggaccttc aggatgcctt 60
cttctgcata cctgtacatc ctgactctca attcttgttt gcctttgaag atacttcaaa 120
cccagcatct caactcacct ggactatttt accccaaggg ttcagggata gtccccatct 180
atltggccag gcattagccc aagacttgag ccaatcctca tacctggaca cttgtccttc 240
ggtaggtgga tgatttactt ttggcgcgcc attcagaaac cttgtgccat caagccaccc 300
aagcgtctct caatttcttc gctacctgtg gctacatggg ttccaaacca aaggctcaac 360
tctgctcaca gcaggttact tagggctaaa attatccaaa ggcaccaggg ccctcagtga 420

```

```

ggaacacatc cagcctatac tggettatac tcatcccaaa accctaaagc aactaagggg 480
attccttggc gtaataggtt tctgccgaaa atggattccc aggtatggcg aaatagccag 540
gtcattaaat acactaatta aggaaactca gaaagccaat acccatttag taagatggac 600
aactgaagta gaagtggcct tccaggccct aacccaagcc ccagtgttaa gtttgccaac 660
agggcaagac ttttgttcat atgtcacaga aaaaacagga atagctctag gagtccttac 720
acagatccga gggatgagct tgcaacctgt ggcacacctg actaaggaaa ttgatgtagt 780
ggcaaagggg tgacctcatt gtttacgggt agtggtgcca gtagcagtct tagtatctga 840
agcagttaaa ataatacagg gaagagatct tactgtgtgg acatctcatg atgtgaatgg 900
catactcact gctaaaggag acttgtgggt gtcagacaac tgtttactta aatgtcaggc 960
tctattactt gaagggccag tgctgcgact gtgcacttgt gcaactctta acccagccac 1020
atctcttcca gacaatgaag aaaagataaa acataactgt caacaagtaa tttctcaaac 1080
ctatgccact cgaggggacc ttttagaggt tcctttgact gatcccgacc tcaacttgta 1140
tactgatgga agttcctttg tagaaaaagg acttcgaaaa gtggggtatg cagtggtcag 1200
tgataatgga atacttgaaa gtaatccctt cactccagga actagtgtct agctagcaga 1260
actaatagcc ctcacttggg cactagaatt aggagaagaa aaaagggcaa atataatata 1320
gactctaaat atgcttacct agtcttccat gcccatgcag caatatggaa agaaagggaa 1380
ttcctaactt ctgagagaac acctatcaaa cctcaggaag ccattaggaa attattattg 1440
gctgtacaga aacctagaga ggtggcagtc ttacactgcc ggggtcatca caaaggaaaag 1500
gaaagggaaa tacaagagaa ctgccagca tatattgaag ccaaaaagagc tgcaaggcag 1560
gacctccat tagaaatgct tattaactt cccttagtat agggtaatcc cttccgggaa 1620
accaagcccc agtactcagc aggagaaaca gaatggggaa cctcacgagg cagttttctc 1680
ccctcgggac ggtagccac tgaagaaggg aaaatacttt tgcttgcaac tatccaatgg 1740
aaattactta aaaccttca tcaaaccttt cacttaggca tcgatagcac ccatcagatg 1800
gccaaatcat tatttactgg accaggcctt ttcaaaacta tcaagcagat agtcaggggc 1860
tgtgaagtgt gccagagaaa taatcccctg ccttatcgcc aagctccttc aggagaacaa 1920
agaacaggcc attaccctgg agaagactgg caactgattt taccacaaag cccaaacctc 1980
agggatttca gtatctacta gtctgggtag atactttcac ggggttgggca gaggccttcc 2040
cctgtaggac agaaaaggcc caagaggtaa taaaggcact agttcatgaa ataattccca 2100
gattcggact tccccgaggc ttacagagtg acaatagccc tgctttccag gccacagtaa 2160
cccagggagt atcccaggcg ttaggtatac gatatactt acactgcgcc tgaaggccac 2220
agtctcagc gaaggctcag aaaatgaatg aaacactcaa aggacatcta aaaaagcaaa 2280
cccaggaaaac ccacctcaca tggcctgttc tgttgccat agccttaaaa agaattcgca 2340
actttcccca aaaagcagga cttagcccat acgaaatgct gtatggaagg ccttccataa 2400
ccaatgacct tgtgcttgac ccaagacagc caacttagtt gcagacatca cctccttagc 2460
caaatatcaa caagttctta aaacattaca aggaacctat ccctgagaag aggaaaagaa 2520
tattccacc aagtgcacatg gtattagtca agtcccttcc ctctaattcc ccacccctag 2580
atacatcctg ggaaggaccc taccagtc a ttttatctac cccaactgcg gttaaagtgg 2640
ctggagtgga gtcttgata catcacactt gagtcaaate ctggatactg ccaaaggaaac 2700
ctgaaaatcc aggagacaac gctagctatt cctgtgaacc tctagaggat ttgcgcctgc 2760
tcttcaaaca acaaccagga ggaaaaatcg aagctgtaaa actacaaatg gagcccaaga 2820
tgcagtccaa gactaagatc taccgcagac ccctggaccg gcctgttagc ccacgatctg 2880
atgttaatga catcaaaggc acccctcctg aggaaatctc agctgcacaa cctctactac 2940
gccccaatc agcaggaagc agttagagcg gtcgtcgcc aacctcccca acagcactta 3000
ggttttcctg ttgagatggg ggactgagag acaggactag ctggatttcc taggctgatt 3060
aagaatccct aagcctagct gggaagggtga ccacatccac ctttaaacac ggggcttgca 3120
acttagctca cacctgacca atcagagagc tcaataaaat gctaattagg caaagacagg 3180
aggtaaagaa atagccaatc atttattgcc tgagagcaca gcaggaggga caatgatcgg 3240
gatataaacc caagttttcg agccggcaac ggcaaccccc tttgggtccc ctccctttgt 3300
atgggagctc tgttttcatg ctatttcact ctattaaatc ttgcaactgc aaaaaaaaaa 3360
aaaaaaaaaa aa 3372

```

<210> 29
 <211> 2372
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 29

```

actgcactct tctggtecat gtttcttacg gctcgagctg agcttttget caccgtccac 60
cactgctgtt tgccaccacc gcagacctgc cgctgactcc catccctctg gatcctgcag 120
ggtgtccgct gtgctcctga tccagcgagg cgccatttgc cgctcccaat tgggctaaag 180
gcttgccatt gttcctgcac ggctaagtgc ctgggtttgt tctaattgag ctgaacacta 240
atcactgggt tccatggttc tcttctgtga cccacggctt ctaatagaac tataacactt 300
accacatggc ccaagattcc attccttggg atccgtgagg ccaagaactc caggtcagag 360
aatacgaggc ttgccaccat cttggaagcg gctgtctacc gtcttggaag tggttcacca 420
ccatcttggg agctctgtga gcaaggaccc cccggttaaca ttttggcaac caacgacgga 480
catccaaagt gatgggaaac gttccccgca agacaaaaac gcccctaaga cgtattctgg 540
agaattggga ccaatttgac cctcagacac taagaaagaa acgacttata ttcttctgca 600
gtgccgcctg gcactcctga ggggaagtata aattataaca ccatcttaca gctagacctc 660
ttttgtagaa aaggcaaagt gagtgaagtgc ccataagtac aaactttctt ttcatataga 720
gacaactcac aattatgtaa aaagtgtgat ttatgcccta caggaagcct tcagagtcta 780
cctccctatc ccagcatccc cgactccttc cccaactaat aaggaccccc cttcaaccca 840
aatggtccaa aaggagatag acaaaagggt aaacagtga ccaaagagtg ccaatattcc 900
ccaattatga cccctccaag cagtgggagg aagagaattc ggcccagcca gagtgcattg 960
gcctttttct ctcccagact taaagcaaat aaaaacagac ttaggtaaat tctcagataa 1020
ccctgatggc tatattgatg ttttacaagg gttaggacaa ttctttgatc tgacatggag 1080
agatataatg tcaactgtaa atcagacact aaccccaaat gagagaagtgc ccaccataac 1140
tgcagcctga ggggttggcg tctctggtat ctgagtcagg tcaatggata nggatgacaa 1200
cagaaggaaa ganaatgatt cccacacagg cagcaggcag ttcccagctc agaccctcat 1260
tgggacacag aatcagaaca tggagattgg tgctgcagac atttgctaac ttgtgtgcta 1320
gaaggactaa ggaaaactag gaagaagtct atgaattact caatgatgtc caccataaca 1380
cagggaaggg aagaaaactc tactgccttt ctggagagac taaggagggc attgaggaag 1440
cgtgcctctc tgtcacctga ctctctgaa ggccaactaa tcttaaagcg taagtttctc 1500
actcagtcag ctgcagacat tagaaaaaac ttcaaaagtc tgccgtaggc ccggagcaaa 1560
acttagaaac cctattgaac ttggcaacct cgggttttta taatagagat caggaggagc 1620
aggcggaaca ggacaaacgg gattaaaaaa aaggccaccg ctttagtcat gaccctcagg 1680
caagtggact ttggaggctc tggaaaaggg aaaagctggg caaattgaat gcctaataag 1740
gcttgcttcc agtgcggtct acaaggacac tttaaaaaag attgtccaag tagaagtaag 1800
ccgccccttc gtccatgccc cttatttcaa gggaatcact ggaaggccca ctgccccagg 1860
ggacaaaggt cttttgagtc agaagccact aaccagatga tccagcagca ggactgaggg 1920
tgcttggggc aagcgccatc ccatgccatc accctcacag agccctgggt atgcttgacc 1980
attgagggcc aggaagggtg tctcctggac actggtgcgg tcttcttagt cttactcttc 2040
tgtcccggac aactgtctc cagatctgtc actattctga gggggtcctt aagacgggca 2100
gtcactagat actttttccc agccactaag ttatgaactg gggagcttta ttcttttcac 2160
atgcttttct aattatgctt gaaagcccca ctacctgtt agggagagac attctagcaa 2220
aagcaggggc cattatacac ctgaacatag gagaaggaac acccgtttgt tgncccttg 2280
cttgaggaag gaattaatcc tgaagtctgg gcaacagaag gacaatatgg acgagccaaa 2340
gaatgcccg cctgttcaag ttaaactaaa gg 2372

```

<210> 30

<211> 7582

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 30

```

caacaatcgg gatataaacc caggcattcg agctggcaac agcagccccc ctttgggtcc 60
cttccctttg tatgggagct gttttcatgc tatttctactc tattaaatct tgcaactgca 120
ctcttctggg ccatgtttct tacggctcga gctgagcttt tgctcaccgt ccaccactgc 180
tgtttgccac caccgcanac ctgccgctga ctcccatccc tctggatcct gcagggtgtc 240
cgctgtgtct ctgatccagc gargcgccca ttgccgctcc caattgggct aaaggcttgc 300
cattgtncct gcacgggctaa gtgcctgggt ttgttctaata tgagctgaac actantcact 360
gggttccatg gttctcttct gtgaccacg gcttctaata kaactataac acttaccaca 420
tggcccaaga ttccattcct tggaatccgt gaggscaacg aactccaggc cagagaatac 480
gargcttgcc accatcttgg aagcggcctg ctaccrtctt ggaagtgggt caccaccatc 540
ttgggagctc tgtgagcaag gaccccccg traccatttg gcraccamsr acggacatcc 600

```

maagtgatgg	gaaacggtcc	ccgcaagaca	aaaacgcccc	taagacgtat	tctggaraat	660
tgggamcaat	ttgaccctca	gacactaaga	aagaaacgac	ttatatctct	ctgcagtgcc	720
gcctggcact	cctgagggaa	gtataaatta	taacaccatc	ttacagctag	acytcttttg	780
tagaaaaggc	aaatggagtg	aagtgccata	agtacaaact	ttcttttcat	taagagacaa	840
ctcacaatta	tgtaaaaagt	gtgatttatg	ccctacagga	agccttcaga	gtctacctcc	900
ctatcccagc	atccccgact	ccttccccam	ytaataagga	cccccttca	acccaaatgg	960
tccaaaagga	gatagacaaa	agggtaaaac	gtgaaccaa	gagtgccaat	attccccaat	1020
tatgaccctt	cccaagcagt	gggaggaaga	gaattcggcc	cagccagagt	gcattgtgcyt	1080
tttyytctcc	cagacttaaa	gcaaataaaaa	acagacttag	gtaaattctc	agataaaycct	1140
gatggctata	ttgrtggttt	acaagggtta	ggacaattct	ttgatctgac	atggagagat	1200
atatatgtca	ctgctaaatc	agacactaac	cccaaattag	agaagtgcc	ccataactgc	1260
agcctgagrg	tttggcgagc	tctgggtatct	cagtcaggtc	aatggatang	gatgacaaca	1320
gaaggaaaga	naatgattcc	ccacaggcca	gcargcagtt	cccagctctas	accctcattg	1380
gggacacaga	aatcagtaac	atgggagatt	ggtgctgcag	acatttgcta	acttgtgtgc	1440
tasaaggact	aaggaaaact	asgaagaaar	tctaygaatt	actcaatgat	gtccaccata	1500
acacagggga	agggaaagaa	atcctactgc	ctttctggag	agactaaggg	aggcattgag	1560
gaagcgtgcc	tctctgtcac	ctgactcttc	tgaaggccaa	ctaattctta	agcgtaaagt	1620
tatcactcag	tcagctgcag	acattagaaa	aaacttcaaa	agtctgccgt	aggcccggag	1680
caaaacttag	aaaccctatt	gaacttggca	acytcggttt	tttataatag	agatcaggag	1740
gagcaggcgg	aacaggacaa	acgggattaa	aaaaaaggcc	accgcttttag	tcatgaccct	1800
caggcaagtg	gactttggag	gctctggaaa	agggaaaagc	tgggcaaatt	gaatgcctaa	1860
tagggcttgc	ttccagtgcg	gtctacaagg	acacttttaa	aaagattgtc	caagtagaag	1920
taagccgccc	cttctgtccat	gccccttatt	tcaagggaat	caactggaag	cccactgccc	1980
caggggacaa	aggtcttttg	agtcagaagc	cactaacccag	atgatccagc	agcaggactg	2040
agggtgccctg	gggcaagcgc	catcccatgc	catcaccttc	acagagccct	gggtatgctt	2100
gaccatttag	ggccaggaag	gttgtctcct	ggacactggt	gcgggtcttct	tagtcttact	2160
cttctgtccc	ggacaactgt	cctccagatc	tgtcactatt	ctgagggggg	ccntaagacg	2220
ggcagtcact	agatacttty	tcccagccac	taagttatga	actggggagc	tttattcttt	2280
tcacatgctt	ttctaattat	gcttgaaagc	cccactacct	tgttagggag	agacattcta	2340
gcaaaagcag	gggccattat	acacctgaac	ataggagaag	gaacacccgt	ttgttgtnc	2400
cctgcttgag	gaagggaatt	atcctgaagt	ctgggcaaca	gaaggacaat	atggacgagc	2460
caaagaatgc	ccgtcctgtt	caagttaaac	taaaggatct	cacttccctt	ccctaccaa	2520
ggcagtagcc	cctcagaccc	aaggcccaac	aaggattcca	aaagattggt	aaggacttaa	2580
aagcccaagg	cttagtaaaa	ccatgcataa	ctccctgcag	taattccgta	gtggattgag	2640
gaggcacaga	aaccagtggt	acagtgagg	gttagtgcaa	gatctcagga	ttatcaatgg	2700
aggccgttgt	cctttttatac	ccagctgtac	ctagccctta	tactgtgmyt	ttccaaatac	2760
cagaggaagc	agagtgggtt	acastcctgg	accttmagga	tgccttcttc	tgcattccctg	2820
tacatcctga	ctctcaattc	ttgtttgcct	ttgaagatac	ttcaaacc	rcatctcaac	2880
tcacctggac	trttttaccc	caagggttca	gggatagyc	ccatctatct	ggccaggcat	2940
tagcccaaga	cttgagycar	tymtcatacc	tggacactct	tgtccttctg	takgtggatg	3000
atttactttt	rgcygccyr	tcagaaacct	tgtgacctca	agccacccaa	gcrctcttma	3060
atttctctgc	yacctgtggc	tacawgggtt	tcaaacsara	rgctcarctc	tgctcacagc	3120
aggttaaata	cttaggrcta	arattatcca	aaggcaccar	ggccctcagt	gggaaayrya	3180
tccagcctat	actggcttat	cctcatcyca	aaaccctaaa	gcaactaagr	grttctcttg	3240
gcrtaayagg	yttctgccga	awatggattc	cccaggtwtg	gcraaatagc	caggycatta	3300
watacastaa	ttaaggaaac	tcagaaagcc	aatacccat	tartaagatg	gayamctgaa	3360
gymraagtgg	ctttccaggc	ccctaaagaa	ggccttaaac	ccaagyccca	gtgttaagyt	3420
tgccaacrgg	gcaagacttt	tsttyatayr	tcacagaaaa	aaacagraay	agctctrugga	3480
gtccttacac	agrtccragg	gaygagcttg	caaccyrtyg	cryacctgas	taaggaaayt	3540
gatgtagtgg	caaagggttg	rcytcattgt	ttaygggtag	tggtggcagt	agcagtykta	3600
gtatctgaag	cagttaaaat	aatacaggg	agagatctta	ctgtgtggac	atctcatgak	3660
gtgaayrgca	tactcactgc	taaaggagac	ttgtggctgt	cagacaacyg	tttacttaaa	3720
trtcaggctc	tattacttga	arggccagtg	ctgcractgt	gcacttgtgc	aactcttaac	3780
ccagycncat	ttcttccaga	caatgaagaa	aagataraay	ataactgtca	acaartaatt	3840
tctcaaacct	atgccactcg	aggggacctt	ytagargttc	cyttgactga	tccygacctt	3900
caacttgat	actgatggaa	gttctcttgt	agaaaaagga	cttcgaaaag	ygggggtatgc	3960
agtggtcagt	gataatggaa	tayttgaaag	taatcccttc	actccaggaa	ctagtgtcta	4020
gctrgcagaa	ctaatagccy	tcaytkgggc	actagaatta	ggagaagraa	aaaggggyaaa	4080

tatatataca	gactctrart	atgctyacct	agtcttccat	gccccatgmrg	caatatgsar	4140
agaaagggaa	ttcctaactt	cygagrgaac	acctatcama	catcaggaag	ccattaggar	4200
attattaytg	gcwgtacaga	aacctaraga	ggtggmagtc	ttacactgcy	ggggtcacat	4260
naaaggaaag	raaagggaaa	tasaagrcaa	ytgccaaagca	katattgaag	cmaaaagagc	4320
tgcaaggcag	gacctcccat	tagaaatgct	tattaaactt	cccttagtat	agggtaatcc	4380
cttcggggaa	accaagcccc	agtactcagc	aggagaaaca	gaatggggaa	cctcacgagg	4440
cagttttctc	ccctcgggac	ggttagccac	tgaagaaggg	aaaatacttt	tgcttgcaac	4500
tatccaatgg	aaattactta	aaacccttca	tcaaaccctt	cacttaggca	tcgatagcac	4560
ccatcaratg	gccaatcat	tatttactgg	accaggcctt	ttcaaaacta	tcaagcarat	4620
aktcagggcc	tgtgaaktgt	gccararaaa	taatcccctg	cctyatcgcc	aagctccttc	4680
aggaraacaa	araacaggcc	attaccctgr	araaractgg	caactgattt	taccacaag	4740
cccaaaccctc	agggatttca	gtatctacta	gtctgggtar	atactttcac	gggttgggca	4800
raggccttcc	cctgtaggac	agaaaaggcc	caagaggtta	taaaggcact	agttcatgaa	4860
ataattccca	gattcggact	tccccgaggc	ttacagagtg	acaatagccc	tgctttccag	4920
gccacagtaa	cccagggagt	atcccaggcg	ttaggtatac	gatatactt	acactgcgcc	4980
tgaaggccac	agtcctcagg	gaaggctcag	aaaatgaatg	aaayactcaa	aggacatcta	5040
aaaaagcaaa	cccaggaaac	ccacctcaca	tggcctgytc	tggtgcctat	agccttaaaa	5100
agaatctgca	actttcccca	aaaagcagga	cttagcccat	acgaaatgct	gtatggaagg	5160
cccttcataa	ccaatgacct	tgtgcttgac	ccaagacagc	caacttagtt	gcagacatca	5220
cctccttagc	caaatatcaa	caagttctta	aaacattaca	aggaacctat	ccctgagaag	5280
agggaaaaga	actatccac	ccwgtgaca	tgggtattagt	caagtccctt	cyccttaatt	5340
ccccatccct	agatacatcc	tgggaaggac	cctaccagct	cattttatyt	accccaactg	5400
cggttaaagt	ggctggagt	gagtccttga	tacatcacac	ttgagtcaaa	tcctggatac	5460
tgccaaagga	acctgaaaa	ccaggagaca	acgctagcta	ttcctgtgaa	cctctagagg	5520
atttgcgctt	gctcttcaaa	caacaaccag	gaggaaagta	actaaaatca	taaaaccccc	5580
atgsgcctcc	cttatcatat	ttttctctkt	astgttsttt	yacctsttt	cactctcact	5640
gcacccctcc	catgccgtg	tatgaccagt	agctccccty	accmagagtt	tctatggaga	5700
atgcagcgct	ccggaaatat	tgatgcccc	tcgtatagga	gtctttstaa	gggaaccccc	5760
accttcaactg	cccacacca	tatgccccgc	aactgctatc	actctgccac	tctttgcatg	5820
catgcaaata	ctcattattg	gacaggaaaa	atgattaatc	ctagtgtgcc	tgaggagactt	5880
ggagtcactg	tctgttgga	ttacttcacc	caaactggta	tgtctgatgg	gggtggagtt	5940
caagatcagg	caagagaaaa	acatgtaaaa	gaagtaatct	cccaactcac	csgggtacat	6000
ggcacctcta	gccccataca	aggactagat	ctctcaaaac	tacatgaaac	cctccgtacc	6060
catactcgcc	tggttaagcct	atttaataacc	accctcactg	ggctccatga	ggtctcggcc	6120
caaaacccta	ctaactgttg	gatatgcctc	cccctgaact	tcargccata	tgtttcaatc	6180
cctgtacctg	aacaatggaa	caacttcagc	acagaaataa	acaccacttc	cgtttttagta	6240
ggacctcttg	tttccaatst	ggaaataacc	catacctcaa	acctcacctg	tgtaaaattt	6300
agcaatacta	catacacaac	caactcccaa	tgcatcaggt	gggtaaactcc	tcccacacaa	6360
atagtcctgcc	tacctcagg	aatatttttt	gtctgtggta	cctcagccta	tcgttgtttg	6420
aatggctctt	cagaatctat	gtgcttcctc	tcattcttag	tgcccccya	grccatctac	6480
actgaacaag	atttatacag	ttatgtcata	tctaagcccc	gcaacaaaag	agtaacctat	6540
cttccttttg	ttataggagc	aggagtgtca	ggtgcactag	gtactggcat	tggcgggtatc	6600
acaacctcta	ctcagttcta	ctacaaacta	tctcaagaac	taaatgggga	catggaacgg	6660
gtcgccgact	ccctggtcac	cttgcaagat	caacttaact	ccctagcagc	agtagtcctt	6720
craaatcgaa	gagctttaga	ctygctaacc	gctgaragag	ggggaacctg	tttatttttta	6780
ggggaagaat	gctgttatta	tgttaatcaa	tccggaatcg	tcactgagaa	agtttraagaa	6840
attcsagatc	gaatacaacg	takagcagar	gagcttcgaa	acactggacc	ctggggcctc	6900
ctcagccrat	ggatgccttg	gattctcccc	ttcttaggac	ctctagcagc	tataatattg	6960
ctactcctct	ttggaccttg	tatctttrac	ctccttggtta	actttgtctc	ttccagaatc	7020
gaagctgtra	aactacaaat	ggagcccaag	atgcagtcga	agactaagat	ctaccgcaga	7080
cccctggacc	ggcctgytag	cccacgatct	gatgttaatg	acatcaaagg	caccctcct	7140
gaggaaatct	cagctgcaca	acctctacta	cgcccccaatt	cagcaggaag	cagttagagc	7200
ggtsgtcggc	caacctcccc	aacagcactt	aggttttcct	gttgagatgg	gggactgaga	7260
gacaggacta	gctggatttc	ctaggctgay	taagaatccy	taagcctags	tggaagggtg	7320
accacatcca	ccttttaaca	cggggcttgc	aacttagytc	acacctgacc	aatcagagag	7380
ctcactaaaa	tgctaattag	gcaaagacag	gaggtaaaga	aatagccaat	catytattgc	7440
mtgagagcac	agcaggaggg	acaatgatcg	ggatataaac	ccaagtytcc	gagccggcaa	7500
cggcaacccc	ctttgggtcc	cctccctttg	tatgggagct	ctgttttcat	gctatttcac	7560

tctattaaat cttgcarctg cr

7582

<210>31

<211>363

<212> PRT

<213> Homo sapiens

5

<400> 31

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

ES 2 388 913 T3

				260					265					270			
Ser	Glu	His	Gly	Asp	Trp	Cys	His	Lys	His	Leu	Leu	Thr	Cys	Val	Leu		
		275						280				285					
Glu	Gly	Leu	Arg	Lys	Thr	Arg	Lys	Lys	Pro	Met	Asn	Tyr	Ser	Met	Met		
	290						295				300						
Ser	Thr	Ile	Thr	Gln	Gly	Lys	Glu	Glu	Asn	Pro	Thr	Ala	Phe	Leu	Asp		
305					310					315					320		
Arg	Leu	Arg	Glu	Ala	Leu	Arg	Lys	His	Thr	Ser	Leu	Ser	Pro	Asp	Ser		
				325					330					335			
Ile	Glu	Gly	Gln	Leu	Ile	Leu	Lys	Asp	Lys	Phe	Ile	Thr	Gln	Ser	Ala		
			340					345					350				
Ala	Asp	Ile	Arg	Lys	Asn	Phe	Lys	Ser	Leu	Pro							
	355						360										

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de detección de un fragmento nucleico endógeno que pertenece al gen gag del retrovirus humano endógeno HERV-W, en una muestra biológica, que comprende las etapas siguientes:

- 5 - extraer el ADN celular de dicha muestra,
- amplificar el ADN extraído con una sonda seleccionada de entre SEC ID nº: 4 a 9 y 12 a 17,
- efectuar una etapa de transcripción/traducción *in vitro* del producto amplificado,
- 10 - hacer reaccionar el producto procedente de la etapa de transcripción/traducción con un suero o un plasma de un paciente que presenta la esclerosis en placas, y
- detectar por lo menos un producto de expresión seleccionado de entre un ARN mensajero cuya traducción conduce a un polipéptido que consiste en SEC ID nº 31 y un polipéptido que consiste en SEC ID nº 31.
- 15

Fig. 1

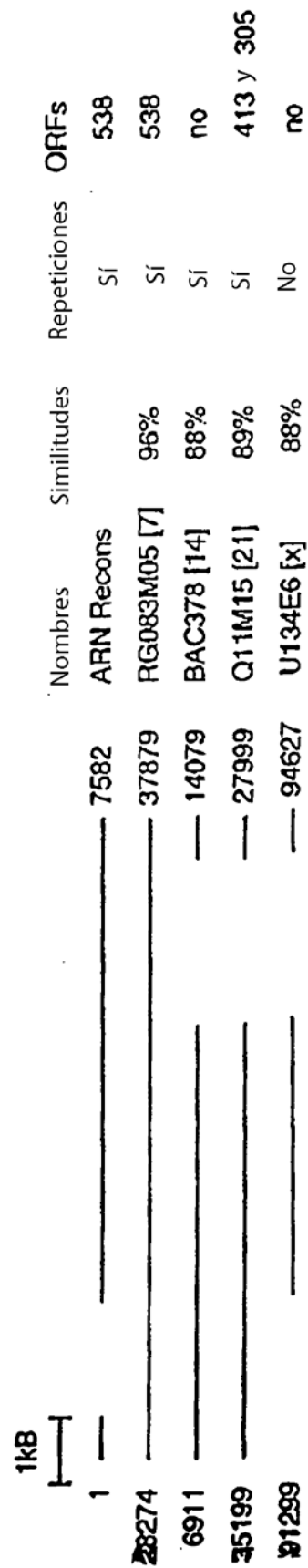


Fig. 2

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
OCTAGAACGT	ATTCTGGAGA	ATTGGGACCA	ATGTGACACT	CAGACGCTAA	50
P R T Y	S G E	L G P	M . H S	D A K	
L E R	I L E N	W D Q	C D T	Q T L R	
. N V	F W R	I G T N	V T L	R R .	
GAAAGAAACG	ATTTATATTC	TTCTGCAGTA	CGCCTGGCC	ACAATATCCT	100
K E T	I Y I L	L Q Y	R L A	T I S S	
K K R	F I F	F C S T	A W P	Q Y P	
E R N D	L Y S	S A V	P P G H	N I L	
CTTCAAGGGA	GAGAAACCTG	GCTTCTGAG	GGAAGTATAA	ATTATAACAT	150
S R E	R N L	A S .	G K Y K	L . H	
L Q G R	E T W	L P E	G S I N	Y N I	
F K G	E K P G	F L R	E V .	I I T S	
CATCTTACAG	CTAGACCTCT	TCTGTAGAAA	GGAGGGCAAA	TGGAGTGAAG	200
H L T A	R P L	L . K	G G Q M	E . S	
I L Q	L D L F	C R K	E G K	W S E V	
S Y S	. T S	S V E R	R A N	G V K	
TGCCATATGT	GCAAACITTC	TTTTCATTAA	GAGACAATC	ACAATTATGT	250
A I C	A N F L	F I K	R Q L	T I M .	
P Y V	Q T F	F S L R	D N S	Q L C	
C H M C	K L S	F H .	E T T H	N Y V	
AAAAAGTGTG	GTTTATGCCC	TACAGGAAGC	CCTCAGAGTC	CACCTCCCTA	300
K V W	F M P	Y R K P	S E S	T S L	
K K C G	L C P	T G S	P Q S P	P P Y	
K S V	V Y A L	Q E A	L R V	H L P T	
CCCCAGGGTC	CCCTCCCCGA	CTCCTTCTC	AACTAATAAG	GACCCCCCTT	350
P Q R P	L P D	S F L	N . .	G P P F	
P S V	P S P T	P S S	T N K	D P P L	
P A S	P P R	L L P Q	L I R	T P L	
TAACCCAAAC	GGTCCAAAAG	GAGATAGACA	AAGGGGTAAA	CAATGAACCA	400
N P N	G P K G	D R Q	R G K	Q . T K	
T Q T	V Q K	E I D K	G V N	N E P	
. P K R	S K R	R . T	K G .	T M N Q	
AAGAGTGGCA	ATATTCCCCG	ATTATGCCCC	CTCCAAGCAG	TGAGAGGAGG	450
E C Q	Y S P	I M P P	P S S	E R R	
K S A N	I P R	L C P	L Q A V	R G G	
R V P	I F P D	Y A P	S K Q	. E E E	
AGAATTGGGC	CCAGCCAGAG	TGCGTGTAAC	TTTTTCTCTC	TCAGACTTAA	500
R I R P	S Q S	A C T	F F S L	R L K	
E F G	P A R V	P V P	F S L	S D L K	
N S A	Q P E	C L Y L	F L S	Q T .	

Fig. 2 (continuación)

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
AGCAAATTAA	AATAGACCTA	GGTAAATTCT	CAGATAAACC	TGACGGCTAT	550
A N .	N R P R .	I L R .	P .	R L Y	
Q I K	I D L	G K F S	D N P	D G Y	
S K L K	. T .	V N S	Q I T L	T A I	
ATTGATGTTT	TACAAGGGTT	AGGACAATCC	TTTGATCTGA	CATGGAGAGA	600
. C F	T R V	R T I L	. S D	M E R	
I D V L	Q G L	G Q S	F D L T	W R D	
L M F	Y K G .	D N P	L I .	H G E I	
TATAATGTTA	CTACTAAATC	AGACACTAAC	CCCAATGAG	AGAAGTGOOG	650
Y N V T	T K S	D T N	P K .	E K C R	
I M L	L L N Q	T L T	P N E	R S A A	
. C Y Y .	I R H .	P	Q M R	E V P	
CTGTAACTGC	AGCCCCGAGAG	TTTGGCGATC	TTTGGTATCT	CAGTCAGGCC	700
C N C	S P R V	W R S	L V S	Q S G Q	
V T A	A R E	F G D L	W Y L	S Q A	
L .	L Q	P E S	L A I	F G I S .	V R P
AACAATAGGA	TGACAACAGA	GGAAAGAACA	ACTCCACAG	GCCAGCAGGC	750
Q .	D D N R	G K N N	S H R	P A G	
N N R M	T T E	E R T	T P T G	Q Q A	
T I G	. Q Q R	K E Q	L P Q	A S R Q	
AGTTCOCAGT	GTAGACCTTC	ATTGGGACAC	AGAATCAGAA	CATGGAGATT	800
S S Q C	R P S	L G H	R I R T	W R L	
V P S	V D P H	W D T	E S E	H G D W	
F P V	. T L	I G T Q	N Q N	M E I	
GGTGGCACAA	ACATTTCCTA	ACTTGGGTGC	TAGAAGGACT	GAGGAAACT	850
V P Q	T F A N	L R A	R R T	E E N .	
C H K	H L L	T C V L	E G L	R K T	
G A T N	I C .	L A C	. K D .	G K L	
AGGAAGAAGC	CTATGAATTA	CTCAATGATG	TCCACTATAA	CACAGGGAAA	900
E E A	Y E L	L N D V	H Y N	T G K	
R K K P	M N Y	S M M	S T I T	Q G K	
G R S	L .	I T Q .	C P L .	H R E R	
GGAAGAAAAT	CTTACTGCTT	TTCTGGACAG	ACTAAGGGAG	GCATTGAGGA	950
G R K S	Y C F	S G Q	T K G G	I E E	
E E N	L T A F	L D R	L R E	A L R K	
K K I	L L L	F W T D	. G R H .	G	
AGCATACCTC	CCTGTCAOCT	GACTCTATTG	AAGGCCAACT	AATCTTAAAG	1000
A Y L	P V T .	L Y .	R P T	N L K G	
H T S	L S P	D S I E	G Q L	I L K	
S I P P	C H L	T L L	K A N .	S . R	

Fig. 2 (continuación)

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
GATAAGTTTA	TCACTCAGTC	AGCTGCAGAC	ATTAGAAAAA	ACTTCAAAAG	1050
. V Y H S V	S C R H .	K K L Q K			
D K F I T Q S	A A D I R	K N F K S			
I S L S L S Q	L Q T L E	K T S K V			
TCTGCCTTAG ¹	GCCCCGAGCA	GAACCTTAGAA	ACCCTATTTA	ACTTGGCATC	1100
S A L G P E Q	N L E T L	F N L A S			
L P . A R S R	T . K P Y	L T W H P			
C L R P G A	E L R N P	I . L G I			
CTCAGTTTTT	TATAATAGAG	ATCAGGAGGA	GCAGGGGAAA	CGGGACAAAC	1150
S V F Y N R D	Q E E Q A K	R D K R			
Q F F I I E	I R R S R R N	G T N			
L S F L . . R	S G G A G E T	G Q T			
GGGATAAAAA	AAAAAGGGGG	GGTCCACTAC	TTTAGTCATG	GCCCTCAGGC	1200
D K K K R G	G P L L . S	W P S G			
G I K K K G G	V H Y F S H	G P Q A			
G . K K K G G	S T T L V M	A L R Q			
AAGCAGACTT	TGGAGGCTCT	GCAAAAGGGA	AAAGCTGGGC	AAATCAAATG	1250
K Q T L E A L	Q K G K A G	Q I K C			
S R L W R L C	K R E K L G	K S N A			
A D F G G S	A K G K S W	A N Q M			
OCTAATAGGG	CTGGCTTCCA	GTGGGGTCTA	CAAGGACACT	TTAAAAAAGA	1300
L I G L A S S	A V Y K D T	L K K I			
. . G W L P	V R S T R T L	. K R			
P N R A G F Q	C G L Q G H F	K K D			
TTATCCAAGT	AGAAATAAGC	CGCCCCCTTG	TCCATGCCCC	TTAGTCAAG	1350
I Q V E I S	R P L V H A P	Y V K			
L S K . K . A	A P L S M P L	T S R			
Y P S R N K P	P P C P C P	L R Q G			
GGAATCACTG	GAAGGCCCCAC	TGCCCCAGGG	GATGAAGATA	CCTCGAGTCA	1400
G I T G R P T	A P G D E D T	L S Q			
E S L E G P L	P Q G M K I	L . V R			
N H W K A H	C P R G . R Y	S E S			
GAAGCATTA	ACCAGATGAT	CCAGCAGCAG	GACTGAGGGT	GCCCCGGGGG	1450
K P L T R . S	S S R T E G	A R G E			
S H . P D D	P A A G L R V	P G A			
E A I N Q M I	Q Q Q D . G C	P G R			
AGCCCCAGCC	CATGCCATCA	CCCTCACAGA	GCCCCGGGTA	TGTTTGACCA	1500
R Q P M P S	P S Q S P G Y	V . P			
S A S P C H H	P H R A P G M	F D H			
A P A H A I T	L T E P R V	C L T I			

Fig. 2 (continuación)

10	20	30	40	50
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890
TTGAGAGCCA A				1511
L	R	A		
.	E	P		
E	S	Q		