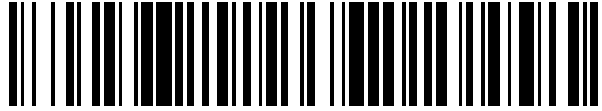


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 445 709**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.12.2010 E 10197481 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.12.2013 EP 2471949**

54 Título: **Método para la identificación por técnicas moleculares de variantes genéticas que no codifican antígeno D (D-) y codifican antígeno C alterado (C+W)**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.03.2014

73 Titular/es:

**PROGENIKA BIOPHARMA, S.A. (100.0%)
Parque Tecnológico de Vizcaya, Edificio 504
48160 Derio, Bizkaia , ES**

72 Inventor/es:

**OCHOA, JORGE;
LOPEZ, MONICA;
TEJEDOR, DIEGO;
MARTINEZ, ANTONIO y
SIMON, LAUREANO**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 445 709 T3

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

DESCRIPCIÓN

Método para la identificación por técnicas moleculares de variantes genéticas que no codifican antígeno D (D-) y codifican antígeno C alterado (C+W)

5

Campo de la invención

La invención se refiere a métodos para genotipación y determinación de antígenos de células sanguíneas, que en particular pueden diferenciar las variantes de grupo sanguíneo de tipo *RHD*DIlla-CE(4-7)-D* o *RHD*DIlla-CE(4-7)-D*, que expresan el antígeno C^{+W} y carecen de un antígeno D, de *RHD*DIlla*, *RHD*DIva-2* y otras variantes de grupo sanguíneo. La invención también se refiere a productos, en particular sondas, cebadores y kits para su uso en dichos métodos.

10

Antecedentes de la invención

15

El éxito de la transfusión sanguínea depende con frecuencia del grado de compatibilidad entre el donante y el receptor. El grado de compatibilidad, a su vez, está en función de la similitud en contenido de antígeno de glóbulos rojos (RBC) entre el donante y el receptor. La mayoría de los antígenos de RBC en un individuo pueden predecirse de una manera sencilla a partir del análisis de su ADN genómico. Por lo tanto, puede usarse análisis del ADN del donante y/o receptor para predecir el grado de compatibilidad y de este modo permitir la práctica de transfusión sanguínea apropiada.

20

Las reacciones hemolíticas son más habituales en individuos con múltiples transfusiones que con transfusiones individuales, no solamente por la mayor probabilidad de dicho acontecimiento a medida que aumenta el número de unidades transfundidas, sino también debido a la naturaleza dirigida por memoria inmunológica acumulativa de la respuesta inmunitaria en el receptor. Un ejemplo de una afección cuyo tratamiento incluye transfusiones sanguíneas repetidas es la Anemia Falciforme (SCD). Se deduce por lo tanto que un alto grado de compatibilidad con la sangre del donante es con frecuencia crítico para el éxito de la transfusión en pacientes con SCD.

25

Aunque la SCD es más prevalente entre individuos de orígenes africanos, la población donante de sangre en los Estados Unidos y otros países occidentales es en su mayoría caucásica. Como consecuencia de esta disparidad, las diferencias de antígenos de RBC entre ambos grupos raciales con frecuencia son responsables de fracasos en transfusiones de sangre en pacientes con SCD.

30

La variante genética *RHD*DIlla-CE(4-7)-D* (también conocida como *RHD-CE-D^S*, *RHD-CE(4-7)-D*, *(C)ce^S*, o *r^S*) puede encontrarse en aproximadamente el 5 % de la población afroamericana, pero no se ha indicado en caucásicos. Esta variante presenta un especial reto a la transfusión de sangre debido a que codifica un perfil antigénico bastante complejo, que incluye ausencia de antígeno D, formas alteradas de antígenos C (*C^{+W}*) y e, expresión de antígeno VS de baja frecuencia, no expresión de antígeno V, y ausencia del antígeno hr^B de alta frecuencia. Los perfiles antigénicos de D y C son los clínicamente más relevantes para determinar la compatibilidad entre donantes de sangre y pacientes de transfusión.

35

40

La complejidad antigénica de *RHD*DIlla-CE(4-7)-D* se correlaciona con su complejidad genética, que incluye cambios en el gen *RHD*, con una sustitución de parte del exón 3 de *RHD*, exones 4-7 de *RHD*, y los intrones intermedios por sus homólogos de *RHCE*, una sustitución G>T en la posición 186 (exón 2), una sustitución C>T en la posición 410 (exón 3 híbrido), una sustitución C>G en la posición 733 (exón 5), y una sustitución G>T en la posición 1006 (exón 7). Además de los cambios en el gen *RHD*, *RHD*DIlla-CE(4-7)-D* aparece en *cis* con un gen *RHCE* que codifica sustituciones C>G en la posición 733 (exón 5) y G>T en la posición 1006 (exón 7). El fenotipo C^{+W} se caracteriza por expresión débil del antígeno Rh C.

45

50

Para añadir a la complejidad antigénica y genética, el conocimiento de los inventores acerca de la base molecular de *RHD*DIlla-CE(4-7)-D* está incompleto. Por ejemplo, los puntos precisos de recombinación *RHCE/RHD* en el intrón 3 o intrón 7 no se han presentado hasta la fecha. Además, se han descrito dos tipos de variantes *RHD*DIlla-CE(4-7)-D* (Tipo 1 y Tipo 2), que difieren tanto en su composición genética como en sus perfiles antigénicos, aunque los perfiles antigénicos de D y C clínicamente relevantes son iguales. Puede haber otros fenotipos de tipo *RHD*DIlla-CE(4-7)-D*, que también tienen un perfil antigénico D- y C^{+W}. Clínicamente, es por lo tanto muy importante distinguir *RHD*DIlla-CE(4-7)-D* y otros fenotipos de tipo *RHD*DIlla-CE(4-7)-D* de fenotipos con diferentes perfiles antigénicos de C y D.

55

Varias publicaciones (Referencias 1-3) han examinado la similitud genética entre *RHD*DIlla-CE(4-7)-D* y otras variantes de *RHD*, en particular *RHD*DIlla* y *RHD*DIva-1/RHD*DIva-2* (en lo sucesivo *RHD*DIva-2*). Varios métodos moleculares para la detección específica de *RHD*DIlla-CE(4-7)-D* se han basado en la detección de polimorfismos de un único nucleótido (SNP) localizados en el exón 3 híbrido. Se sabe ahora que estos SNP están compartidos con las variantes *RHD*DIlla* y *RHD*DIva-2*. En consecuencia, la identificación de *RHD*DIlla-CE(4-7)-D* en una muestra por análisis de ADN requiere detección de los SNP del exón 3 híbrido y diferenciación de *RHD*DIlla* y *RHD*DIva-2*, que es difícil con los métodos actuales de genotipación. Esta diferenciación es clínicamente

60

65

relevante puesto que *RHD*DIIIa* y *RHD*DIVa-2* codifican un perfil antigénico diferente, que incluye expresión de D parcial y ausencia de C^{+W} (es decir D parcial, C-). También es importante distinguir entre otras variantes genéticas que también pueden compartir estos SNP de exón 3 híbrido pero codifican diferentes combinaciones de antígenos D y C, que también pueden ser clínicamente relevantes.

5 El documento WO 2006/075254 describe métodos y productos para genotipación *in vitro*.
Advent *et al.*, 2009, Transfusion Medicine and Hemotherapy, Vol. 36, Nº 3, pp. 162-167, describe el proyecto bloodgen de la Unión Europea.

10 Westhoff *et al.*, 2010, Transfusion, Vol. 50, Nº 6, pp. 1303-1311, presenta que DIIIa y DIII Tipo 5 están codificados por el mismo alelo y se asocian con alelos *RHCE*ce* alterados.

15 Pham *et al.*, 2009, Transfusion, Vol. 49, Nº 3, pp. 495-504, describe el fondo molecular heterogéneo del fenotipo C débil, VS+, hr(B)-, Hr(B)- en personas negras.

El documento WO 2006/032897 describe análisis génicos, particularmente de los genes *ABO* y *RHD*.

20 El documento DE 10049363 describe un kit de diagnóstico, una micromatriz y su uso para la determinación del factor Rh en un ser humano, por ejemplo en diagnóstico prenatal.

Faas *et al.*, 1995, BLOOD, Vol. 85, Nº 3, pp. 829-832, describe genotipación de Rh E/e por amplificación de cebadores específicos de alelo.

25 Maaskant-van Wijk *et al.*, 1998, Transfusion, Vol. 11, Nº 38, pp. 1015-1021, describe genotipación de *RHD* por análisis de reacción en cadena de la polimerasa múltiple de seis exones específicos de *RHD*.

El documento WO 2011/003921 describe métodos y productos para genotipación *in vitro*.

30 Algunas de estas otras variantes de *RHD* han identificado, por ejemplo *RHD*DIVb-4*, *RHD*tipoDdébil4.0*, *RHD*tipoDdébil4.1*, *RHD*tipoDdébil14*, *RHD*tipoDdébil51*, *RHD*DAR*, *RHD*DAR-E*, *RHD*ex04-ex07del*, *RHD*ex03del* y *RHD*ex03-ex04del*, que tienen expresión variada del antígeno D.

35 Los reactivos de anticuerpo habitualmente usados para detectar antígeno C no diferencian entre C^{+W} y C^{+} . Por lo tanto, el fenotipo con frecuencia se indica como C^{+} . En casos en los que el reactivo de anticuerpo no diferencia entre C^{+W} y C^{+} pero la muestra contiene un alelo *RHCE*C* normal en *trans* para un alelo *RHD*DIIIa-CE(4-7)-D*, C^{+W} está ocultado por C^{+} , dando como resultado un fenotipo C^{+} para la muestra.

40 Esto hace difícil determinar el fenotipo correcto para perfiles antigénicos C^{+W}/C^{-} , C^{+W}/C^{+W} , C^{+W}/C^{+} y C^{+}/C^{+} usando análisis de serología solamente. Por lo tanto, es necesario ensayar con respecto a *RHCE*C* y mostrar que está ausente antes de la asignación de un fenotipo C^{+W} a una muestra, y por lo tanto los métodos actuales de diagnóstico de un perfil antigénico *RHD*DIIIa-CE(4-7)-D* son difíciles incluso cuando se realiza tanto análisis de serología como análisis genético.

45 Sumario de la invención

Los inventores han descubierto un método para diferenciar las variantes de grupo sanguíneo *RHD*DIIIa-CE(4-7)-D* o de tipo *RHD*DIIIa-CE(4-7)-D*, que expresan el antígeno C^{+W} y carecen de un antígeno D, de *RHD*DIIIa*, *RHD*DIVa-2* y otras variantes de grupo sanguíneo, determinando al menos cuatro marcadores genéticos. El método no requiere el uso de anticuerpos, y permite la predicción de los fenotipos de antígeno D y C de una gran mayoría de muestras que contienen el exón 3 híbrido de *RHD/RHCE*.

50 En un primer aspecto, la presente invención proporciona un método para diferenciar las variantes de grupo sanguíneo *RHD*DIIIa-CE(4-7)-D* o de tipo *RHD*DI-Ila-CE(4-7)-D*, que expresan el antígeno C^{+W} y carecen de un antígeno D, de *RHD*DIIIa*, *RHD*DIVa-2* y otras variantes de grupo sanguíneo, de un sujeto, comprendiendo el método:

determinar al menos 4 marcadores en una muestra que se ha obtenido del sujeto, en el que los marcadores comprenden:

- 60 (i) la presencia o ausencia de un alelo *RHCE*C*;
- (ii) la presencia o ausencia de un alelo de exón 3 híbrido de *RHD/RHCE* (*RHD/CE Hex03*);
- 65 (iii) la ausencia de, o una variante de polimorfismo de un único nucleótido (SNP) dentro de uno cualquiera del exón 4 de *RHD*, exón 5 de *RHD* o exón 6 de *RHD*; y

(iv) la ausencia de, o variante de SNP dentro de, el exón 7 de RHD,

en el que:

5 la ausencia de dicho alelo RHCE**C*; presencia de dicho alelo de exón 3 híbrido de RHD/RHCE; ausencia del exón 4 de RHD, exón 5 de RHD o exón 6 de RHD; y ausencia del exón 7 de RHD en combinación indican que la muestra contiene dicha variante de grupo sanguíneo RHD*DIIIa-CE(4-7)-D o dicha variante de grupo sanguíneo de tipo RHD*DIIIa-CE(4-7)-D.

10 En algunos casos de acuerdo con la presente invención:

a) la variante de SNP dentro del exón 4 de RHD está en la posición 602 de la secuencia codificante de RHD (rs1053355),

15 b) la variante de SNP dentro del exón 5 de RHD está en la posición 667 de la secuencia codificante de RHD (rs1053356),

c) la variante de SNP dentro del exón 6 de RHD está en la posición 819 de la secuencia codificante de RHD; y/o

20 d) la variante de SNP dentro del exón 7 de RHD está en la posición 1048 de la secuencia codificante de RHD (rs41307826),

en la que la secuencia codificante de RHD es como se expone en SEC ID N°: 1.

25 En algunos casos de acuerdo con la presente invención los marcadores comprenden además:

(v) la presencia o ausencia de un alelo del exón 3 de RHD,

30 en el que la ausencia de dicho exón 3 de RHD indica además que la muestra contiene dicha variante de grupo sanguíneo RHD*DIIIa-CE(4-7)-D o dicha variante de grupo sanguíneo de tipo RHD*DIIIa-CE(4-7)-D.

En algunos casos de acuerdo con la presente invención:

35 a) el método comprende además determinar los fenotipos de antígenos RHD y RHC del sujeto de acuerdo con la Tabla 1; y/o

b) el método comprende detectar la presencia o ausencia de una variante de grupo sanguíneo seleccionada de: RHD*DIIIa; RHD*DIVa-2; o variantes del grupo sanguíneo RHD*DIIIa-CE(4-7)-D o de tipo RHD*DIIIa-CE(4-7)-D, por ejemplo en el que el método comprende detectar la presencia o ausencia de variantes de grupo sanguíneo RHD*DIIIa-CE(4-7)-D o variantes de grupo sanguíneo de tipo RHD*DIIIa-CE(4-7)-D; y/o

40 c) el marcador (iii) es el SNP dentro del exón 4 de RHD en la posición 602 de la secuencia codificante de RHD (rs1053355); y/o

45 d) el alelo RHCE**C* se determina determinando la presencia o ausencia del intrón 2 de RHCE**C*, o una cualquiera de las siguientes posiciones en la secuencia codificante de RHCE: posición 307 (exón 2), posición 48 (exón 1), posición 150 (exón 2), posición 178 (exón 2), posición 201 (exón 2) y/o posición 203 (exón 2),

50 en el que la secuencia codificante de RHD es como se expone SEC ID N°: 1 y en el que la secuencia codificante de RCHE es como se expone en SEC ID N°: 2.

En algunos casos de acuerdo con la presente invención la muestra comprende ácido nucleico y el método comprende amplificar el ácido nucleico o una parte del mismo por PCR usando cebadores, por ejemplo en el que:

55 a) los cebadores de PCR para determinar el alelo RHCE**C* son un cebador de PCR directo específico para RHCE**C*, y un cebador de PCR inverso no específico, por ejemplo en el que

(i) el cebador inverso no específico se comparte con RHD, RHC**C* y/o RHC**c*; y/o

60 (ii) los cebadores de PCR comprenden:

Directo: 5'-GGCCACCACCATTTGAA-3' (SEC ID N°: 3)

Inverso: 5'-CCATGAACATGCCACTTCAC-3', (SEC ID N°: 4);

65 y/o

b) los cebadores de PCR para determinar el alelo RHD/CE Hex03 son cebadores de PCR directo e inverso que se dirigen a secuencias localizadas en los intrones 2 y 3, o los intrones 3 y 2, respectivamente, por ejemplo en los que

5 (i) los cebadores de PCR comprenden:

Cebador directo: 5'-TCCTGGCTCTCCCTCTCT-3' (SEC ID N°: 9)
Cebador inverso: 5'-TTTTCAAACCCCGGAAG-3' (SEC ID N°: 10); y/o

10 c) los cebadores de PCR para determinar el SNP dentro del exón 4 de RHD en la posición 602 de la secuencia codificante de *RHD* (rs1053355) son cebadores directo e inverso que se dirigen a secuencias localizadas en los intrones 3 y 4, o intrones 4 y 3, respectivamente, por ejemplo en los que

15 (i) los cebadores de PCR comprenden:

Cebador directo: 5'-GCTCTGAACCTTTCTCCAAGGACT-3' (SEC ID N°: 17)
Cebador inverso: 5'-ATTCTGCTCAGCCCAAGTAG-3' (SEC ID N°: 18); y/o

20 d) los cebadores de PCR para determinar el SNP dentro del exón 5 de RHD en la posición 667 de la secuencia codificante de *RHD* (rs1053356) son cebadores directo e inverso que se dirigen a secuencias localizadas en los intrones 4 y 5, o intrones 5 y 4, respectivamente, por ejemplo en los que

(i) los cebadores de PCR comprenden:

25 Cebador directo: 5'-TTGAATTAAGCACTTACAGAGCA-3' (SEC ID N°: 19)
Cebador inverso: 5'-CACCTTGCTGATCTTCCC-3' (SEC ID N°: 20); y/o

30 e) los cebadores de PCR para determinar el SNP dentro del exón 6 de RHD en la posición 819 de la secuencia codificante de *RHD* son cebadores directo e inverso que se dirigen a secuencias localizadas en los intrones 5 y 6, o intrones 6 y 5, respectivamente, por ejemplo en los que

(i) los cebadores de PCR comprenden:

35 Cebador directo: 5'-AGTAGTGAGCTGGCCCATCA-3' (SEC ID N°: 21)
Cebador inverso: 5'-CTCAGCCAAAGCAGAGGAG-3' (SEC ID N°: 22); y/o

40 f) los cebadores de PCR para determinar el SNP dentro del exón 7 de RHD en la posición 1048 de la secuencia codificante de *RHD* (rs41307826) son cebadores directo e inverso que se dirigen a secuencias localizadas en los intrones 6 y 7, o intrones 7 y 6, respectivamente, por ejemplo en los que

(i) los cebadores de PCR comprenden:

45 Cebador directo: 5'-ACAACTCCCGATGATGTGAGTG-3' (SEC ID N°: 35)
Cebador inverso: 5'-GAGGCTGAGAAAGGTTAAGCCA-3' (SEC ID N°: 36); y/o

g) como se indica en la reivindicación 3, los cebadores de PCR para determinar el alelo del exón 3 de RHD son cebadores directo e inverso que se dirigen a secuencias localizadas en los intrones 2 y 3, o intrones 3 y 2, respectivamente, por ejemplo en los que

50 (i) los cebadores de PCR comprenden:

Cebador directo: 5'-TCCTGGCTCTCCCTCTCT-3' (SEC ID N°: 15)
Cebador inverso: 5'-GTTGTCTTTATTTTCAAACCCCT-3' (SEC ID N°: 16);

55 en el que la secuencia codificante de *RHD* es como se expone en SEC ID N°: 1.

En algunos casos de acuerdo con la presente invención el ácido nucleico amplificado comprende un marcador, por ejemplo en el que

60 a) el marcador comprende un nucleótido biotinilado; y/o

b) el marcador comprende un resto fluorescente.

65 En algunos casos de acuerdo con la presente invención la muestra comprende ácido nucleico, y el método comprende amplificar el ácido nucleico o una parte del mismo por PCR usando cebadores, fragmentando el ácido nucleico amplificado, y marcando el ácido nucleico fragmentado con ddNTPS biotinilado usando una enzima

desoxinucleotidil transferasa terminal (TdT).

En algunos casos de acuerdo con la presente invención determinar la presencia, ausencia o variante de SNP de un marcador comprende poner en contacto ácidos nucleicos que contienen cada marcador con una o más sondas, por ejemplo en el que:

5 a) las sondas para determinar la presencia o ausencia de RHD/CE Hex03 o el exón 3 de RHD entra en contacto con un SNP localizado tanto en RHD/CE Hex03 como en el exón 3 de RHD, en el que una variante de SNP es específica de RHD/CE Hex03, y otra variante de SNP es específica para el exón 3 de RHD, por ejemplo en el que

10 (i) el SNP está en la posición 410 de la secuencia codificante, localizado tanto dentro de RHD/CE Hex03 como dentro del exón 3 de RHD; y/o
(ii) las sondas comprenden:

15 (1) 5'-TTTTACAGACGCCTGCTACCATG-3', (SEC ID N°: 5)
(2) 5'-CATGGTAGCAGGCGTCTGTAAAA-3', (SEC ID N°: 6)
(3) 5'-TTTTACAGACGTCTGCTACCATG-3', (SEC ID N°: 7) y
(4) 5'-CATGGTAGCAGACGTCTGTAAAA-3', (SEC ID N°: 8); y/o

20 b) las sondas para determinar la ausencia o variante de SNP del SNP en: la posición 602 de la secuencia codificante de *RHD* localizada dentro del exón 4 (rs1053355), posición 667 de la secuencia codificante de *RHD* localizada dentro del exón 5 (rs1053356), o posición 819 de la secuencia codificante de *RHD* localizada dentro del exón 6 comprenden:

25 (i) exón 4 de RHD:

(1) 5'-ATAAAGATCAGACAGCAACGATACC-3' (SEC ID N°: 23)
(2) 5'-TAAAGATCAGACAGCAACGATAC-3' (SEC ID N°: 24)
(3) 5'-ATAAAGATCAGAGAGCAACGATACC-3' (SEC ID N°: 25)
30 (4) 5'-TAAAGATCAGAGAGCAACGATAC-3' (SEC ID N°: 26);

(ii) exón 5 de RHD:

(1) 5'-CTGGCCAAGTTTCAACTCTGC-3' (SEC ID N°: 27)
35 (2) 5'-TGGCCAAGTTTCAACTCTG-3' (SEC ID N°: 28)
(3) 5'-CTGGCCAAGTGTC AACTCTGC-3' (SEC ID N°: 29)
(4) 5'-TGGCCAAGTGTC AACTCTG-3' (SEC ID N°: 30);

(iii) exón 6 de RHD:

(1) 5'-GTGCACAGTGCGGTGTTGGCAGG-3' (SEC ID N°: 31)
40 (2) 5'-TGCACAGTGCGGTGTTGGCAG-3' (SEC ID N°: 32)
(3) 5'-GTGCACAGTG CAGTGTGGCAGG-3' (SEC ID N°: 33)
(4) 5'-TGCACAGTG CAGTGTGGCAG-3' (SEC ID N°: 34); y/o

45 c) las sondas para determinar la variante de SNP del SNP en la posición 1048 de la secuencia codificante de *RHD* localizada dentro del exón 7 (rs41307826) comprenden:

(1) 5'-TGCTGGTGCTTGATACCGTCGGA-3' (SEC ID N°: 37)
50 (2) 5'-GCTGGTGCTTGATACCGTCGG-3' (SEC ID N°: 38)
(3) 5'-TGCTGGTGCTTCATACCGTCGGA-3' (SEC ID N°: 39)
(4) 5'-GCTGGTGCTTCATACCGTCGG-3' (SEC ID N°: 40);

55 en las que la secuencia codificante de *RHD* es como se expone en SEC ID N°:1.

En algunos casos de acuerdo con la presente invención

60 a) una o más de las sondas comprenden un marcador, por ejemplo en el que el marcador es un resto fluorescente; y/o
b) una o más de las sondas está unida con un soporte sólido o conjugada con una o más partículas.

65 En un aspecto adicional la presente invención proporciona uso de un conjunto de cebadores en un método para diferenciar las variantes de grupo sanguíneo *RHD*DIlla-CE(4-7)-D* o de tipo *RHD*DIlla-CE(4-7-D)*, que expresan el antígeno C^{+w} y carecen de un antígeno D, de *RHD*DIlla*, *RHD*DIva-2* y otras variantes de grupo sanguíneo, amplificando ácido nucleico que comprende al menos los cuatro marcadores definidos en la reivindicación 1, en el que el conjunto de cebadores comprende al menos tres pares de cebadores seleccionados de los cebadores

expuestos en:

- (i) reivindicación 5(a),
- (ii) reivindicación 5(b),
- 5 (iii) una cualquiera de las reivindicaciones 5(c), 5(d) o 5(e)
- (iv) reivindicación 5(f), y
- 10 (v) reivindicación 5(g).

En algunos casos de acuerdo con la presente invención el conjunto de cebadores comprende al menos tres pares de cebadores seleccionados de los cebadores expuestos en:

- 15 (i) reivindicación 5(a)(ii),
- (ii) reivindicación 5(b)(i),
- 20 (iii) una cualquiera de las reivindicaciones 5(c)(i), 5(d)(i) o 5(e)(i),
- (iv) reivindicación 5(f)(i), y
- (v) reivindicación 5(g)(i).

25 En algunos casos de acuerdo con la presente invención al menos el 50 % de los cebadores en el conjunto son los pares de cebadores definidos en la reivindicación 10 u 11.

En un aspecto adicional más la presente invención proporciona uso de un conjunto de cebadores en un método para diferenciar las variantes de grupo sanguíneo *RHD*DIlla-CE(4-7)-D* o de tipo *RHD*DIlla-CE(4-7-D)*, que expresan el antígeno C^w y carecen de un antígeno D, de *RHD*DIlla*, *RHD*DIva-2* y otras variantes de grupo sanguíneo, determinando la presencia, ausencia o variante de polimorfismo de un único nucleótido (SNP) de al menos los cuatro marcadores como se definen en la reivindicación 1, en el que el conjunto de cebadores comprende:

- 35 (i) las sondas de SEC ID N°: 5, 6, 7 y 8;
- (ii) las sondas de SEC ID N°: 23, 24, 25 y 26;
- (iii) las sondas de SEC ID N°: 31, 32, 33 y 34
- 40 (iv) las sondas de SEC ID N°: 27, 28, 29 y 30; y
- (v) las sondas de SEC ID N°: 37, 38, 39 y 40.

En algunos casos de acuerdo con la presente invención:

- 45 a) las sondas se inmovilizan en un soporte sólido o se conjugan con una o más partículas, por ejemplo en el que el soporte sólido comprende uno o más marcadores unidos, por ejemplo en el que el marcador es un fluorocromo; y/o
- 50 b) una o más sondas comprenden un marcador, por ejemplo en el que marcador es un resto fluorescente.

En un aspecto adicional más la presente invención proporciona uso de un kit para genotipar un sujeto, comprendiendo el kit un conjunto de cebadores de PCR como se definen en una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, y un conjunto de cebadores como se definen en una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 14.

Descripción de las figuras

Figura 1: Secuencia codificante de *RHD* (SEC ID N°: 1), que muestra las posiciones de cada exón. La secuencia de nucleótidos mostrada es una secuencia consenso.

Figura 2: Secuencia codificante de *RHCE* (SEC ID N°: 2), que muestra las posiciones de cada exón. La secuencia de nucleótidos mostrada es una secuencia consenso.

Descripción detallada de la invención

El antígeno D del grupo sanguíneo Rh está codificado por el gen *RHD*, que comprende 10 exones. La secuencia del

gen *RHD* completa está disponible en la Secuencia de Referencia de NCBI: NG_007494.1 N° NG_007494.1, GI:171184448, (SEC ID N°: 41). La secuencia codificante, anotada para mostrar la posición de partida de cada exón, se muestra en la Figura 1 (SEC ID N°: 1).

5 El antígeno C del grupo sanguíneo Rh está codificado por el gen *RHCE*, que comprende 10 exones. La secuencia del gen *RHCE* completa está disponible en la Secuencia de Referencia de NCBI: NG_009208.2, GI:301336136, (SEC ID N°: 42). La secuencia codificante, anotada para mostrar la posición de partida de cada exón, se muestra en la Figura 2 (SEC ID N°: 2).

10 La presente invención permite la determinación de los fenotipos de antígenos RHD y RHC clínicamente relevantes de una muestra sanguínea, basándose en al menos los siguientes cuatro marcadores: al menos un alelo *RHCE**C; al menos un alelo del exón 3 híbrido de *RHD/RHCE* (*RHD/CE* Hex03); el SNP en la posición 602 de la secuencia codificante de *RHD*, dentro del exón 4, o el SNP en la posición 667 de la secuencia codificante de *RHD*, dentro del exón 5, o el SNP en la posición 819 de la secuencia codificante de *RHD*, dentro del exón 6; y el SNP en la posición 1048 de la secuencia codificante de *RHD*, dentro del exón 7.

La determinación de los fenotipos de antígenos RHD y RHC clínicamente relevantes de una muestra sanguínea puede basarse adicionalmente en la determinación de un quinto marcador: concretamente, al menos un alelo de exón 3 de *RHD*.

20 La Tabla 1 demuestra como la combinación de estos cinco marcadores permite la predicción de la amplia mayoría de fenotipos de antígenos RHD y RHC. Las primeras tres columnas muestran si está presente al menos un alelo de *RHCE**C, alelo del exón 3 híbrido de *RHD/RHCE* (*RHD/CE* Hex03) y exón 3 de *RHD*. Las columnas tituladas *RHD* 602 y *RHD* 1048 muestran las variantes de SNP en estas posiciones, es decir si están ausentes, son heterocigotas, u homocigotas/está ausente un SNP. La presencia de al menos un alelo de *RHCE**C determina si está presente un antígeno C⁺, y las siguientes cuatro columnas proporcionan información sobre el fenotipo de antígeno D, y el fenotipo de antígeno C en ausencia de *RHCE**C. Juntos, estos datos permiten predecir los haplotipos genéticos de *RHD* y fenotipos antigénicos D y C, y pueden por lo tanto distinguirse basándose en esto diferentes grupos sanguíneos.

30 Aunque la combinación de los 4 o 5 marcadores descritos en la presente memoria puede distinguir variantes de grupo sanguíneo *RHD**DIIIa-*CE*(4-7)-D o de tipo *RHD**DIIIa-*CE*(4-7)-D de *RHD**DIIIa, *RHD**DIVa-2 y otras variantes de grupo sanguíneo, no se pretende que predigan inequívocamente todas las posibles combinaciones antigénicas de C y D. Por lo tanto "Posiblemente RHD" en la columna de haplotipo es una expresión genética que se pretende que incluya *RHD* así como variantes de *RHD* distintas de las buscadas por el presente método. De forma similar, "¿D?" en la columna de fenotipo se refiere a fenotipos D, D Parcial, D Débil, D- o D_{el} codificados por variantes de *RHD* distintas de las buscadas por el presente método. Sin embargo, D⁺ es el fenotipo más probable en esta situación.

40 La interpretación de los datos de Fenotipo Predicho de la Tabla 1 se facilita por la Tabla 2, que proporciona una descripción exhaustiva de cómo los fenotipos codificados por haplotipo relevantes para la presente invención (el fenotipo de antígeno D y fenotipo de antígeno C) se combinan para producir el fenotipo de una muestra.

45 En algunas realizaciones, la presencia/ausencia del exón 3 de *RHD* puede determinarse determinando la secuencia de nucleótidos de SNP en la posición 410 de la secuencia codificante de *RHD*, dentro del exón 3 (número rs no disponible).

50 En algunas realizaciones, la determinación de la secuencia de nucleótidos en la posición 602 de la secuencia codificante de *RHD*, dentro del exón 4, podría sustituirse por la determinación de la secuencia de nucleótidos de SNP (nucleótido T frente a nucleótido G) en la posición 667 de la secuencia codificante de *RHD*, dentro del exón 5, o la secuencia de nucleótidos de SNP (nucleótido G frente a nucleótido A) en la posición 819 de la secuencia codificante de *RHD*, dentro del exón 6.

55 Otras combinaciones de marcadores que incluyen menos que los al menos 4 o 5 marcadores descritos en la presente memoria darían como resultado una capacidad reducida para determinar fenotipos D- C^{+W}.

Por ejemplo, sin la determinación de la presencia/ausencia de *RHCE**C, no sería posible predecir un fenotipo C para muestras *RHD**DIIIa y/o *RHD**DIVa-2 o un fenotipo C^{+W} para muestras *RHD**DIIIa-*CE*(4-7)-D.

60 Sin la determinación de la presencia/ausencia del exón 3 híbrido de *RHD/RHCE*, no sería posible deducir un haplotipo *RHD**DIIIa-*CE*(4-7)-D para ninguna muestra, y por tanto no sería posible predecir un fenotipo C^{+W} para ninguna muestra.

65 Sin la determinación de la variante de SNP en la posición 602 de la secuencia codificante de *RHD*, no sería posible deducir un haplotipo de *RHD**DIIIa para una muestra, y por lo tanto no sería posible predecir un fenotipo no D⁺ para dicha muestra.

Sin la determinación del nucleótido en la posición 1048 de la secuencia codificante de *RHD*, no sería posible deducir un haplotipo *RHD**D1VA-2 para una muestra, y por lo tanto no sería posible predecir un fenotipo no D para dicha muestra.

5 Sin la determinación de la presencia/ausencia del exón 3 de *RHD*, no sería posible predecir un haplotipo *RHD**D111a-CE(4-7)-D para muestras con ciertas variantes de *RHD* nuevas, y por lo tanto no sería posible predecir un fenotipo C^{+w} para esas muestras. Por ejemplo, cuando está ausente al menos un alelo *RHCE**C, está presente al menos un alelo de exón 3 híbrido de *RHD*/*RHCE* (*RHD*/*CE* Hex03), está ausente el SNP en la posición 602 de la secuencia codificante de *RHD* y está ausente en SNP en la posición 1048 de la secuencia codificante de *RHD*, la presencia o ausencia de al menos un alelo del exón 3 de *RHD* permitirá la predicción de un fenotipo C- o C^{+w}, respectivamente (Tabla 1). De forma similar, cuando está ausente al menos un alelo de *RHCE**C, está presente al menos un alelo de exón 3 híbrido de *RHD*/*RHCE* (*RHD*/*CE* Hex03), la secuencia de nucleótidos en la posición 602 de la secuencia codificante de *RHD* es G, y la secuencia de nucleótidos en la posición 1048 de la secuencia codificante de *RHD* es G, la ausencia o presencia de al menos un alelo de exón 3 de *RHD* permitirá la predicción de un fenotipo D Parcial o indeterminado (D Débil o D Parcial), receptivamente.

Podría usarse una diversidad de técnicas adecuadas para detectar estas secuencias genéticas. Lo siguiente se presenta como ejemplos no limitantes de dichas técnicas.

20 Una técnica adecuada para detectar las secuencias genéticas mencionadas en la presente memoria es análisis de mutación por digestión de restricción después de una reacción de PCR para amplificar la región de interés, si la variante genética o el polimorfismo dan como resultado la creación o eliminación de un sitio de restricción. También puede usarse análisis de secuencia, tal como secuenciación directa manual o fluorescente automática, directamente o después de la selección de la región de interés por PCR, para detectar secuencias específicas. También pueden usarse oligonucleótidos específicos de alelo, por ejemplo, usados en una PCR competitiva, para detectar variantes genéticas.

30 Otra técnica para detectar secuencias específicas en una muestra es ensayar esa muestra con respecto a la presencia de una molécula de ácido nucleico que comprende toda o una parte de la región de interés, que comprende poner en contacto dicha muestra con una segunda molécula de ácido nucleico o sonda en condiciones para hibridación selectiva. Toda o una parte de la región de interés puede amplificarse antes de realizar la técnica específica usada para la detección de las variantes genéticas.

35 La muestra puede ser cualquier muestra biológica de un paciente, por ejemplo tejido, sangre, suero o saliva de un paciente. La muestra puede contener células, ser sin células o consistir solamente en células aisladas.

Los métodos de la invención hacen uso de la detección de la presencia o ausencia de una o más secuencias de nucleótidos específicas dentro de los segmentos funcionales.

40 En ciertos casos, el método de la invención puede denominarse hibridación específica de alelos, y puede hacer uso de sondas oligonucleotídicas sintéticas habitualmente de 10-50 nucleótidos de longitud, preferentemente de 19-27 nucleótidos de longitud, cuyas secuencias están diseñadas para ser complementarias de la secuencia buscada. La complementariedad de las secuencias permite emparejamiento de ADN genómico y moléculas sonda oligonucleotídicas. Puede hacerse que el emparejamiento específico, es decir emparejamiento de sondas con su secuencia complementaria y con ninguna otra secuencia, suceda en condiciones apropiadas, que incluyen pero sin limitación el tiempo de incubación, temperatura de incubación, concentración de secuencias sonda y complementarias, rigurosidad de los tampones y mezcla. El emparejamiento específico con sondas permite la detección de secuencias en una mezcla de secuencias. La detección o falta de detección de secuencias específicas, a su vez, permite la determinación de presencia frente a ausencia de segmentos funcionales.

50 Pueden usarse sondas oligonucleotídicas sintéticas para la detección de regiones conservadas particulares, no variantes y/o variantes alélicas en el ADN genómico de un individuo. Con frecuencia, las variantes alélicas son polimorfismos de un único nucleótido (SNP), es decir posiciones de nucleótidos en las que la composición de ADN puede variar entre individuos.

60 En algunos casos, las sondas oligonucleotídicas sintéticas descritas en la presente memoria se diseñan y se usan para detectar la presencia o ausencia de segmentos de ácido nucleico funcionales y también tanto para detectar variantes alélicas localizadas dentro de secuencias como para determinar la presencia o ausencia de segmentos funcionales.

65 Dado un nucleótido particular en una posición particular de un locus de ADN genómico, pueden diseñarse moléculas oligonucleotídicas sintéticas, o sondas, para detectar dicho nucleótido en una muestra de ensayo. Las sondas pueden diseñarse en pares de modo que un miembro del par de sonda sea complementario de una cadena de la secuencia, mientras que el otro miembro del par de sonda es complementario de la otra cadena de la secuencia. Las sondas también pueden diseñarse en conjuntos de modo que tengan diferentes longitudes y sean complementarias

de una cadena o las dos cadenas de la secuencia de interés.

De acuerdo con cualquiera aspecto de la presente invención, pueden unirse sondas con un soporte sólido funcionalizado químicamente. Un ejemplo de un soporte sólido es una superficie de vidrio plana, en la que se colocan moléculas sonda por deposición de contacto. Otro ejemplo de un soporte sólido es una partícula tal como una perla polimérica de tamaño micrométrico, a la que se unen moléculas sonda por conjugación. Otro ejemplo de un soporte sólido es una partícula de tamaño nanométrico a la que se unen moléculas sonda.

Si las sondas están inmovilizadas en una superficie de vidrio plana, puede realizarse unión de una sonda con la superficie en múltiples localizaciones individuales, denominadas en lo sucesivo en la presente memoria elementos repetidos o "repeticiones". El número de elementos repetidos para cada sonda es habitualmente diez, aunque puede variar. Si las sondas se inmovilizan en partículas, la unión puede ser con múltiples conjuntos de partículas.

De acuerdo con cualquier aspecto de la invención descrita en la presente memoria, pueden amplificarse segmentos funcionales o sus partes que contienen marcadores de la invención, por ejemplo por PCR, usando ADN genómico como un molde. Pueden marcarse segmentos funcionales amplificados o sus partes que contienen marcadores (por ejemplo con un marcador de biotina y/o fluorescente) para permitir su detección, y opcionalmente fragmentarse para facilitar el emparejamiento con sondas oligonucleotídicas.

De acuerdo con cualquier aspecto de la invención descrita en la presente memoria, pueden incubarse segmentos funcionales marcados y fragmentados o sus partes que contienen marcadores de la invención en condiciones que maximizan la sensibilidad y especificidad del emparejamiento con sondas unidas con el soporte sólido. La presencia de segmentos funcionales emparejados con sonda o sus partes puede determinarse indirectamente a partir de la medición de un marcador, habitualmente un fluorocromo, unido con el soporte sólido. Esta medición se denomina en la presente memoria intensidad de señal. Como ejemplo, la fluorescencia emitida por el fluorocromo puede recogerse por medio de un dispositivo de detección de fluorescencia, tal como un explorador confocal.

Determinación de la presencia o ausencia de RHCEC***

Amplificación del intrón 2 de RHCE**C* por PCR.

El marcador RHCE**C* puede detectarse amplificando el intrón 2 de RHCE**C* usando cebadores oligonucleotídicos que se unen con secuencias del intrón 2. La secuencia diana del cebador directo (cadena arriba) puede ser específica de RHCE**C*, y la secuencia diana del cebador inverso (cadena abajo) puede ser no específico, es decir compartido por RHD, RHC**C*, RHC**c*. Pueden usarse los siguientes cebadores, que producen un producto de PCR con un tamaño de 357 pares de bases:

- Cebador directo: 5'-**GGCCACCACCATTGAA**-3' (SEC ID N°: 3)
- Cebador inverso: 5'-CCATGAACATGCCACTTCAC-3' (SEC ID N°: 4)

En negrita, nucleótidos específicos de RHCE**C* (cebador directo).

Como alternativa, puede amplificarse RHCE**C* usando cualquier cebador oligonucleotídico que difiere de los cebadores previamente descritos en secuencia, longitud o cualquier otra característica, siempre que permitan la amplificación específica del inserto específico de RHCE**C* localizado en el intrón 2. Por ejemplo, puede usarse un cebador oligonucleotídico variante que difiere de un cebador descrito en la presente memoria en 1, 2, 3, 4 o 5 alteraciones de secuencia de nucleótidos.

Como alternativa, esta etapa puede hacer uso de cualquier cebador oligonucleotídico que permita la amplificación de cualquier otra secuencia específica de RHCE**C*, distinta del inserto del intrón 2 previamente descrito, para el fin de establecer la presencia o ausencia de un alelo de RHCE**C* en una muestra. Dichas secuencia habitualmente contienen posiciones polimórficas en las regiones codificantes o no codificantes del gen RHCE. Los casos incluyen pero sin limitación los siguientes: posición 48 (exón 1), posición 150 (exón 2), posición 178 (exón 2), posición 201 (exón 2), posición 203 (exón 2), y posición 307 (exón 2) de la secuencia codificante de RHCE.

La presencia o ausencia de RHCE**C* puede después visualizarse directamente, por ejemplo mediante electroforesis en gel o indirectamente, por ejemplo mediante hibridación con una sonda como se analiza posteriormente. Como alternativa, la presencia o ausencia de RHCE**C* puede determinarse por hibridación de sonda solamente sin amplificación por PCR previa.

Hibridación de RHCE**C* con sondas oligonucleotídicas.

En algunas realizaciones, la hibridación del amplicón de intrón 2 de RHCE**C* con sondas oligonucleotídicas puede hacer uso de 4 sondas oligonucleotídicas: 2 sondas serían complementarias de una parte del inserto específico de RHCE**C*, cada una de una de las cadenas de ADN. Las otras 2 sondas serían idénticas a las anteriores excepto que contienen un emparejamiento erróneo de un único nucleótido artificial en su posición central que evita en gran medida la hibridación, proporcionando de este modo una señal de fondo como un control negativo. Estas sondas

pueden detectar solamente presencia frente a ausencia de la secuencia variante, es decir no permiten la diferenciación entre muestras homocigotas/hemicigotas y heterocigotas. Las siguientes secuencias de sonda pueden usarse para este inserto:

- 5 Sonda exactamente coincidente específica de *RHCE**C N° 1: 5'-TTTTACAGACGCCTGCTACCATG-3' (SEC ID N°: 5)
 - Sonda exactamente coincidente específica de *RHCE**C N° 2: 5'-CATGGTAGCAGGCGTCTGTAAAA-3' (SEC ID N°: 6)
 - Sonda de emparejamiento erróneo N° 1: 5'-TTTTACAGACGTCTGCTACCATG-3' (SEC ID N°: 7)
 10 - Sonda de emparejamiento erróneo N° 2: 5'-CATGGTAGCAGACGTCTGTAAAA-3' (SEC ID N°: 8). En negrita, el emparejamiento erróneo en posición central.

15 Como alternativa, puede usarse cualquier método particular o conjunto de sondas que se dirigen a un amplicón específico de *RHCE**C amplificado, o una secuencia específica de *RHCE**C no amplificada directamente, para determinar si *RHCE**C está presente o ausente. Como alternativa, puede usarse una sonda oligonucleotídica variante que difiere de una sonda descrita en la presente memoria en 1, 2, 3, 4 o 5 alteraciones de secuencia de nucleótidos.

Determinación de la presencia o ausencia del exón 3 híbrido de RHD/RHCE

20 Amplificación del exón 3 híbrido de RHD/RHCE por PCR.

El exón 3 híbrido de RHD/RHCE marcador puede detectarse por amplificación por PCR usando cebadores oligonucleotídicos que se unen con secuencias intrónicas que flanquean el exón 3 híbrido de RHD/RHCE. Específicamente las secuencias diana de los cebadores directo (cadena arriba) e inverso (cadena abajo) pueden localizarse en los intrones 2 y 3, respectivamente. Pueden usarse los siguientes cebadores, que producen un producto de PCR de 256 pares de bases:

- 25 - Cebador directo: 5'-TCCTGGCTCTCCCTCTCT-3' (SEC ID N°: 9)
 30 - Cebador inverso: 5'-TTTTCAAACCCCGGAAG-3' (SEC ID N°: 10)

En negrita, nucleótidos específicos de *RHCE**C (cebador directo) y nucleótidos específicos de *RHCE* (cebador inverso).

35 El cebador directo también puede usarse para amplificación del exón 3 de RHD, analizado posteriormente.

Como alternativa, el exón 3 del híbrido *RHD/RHCE* puede amplificarse usando cualquier cebador oligonucleotídico que difiera de los cebadores previamente descritos en secuencia, longitud o cualquier otra característica, siempre que permitan amplificación específica del exón 3 híbrido de RHD/RHCE. Por ejemplo, puede usarse un cebador oligonucleotídico variante que difiere de un cebador descrito en la presente memoria en 1, 2, 3, 4 o 5 alteraciones de secuencia de nucleótidos.

45 Como alternativa, la amplificación por PCR puede hacer uso de cualquier cebador oligonucleotídico que permita la amplificación de cualquier secuencia asociada con exón 3 híbrido de RHD/RHCE conocido para el fin de establecer la presencia o ausencia de un exón 3 híbrido de RHD/RHCE en una muestra. Dichas secuencias habitualmente contienen posiciones polimórficas en las regiones codificantes o no codificantes del gen *RHD*. Los casos incluyen pero sin limitación la posición 178 (exón 2) de la secuencia codificante de *RHD*.

50 La presencia o ausencia del exón 3 híbrido de RHD/RHCE puede después visualizarse directamente, por ejemplo, por electroforesis en gel, o indirectamente, por ejemplo por hibridación con una sonda como se analiza posteriormente. Como alternativa, la presencia o ausencia del exón 3 híbrido de RHD/RHCE puede determinarse por hibridación de sonda solamente sin amplificación por PCR previa.

Hibridación de amplicón del exón 3 híbrido de RHD/RHCE o exón 3 de RHD con sondas oligonucleotídicas.

55 En algunas realizaciones, la hibridación del amplicón de exón 3 híbrido de RHD/RHCE con sondas oligonucleotídicas puede hacer uso de 4 sondas oligonucleotídicas. Estas sondas pueden usarse también para detectar un SNP en el exón 3 de *RHD*, como se analiza posteriormente, debido a la alta similitud entre estas secuencias, ya que la especificidad de la señal de hibridación de cada marcador viene principalmente de la etapa de amplificación por PCR específica de alelo. Por ejemplo, pueden incorporarse diferentes nucleótidos modificados por fluorescencia durante la amplificación por PCR en los amplicones de exón 3 de híbrido de *RHD/RHCE* 2 y exón 3 de *RHD*, respectivamente. Como alternativa, los dos amplicones pueden marcarse de forma diferente después de la etapa de amplificación por PCR, por ejemplo mediante incubación con nucleótidos u oligonucleótidos marcados en presencia de una enzima polimerasa, ligasa o transferasa. Por ejemplo, el ácido nucleico puede incubarse con ddNTP biotinilados en presencia de una enzima desoxinucleotidil transferasa terminal.

2 sondas pueden ser específicas de la secuencia de tipo silvestre de un SNP localizado dentro del amplicón, y las otras dos sondas pueden ser específicas de la secuencia variante de exón 3 híbrido del mismo SNP. Estas sondas solamente pueden detectar presencia frente a ausencia de la secuencia variante, es decir no permiten diferenciación entre muestras homocigotas y hemocigotas. Por ejemplo, puede usarse el SNP localizado en la posición 410 de la secuencia codificante, con C y T como nucleótidos de tipo silvestre y variante, respectivamente. Pueden usarse las siguientes secuencias sonda para este SNP:

- Sonda de tipo silvestre de *RHD*, *RHCE* N° 1: 5'-GGTCAACTTGGCGCAGTTGGTGG-3' (SEC ID N°: 11)
- Sonda de tipo silvestre de *RHD*, *RHCE* N° 2: 5'-GTCAACTTGGCGCAGTTGGTGG-3' (SEC ID N°: 12)
- Sonda de variante del exón 3 híbrido N° 1: 5'-GGTCAACTTGGTGCAGTTGGTGG-3' (SEC ID N°: 13)
- Sonda de variante del exón 3 híbrido N° 2: 5'-GTCAACTTGGTGCAGTTGGTGG-3' (SEC ID N°: 14). En negrita está el SNP en la posición 410. El número de rs para el SNP en la posición 410 no está disponible.

Como alternativa, puede usarse cualquier método particular o conjunto de sondas que se dirigen a un amplicón específico del exón 3 híbrido de *RHD/RHCE* amplificado, o una secuencia específica del exón 3 híbrido de *RHD/RHCE* no amplificada directamente, para determinar si el exón 3 híbrido de *RHD/RHCE* está presente o ausente. Como alternativa, puede usarse una sonda oligonucleotídica variante que difiere de una sonda descrita en la presente memoria en 1, 2, 3, 4 o 5 alteraciones de secuencia de nucleótidos.

Determinación de la presencia o ausencia del exón 3 de *RHD*

Amplificación del exón 3 de *RHD* por PCR.

El exón 3 de *RHD* marcador puede detectarse por amplificación por PCR usando cebadores oligonucleotídicos que se unen con secuencias intrónicas que flanquean el exón 3 de *RHD*. Específicamente, las secuencias diana de los cebadores directo e inverso pueden localizarse en los intrones 2 y 3, respectivamente. Pueden usarse los siguientes cebadores, que producen un producto de PCR de 268 pares de bases:

- Cebador directo: 5'-TCCTGGCTCTCCCTCTCT-3' (SEC ID N°: 15)
- Cebador inverso: 5'-GTTGTCTTTATTTTCAAACCCCT-3' (SEC ID N°: 16)

En negrita están los nucleótidos específicos de *RHD*. El cebador directo es específico tanto para el exón 3 de *RHD* como para el exón 3 híbrido de *RHD/RHCE*, mientras que el cebador inverso es específico para el exón 3 de *RHD* solamente.

Como alternativa, el exón 3 de *RHD* puede amplificarse usando cualquier cebador oligonucleotídico que difiera de los cebadores previamente descritos en secuencia, longitud o cualquier otra característica, siempre que permitan la amplificación específica del exón 3 de *RHD*.

Como alternativa, la amplificación por PCR puede hacer uso de cualquier cebador oligonucleotídico que permita la amplificación de secuencias asociadas con exón 3 de *RHD* públicamente presentadas para el fin de establecer la presencia o ausencia de un exón 3 de *RHD* en una muestra. Dichas secuencias habitualmente contienen posiciones polimórficas en las regiones codificantes o no codificantes del gen *RHD*. Los casos incluyen pero sin limitación secuencias intrónicas que flanquean el exón 3 de *RHD*. Por ejemplo, puede usarse un cebador oligonucleotídico variante que difiere de un cebador descrito en la presente memoria en 1, 2, 3, 4 o 5 alteraciones de secuencia de nucleótidos.

La presencia o ausencia del exón 3 de *RHD* puede después visualizarse directamente, por ejemplo mediante electroforesis en gel, o indirectamente, por ejemplo mediante hibridación con una sonda como se ha analizado con referencia al exón 3 híbrido de *RHD/RHCE* anteriormente. Como alternativa, la presencia o ausencia del exón 3 de *RHD* puede determinarse por hibridación de sonda solamente sin amplificación por PCR previa.

Determinación de los SNP en el exón 4 de *RHD*, el exón 5 de *RHD* o el exón 6 de *RHD*

Amplificación del exón 4 de *RHD*, el exón 5 de *RHD* o el exón 6 de *RHD* por PCR.

En algunas realizaciones, el SNP en el exón 4 de *RHD* puede detectarse mediante amplificación por PCR usando cebadores oligonucleotídicos que se unen con secuencias intrónicas que flanquean el exón 4 de *RHD*. Específicamente, las secuencias diana de los cebadores directo e inverso pueden localizarse en los intrones 3 y 4, respectivamente. Pueden usarse los siguientes cebadores, que producen un producto de PCR de 281 pares de bases:

- Cebador directo: 5'-GCTCTGAACTTTCTCCAAGGACT-3' (SEC ID N°: 17)
- Cebador inverso: 5'-ATTCTGCTCAGCCCAAGTAG-3' (SEC ID N°: 18)

En negrita están los nucleótidos específicos de *RHD*.

En otra realización, el SNP en el exón 5 de *RHD* puede detectarse por amplificación por PCR usando cebadores oligonucleotídicos que se unen con secuencias intrónicas que flanquean el exón 5 de *RHD*. Específicamente, las secuencias diana de los cebadores directo e inverso pueden localizarse en los intrones 4 y 5, respectivamente. Pueden usarse los siguientes cebadores, que producen un producto de PCR de 432 pares de bases:

- 5
- Cebador directo: 5'-TTGAATTAAGCACTT**CACAG**GAGCA-3' (SEC ID N°: 19)
 - Cebador inverso: 5'-CACCTT**GCTGATCTTCCC**-3' (SEC ID N°: 20)

10 El subrayado indica la localización del inserto de 653 pares de bases específico de *RHCE* aprovechado para conferir especificidad de *RHD* a la amplificación. En negrita, nucleótidos específicos de *RHD*.

En otra realización más, el SNP en el exón 6 de *RHD* puede detectarse por amplificación por PCR usando cebadores oligonucleotídicos que se unen con secuencias intrónicas que flanquean el exón 6 de *RHD*. Específicamente, las secuencias diana de los cebadores directo e inverso pueden localizarse en los intrones 5 y 6, respectivamente. Pueden usarse los siguientes cebadores, que producen un producto de PCR de 371 pares de bases:

- 15
- Cebador directo: 5'-AGTAGTGAGCTGGCCCATCA-3' (SEC ID N°: 21)
 - Cebador inverso: 5'-CTTCAGCCAAAGCAGAG**GAG**-3' (SEC ID N°: 22)

20 En negrita, nucleótidos específicos de *RHD*.

La presencia o ausencia de estos SNP, y la variante de SNP específica, pueden después visualizarse directamente, por ejemplo mediante electroforesis en gel después de digestión de restricción como se ha descrito anteriormente, o indirectamente, por ejemplo mediante hibridación con una sonda como se analiza posteriormente. Como alternativa, la variante de SNP puede determinarse por hibridación de sonda solamente sin amplificación por PCR previa.

25 Puede usarse un cebador oligonucleotídico variante que difiere de un cebador descrito en la presente memoria en 1, 2, 3, 4 o 5 alteraciones de secuencia de nucleótidos.

30 Hibridación del amplicón del exón 4 de *RHD*, amplicón del exón 5 de *RHD* o amplicón del exón 6 de *RHD* con sondas oligonucleotídicas

En algunas realizaciones, la hibridación del amplicón del exón 4 de *RHD* con sondas oligonucleotídicas puede hacer uso de 4 sondas oligonucleotídicas: 2 sondas son específicas para la secuencia de tipo silvestre de un SNP ligado a variantes de *RHD* y localizado dentro del amplicón del exón 4 de *RHD*. Las otras 2 sondas permiten distinguir las variantes de *RHD*DIlla* y *RHD*DIlla-CE(4-7)-D* de la variante *RHD*DIVa-2*, ya que son específicas para las variantes *RHD*DIlla* y *RHD*DIlla-CE(4-7)-D* en relación con *RHD*DIVa-2*. Sin embargo, en algunas realizaciones las sondas pueden no distinguir entre otras variantes de *RHD*. En otras palabras, los SNP individuales por sí mismos pueden no identificar de forma exclusiva una variante de *RHD* particular (por ejemplo, debido a la existencia de otras variantes de *RHD*, además de *DIlla*, *DIVa* y *RHD*DIlla-CE(4-7)-D*), pero este SNP, y sus sondas, pueden distinguir una de las tres variantes *DIlla*, *DIVa* y *RHD*DIlla-CE(4-7)-D* de las otras dos.

45 Estas sondas permiten la diferenciación entre muestras homocigotas/hemicigotas y heterocigotas. Por ejemplo, puede usarse el SNP localizado en la posición 602 de la secuencia codificante, con C y G como nucleótidos de tipo silvestre y variante de *RHD*, respectivamente. Pueden usarse las siguientes secuencias de sonda para este SNP:

- Sonda de tipo silvestre de *RHD* N° 1: 5'-ATAAAGATCAGAC**CAGCA**ACGATACC-3' (SEC ID N°: 23)
- Sonda de tipo silvestre de *RHD* N° 2: 5'-TAAAGATCAGAC**CAGCA**ACGATACC-3' (SEC ID N°: 24)
- 50 - Sonda de variante de *RHD* N° 1: 5'-ATAAAGATCAGAG**GAGCA**ACGATACC-3' (SEC ID N°: 25)
- Sonda de variante de *RHD* N° 2: 5'-TAAAGATCAGAG**GCA**ACGATACC-3' (SEC ID N°: 26)

En negrita está el SNP.

55 En otra realización, la hibridación del amplicón del exón 5 de *RHD* con sondas oligonucleotídicas puede hacer uso de 4 sondas oligonucleotídicas: 2 sondas son específicas para la secuencia de tipo silvestre (es decir secuencia idéntica al alelo *RHD*D* convencional) de un SNP ligado a variantes de *RHD* y localizado dentro del amplicón del exón 5 de *RHD*. Las otras 2 sondas permiten distinguir las variantes de *RHD*DIlla* y *RHD*DIlla-CE(4-7)-D* de la variante *RHD*DIVa-2*, ya que son específicas para las variantes *RHD*DIlla* y *RHD*DIlla-CE(4-7)-D* en relación con *RHD*DIVa-2*. Sin embargo, en algunas realizaciones las sondas pueden no distinguir entre otras variantes de *RHD*. Estas sondas permiten la diferenciación entre muestras homocigotas/hemicigotas y heterocigotas. Por ejemplo, puede usarse el SNP localizado en la posición 667 de la secuencia codificante, con T y G como nucleótidos de tipo silvestre y variante de *RHD*, respectivamente. Pueden usarse las siguientes secuencias de sonda para este SNP:

- 65
- Sonda de tipo silvestre de *RHD* N° 1: 5'-CTGGCCAAGTTTCAACTCTGC-3' (SEC ID N°: 27)
 - Sonda de tipo silvestre de *RHD* N° 2: 5'-TGGCCAAGTTTCAACTCTG-3' (SEC ID N°: 28)

- Sonda de variante de *RHD* N° 1: 5'-CTGGCCAAGTGTCAACTCTGC-3' (SEC ID N°: 29)
- Sonda de variante de *RHD* N° 2: 5'-TGGCCAAGTGTCAACTCTG-3' (SEC ID N°: 30)

En negrita está el SNP.

5

En otra realización más, la hibridación del amplicón del exón 6 de *RHD* con sondas oligonucleotídicas puede hacer uso de 4 sondas oligonucleotídicas: 2 sondas serían específicas para la secuencia de tipo silvestre (es decir secuencia idéntica al alelo de *RHD***D* convencional) de un SNP localizado dentro del amplicón del exón 6 de *RHD*, y se uniría con la variante de *RHD***DIIIa*. Las otras 2 sondas permiten distinguir la variante *RHD***DIIIa* de *RHD***DIIIa*-*CE(4-7)-D* y *RHD***DIVa-2*, ya que son completamente específicas de la variante *RHD***DIIIa* en relación con *RHD***DIIIa*-*CE(4-7)-D* y *RHD***DIVa-2*. Sin embargo, las sondas pueden ser solamente parcialmente específicas para la secuencia variante de *RHD***DIIIa* del mismo SNP frente a otras variantes de *RHD* (es decir variantes de *RHD* distintas de *DIIIa*, *DIVa* y *RHD***DIIIa*-*CE(4-7)-D*). Estas sondas permiten la diferenciación entre muestras homocigotas/hemicigotas y heterocigotas. Por ejemplo, puede usarse el SNP localizado en la posición 819 de la secuencia codificante, con G y A como nucleótidos de tipo silvestre y variante de *RHD***DIIIa*, respectivamente. Pueden usarse las siguientes secuencias de sonda para este SNP:

10

15

- Sonda de tipo silvestre de *RHD* N° 1: 5'-GTGCACAGTGCGGTGTTGGCAGG-3' (SEC ID N°: 31)
- Sonda de tipo silvestre de *RHD* N° 2: 5'-TGCACAGTGCGGTGTTGGCAG-3' (SEC ID N°: 32)
- Sonda de variante *RHD***DIIIa* N° 1: 5'-GTGCACAGTGCAAGTGTGGCAGG-3' (SEC ID N°: 33)
- Sonda de variante *RHD***DIIIa* N° 2: 5'-TGCACAGTGCAAGTGTGGCAG-3' (SEC ID N°: 34)

20

En negrita está el SNP. El número de rs del SNP en la posición 819 no está disponible.

25

Como alternativa, puede usarse una sonda oligonucleotídica variante que difiere de una sonda descrita en la presente memoria por 1, 2, 3, 4 o 5 alteraciones de secuencia de nucleótidos.

Determinación del SNP en el exón 7 de *RHD*

Amplificación del exón 7 de *RHD* por PCR

30

La variante de SNP en el exón 7 de *RHD* puede amplificarse usando cebadores oligonucleotídicos que se unen con secuencias intrónicas que flanquean el exón 7 de *RHD*. Específicamente, las secuencias diana de los cebadores directo e inverso pueden localizarse en los intrones 6 y 7, respectivamente. Pueden usarse los siguientes cebadores, que producen un producto de PCR de 695 pares de bases:

35

- Cebador directo: 5'-ACAAACTCCCCGATGATGTGAGTG-3' (SEC ID N°: 35)
- Cebador inverso: 5'-GAGGCTGAGAAAGGTTAAGCCA-3' (SEC ID N°: 36)

40

En negrita están los nucleótidos específicos de *RHD*.

La presencia o ausencia de este SNP, y la variante de SNP específica, puede después visualizarse directamente, por ejemplo por electroforesis en gel después de digestión de restricción como se ha descrito anteriormente, o indirectamente, por ejemplo mediante hibridación con una sonda como se analiza posteriormente. Como alternativa, la variante de SNP puede determinarse por hibridación de sonda solamente sin amplificación por PCR previa.

45

Puede usarse un cebador oligonucleotídico variante que difiera de un cebador descrito en la presente memoria en 1, 2, 3, 4 o 5 alteraciones de secuencia de nucleótidos.

Hibridación del amplicón del exón 7 de *RHD* con sondas oligonucleotídicas.

50

La hibridación del amplicón del exón 7 de *RHD* con sondas oligonucleotídicas puede hacer uso de 4 sondas oligonucleotídicas: 2 sondas serían específicas para la secuencia de tipo silvestre (es decir secuencia idéntica al alelo de *RHD***D* convencional) de un SNP localizado dentro del amplicón, y unido con variantes de *RHD*. Las otras 2 sondas permiten distinguir la variante *RHD***DIVa-2IIIa* de *RHD***DIIIa*-*CE(4-7)-D* y *RHD***DIIIa*, ya que la presencia del SNP es característica de la variante de *RHD***DIVa-2*. Sin embargo, en algunas realizaciones las sondas pueden no distinguir entre otras variantes de *RHD* (es decir variantes de *RHD* distintas de *DIIIa*, *DIVa* y *RHD***DIIIa*-*CE(4-7)-D*). Estas sondas permiten la diferenciación entre muestras homocigotas/hemicigotas y heterocigotas. Por ejemplo, puede usarse el SNP localizado en la posición 1048 de la secuencia codificante, con G y C como nucleótidos de tipo silvestre y de variante *RHD***DIVa-2*, respectivamente. Pueden usarse las siguientes secuencias de sonda para este SNP:

55

60

- Sonda de tipo silvestre de *RHD* N° 1: 5'-TGCTGGTGCTT**G**ATACCGTCGGA-3' (SEC ID N°: 37)
- Sonda de tipo silvestre de *RHD* N° 2: 5'-GCTGGTGCTT**G**ATACCGTCGG-3' (SEC ID N°: 38)
- Sonda de variante *RHD***DIVa-2* N° 1: 5'-TGCTGGTGCTT**C**ATACCGTCGGA-3' (SEC ID N°: 39)
- Sonda de variante *RHD***DIVa-2* N° 2: 5'-GCTGGTGCTT**C**ATACCGTCGG-3' (SEC ID N°: 40). En negrita está el

65

SNP.

Como alternativa, puede usarse una sonda oligonucleotídica variante que difiera de una sonda descrita en la presente memoria en 1, 2, 3, 4 o 5 alteraciones de secuencia de nucleótidos.

5 La determinación de unión de secuencias amplificadas con sondas de tipo silvestre frente a variantes se realiza normalmente, pero no solamente, mediante cuantificación de fluorescencia unida a sonda. Los restos de fluorescencia y/o de captura de fluorescencia se introducen normalmente, pero no solamente, en el procedimiento en la etapa de amplificación en forma de nucleótidos modificados (véase sección de Materiales y Métodos).

10

Tabla 1

RHCE⁺C	RHDICE Hex03	RHD ex 03	RHD 602	RHD 1048	RHD Haplotipo 1/RHD Haplotipo 2	Fenotipo de RHD, RHC
Ausente	Presente	Presente	C	G	RHD*DIIIa-CE(4-7)-D / Posiblemente RHD	¿D?, C ^w
Ausente	Presente	Presente	c	G/C	RHD*DIVa-2 / Posiblemente RHD	¿D?, C ⁻
Ausente	Presente	Presente	C	C	RHD*DIVa-2 / RHD*DIVb-4	D Parcial, C ⁻
Ausente	Presente	Presente	C	Ausente	No Indicado	
Ausente	Presente	Presente	C/G	G	RHD*DIIIa / Posiblemente RHD	¿D?, C ⁻
Ausente	Presente	Presente	C/G	G/C	RHD*DIIIa / RHD*DIVb-4	D Parcial, C ⁻
					RHD*tipoDdébil4.0 / RHD*DIVa-2	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*tipoDdébil4.1 / RHD*DIVa-2	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*tipoDdébil14/ RHD*DIVa-2	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*tipoDdébil51 / RHD*DIVa-2	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*DAR / RHD*DIVa-2	D Parcial, C ⁻
					RHD*DAR-E / RHD*DIVa-2	D Parcial, C ⁻
Ausente	Presente	Presente	C/G	C	No Indicado	
Ausente	Presente	Presente	C/G	Ausente	No Indicado	
Ausente	Presente	Presente	G	G	RHD*tipoDdébil4.0 / RHD*DIIIa	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*tipoDdébil4.1 / RHD*DIIIa	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*tipoDdébil14 / RHD*DIIIa	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*tipoDdébil51 / RHD*DIIIa	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*DAR / RHD*DIIIa	¿D Parcial?, C ⁻

ES 2 445 709 T3

					RHD*DAR-E / RHD*DIIIIa	¿D Parcial?, C ⁻
					RHD*tipoDdébil4.0 / RHD*DIIIIa-CE(4-7)-D)	D Débil, C ^{+w}
					RHD*tipoDdébil4.1 / RHD*DIIIIa-CE(4-7)-D)	D Débil, C ^{+w}
					RHD*tipoDdébil14 / RHD*DIIIIa-CE(4-7)-D)	D Débil, C ^{+w}
					RHD*tipoDdébil51 / RHD*DIIIIa-CE(4-7)-D)	D Débil, C ^{+w}
					RHD*DAR / RHD*DIIIIa-CE(4-7)-D)	D Parcial, C ^{+w}
					RHD*DAR-E / RHD*DIIIIa-CE(4-7)-D)	D Parcial, C ^{+w}
Ausente	Presente	Presente	G	G/C	No Indicado	
Ausente	Presente	Presente	G	C	No Indicado	
Ausente	Presente	Presente	G	Ausente	No Indicado	
Ausente	Presente	Presente	Ausente	G	No Indicado	
Ausente	Presente	Presente	Ausente	G/C	No Indicado	
Ausente	Presente	Presente	Ausente	C	No Indicado	
Ausente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	RHD*ex04-ex07del	D ⁻ , C ⁻
Ausente	Presente	Ausente	C	G	RHD*DIIIIa-CE(4-7)-D / RHD*ex03del	D ⁻ , C ^{+w}
Ausente	Presente	Ausente	C	G/C	RHD*DIVa-2 / RHD*ex03del	D Parcial, C ⁻
Ausente	Presente	Ausente	C	C	RHD*DIVa-2 / No RHD	D Parcial, C ⁻
					RHD*DIVa-2 / RHD*DIVa-2	D Parcial, C ⁻
					RHD*DIVa-2 / RHD*DIIIIa-CE(4-7)-D	D Parcial, C ^{+w}
Ausente	Presente	Ausente	C	Ausente	No Indicado	
Ausente	Presente	Ausente	C/G	G	RHD*DIIIIa / RHD*ex03del	D Parcial, C ⁻
Ausente	Presente	Ausente	C/G	G/C	RHD*DIIIIa / RHD*DIVa-2	D Parcial, C ⁻
Ausente	Presente	Ausente	C/G	C	No Indicado	
Ausente	Presente	Ausente	C/G	Ausente	No Indicado	
Ausente	Presente	Ausente	G	G	RHD*DIIIIa / No RHD	D Parcial, C ⁻
					RHD*DIIIIa / RHD*DIIIIa	D Parcial, C ⁻
					RHD*DIIIIa / RHD*DIIIIa-CE(4-7)-D	D Parcial, C ^{+w}
Ausente	Presente	Ausente	G	G/C	RHD*DIIIIa / RHD*ex03-ex04del	D Parcial, C ⁻

ES 2 445 709 T3

Ausente	Presente	Ausente	G	C	No Indicado	
Ausente	Presente	Ausente	G	Ausente	No Indicado	
Ausente	Presente	Ausente	Ausente	G	RHD*DIIIIa-CE(4-7)-D / RHD*ex03-ex04del	D ⁻ , C ^{+W}
Ausente	Presente	Ausente	Ausente	G/C	No Indicado	
Ausente	Presente	Ausente	Ausente	C	No Indicado	
Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	RHD*DIIIIa-CE(4-7)-D / No RHD	D ⁻ , C ^{+W}
					RHD*DIIIIa-CE(4-7)-D / RHD*DIIIIa-CE(4-7)-D	D ⁻ , C ^{+W}
Ausente	Ausente	Presente	C	G	Posiblemente RHD	¿D?, C ⁻
Ausente	Ausente	Presente	C	G/C	RHD*DIVb-4 / Posiblemente RHD	¿D?, C ⁻
Ausente	Ausente	Presente	C	C	RHD*DIVb-4 / RHD*DIVb-4	D Parcial, C ⁻
Ausente	Ausente	Presente	C	Ausente	No Indicado	
Ausente	Ausente	Presente	C/G	G	RHD*tipoDdébil4.0 / Posiblemente RHD	¿D?, C ⁻
					RHD*tipoDdébil4.1 / Posiblemente RHD	¿D?, C ⁻
					RHD*tipoDdébil14 / Posiblemente RHD	¿D?, C ⁻
					RHD*tipoDdébil51 / Posiblemente RHD	¿D?, C ⁻
					RHD*DAR / Posiblemente RHD	¿D?, C ⁻
					RHD*DAR-E / Posiblemente RHD	¿D?, C ⁻
Ausente	Ausente	Presente	C/G	G/C	RHD*tipoDdébil4.0/ RHD*DIVb-4	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*tipoDdébil4.01 / RHD*DIVb-4	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*tipoDdébil4.1 / RHD*DIVb-4	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*tipoDdébil14 / RHD*DIVb-4	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*tipoDdébil51 / RHD*DIVb-4	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*DAR / RHD*DIVb-4	D Parcial, C ⁻
					RHD*DAR-E / RHD*DIVb-4	D Parcial, C ⁻
Ausente	Ausente	Presente	C/G	C	No Indicado	
Ausente	Ausente	Presente	C/G	Ausente	No Indicado	

ES 2 445 709 T3

Ausente	Ausente	Presente	G	G	RHD*tipoDdébil4.0 / RHD*tipoDdébil4.0	D Débil, C-
					RHD*tipoDdébil4.1 / RHD*tipoDdébil4.0	D Débil, C ⁻
					RHD*tipoDdébil14 / RHD*tipoDdébil4.0	D Débil, C ⁻
					RHD*tipoDdébil51 / RHD*tipoDdébil4.0	D Débil, C ⁻
					RHD*DAR / RHD*tipoDdébil4.0	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*DAR-E / RHD*tipoDdébil4.0	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*tipoDdébil4.0 / RHD*tipoDdébil4.1	D Débil, C ⁻
					RHD*tipoDdébil4.1 / RHD*tipoDdébil4.1	D Débil, C ⁻
					RHD*tipoDdébil14 / RHD*tipoDdébil4.1	D Débil, C ⁻
					RHD*tipoDdébil51 / RHD*tipoDdébil4.1	D Débil, C ⁻
					RHD*DAR / RHD*tipoDdébil4.1	D Débil o Parcial, C ⁻
RHD*DAR-E / RHD*tipoDdébil4.1	D Débil o Parcial, C ⁻					
					RHD*tipoDdébil4.0 / / RHD*tipoDdébil14	D Débil, C ⁻
					RHD*tipoDdébil4.1 / RHD*tipoDdébil14	D Débil, C ⁻
					RHD*tipoDdébil14 / RHD*tipoDdébil14	D Débil, C ⁻
					RHD*tipoDdébil51 / RHD*tipoDdébil14	D Débil, C ⁻
					RHD*DAR / RHD*tipoDdébil14	D Débil o Parcial, C-
					RHD*DAR-E / RHD*tipoDdébil14	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*tipoDdébil4.0 / RHD*tipoDdébil51	D Débil, C ⁻
					RHD*tipoDdébil4.1 / RHD*tipoDdébil51	D Débil, C ⁻
					RHD*tipoDdébil14 / RHD*tipoDdébil51	D Débil, C ⁻
					RHD*tipoDdébil51 / RHD*tipoDdébil51	D Débil, C ⁻
					RHD*DAR / RHD*tipoDdébil51	D Débil o Parcial, C ⁻

ES 2 445 709 T3

					RHD*DAR-E RHD*tipoDdébil51	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*tipoDdébil4.0 / RHD*DAR	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*tipoDdébil4.1 / RHD*DAR	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*tipoDdébil14 / RHD*DAR	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*tipoDdébil51 / RHD*DAR	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*DAR / RHD*DAR	D Parcial, C ⁻
					RHD*DAR-E / RHD*DAR	D Parcial, C ⁻
					RHD*tipoDdébil4.0 / RHD*DAR-E	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*tipoDdébil4.1 / RHD*DAR-E	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*tipoDdébil14 / RHD*DAR-E	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*tipoDdébil51 / RHD*DAR-E	D Débil o Parcial, C ⁻
					RHD*DAR / RHD*DAR-E	D Parcial, C ⁻
					RHD*DAR-E / RHD*DAR-E	D Parcial, C ⁻
Ausente	Ausente	Presente	G	G/C	No Indicado	
Ausente	Ausente	Presente	G	C	No Indicado	
Ausente	Ausente	Presente	G	Ausente	No Indicado	
Ausente	Ausente	Presente	Ausente	G	No Indicado	
Ausente	Ausente	Presente	Ausente	G/C	No Indicado	
Ausente	Ausente	Presente	Ausente	C	No Indicado	
Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	RHD*ex04-ex07del / RHD*ex04-ex07del	D ⁻ , C ⁻
					RHD*ex04-ex07del / No RHD	D ⁻ , C ⁻
Ausente	Ausente	Ausente	C	G	RHD*ex03del/ RHD*ex03del	D ⁻ , C ⁻
					RHD*ex03del / No RHD	D ⁻ , C ⁻
Ausente	Ausente	Ausente	C	G/C	No Indicado	
Ausente	Ausente	Ausente	C	C	No Indicado	
Ausente	Ausente	Ausente	C	Ausente	No Indicado	
Ausente	Ausente	Ausente	C/G	G	No Indicado	
Ausente	Ausente	Ausente	C/G	G/C	No Indicado	

ES 2 445 709 T3

Ausente	Ausente	Ausente	C/G	C	No Indicado	
Ausente	Ausente	Ausente	C/G	Ausente	No Indicado	
Ausente	Ausente	Ausente	G	G	No Indicado	
Ausente	Ausente	Ausente	G	G/C	No Indicado	
Ausente	Ausente	Ausente	G	C	No Indicado	
Ausente	Ausente	Ausente	G	Ausente	No Indicado	
Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	G	RHD*ex03-ex04del / RHD*ex03-ex04del	D ⁻ , C ⁻
					RHD*ex03-ex04del / No RHD	D ⁻ , C ⁻
Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	G/C	No Indicado	
Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	C	No Indicado	
Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	No RHD / No RHD	D ⁻ , C ⁻
Presente	Presente	Presente	C	G	RHD*DIIIa-CE(4-7)-D / Posiblemente RHD	¿D?, C ⁺
Presente	Presente	Presente	C	G/C	RHD*DIVa-2 / Posiblemente RHD	¿D?, C ⁺
Presente	Presente	Presente	C	C	RHD*DIVa-2 / RHD*DIVb-4	D Parcial, C ⁺
Presente	Presente	Presente	C	Ausente	No Indicado	
Presente	Presente	Presente	C/G	G	RHD*DIIIa / Posiblemente RHD	¿D?, C ⁺
Presente	Presente	Presente	C/G	G/C	RHD*DIIIa / RHD*DIVb-4	D Parcial, C ⁺
					RHD*tipoDdébil4.0 / RHD*DIVa-2	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*tipoDdébil4.1 / RHD*DIVa-2	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*tipoDdébil14 / RHD*DIVa-2	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*tipoDdébil51 / RHD*DIVa-2	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*DAR / RHD*DIVa-2	D Parcial, C ⁺
					RHD*DAR-E / RHD*DIVa-2	D Parcial, C ⁺
Presente	Presente	Presente	C/G	C	No Indicado	
Presente	Presente	Presente	C/G	Ausente	No Indicado	
Presente	Presente	Presente	G	G	RHD*tipoDdébil4.0 / RHD*DIIIa	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*tipoDdébil4.1 / RHD*DIIIa	D Débil o Parcial, C ⁺

ES 2 445 709 T3

					RHD*tipoDdébil14 / RHD*DIIla	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*tipoDdébil51 / RHD*DIIla	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*DAR / RHD*DIIla	¿D Parcial?, C ⁺
					RHD*DAR-E / RHD*DIIla	¿D Parcial?, C ⁺
					RHD*tipoDdébil4.0 / RHD*DIIla-CE(4-7)-D)	D Débil, C ⁺
					RHD*tipoDdébil4.1 / RHD*DIIla-CE(4-7)-D)	D Débil, C ⁺
					RHD*tipoDdébil14 / RHD*DIIla-CE(4-7)-D)	D Débil, C ⁺
					RHD*tipoDdébil51 / RHD*DIIla-CE(4-7)-D)	D Débil, C ⁺
					RHD*DAR / RHD*DIIla-CE(4-7)-D)	D Parcial, C ⁺
					RHD*DAR-E / RHD*DIIla-CE(4-7)-D)	D Parcial, C ⁺
Presente	Presente	Presente	G	G/C	No Indicado	
Presente	Presente	Presente	G	C	No Indicado	
Presente	Presente	Presente	G	Ausente	No Indicado	
Presente	Presente	Presente	Ausente	G	No Indicado	
Presente	Presente	Presente	Ausente	G/C	No Indicado	
Presente	Presente	Presente	Ausente	C	No Indicado	
Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	RHD*ex04-ex07del	D ⁻ , C ⁺
Presente	Presente	Ausente	C	G	RHD*DIIla-CE(4-7)-D / RHD*ex03del	D ⁻ , C ⁺
Presente	Presente	Ausente	C	G/C	RHD*DIVa-2 / RHD*ex03del	D Parcial, C ⁺
Presente	Presente	Ausente	C	C	RHD*DIVa-2 / No RHD	D Parcial, C ⁺
					RHD*DIVa-2/ RHD*DIVa-2	D Parcial, C ⁺
					RHD*DIVa-2 / RHD*DIIla-CE(4-7)-D	D Parcial, C ⁺
Presente	Presente	Ausente	C	Ausente	No Indicado	
Presente	Presente	Ausente	C/G	G	RHD*DIIla / RHD*ex03del	D Parcial, C ⁺
Presente	Presente	Ausente	C/G	G/C	RHD*DIIla / RHD*DIVa-2	D Parcial, C ⁺
Presente	Presente	Ausente	C/G	C	No Indicado	
Presente	Presente	Ausente	C/G	Ausente	No Indicado	
Presente	Presente	Ausente	G	G	RHD*DIIla / No RHD	D Parcial, C ⁺

ES 2 445 709 T3

					RHD*DIIIIa / RHD*DIIIIa	D Parcial, C ⁺
					RHD*DIIIIa / RHD*DIIIIa-CE(4-7)-D	D Parcial, C ⁺
Presente	Presente	Ausente	G	G/C	RHD*DIIIIa / RHD*ex03-ex04del	D Parcial, C ⁺
Presente	Presente	Ausente	G	C	No Indicado	
Presente	Presente	Ausente	G	Ausente	No Indicado	
Presente	Presente	Ausente	Ausente	G	RHD*DIIIIa-CE(4-7)-D / RHD*ex03-ex04del	D ⁻ , C ⁺
Presente	Presente	Ausente	Ausente	G/C	No Indicado	
Presente	Presente	Ausente	Ausente	C	No Indicado	
Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	RHD*DIIIIa-CE(4-7)-D / No RHD	D ⁻ , C ⁺
					RHD*DIIIIa-CE(4-7)-D / RHD*DIIIIa-CE(4-7)-D	D ⁻ , C ⁺
Presente	Ausente	Presente	C	G	Posiblemente RHD	¿D?, C ⁺
Presente	Ausente	Presente	C	G/C	RHD*DIVb-4 / Posiblemente RHD	¿D?, C ⁺
Presente	Ausente	Presente	C	C	RHD*DIVb-4 / RHD*DIVb-4	D Parcial, C ⁺
Presente	Ausente	Presente	C	Ausente	No Indicado	
Presente	Ausente	Presente	C/G	G	RHD*tipoDdébil4.0 / Posiblemente RHD	¿D?, C ⁺
					RHD*tipoDdébil4.1 / Posiblemente RHD	¿D?, C ⁺
					RHD*tipoDdébil14 / Posiblemente RHD	¿D?, C ⁺
					RHD*tipoDdébil51 / Posiblemente RHD	¿D?, C ⁺
					RHD*DAR / Posiblemente RHD	¿D?, C ⁺
					RHD*DAR-E / Posiblemente RHD	¿D?, C ⁺
Presente	Ausente	Presente	C/G	G/C	RHD*tipoDdébil4.0 / RHD*DIVb-4	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*tipoDdébil4.01 / RHD*DIVb-4	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*tipoDdébil4.1 / RHD*DIVb-4	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*tipoDdébil14 / RHD*DIVb-4	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*tipoDdébil51 / RHD*DIVb-4	D Débil o Parcial, C ⁺

ES 2 445 709 T3

					RHD*DAR / RHD*DIVb-4	D Parcial, C ⁺
					RHD*DAR-E / RHD*DIVb-4	D Parcial, C ⁺
Presente	Ausente	Presente	C/G	C	No Indicado	
Presente	Ausente	Presente	C/G	Ausente	No Indicado	
Presente	Ausente	Presente	G	G	RHD*tipoDdébil4.0 / RHD*tipoDdébil4.0	D Débil, C ⁺
					RHD*tipoDdébil4.1 / RHD*tipoDdébil4.0	D Débil, C ⁺
					RHD*tipoDdébil14 / RHD*tipoDdébil4.0	D Débil, C ⁺
					RHD*tipoDdébil51 / RHD*tipoDdébil4.0	D Débil, C ⁺
					RHD*DAR / RHD*tipoDdébil4.0	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*DAR-E / RHD*tipoDdébil4.0	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*tipoDdébil4.0 / RHD*tipoDdébil4.1	D Débil, C ⁺
					RHD*tipoDdébil4.1 / RHD*tipoDdébil4.1	D Débil, C ⁺
					RHD*tipoDdébil14 / RHD*tipoDdébil4.1	D Débil, C ⁺
					RHD*tipoDdébil51 / RHD*tipoDdébil4.1	D Débil, C ⁺
					RHD*DAR / RHD*tipoDdébil4.1	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*DAR-E / RHD*tipoDdébil4.1	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*tipoDdébil4.01 / RHD*tipoDdébil14	D Débil, C ⁺
					RHD*tipoDdébil4.1 / RHD*tipoDdébil14	D Débil, C ⁺
					RHD*tipoDdébil14 / RHD*tipoDdébil14	D Débil, C ⁺
					RHD*tipoDdébil51 / RHD*tipoDdébil14	D Débil, C ⁺
					RHD*DAR / RHD*tipoDdébil14	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*DAR-E / RHD*tipoDdébil14	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*tipoDdébil4.01 / RHD*tipoDdébil51	D Débil, C ⁺

ES 2 445 709 T3

					RHD*tipoDdébil4.1 / RHD*tipoDdébil51	D Débil, C ⁺
					RHD*tipoDdébil14 / RHD*tipoDdébil51	D Débil, C ⁺
					RHD*tipoDdébil51 / RHD*tipoDdébil51	D Débil, C ⁺
					RHD*DAR / RHD*tipoDdébil51	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*DAR-E / RHD*tipoDdébil51	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*tipoDdébil4.0 / RHD*DAR	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*tipoDdébil4.1 / RHD*DAR	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*tipoDdébil14 / RHD*DAR	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*tipoDdébil51 / RHD*DAR	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*DAR / RHD*DAR	D Parcial, C ⁺
					RHD*DAR-E / RHD*DAR	D Parcial, C ⁺
					RHD*tipoDdébil4.0 / RHD*DAR-E	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*tipoDdébil4.1 / RHD*DAR-E	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*tipoDdébil14 / RHD*DAR-E	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*tipoDdébil51 / RHD*DAR-E	D Débil o Parcial, C ⁺
					RHD*DAR / RHD*DAR-E	D Parcial, C ⁺
					RHD*DAR-E / RHD*DAR-E	D Parcial, C ⁺
Presente	Ausente	Presente	G	G/C	No Indicado	
Presente	Ausente	Presente	G	C	No Indicado	
Presente	Ausente	Presente	G	Ausente	No Indicado	
Presente	Ausente	Presente	Ausente	G	No Indicado	
Presente	Ausente	Presente	Ausente	G/C	No Indicado	
Presente	Ausente	Presente	Ausente	C	No Indicado	
Presente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	RHD*ex04-ex07del / RHD*ex04-ex07del	D ⁻ , C ⁺
					RHD*ex04-ex07del / No RHD	D ⁻ , C ⁺

ES 2 445 709 T3

Presente	Ausente	Ausente	C	G	RHD*ex03del / RHD*ex03del	D ⁻ , C ⁺
					RHD*ex03del / No RHD	D ⁻ , C ⁺
Presente	Ausente	Ausente	C	G/C	No Indicado	
Presente	Ausente	Ausente	C	C	No Indicado	
Presente	Ausente	Ausente	C	Ausente	No Indicado	
Presente	Ausente	Ausente	C/G	G	No Indicado	
Presente	Ausente	Ausente	C/G	G/C	No Indicado	
Presente	Ausente	Ausente	C/G	C	No Indicado	
Presente	Ausente	Ausente	C/G	Ausente	No Indicado	
Presente	Ausente	Ausente	G	G	No Indicado	
Presente	Ausente	Ausente	G	G/C	No Indicado	
Presente	Ausente	Ausente	G	C	No Indicado	
Presente	Ausente	Ausente	G	Ausente	No Indicado	
Presente	Ausente	Ausente	Ausente	G	RHD*ex03-ex04del / RHD*ex03-ex04del	D ⁻ , C ⁺
					RHD*ex03-ex04del / No RHD	D ⁻ , C ⁺
Presente	Ausente	Ausente	Ausente	G/C	No Indicado	
Presente	Ausente	Ausente	Ausente	C	No Indicado	
Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	No RHD / No RHD	D ⁻ , C ⁺

Tabla 2

Antígeno	Fenotipo 1	Fenotipo 2	Fenotipo de muestra
RhD	D ⁻	D ⁻	D ⁻
	D ⁻	D Débil	D Débil
	D ⁻	D Parcial	D Parcial
	D ⁻	D ⁺	D ⁺
	D Débil	D Débil	D Débil
	D Débil	D Parcial	D Débil o Parcial
	D Débil	D ⁺	D ⁺
	D Parcial	D Parcial	D Parcial
	D Parcial	D ⁺	D ⁺
	D ⁺	D ⁺	D ⁺
RhC	C ⁻	C ⁻	C ⁻
	C ⁻	C ^{+w}	C ^{+w}
	C ⁻	C ⁺	C ⁺
	C ^{+w}	C ^{+w}	C ^{+w}
	C ^{+w}	C ⁺	C ⁺
	C ⁺	C ⁺	C ⁺

Ejemplos

Identificación de variantes genéticas que no codifican antígenos D (D⁻) y codifican antígeno C alterado (C^{+W})

- 5 El siguiente ejemplo se refiere a un método para identificar variantes *RHD*DIIIa-CE(4-7)-D* o de tipo *RHD*DIIIa-CE(4-7)-D*. El método descrito en la presente memoria se ha aplicado a 58 muestras que se conocía previamente que contenían exón 3 híbrido de *RHD/RHCE*. El procedimiento descrito posteriormente parte de la genotipación de dichas muestras y el análisis posterior de dichas muestras agrupadas por genotipo y/o fenotipo predicho. El serotipo asignado a un grupo corresponde a análisis realizado solamente en un subconjunto de las muestras en dicho grupo.

10 Materiales y métodos

- 15 Se extrajo ADN genómico de células nucleadas en una muestra sanguínea por lisis celular. El ADN extraído se purificó en una columna de afinidad. Se realizaron tanto lisis celular como purificación de ADN con un kit de Sangre QIAamp (Qiagen, Alemania) siguiendo los protocolos y recomendaciones del fabricante. La pureza del ADN se determinó por espectrofotometría en un instrumento Nanodrop (Nanodrop, DE). Solo las soluciones de ADN con una $DO_{260/280}$ de $1,8 \pm 0,2$ continuaron al análisis posterior.

- 20 Se usó ADN purificado como un molde para amplificación por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) múltiple de los segmentos génicos de interés en un termociclador GeneAmp 9700 (Perkin-Elmer, CA). Se enumeran secuencias de cebadores para los diferentes segmentos en la sección de Descripción Técnica posterior. Las condiciones de ciclación consistieron en una etapa de desnaturalización/activación de la polimerasa a 95 °C durante 15 minutos, seguido de 38 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 45 segundos, hibridación a 60 °C durante 60 segundos, extensión a 72 °C durante 90 segundos y una etapa final de extensión a 72 °C durante 10 minutos.

- 25 El ADN amplificado se fragmentó enzimáticamente mediante incubación con DNasa I (Promega, WI) y fosfatasa alcalina (Roche, Alemania) a 37 °C durante 30 minutos, seguido de inactivación enzimática a 95 °C durante 10 minutos.

- 30 El ADN fragmentado se marcó por incubación con enzima TdT (Roche, Alemania) y biotina ddUTP (Perkin-Elmer, CA) o Cy5-dCTP (Perkin-Elmer, CA) a 37 °C durante 60 minutos.

- 35 El ADN marcado se colocó en una micromatriz patentada de Progenika. La micromatriz comprendía una superficie de cristal modificada a la que se unieron covalentemente sondas oligonucleotídicas específicas de alelo. Las sondas se diseñaron para explorar múltiples posiciones de variantes alélicas (es decir marcadores) en los segmentos genómicos amplificados. Cada variante alélica se exploró mediante 2 sondas, para un total de 4 sondas por marcador. Cada sonda se imprimió 10 veces en la micromatriz, para un total de 40 elementos (puntos) por SNP. Las secuencias de sonda se enumeran en la sección de Descripción Técnica posterior. La interfaz de ADN marcado/micromatriz se colocó en una cámara de incubación de una estación HS 4800 Pro (Tecan, Suiza) y se incubó a 47 °C durante 30 minutos y a 45 °C durante 60 minutos en tampón que contenía SSPE, dextrano y formamida desionizada para permitir que las sondas hibridaran (se unieran) con sus secuencias afines, cuando estuvieran presentes. El ADN no unido se retiró por lavado mediante incubación a 23 °C durante diversos tiempos con tampón que contenía SSC con o sin SDS. Se añadió un conjugado de estreptavidina-Cy3 (Invitrogen, CA) diluido en tampón que contenía PBS y Tween-20 con la superficie de la micromatriz y se incubó adicionalmente a 37 °C durante 10 minutos. El conjugado no unido se retiró por lavado como anteriormente. La micromatriz se secó por lavado abundante con nitrógeno líquido a alta presión a través de la cámara de incubación.

- 45 El ADN hibridado se marcó con fluorescencia, directamente con Cy5 (por la reacción de transferasa anterior) o mediante la interacción entre el conjugado de estreptavidina-Cy3 y biotina (últimas etapas de la hibridación), y se inmovilizó en la micromatriz por formación de pares de bases específico de secuencia con su sonda respectiva. Se detectó fluorescencia de Cy3 y Cy5 unido a micromatriz en un explorador confocal InnoScan 710 (Innopsys, Francia). Este explorador usa dos haces de láser con longitudes de onda apropiadas para excitación de los fluoróforos Cy3 y Cy5 y sensores PMT para la detección de las señales de fluorescencia generadas. La señal de fluorescencia de cada elemento se cuantificó posteriormente por software específico.

- 55 Se usó software patentado de Progenika para transformar los valores de intensidad de fluorescencia para las variantes alélicas particulares detectadas, individualmente o en combinación, en genotipos de grupo sanguíneo, y de genotipos en fenotipos de grupo sanguíneo predichos.

- 60 Se puede realizar análisis de serología usando métodos bien conocidos por los expertos en la materia. Pueden encontrarse protocolos adecuados, por ejemplo, en *The Blood Group Antigen FactsBook*, Segunda edición. 2004. M. E. Reid y C. Lomas-Francis. Elsevier Ltd., y referencias citadas en el mismo de manuales técnicos de serología.

Descripción técnica

De acuerdo con el presente ejemplo, se realizaron amplificaciones e hibridaciones para determinación de las cinco secuencias genéticas como sigue:

5 Amplificación del intrón 2 de *RHCE**C por PCR.

- Se usaron los siguientes cebadores, que produjeron un producto de PCR con un tamaño de 357 pares de bases:
Cebador directo: 5'-**GGCCACCACCATTGAA**-3' (SEC ID N°: 3)
- 10 - Cebador inverso: 5'-CCATGAACATGCCACTTAC-3' (SEC ID N°: 4)

En negrita, los nucleótidos específicos de *RHCE**C (cebador directo).

15 Amplificación del exón 3 híbrido de *RHD/RHCE* por PCR.

Se usaron los siguientes cebadores, que produjeron un producto de PCR con un tamaño de 256 pares de bases:

- Cebador directo: 5'-TCCTGGCTCTCC**CTCTCT**-3' (SEC ID N°: 9)
- 20 - Cebador inverso: 5'-TTTTCAAACCC**CGGAAG**-3' (SEC ID N°: 10)

20 En negrita, los nucleótidos específicos de *RHD* (cebador directo) y nucleótidos específicos de *RHCE* (cebador inverso).

25 Amplificación del exón 3 de *RHD* por PCR.

Se usaron los siguientes cebadores, que produjeron un producto de PCR con un tamaño de 268 pares de bases:

- Cebador directo: 5'-TCCTGGCTCTCC**CTCTCT**-3' (SEC ID N°: 15)
- 30 - Cebador inverso: 5'-GTTGTCTTTATTTTCAAAC**CCCT**-3' (SEC ID N°: 16)

En negrita, los nucleótidos específicos de *RHD*.

Amplificación del exón 4 de *RHD* por PCR.

35 Se usaron los siguientes cebadores, que produjeron un producto de PCR con un tamaño de 281 pares de bases:

- Cebador directo: 5'-GCTCTGAACTTTCTCCAAG**GA**CT-3' (SEC ID N°: 17)
- Cebador inverso: 5'-ATTCTGCTCAGCCCAAG**TA**G-3' (SEC ID N°: 18)

40 En negrita, los nucleótidos específicos de *RHD*.

Amplificación del exón 7 de *RHD* por PCR.

Se usaron los siguientes cebadores, que produjeron un producto de PCR con un tamaño de 695 pares de bases:

- 45 - Cebador directo: 5'-ACAACTCCCC**GATGATGTGAGTG**-3' (SEC ID N°: 35)
- Cebador inverso: 5'-GAGGCTGAGAAAGGTTAAG**CA**-3' (SEC ID N°: 36)

En negrita, los nucleótidos específicos de *RHD*.

50 Hibridación del amplicón del intrón 2 de *RHCE**C con sondas oligonucleotídicas.

Se usaron las siguientes secuencias de sonda para determinar la presencia o ausencia de este amplicón:

- 55 - Sonda exactamente coincidente específica de *RHCE**C N° 1: 5'-TTTTACAGACGCCTGCTACCATG-3' (SEC ID N°: 5)
- Sonda exactamente coincidente específica de *RHCE**C N° 2: 5'-CATGGTAGCAGGCGTCTGTAAAA-3' (SEC ID N°: 6)
- Sonda con emparejamiento erróneo N° 1: 5'-TTTTACAGACGTCTGCTACCATG-3' (SEC ID N°: 7)
- 60 - Sonda con emparejamiento erróneo N° 2: 5'-CATGGTAGCAG**AC**GTCTGTAAAA-3' (SEC ID N°: 8)

En negrita, el emparejamiento erróneo en posición central.

65 Hibridación del amplicón del exón 3 de *RHD* o el amplicón del exón 3 híbrido de *RHD/RHCE* con sondas oligonucleotídicas.

Se usaron las siguientes secuencias de sonda para determinar la presencia o ausencia de ambos amplicones, usando el SNP localizado en la posición 410 del exón 3 tanto de RHD como de RHD/RHCE. Los dos amplicones se distinguieron usando moléculas marcadoras diferentes (Cy5-dCTP o biotina ddUTP) en la reacción transferasa terminal descrita anteriormente.

- 5
- Sonda de tipo silvestre de *RHD*, *RHCE* N° 1: 5'-GGTCAACTTGGCGCAGTTGGTGG-3' (SEC ID N°: 11)
 - Sonda de tipo silvestre de *RHD*, *RHCE* N° 2: 5'-GTCAACTTGGCGCAGTTGGTGG-3' (SEC ID N°: 12)
 - Sonda de variante del exón 3 híbrido N° 1: 5'-GGTCAACTTGGTGCAGTTGGTGG-3' (SEC ID N°: 13)
 - Sonda de variante del exón 3 híbrido N° 2: 5'-GTCAACTTGGTGCAGTTGGTGG-3' (SEC ID N°: 14)

10 En negrita, el SNP.

Hibridación del amplicón del exón 4 de *RHD* con sondas oligonucleotídicas

15 Se usaron las siguientes secuencias de sonda para determinar la presencia, ausencia y variante de SNP (bien C o G) para el SNP localizado en la posición 602 de la secuencia codificante:

- Sonda de tipo silvestre de *RHD* N° 1: 5'-ATAAAGATCAGACAGCAACGATACC-3' (SEC ID N°: 23)
- Sonda de tipo silvestre de *RHD* N° 2: 5'-TAAAGATCAGACAGCAACGATAC-3' (SEC ID N°: 24)
- 20 - Sonda de variante *RHD*DIIIa* N° 1: 5'-ATAAAGATCAGAGAGCAACGATACC-3' (SEC ID N°: 25)
- Sonda de variante *RHD*DIIIa* N° 2: 5'-TAAAGATCAGAGAGCAACGATAC-3' (SEC ID N°: 26)

En negrita, el SNP.

25 Hibridación del amplicón del exón 7 de *RHD* con sondas oligonucleotídicas.

Se usaron las siguientes secuencias de sonda para determinar la presencia, ausencia y variante de SNP (bien G o C) para el SNP localizado en la posición 1048 de la secuencia codificante:

- 30 - Sonda de tipo silvestre de *RHD* N° 1: 5'-TGCTGGTGCTT**G**ATACCGTCGGA-3' (SEC ID N°: 37)
- Sonda de tipo silvestre de *RHD* N° 2: 5'-GCTGGTGCTT**G**ATACCGTCGG-3' (SEC ID N°: 38)
- Sonda variante *RHD*DIVa-2* N° 1: 5'-TGCTGGTGCTT**C**ATACCGTCGGA-3' (SEC ID N°: 39)
- Sonda variante *RHD*DIVa-2* N° 2: 5'-GCTGGTGCTT**C**ATACCGTCGG-3' (SEC ID N°: 40) En negrita, el SNP.

35 Agrupamiento de muestras por combinación genotípica

El análisis por el método descrito anteriormente de 146 muestras que se sabía previamente que contenían el exón 3 híbrido de *RHD/RHCE* produjo los resultados mostrados posteriormente. Las muestras se agruparon por genotipo y/o fenotipo predicho. También se realizó análisis de serotipo en un subconjunto de las muestras en cada grupo. El análisis de serotipo es incapaz de distinguir entre fenotipos de antígeno C⁺ y C^{+W}, lo que demuestra los resultados imprecisos que pueden obtenerse usando este método. También hay algunos tipos de fenotipos de D-, parcial y débil que no pueden distinguirse por serología.

Grupo 1

45 Número de Muestras: 11

ID de las Muestras: 09-0084, 10-0210, 10-0380, 10-0635, 10-0972, 10-2366, 10-2367, 10-3113, 10-3649, 10-3664, 10-3809

50 Datos de genotipación: intrón 2 de *RHCE**C presente, *RHD/CE* Hex03 presente, exón 3 de *RHD* presente, exón 4 de *RHD* 602C, exón 7 de *RHD* 1048G.

- 55 • *RHD* haplotipo 1: *RHD*DIIIa-CE(4-7)-D*
RHD haplotipo 2: Posiblemente *RHD*D*
Fenotipo de RHD predicho: ¿D?
Serotipo: No disponible
- *RHCE* haplotipo 1: *RHCE*c*
RHCE haplotipo 2: *RHCE*C*
60 Fenotipo de RHCE C predicho: C⁺
Serotipo: C⁺

La determinación de los marcadores descritos en la presente memoria predijo correctamente que el fenotipo clínico no era *RHD*DIIIa-CE(4-7)-D*, *RHD*DIIIa* o *RHD*DIVa-2*.

65

ES 2 445 709 T3

Grupo 2

Número de Muestras: 49

5 ID de las Muestras: 09-0216, 09-0294, 10-0056, 10-0097, 10-0118, 10-0280, 10-0367, 10-0371, 10-0373, 10-0376, 10-0389, 10-0396, 10-0428, 10-0461, 10-0476, 10-0575, 10-0598, 10-0654, 10-0752, 10-0773, 10-0790, 10-0849, 10-0867, 10-0933, 10-1391, 10-1423, 10-1500, 10-1591, 10-1599, 10-1643, 10-1653, 10-2038, 10-2153, 10-2155, 10-2212, 10-2321, 10-2347, 10-2758, 10-3387, 10-3400, 10-3417, 10-3426, 10-3486, 10-3528, 10-3545, 10-3625, 10-3635, 10-3684, 10-3694

10 Datos de genotipación: intrón 2 de *RHCE**C ausente, RHD/CE Hex03 presente, exón 3 de *RHD* presente, exón 4 de *RHD* 602C, exón 7 de *RHD* 1048G.

- 15 • *RHD* haplotipo 1: *RHD***DIIIa-CE(4-7)-D*
RHD haplotipo 2: Posiblemente *RHD***D*
Fenotipo de RHD predicho: ¿D?
Serotipo: D⁺
- *RHCE* haplotipo 1: *RHCE***c*
RHCE haplotipo 2: *RHCE***c*
20 Fenotipo de RHCE C predicho: C^{+W}
Serotipo: C⁺

25 El método que determina los marcadores descritos en la presente memoria predijo que el fenotipo clínico podría ser *RHD***DIIIa-CE(4-7)-D*, pero no podría ser *RHD***DIIIa* o *RHD***DIVa-2*. Para los pacientes de hecho ensayados, estaba presente el antígeno D, y por lo tanto el fenotipo no era *RHD***DIIIa-CE(4-7)-D*. Estos datos también muestran que el análisis de serotipo indicó incorrectamente un fenotipo C⁺ en lugar de C^{+W}; en ausencia del intrón 2 de *RHCE* C, el fenotipo real no podría ser C⁺.

Grupo 3

30 Número de Muestras: 24

ID de las Muestras: 10-0085, 10-0177, 10-0443, 10-0656, 10-0715, 10-0847, 10-0853, 10-0900, 10-1374, 10-1455, 10-1532, 10-1577, 10-1588, 10-1649, 10-1661, 10-2220, 10-2238, 10-2335, 10-3392, 10-3427, 10-3461, 10-3561, 35 10-3718, 10-4060

Datos de genotipación: intrón 2 de *RHCE**C ausente, RHD/CE Hex03 presente, exón 3 de *RHD* ausente, exón 5 de *RHD* 602 ausente, exón 7 de *RHD* 1048 ausente.

- 40 • *RHD* haplotipo 1: *RHD***DIIIa-CE(4-7)-D*
RHD haplotipo 2: *RHD***DIIIa-CE(4-7)-D* o *RHD***Ø*
Fenotipo de RHD predicho: D-
Serotipo: D-
- *RHCE* haplotipo 1: *RHCE***c*
RHCE haplotipo 2: *RHCE***c*
45 Fenotipo de RHCE C predicho: C^{+W}
Serotipo: C⁺

50 El método descrito en la presente memoria predijo un fenotipo *RHD***DIIIa-CE(4-7)-D*; sin embargo, el análisis de serotipo indicó incorrectamente un fenotipo de antígeno C⁺, debido a la incapacidad para distinguir C⁺ de C^{+W}.

Grupo 4

Número de Muestras: 32

55 ID de las Muestras: 09-0275, 09-0300, 10-0041, 10-0074, 10-0107, 10-0425, 10-0481, 10-0523, 10-0579, 10-0590, 10-0628, 10-0642, 10-0669, 10-0717, 10-0770, 10-0842, 10-0942, 10-1233, 10-1413, 10-1458, 10-1468, 10-1574, 10-1658, 10-1683, 10-2215, 10-2391, 10-2433, 10-2435, 10-2456, 10-3546, 10-3574, 10-4080

60 Datos de genotipación: intrón 2 de *RHCE**C ausente, RHD/CE Hex03 presente, exón 3 de *RHD* presente, exón 4 de *RHD* 602C/G (heterocigoto), exón 7 de *RHD* 1048G.

- 65 • *RHD* haplotipo 1: *RHD***DIIIa*
RHD haplotipo 2: Posiblemente *RHD***D*
Fenotipo de RHD predicho: ¿D?

- Serotipo: D⁺
- *RHCE* haplotipo 1: *RHCE**c
 - RHCE* haplotipo 2: *RHCE**c
- Fenotipo de *RHCE* C predicho: C⁻
- 5 Serotipo: C-

El método predijo que el fenotipo no se debía a un haplotipo *RHD**DIIIa-CE(4-7)-D. Los datos de serotipo coincidieron con estos resultados.

10 Grupo 5

Número de Muestras: 8

ID de las Muestras: 10-0420, 10-0512, 10-0543, 10-0735, 10-1634, 10-2379, 10-2470, 10-3409

15 Datos de genotipación: intrón 2 de *RHCE**C presente, *RHD*/CE Hex03 presente, exón 3 de *RHD* presente, exón 4 de *RHD* 602C/G (heterocigoto), exón 7 de *RHD* 1048G.

- *RHD* haplotipo 1: *RHD**DIIIa
 - 20 *RHD* haplotipo 2: Posiblemente *RHD**D
- Fenotipo de *RHD* predicho: ¿D?
- Serotipo: D⁺
- *RHCE* haplotipo 1: *RHCE**c
 - RHCE* haplotipo 2: *RHCE**C
- 25 Fenotipo de *RHCE* C predicho: C⁺
- Serotipo: C⁺

El método predijo correctamente que el fenotipo clínico no era *RHD**DIIIa-CE(4-7)-D, *RHD**DIIIa o *RHD**DI-Va-2.

30 Grupo 6

Número de Muestras: 10

ID de la muestra: 09-0032, 10-0187, 10-0281, 10-1379, 10-1621, 10-1628, 10-2142, 10-2506, 10-3051, 10-3097

35 Datos de genotipación: intrón 2 de *RHCE**C ausente, *RHD*/CE Hex03 presente, exón 3 de *RHD* ausente, exón 4 de *RHD* 602G, exón 7 de *RHD* 1048G.

- *RHD* haplotipo 1: *RHD**DIIIa
 - 40 *RHD* haplotipo 2: *RHD**DIIIa o *RHD**DIIIa-CE(4-7)-D o *RHD**Ø⁽¹⁾
- Fenotipo de *RHD* predicho: D Parcial
- *RHCE* haplotipo 1: *RHCE**c
 - RHCE* haplotipo 2: *RHCE**c
- 45 Fenotipo de *RHCE* C predicho: C⁻ o C^{+w}

Sin datos de serotipo disponibles para estas muestras.

Grupo 7

50 Número de Muestras: 4

ID de las Muestras: 09-0287, 09-0333, 10-0075, 10-0284

55 Datos de genotipación: intrón 2 de *RHCE**C ausente, *RHD*/CE Hex03 presente, exón 3 de *RHD* presente, exón 4 de *RHD* 602G, exón 7 de *RHD* 1048G.

- *RHD* haplotipo 1: *RHD**DIIIa o *RHD**DIIIa-CE(4-7)-D
 - RHD* haplotipo 2: *RHD**D débil
- Fenotipo de *RHD* predicho: D Débil o D Parcial
- 60 Serotipo: D⁺
- *RHCE* haplotipo 1: *RHCE**c
 - RHCE* haplotipo 2: *RHCE**c
- Fenotipo de *RHCE* C predicho: C⁻ o C^{+w}
- 65 Serotipo: Datos no disponibles

ES 2 445 709 T3

El método predijo correctamente que el fenotipo clínico no era *RHD*DIIIa-CE(4-7)-D*.

Grupo 8

5 Número de Muestras: 5

ID de las Muestras: 10-0052, 10-0638, 10-0723, 10-0876, 10-2144

10 Datos de genotipación: intrón 2 de *RHCE*C* ausente, *RHD/CE* Hex03 presente, exón 3 de *RHD* presente, exón 4 de *RHD* 602C, exón 7 de *RHD* 1048G/C (heterocigoto).

- *RHD* haplotipo 1: *RHD*DIVa-2*
RHD haplotipo 2: Posiblemente *RHD*D*
Fenotipo de *RHD* predicho: ¿D?
- 15 • *RHCE* haplotipo 1: *RHCE*c*
RHCE haplotipo 2: *RHCE*c*
Fenotipo de *RHCE* C predicho: C-

20 Sin datos de serotipo disponibles para estas muestras.

20

Grupo 9

Número de Muestras: 3

25 ID de las Muestras: 10-0081, 10-0387, 10-0400

Datos de genotipación: intrón 2 de *RHCE*C* presente, *RHD/CE* Hex03 presente, exón 3 de *RHD* presente, exón 4 de *RHD* 602C, exón 7 de *RHD* 1048G/C.

- 30 • *RHD* haplotipo 1: *RHD*DIVa-2*
RHD haplotipo 2: Posiblemente *RHD*D*
Fenotipo de *RHD* predicho: ¿D?
Serotipo: D⁺
- 35 • *RHCE* haplotipo 1: *RHCE*c*
RHCE haplotipo 2: *RHCE*C*
Fenotipo de *RHCE* C predicho: C⁺
Serotipo: C⁺

40 El método predijo correctamente que el fenotipo clínico no era *RHD*DIIIa-CE(4-7)-D*, *RHD*DIIIa* o *RHD*DI-Va-2*.

40

(¹)*RHD*Ø*: Sin gen de *RHD*.

Los resultados anteriores se resumen en la Tabla 3.

45

Tabla 3

		Nº de Haplotipos	% de Haplotipos
Variante de Exón 3 Híbrido	<i>RHD-DIIIa-CE(4-7)-D</i>	84	28,8
	<i>RHD*DIIIa</i>	50	17,1
	<i>RHD*DIVa-2</i>	8	2,7
	Incierto	38	13,0
Otros		112	38,4
Total		292	100,0
		Nº de Muestras	% de Muestras
Llamada <i>RHD*DIIIa-CE(4-7)-D</i>	Presente	84	57,5
	Ausente	48	32,9
	Incierto	14	9,6

		Nº de Haplotipos	% de Haplotipos
Total		146	100,0
		Nº de Muestras	% de Muestras
Fenotipo de RhD Predicho	¿D?	108	74,0
	D Parcial	10	6,9
	D ⁻	24	16,4
	Incierto	4	2,7
	Total	146	100,0
		Nº de Muestras	% de Muestras
Fenotipo de RhC Predicho	C ⁺	22	15,1
	C+w	73	50,0
	C ⁻	37	25,3
	Incierto	14	9,6
	Total	146	100,0

Estos datos muestran que usando los marcadores descritos en la presente memoria, es posible distinguir *RHD*DIIIa-CE(4-7)-D* de *RHD*DIIIa* o *RHD*DIIVa-2*. Además, estos datos muestran que basarse en el análisis de serotipo puede conducir erróneamente al diagnóstico incorrecto de un fenotipo de antígeno C^{+w} como C⁺.

5

Referencias

1. DIIIa and DIIV Type 5 are encoded by the same allele and are associated with altered RHCE*ce alleles: clinical implications. Connie M. Westhoff, Sunitha Vege, Christine Halter-Hipsky, Trina Whorley, Kim Hue-Roye, Christine Lomas-Francis, y Marion E. Reid. *Transfusion* (2010) 50, pp. 1303-1311.
2. Heterogeneous molecular background of the weak C, VS+, hrB-, HrB- phenotype in black persons. Bach-Nga Pham, Thierry Peyrard, Genevieve Juszczak, Isabelle Dubeaux, Dominique Gien, Antoine Blancher, Jean-Pierre Cartron, Philippe Rouger, y Pierre-Yves Le Penec. *Transfusion* (2009) 49, pp. 495-504.
3. RHC and RHc genotyping in different ethnic Grupos. Martine G.H.M. Tax, C. Ellen van der Schoot, Rene' van Doorn, Lotte Douglas-Berger, Dick J. van Rhenen, y Petra A. Maaskant-van Wijk. *Transfusion* (2002) 42, pp. 6234-644.
4. The Blood Grupo antigen FactsBook, Segunda edición. 2004. M. E. Reid y C. Lomas-Francis. Elsevier Ltd.

10

15

LISTADO DE SECUENCIAS

20

<110> Progenika Biopharma, S.A.

25

<120> Método para la identificación por técnicas moleculares de variantes genéticas que no codifican antígeno D (D-) y codifican antígeno C alterado (C+W)

<130> CSC/FP6712525

<160> 42

30

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

<211> 1254

<212> ADN

35

<213> *Homo sapiens*

<400> 1

ES 2 445 709 T3

atgagctcta	agtacccgcg	gtctgtccgg	cgctgcctgc	ccctctgggc	cctaacactg	60
gaagcagctc	tcattctcct	cttctatfff	tttaccact	atgacgcttc	cttagaggat	120
caaaaggggc	tcgtggcatc	ctatcaagtt	ggccaagatc	tgaccgtgat	ggcggccatt	180
ggcttgggct	tcctcacctc	gagtttccgg	agacacagct	ggagcagtgt	ggccttcaac	240
ctcttcatgc	tggcgcttgg	tgtgcagtgg	gcaatcctgc	tggacggctt	cctgagccag	300
ttcccttctg	ggaagggtgg	catcacactg	ttcagtattc	ggctggccac	catgagtgtc	360
ttgtcgggtc	tgatctcagt	ggatgctgtc	ttggggaagg	tcaacttggc	gcagttggtg	420
gtgatgggtc	tgggtggagg	gacagcttta	ggcaacctga	ggatggtcac	cagtaatatc	480
ttcaacacag	actaccacat	gaacatgatg	cacatctacg	tgttcgcagc	ctatfffggg	540
ctgtctgtgg	cctgggtgct	gccaaagcct	ctacccgagg	gaacggagga	taaagatcag	600
acagcaacga	taccagttt	gtctgccatg	ctgggccc	tcttcttgg	gatgttctgg	660
ccaagtttca	actctgctct	gctgagaagt	ccaatcgaaa	ggaagaatgc	cgtgttcaac	720
acctactatg	ctgtagcagt	cagcgtgggt	acagccatct	cagggtcacc	cttggctcac	780
ccccaaagga	agatcagcaa	gacttatgtg	cacagtgcgg	tgttggcagg	aggcgtggct	840
gtgggtacct	cggtcacct	gatcccttct	ccgtggcttg	ccatgggtgt	gggtcttgg	900
gctgggctga	tctccgtcgg	gggagccaag	tacctgccgg	ggtgttgtaa	ccgagtgtctg	960
gggattcccc	acagctccat	catgggctac	aacttcagct	tgctgggtct	gcttggagag	1020
atcatctaca	ttgtgctgct	ggtgcttgat	accgtcggag	ccggcaatgg	catgattggc	1080
ttccaggtcc	tcctcagcat	tggggaactc	agcttggcca	tcgtgatagc	tctcacgtct	1140
ggtctcctga	caggtttgct	cctaaatcct	aaaatatgga	aagcacctca	tgaggctaaa	1200
tatfffgatg	accaagtttt	ctggaagttt	cctcatttgg	ctgttgatt	ttaa	1254

<210> 2
 <211> 1254
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 2

ES 2 445 709 T3

atgagctcta agtaccgcg gtctgtccgg cgctgectgc ccctctgggc cctaactctg 60
 gaagcagctc tcattctcct cttctatntt tttaccact atgacgcttc cttagaggat 120
 caaaaggggc tcgtggcatc ctatcaagtc ggccaagatc tgaccgtgat ggcggccctt 180
 ggcttgggct tcctcacctc aaatttccgg agacacagct ggagcagtgt ggccttcaac 240
 ctcttcatgc tggcgcttgg tgtgcagtgg gcaatcctgc tggacggctt cctgagccag 300
 ttccctcctg ggaaggtggt catcacactg ttcagtattc ggctggccac catgagtgtc 360
 atgtcgggtc tgatctcagc ggggtgctgc ttggggaagg tcaacttggc gcagttgggtg 420
 gtgatgggtc tgggtggagg gacagcttta ggcaccctga ggatgggtcat cagtaatatc 480
 ttcaacacag actaccacat gaacctgagg cacttctacg tgttcgcagc ctatnttggg 540
 ctgactgtgg cctggtgcct gccaaagcct ctaccaagg gaacggagga taatgatcag 600
 agagcaacga taccagttt gtctgccatg ctgggcgccc tcttcttggg gatgnttctgg 660
 ccaagtgtca actctgctct gctgagaagt ccaatccaaa ggaagaatgc catgnttcaac 720
 acctactatg ctctagcagt cagtgtgggt acagccatct cagggtcatc cttggctcac 780
 ccccaaagga agatcagcat gacttatgtg cacagtgcgg tgnttggcagg aggcgtggct 840
 gtgggtacct cgtgtcacct gatcccttct ccgtggcttg ccatgggtgct gggcttggg 900
 gctgggctga tctccatcgg gggagccaag tgcctgccgg tgtgntttaa ccgagtgtg 960
 gggattcacc acatctccgt catgcactcc atcttcagct tgctgggtct gcttggagag 1020
 atcacctaca ttgtgctgct ggtgcttcat actgtctgga acggcaatgg catgattggc 1080
 ttccaggtcc tcctcagcat tggggaactc agcttggcca tcgtgatagc tctcacgtct 1140
 ggtctcctga caggnttct cctaaatctc aaaatagga aagcacctca tgtggctaaa 1200
 tnttntgatg accaagntt ctggaagntt cctcatttgg ctgnttggatt ttaa 1254

5 <210> 3
 <211> 17
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial

10 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..17
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: cebador"

15 <400> 3
 ggccaccacc attgaa 17

20 <210> 4
 <211> 20
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial

25 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..20
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: cebador"

30 <400> 4
 ccatgaacat gccactcac 20

<210> 5
 <211> 23

<212> ADN
 <213>Secuencia artificial

5 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..23
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"

10 <400> 5
 ttttacagac gcctgctacc atg 23

15 <210> 6
 <211> 23
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial

20 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..23
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"

25 <400> 6
 catggtagca ggcgtctgta aaa 23

30 <210> 7
 <211> 23
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial

35 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..23
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"

40 <400> 7
 ttttacagac gtctgctacc atg 23

45 <210> 8
 <211> 23
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial

50 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..23
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"

55 <400> 8
 catggtagca gacgtctgta aaa 23

60 <210> 9
 <211> 18
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial

65 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..18
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: cebador"

<400> 9
 tcctggctct ccctctct 18

<210> 10
 <211> 18
 <212> ADN

<213>Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 5 <222> 1..18
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: cebador"
 <400> 10
 ttttcaaaac cccggaag 18
 10 <210> 11
 <211> 23
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial
 15 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..23
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"
 20 <400> 11
 ggtaacttg ggcagttgg 23
 25 <210> 12
 <211> 21
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial
 30 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..21
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"
 35 <400> 12
 gtcaactgg cgcagttgt g 21
 40 <210> 13
 <211> 23
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial
 45 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..23
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"
 <400> 13
 ggtcaacttg gtgcagttgg 23
 50 <210> 14
 <211> 21
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial
 55 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..21
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"
 60 <400> 14
 gtcaactgg tgcagttgt g21
 65 <210> 15
 <211> 18
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <222> 1..18
 5 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: cebador"

 <400> 15
 tcctggctct ccctctct 18

 10 <210> 16
 <211> 24
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial

 15 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..24
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: cebador"

 20 <400> 16
 gttgtcttta ttttcaaaa ccct 24

 <210> 17
 <211> 23
 25 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..23
 30 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: cebador"

 <400> 17
 35 gctctgaact ttctcaagg act 23

 <210> 18
 <211> 20
 <212> ADN
 40 <213>Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..20
 45 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: cebador"

 <400> 18
 attctgctca gcccaagtag 20

 50 <210> 19
 <211> 24
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial

 55 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..24
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: cebador"

 60 <400> 19
 ttgaattaag cacttcacag agca 24

 <210> 20
 <211> 18
 65 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <222> 1..18
 5 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: cebador"

 <400> 20
 caccttgctg atctccc 18

 10 <210> 21
 <211> 20
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial

 15 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..20
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: cebador"

 20 <400> 21
 agtagtgagc tggccatca 20

 <210> 22
 <211> 20
 25 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..20
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: cebador"

 30 <400> 22
 cttcagccaa agcagaggag 20

 35 <210> 23
 <211> 25
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial

 40 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..25
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"

 45 <400> 23
 ataaagatca gacagcaacg atacc 25

 <210> 24
 <211> 23
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial

 50 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..23
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"

 55 <400> 24
 taaagatcag acagcaacga tac 23

 <210> 25
 <211> 25
 <212> ADN
 65 <213>Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <222> 1..25
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"
 5
 <400> 25
 ataaagatca gagagcaacg atacc 25
 <210> 26
 <211> 23
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial
 10
 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..23
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"
 15
 <400> 26
 taaagatcag agagcaacga tac 23
 <210> 27
 <211> 21
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial
 25
 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..21
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"
 30
 <400> 27
 ctggccaagt ttcaactctg c21
 35
 <210> 28
 <211> 19
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial
 40
 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..19
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"
 45
 <400> 28
 tggccaagtt tcaactctg 19
 <210> 29
 <211> 21
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial
 50
 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..21
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"
 55
 <400> 29
 ctggccaagt gtcaactctg c 21
 <210> 30
 <211> 19
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial
 60
 65

<220>
 <221> fuente
 <222> 1..19
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"
 5
 <400> 30
 tggccaagtg tcaactctg 19
 <210> 31
 10 <211> 23
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial
 <220>
 15 <221> fuente
 <222> 1..23
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"
 <400> 31
 20 gtgcacagtg cgggttggc agg 23
 <210> 32
 <211> 21
 <212> ADN
 25 <213>Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..21
 30 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"
 <400> 32
 tgcacagtgc ggtgttgca g 21
 35 <210> 33
 <211> 23
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial
 40 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..23
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"
 45 <400> 33
 gtgcacagtg cagtgtggc agg 23
 <210> 34
 <211> 21
 50 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 55 <222> 1..21
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"
 <400> 34
 60 tgcacagtgc agtgttgca g 21
 <210> 35
 <211> 24
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial
 65 <220>

<221> fuente
 <222> 1..24
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: cebador"

5 <400> 35
 acaaaactccc cgatgatgtg agtg 24

<210> 36
 <211> 22
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial

10

<220>
 <221> fuente
 <222> 1..22
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: cebador"

15

<400> 36
 gaggctgaga aaggtaagc ca 22

20

<210> 37
 <211> 23
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial

25

<220>
 <221> fuente
 <222> 1..23
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"

30

<400> 37
 tgctgtgct tgataccgtc gga 23

35

<210> 38
 <211> 21
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <222> 1..21
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"

40

<400> 38
 gctggtgctt gataccgtcg g 21

45

<210> 39
 <211> 23
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial

50

<220>
 <221> fuente
 <222> 1..23
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"

55

<400> 39
 tgctgtgct tcataccgtc gga 23

60

<210> 40
 <211> 21
 <212> ADN
 <213>Secuencia artificial

65

<220>
 <221> fuente

ES 2 445 709 T3

<222> 1..21
 <223> /nota = "Descripción de la secuencia artificial: sonda"

<400> 40
 5 gctggtgctt cataccgctg g 21

<210> 41
 <211> 64956
 <212> ADN
 10 <213> *Homo sapiens*

<400> 41

```

gacaccccag ccacgccaag ccgggaagtc cccgcctcct ggagctgaac ccgcccctct 60
cccagaggtg gagctgcggg gggcgggaac aggcacggag aaaataaaca agactaaaaa 120
gtcctgagta gcgctgtgtg gccgcaaacc tgaaccacc ttttgacca cgcgggaccc 180
ggcacgcttc ctgccacca cccctgagag ggctgcgcgg ccgaccccag tactagaaaa 240
cactcgtcac ctcaatcaag acgggtacga aggccaacgg acgccttcct ttagaacgct 300
cagcacacag agcaacttct cagcctact ctcaaattgg gtactccaaa ctagcactcc 360
cgacgtccag ctgtgaaccc agagcggcgg aaagcccctg aaccagcgc ccgggcatgc 420
gcagacgcgt tgttgtggtg ggcgtggctc cctccggacc cggcgccccg ccctccgccc 480
cgtgtccgca tgcgcgactg agccgcgggg gtggtactgc tgcacccggg tgtctgaaga 540
tccgatgaaa taacatatgc aaaatgattg ggtccgtgat tggcattcca gaaatggtag 600
ctgttattca gccacaat atttattgag cacctactat ggacttcctt ggtgctgagg 660
atacaacagc aaccacagca gtcaaaagtc cctgtcttca tgttgctcag attctcatag 720
gggaaagcaa ataatgaaca aatacacggc cgggcgcagt ggctcacgcc tgtaatcca 780
gtactttgcy aggccaaagg gggcaagtca cctgaggtca ggagttcgag accagactag 840
ccaacgtggt gaaaccctgt cactactaaa aatacaaaaa ttagcgcggt gtggtggctc 900
atgcctgtag tcccagctac ttgggaggct gaggaaggag aatcgcttga acctaaaagg 960
cagaagttgc aatgagccaa gatcgtgcca ctgcattcca gcctgggtga cagagtactc 1020
cgtctaaaaa aaaaacctaa atacacaagt aaaaatatag acctcgtcag atgctagtaa 1080
gtgctgtgaa ggaaactaaa aggggaacac aaggaaccct tgtcaagggg agaagaaagg 1140
ggagttgatg ctgtcctttt aaatagggca gtcagaggcc gggcacagtg gttcacacct 1200
    
```

15

ES 2 445 709 T3

ataatcccag cactttggga ggttgagggt ggtggatcac ttgaggtcag gaggttcaaga 1260
 ccagcctggc caacctgggt aaatcctgtc tctactaaaa aaacaaaaac tagccgggtg 1320
 tggatcacg cgcctataat cccagctact cgggaggctg aggccggaga atcacttgaa 1380
 cctgggaggt ggaggttgca gtgagccgag attgtgccat tgcagtcag cctaggcaac 1440
 aagagcaaaa cttcatctca aaaaaaaaaa aaaaaatagg gcagtcaggg aaaactttcc 1500
 tgagaagggg atgggtggagg atccaggagg gtgagggtgg gagcaagcca gtacagttgt 1560
 tccttgactt tcgatggggt tatgtcctga taaagccatg gtaagtagga aatattgtaa 1620
 gtcaaaaatg catttaatac atctaaccta cggaacatca tagcttagtc tcacctacct 1680
 taaacatgct tagaacactt acattagcct acagttgggc aaaatcctct aacacaaagc 1740
 ctatthttatg ataaagtatt gaatatctca tgtaatgtac tgagtactgt acggaaagtg 1800
 aaagacggag tgggtgggat ggaactctaa gcgcggcttc cactgcatgt gtgttgcttt 1860
 cgcgccatca taaagttgaa aagcgttaag tcaaacatc gtacgtcgga ggccatctgt 1920
 atctggtagg aggagtgttt cagacagaga gaacagcagg tgcacagagt gcttttttcc 1980
 cagcatttta ttatgaaaaa tttcaaacat ctaccaaaaa aagttgaaag acttgtaacag 2040
 tgaaaagcca tacatctcac agctagaate aacaattaac atthttactgt atthggthtt 2100
 tgacttatct atcctagatc cctgtgtcct tctgtagcag gtgacctgcc ttgaaagattt 2160
 aaagacagaa tatcaggaaa tgtagtcaga aaatggggcc thttataaga gtcagagggg 2220
 aagagcaaaa cctctgcttt tgacaaatct gttgggagag gccaaactgca gggatacctc 2280
 cctthtttaa tgaaagcatt tctgttctgc gaggagcggg atcctcttgt caagcagtca 2340
 gtccctgctg ctcccttact ggggcaggat caggacgcac agggatttgg agtgccttgg 2400
 aaccaaccac caccacgccc gtttgccagc tggtaaacat gcccatcagg tccggggggt 2460
 ggcattgcct ggacatcttt agtgttcac tctgtacat ctggtgccct cgggcaggta 2520
 ggtgcagttg gctgcctggt ttacagagct tgtactgggc ccaggttagc agaggtcaca 2580
 tccatttate ccaactgcga gaggagttcc thctcaggaa acccagthta taagaagtac 2640
 tgactgccag aaatagagca gaaatgagaa ccaggaggca attgtgagag gaatggagac 2700
 thctgacctc tggggattgg ggtaccctcc ccttaattg ctgttggggg agcagagggc 2760
 thagaagccc atgttcttag actthtagaa thggaagaag acttagaagt aatctaggct 2820
 gggggtcccc aacccccagg ctgtggcccg thaggaacct gaccgcacag catgagggat 2880
 aggccagcga gcactaccgc ctgagctccg cctcctgtca gatcagcagc ggcattagat 2940
 thctcataggg gcacaaacct tattgggaac cgcgcatgag agggatctag gttgcgtgct 3000
 ccttaggaga atctaactaa tgctgatga tctgagggtg aacagthtca thcccaaacc 3060
 atccctccaa cctcaccctg gtccatggaa aattgtctt thacaaaacc cgtccctggt 3120
 gccaaaaagc thggggacct ctgatctagg ctacagthaa gtggtcaaac acccaggtcc 3180
 tgaagthtag ctgcctgggt thaaatccca gctctactgc thactagccc tgtgacctg 3240
 agcaagtcac thagthtttc tgtgcctcag thcactcatt tgtaataaat cctaatagta 3300

ES 2 445 709 T3

cccatcccag tgatcatgaac taagttcata tatgtaaagt acttagaatg gtgcctagca 3360
 agtacttaat aacagtttagc tctgaaaatg tataaagcaa aattaaccaa tgttttagtg 3420
 gtttgcagcc aacttttttc tatgctgtgt ctaacatatt atttataag agtgggaata 3480
 tattgtacat gctgttatat aacttgcttt ttcactaaac agtctatcct ctgtgtcagt 3540
 tttgataaaa gcgttttcct cttgcttttc ctgcatatgt tcagaacat catattggta 3600
 gcaagtttca tgcctgttag ttttcttaac caacccccctg ctagtggaca tttaggttag 3660
 tctcagtttt ttccttctgt aaataaagct gactgagca agaagtgact gatgccaagt 3720
 gactagatga ccttaggtat gacctctctg ggtcttggtt tcttggctta aaaacaaat 3780
 gacaggattc gactgggtga ttaaaatctc ctctgatcta cataggaatt gttttcaaga 3840
 catttctgca ttcctctagt gacagggctc tcaactacctc atgagtattt cagtggacaa 3900
 ctgtaatggt caataaagta tccactttcc acctccctgc agctcctggc cctggcttta 3960
 ttctctgggg ctccacacat tcagtttaca ctccagtgcc agtggctggg accattgtag 4020
 aaaataagga aactccaatt cttcctttct tttcttctc tttcatctct tcttccctct 4080
 ctacatccct ctctctcttc cttccttctc cgacacttac catgtaccag accttctgcc 4140
 aggcacatgg atgggagcac aggggaagtt ggctgcaggg ttagaactaa gtcccaagcc 4200
 ccctaaagct catgccaggg gactggactg tccagtactg agggatgggg atgctgaggc 4260
 tgggtggcctt cctcaaatgc actgtagtgc cccaggcaga gtcttgggtt gccctgtgag 4320
 gaggtgacca gaggtagagc aacttcaccc taaggctgga tcaggatccc ctccaggttt 4380
 ttactagagc caaacccaca tctcctttct cttctgccac ccccccttaa aatgcttaga 4440
 aacacataga tttaaataca aattcaaagc taagtaattt caactgtgta actatgagga 4500
 gtcagttcta cgtgggtcct atctgtatcc tccccagggc tcagctccat tctttgcttt 4560
 cattcattct cattcaatac attgttggtt agagctcact gggtgccctc tctgtcatgt 4620
 agtaaggttt taaaaagaaa gcctcttctg agcttcagtt tccttattca taaaatagga 4680
 gtattgatcc attccttctt tttcttacia ggatattgctg aagatgactg aagtacagag 4740
 taaagaagga ttatgtttgg gtgtcaaagg aatagaatgc cctctttcaa actgagcaca 4800
 gcaggaacct gtaacaggaa cacagcaact tgttgaatga atgacaatat tggaaaacat 4860
 acatttcctc cctcccccct catagtccct ctgcttccgt gttactcca tagagaggcc 4920
 agcacaacca gccttgcagc ctgagataag gcctttggcg ggtgtctccc ctatcgctcc 4980
 ctcaagccct caagtaggtg ttggagagag gggatgatgct tgggtctggt ggaacccctg 5040
 cacagagacg gacacaggat gagctctaag taccgcgggt ctgtccggcg ctgcctgccc 5100
 ctctggggcc taactctgga agcagctctc attctcctct tctatTTTTT taccactat 5160
 gacgcttctc tagaggatca aaaggggctc gtggcatcct atcaagggtga gagttcattg 5220
 gaaaagtggc cacaggagca aatagcaggg gcaggggctg gggaggcctg tggttctcca 5280
 ggggcacaga tgttcctttc tacaaaatcc caaggaaaaa gattccccca tcttcttccg 5340

ES 2 445 709 T3

tagattgcac cgaaattcag ccaacaatgt aagctttcct ttagaagcag cctgggcatg 5400
ccctctcttg tgaagcctgc cttgattttt cagcacagtg agaggcatcc tctttggtgt 5460
tcctcaaatt ccctctacca aatggctctc ataattctct gcttctctgc tcccccttct 5520
ctctctcag tggcaaggaa tttttttatt tttatagatt taggggatac aagtgcagct 5580
atcttatgca agcaatttca tgttgttggg tttttggttt ttgtttcctt tttgtggcct 5640
ctcgcctatt tcttatttct ttttgaggca gggctcact ctgttgccca ggctgaagtg 5700
cagtggcatg atcatggttc actgcagcct tgacctccta gtctcaagca atcttcccac 5760
ctcagcctcc caagaagctg ggaccacagg agggcaccac catgcctggc taattttttt 5820
ttttttttt tttggtagag atgtgggtct ccctgtgttt cccagactgg tctcaaactc 5880
ctggacacaa gcgatcctcc agcctcagtc tcccaaagtg ctggaattac aggcgtgaag 5940
cactgtgccc agctctcttg ctcatatcta tactagtttt cttttggaag cttcagcctg 6000
ttgtaccccc ccacccccac cccaccgac cccagctttc ttctcactta ggggctggga 6060
agtctgcatg ctgtctataa atccagaacc agaaggatg gctgaagggg agggtaggat 6120
gatggttatt ttatattcag ctaaaaatat tcccagactg tgatgagaca actgtaaata 6180
agacagatgt ccacaatggt gtgactttgc ttttttaaaa atattgaaat gagtttcagg 6240
catctcagtg ggctgatagg ttgttgataa tagacagggc ctcttgaag aatgtccctg 6300
agacaaagtt gaagcttgag cctgggtgag tccttgcttg tccttagggt gatatgaacg 6360
gctagttaac tggaagcaaa gagaagtcac cctgggggccc atggcagtga caagtaggac 6420
ttagggaggg aagcccttat accatttaag gtgctggccc agagaggagc cttcagtgcac 6480
agacaaacaa gagctggcac aattttaatt cacttcaatt tactctaatt catttcaatc 6540
caatacaatt caatgcattc cattcattca accatgtatg acatccaatg tgggatccag 6600
actcatgatg attagagctg atatttatga gcacttacta tgtaccaggc actattctac 6660
atgctttaca ttgaaccctc acaataacct aatgaggtgg gtactattat gatcttcggt 6720
tttcatatga ggaaactagg catatggatg ttgagtaatt tgcccacggt cgctcagcta 6780
gcaatagcac agcgtattta aatttagcca ccctggattt agtttcctta cacttaacca 6840
ttatgcatca tggccccatt ttacagtggg cttgagctct tgtcatataa cccagtaggt 6900
tagcagccac tattccaacc ctgtagattg actctagggg ccatgttctt taccectgca 6960
ccgtgctact aacgtaggta caaaatgtcc tcagaaactc actttatacg gaagctcaga 7020
ggagggtcca caaccaggc aggggagacg atgggtgtcag gggagggagg tgactgccca 7080
gccaggtctt gaaggctcag taggaattac ctgtgggaca aaggagggtc atccaagtga 7140
gggcacagtg ggtgccatgg cgtgcacaca caatagagca gactgagcct gggcttaaca 7200
ttgcattgcc ctggagccta aaaggggaaa caaagggccg ggcgacgtgg ctcacgcctg 7260
taatccccgc acattgggag gccaaaggctg gagaatcacc tgaggttagg agttcgagac 7320
cagcctggcc aacatggcaa aaccgcatct ctactaaaat tataaaaact ggctgggtgt 7380
ggtggcacac gtctataatc cgagctactt gggaggccat tacactccag cctgggcgcc 7440

ES 2 445 709 T3

agagtgagac ttcattctcaa aaaacccaac acaaaaaaca acaacaagaa caacaaaaaa 7500
 acaagagga gagcaggac tgggtgtggt gactcatgcc tgtaatccca aacactttgg 7560
 gagaccaagg caggcagatc acctgaggtc aggagtccga gaccagcctg gccaacatgg 7620
 taaaacctg tctctactaa aaatacaaaa attagccgga tgtggtggca cgtgcctgta 7680
 gtcccagctg cttgggaagc tgagggagga gaattgcttg aaccaggag gacagaggttg 7740
 ctgagctgag aacatgccac tgcactccac cctgggtgac agagtgggac tctgtctgaa 7800
 aaaaataata gtaataaata aaaataaaga ggaagcagc ggggtggcaga ctactgggc 7860
 tgcatacgaa gtttggcttc agtctgaggt ccgaatagta aacagcagcg agacaagttt 7920
 gggtttgggt catggaggaa gccatgccag ggctgggttt gggcacaggg aaaggggcat 7980
 ggcttgagac accagaccag cgtggaggct gtagttagt attgacctga ggacttcaac 8040
 attctgatgg tgtacacacg atttttgag catgtaccat ggttatata tacactttaa 8100
 gtattacttt aagtattact acattaatat atttttagt ttacaataaa tacatacaaa 8160
 ttaggaaaat tgaagagat caaaatgaaa tatataatat tttcaatta ctaatacaaa 8220
 tgggtgcaat ctccaggcag ggtccattgc tacagttgac gatagtgat gaaaattcac 8280
 tcctcagagt cttcttgata atttgaaatt gtcttgattg acttgtcaga tctgattaga 8340
 tcaacatggt ttaaactctg aatgtgactg acagcttga cgaggagaag tttactctg 8400
 cttttccct tttgttact tgactgccat ttttctatg cttccaatct gtgttttct 8460
 gcacgagttg gttaagccat tacttcattt tgtgaaagt tgttgagta aacttaggta 8520
 acttaactctg tcaatccact taattgaatt cagtcctggt aaactataat agattattca 8580
 aacctgcaa ttctaaaag acattttgag acaatcagga aatctgaata tagcatgaat 8640
 atcttacgat atacaaggat tattgttaat tttgttaggt atgataaaag catggtgggt 8700
 tgttttgtt tttgtttttt aagtctccat ctgttagaga ggcacattga aatggcatga 8760
 tatctggggt ttgcttttat gccagaaaa agaaaaagta cagaaggatt atagaaaca 8820
 gattggtctc atgtgacaat catcagagtt tggagatggg cacgtagggt catcgtgctg 8880
 ttctctctgt tttcgtatat gctttaaag ttctgtaata gtttaataa aaaaaaaaa 8940
 aacacctgg ctgagcattt agggaggcca agtggggagg atcgcttaa ccaaggagtt 9000
 caagacgagc ctaggaaaca tagggagacc cccccatc tctaaaaaa aaaaaaaaa 9060
 aaaaaacttt aaaatttaac ccagtgtggt ggcacatgcc tatagtccca gctactcagt 9120
 aggctgaggt gagaggcttg cttgagcctg ggagcttgag gctgcagtgg gacgggattg 9180
 taccacttca ctccagcatg ggcacagag caagacctg tctcaaaaa aataaaaata 9240
 tttgaggta agcgaggctg taatacaaaa ttaaaaaata taaataaac ataaaggctg 9300
 ggtgtagtgg ctacgcctg taatcccagc actttgggag gccaaagcag gcagatcacg 9360
 aggtctggag atggagacca tcctggctaa cacgatgaaa ccccatctct accaaaaata 9420
 caaaaaatt agccgggtgt ggtggcgggt gcctgtagtc ccagctactt gggaggctga 9480

ES 2 445 709 T3

ggcaggagaa tggcgtgaac ccaggaggcg gagctttcag tgagctgaga ttacgccact 9540
 gcactccagc ctgggcaaca gagcgagact ccgtctaaaa aaaaatgaaa ataaaaataa 9600
 atgaaacata aaaccctgcc attagttgca atatgaagaa tatagagaaa tgcatatcaa 9660
 atcctttctca ttggaccaat attcccttag ggcaccttcc aaagctagga gactcaaggc 9720
 tgtatgacat cctgagcaag tgaggggtgg cttctgggtg aatctgaata ttaaattttt 9780
 gcagaattga aaacttcaca aagtacctt agagatagaa tagcctagat ccatgtttct 9840
 caaagtgtgg tccccagacc tgctgcctca gcatctcctg gaaatttagt agaaatgcag 9900
 attctcaggc cctaggccag acctactgat cagaagctct gggcctgggg cccagcagtc 9960
 tgtgttttca caagccctct tgggtattct tctgtgcatg aaagtccgag aattcctgga 10020
 gctagactga ttcaaatctt gcctctgtat cttagagacc ttgggcagat tagtcaacct 10080
 ctttctgcct ctgtttctac ttctgtcaga ggatgatagt acttgtttca ttaagttgtt 10140
 gaaaggataa atgaattgac acacataaag agtattagct tttattatca aaagcttttt 10200
 ttttgagaca gagttttgct cttattgccc aggggagtg c agtggtgcga tcttggctca 10260
 ccgcaacctc cacctcccag gttcaagtaa ttctcctgcc tcagcctccc gagtagctgg 10320
 gattacaggc atgcgccacc acgcccggct aattttgtat ttttagtaga gatggggttt 10380
 ctccatgttg gtgaggctgg tctcgaactc ccaacctcag gtgatgcacc cgccttggcc 10440
 tcccaaagtg ctgggattac aggcgtgagc caccgcgcct ggcccaaaag ctttaatttc 10500
 ttaatttttt aaataaaaata aataaaacta gaattgcttg ttttcttcca gctaccctgg 10560
 tgattgtatt gagcattttc tgggggtgtgt gttctttgct gtaatgacta ctggtctgga 10620
 tgacctgtga tgagaccaga tgggcagggg cagtggagga gattctagag atatttagga 10680
 gataagtcag ctgtacttga tgaaaagagt ggggagttaa ggctggctgc agatgtatga 10740
 tttggcatag agaggtgcca gttcctgaga tgagagacag aaggggaggg acaggttgtg 10800
 aggatgaatg aacaatgata tgttcattct gggcttggag ttaaggggcc tatgatatgc 10860
 ttaggggaag cagagagtat caattaccta ttgctgcata acagccacc caaacttagt 10920
 ggcttaaaat agtaacctt taatttactc atgatcatga ttctgtggtg caacaactgg 10980
 gctgggttca gctgggcagt tcttctgtta gttcacc ca ggtcattca tgcactgca 11040
 gtttgggggtg ggatggcctc agatgacctc attcacgtgt ttggcagttg gtgattcact 11100
 gggggccatt actgtaacaa tcgcctacca ggcagagctt ccctaaggct tccaaactag 11160
 gagactatcc tgggtcctgt gctgtggata ccaactcagtc ccccatcccc accccatatt 11220
 cctcaaaggc agagagaggg gctactagaa gacagaggag ttttcccagt gacatgtaaa 11280
 cactccaaac cctggcacct tccacactgc agctttggtc tgcccccttg ggaaatctct 11340
 gtttttcttc ccaggctgct ggaggggtga gagtccgg tagagtagag gctgtgggcg 11400
 aggaggtggc ggcctcctga ggctgcagtg gtctttccag gcagcagtg gagcacaggg 11460
 tggaggtcaa ccctagagcc tgggagagtg aagctgggtg tgacttcaga gctgttgggtg 11520
 ctgaagtttc tgcaggccag aaggaggggc aagagtggga gggggcgag atccagaatc 11580

ES 2 445 709 T3

acggaggcag ctgaccggag gaggcagctg cccaagggga tggactcaga aggccaaagt 11640
 gctgttatcc aaacgaactc tttgcaagtg gtctctttgc aacaggcctg ggggagagca 11700
 gtcttgccca aagtcacacc gctaatacagc ggccggcacg gggtaacagt tactaacact 11760
 cactacgtac ccaatgctgg gcgaagtgac ttgcatgagc cagcgagctc aatgctcatg 11820
 gcaatcctct gagcagctgg cattgtttca tctcaatfff acagctcagg aagctgggac 11880
 acagaggaag agccaggctc tgaacactga caacctgatt gagagacca cactgttcat 11940
 caccgttacg ctatatatgc tgtatagaaa ggcaggatgg cataatgggt aaacctaggt 12000
 aggtagggtt tgaatcctcc tgctaccatt tactagctct gtgacttggc ctagttagat 12060
 cacctctctg tgctccctt tccccatctc taaaatgggg ataataaatc gtacctccta 12120
 cctgaggctg ttgtgggcta agtctgtaag gcacgtagaa cagtgcctgg aacgtggggg 12180
 actgtctatc tgtgtgctg ctgttacaac aatgggtgagt attgccttat ctctcgctgc 12240
 tgaactacca ggttagactt ctttctgcaa gtcattgaggc tttcataaac ttttctgaa 12300
 ggctttccgt agaattgaca attccccctc ggggtccaggc atggggcgccc gggtagcaca 12360
 tccacttctt atcacccctg aacaccttag agcccatcag cttatcaaac cagcagctga 12420
 tgtgagtgca gagcagactg tgagaggtgg aggctgatac cagtgaggat gctccaagct 12480
 gggaccagc cctgaagcgg gagcccagat aatggatggg tggaaatggg cctggagccc 12540
 aggagaagtg ggaggatgag ggggcagggg gaggagaagc ctgaaatcaa atgttatctc 12600
 ctgaccagtt tggggtgcat gagctctgtc aacagctcat ggaaactgct gccctaattt 12660
 catcttgttg gctgaggcac aattcctctc tcagggacag tgtagagcct tggggaggaa 12720
 ggccctgagc gcgtatacct ggaatcaggg aatcgggatc aggggcagca gctgtgccc 12780
 ataaagcccc caccagat cctctgactt cctcatctct tttttttttt ttttgagctg 12840
 cagtctcact ctgtcatcca ggctggagta cagtgggtgc atctcggctc actgcaacct 12900
 cagccttctg ggttcaagcg attctcctgc ctcagcctcc tgagtagctg ggattacagg 12960
 catgcgccac catgccaggc taatttttgt attttttagta gagacggggg ttcaccatgt 13020
 tggccaggct ggtctcaaac tcctgacttc aagtgatctg cccacctcag cctcccaaag 13080
 tgctaggatt acagacataa gccactgtgc ctggcctttt tttttttttt tttttgtaa 13140
 acagggctc cctctgtcac ccaggctgct ggagtgtagt ggtgtgaccg cagctcactg 13200
 cagccttaac cttctaggca caagccatcc tcctacctca cctcctgag tagctgggac 13260
 tacaggcact cgcaccacg cccaagtaat tttgtatttt ttgtagagac aaggtcttgc 13320
 tatgttgctt aggtgggtct tgaactcctc agctcaagca atcctccctc cttggcctcc 13380
 caaagtgtg ggtattgtgct gggattacag gtgtgagcca ccatacctgg tctgacttcc 13440
 taacttttag ggcccaact ctgcccttat ccaggcaact ctctctccc catcttccac 13500
 taacttcttt ggaatattcc agagctgtaa aagccttaga gagtatcaag tccaactcct 13560
 atgtgttaca gacagggaaa ctgaggccta aagagggtaa tggacttgcc taagatcact 13620

tagtgagggtg agagaagaaa gagctagaga cagcctagcc tgtgcaagga catagttcca 13680
ggcattcaga gctgggctct gctgccggca tgtttggggc ctggtagtta gttcactgct 13740
gaactaccag gttagatttt ctttctccaa gttgtggagc tttcataaac ttttcctgaa 13800
ggcttctctt acaatgtaca attctctctt gggcccggtc atgagcgccc ctcacaggct 13860
ctctctggtc cccttctgta aaatgagagg aaaatggaag aattgctcta ctcatggaat 13920
cttcaataag tctgggccct atgcatatag cattgctaca aaatggcaga tgcactttaa 13980
caatcgtggt taataaaaagg ttggatttgc atatctgaag tggggcatgc agtctccaac 14040
tgaacacaag cctcactgct cccgcatgtg cactgcacct tcatatacat atttcctgct 14100
tggctcctga gggaaattga gtaatcccaa gaggaacccc tgtagaaaat gtcccctggc 14160
cacacacccc cattcctaag gatgcaagca ggagatagaa acattccctg cacctccctc 14220
cttgttgca gaagaagtgc aaagagttga atccttccta atgcccactt ctcaccacg 14280
ccccaaatcc ccagggtcca tggaggtcct tgggggcctc ctatatacctg gtgggtgctag 14340
gttgatttgg aaatgtcagt gtcctccctt gtcctctctg gcagaccctg ggtatgtgta 14400
tgtttcaatg gaagtgaatt taaatgtact ttataaatca aagacttttt ctgagacttt 14460
ggagagtcc agtaatgaga gcttctcatt gttatcaagg ccagggctgg agaccagtgg 14520
caggtgagtt cctattgctg tgattgtcat gatgatgttg atgaacagtc actatattt 14580
gagcgttctc catgtgccag tcaactgtact aaacattatt tcctttggat tccccagaaa 14640
cctctcaggt gggctcaatt acccttattc agctgataag gaaagtaagc aacttacaag 14700
accacagggc tatgaagtgg aaacacataa attgatattt cattttattt atttatttat 14760
tttgagacag agtctcactg tgctgcccag gctggagtgc agtgggtcgg tctcagctca 14820
ctgcaacctc tgcctcccgg gttcaagcga ttctcctgcc tgcctcccga gttagctggga 14880
ttacaggtgc ccaccaccac atccagctaa tttttttgta atttttagtag agacgggggt 14940
tcaccatggt ggccaggcta gtctcgaact gctgacttca tgatctgccc acctatcct 15000
cctaaattgg tatctttata tgtccaaaag agtcaactgg tggcaattta gtgaggttta 15060
atctaatagg aaatgataga gctgggatcg aacagagcca tgtgaactca aaacctatgc 15120
ttcccctcc acctttttga aaaacattgt ctaggctggg cacgatggct catgcctgta 15180
atcccagcac tttgggagac ggaggtgggt ggattacatg aggtcaggag ttcgagacca 15240
gcttgccaa aaattagcca ggcgtgggtg cgcgcgctg tggttcccac tgaagcacag 15300
gaggctgaag cacaagaatc acttgaacct gggaggtgga ggttcagcg agccgagatc 15360
gcaccactgc actccaacct gggcaacaga gagactctgt ctcgaaaaaa aaaaattgct 15420
tacatgctgg ttgcagaaaa tttaaacact aaaactaaaa aagtaaaaca cctcccaaac 15480
ttagagacaa tattaatgac ggaaaaaaaa ttcttcaaga tctctctctc tccagtcatt 15540
tattcatggt cgaaaacagt tggtgattat tgataaaata gcttttagag tttggagcaa 15600
ttatgtgcat tacatatacc atttgattct ggcaacctaa tgaaggagta tgatcatttc 15660
ccctatttaa cagacaagaa caagaagagg gagggcagat ggtgtggtag tctaaggcac 15720

ES 2 445 709 T3

aggctccagc agattatcta ggtgtaaate ttggctgtag gccaggccct gtggctcatg 15780
 tctgtaatcc catcactttg ggaaaccgag gtgggcagat cacttgaggt caggagttcg 15840
 agaccagctt ggccaacata gcgaaacccc ttctctatta aaaatacaaa aattagccgg 15900
 gcacgggtggc aggcacctgt aatcccagct acttgggagg ctgaggcagg agaatcactt 15960
 gaaccagga ggcagagggt gcagtgagcc aagatcttgc cactgtactc cagcctgggt 16020
 gacgagtga actctatctc gatattaaaa aaaaaaatct tagctctacc caccggggca 16080
 agttacgtaa cgctctgtg ccttggtttt catatctgta aaatggtgac agtaacagca 16140
 cccacgtcaa agtgtggtt tgagaacgaa acaagatagt ctatgtaaag tgattaaac 16200
 agcgtaggca catggtaaac gcttaggaaa tgtaggctgt tataaagctc agagatgta 16260
 agtaactaga tcaagatcac acagttagag ggtgccagag tcctgatttg aaccaagtt 16320
 tgtctcgttc tggagctcaa gctgctaacc ctttttcaaa actggaatta aaccaaagtg 16380
 ctcaccctcc gctttgctgg gccctcctc gccctcaggt gcgtctcttc cactcacctg 16440
 ccacagcagc ctctgctcag ggtctgagac cgggaaaggt gagggctacc caggtggccc 16500
 tgatgttttc tgccagccag ctcaccaggt ccctcgcagc aggcggcaaa gggagggagg 16560
 tttgctgtga agattatgtg gtcccaaca acaagagcgc tggcctatc tctgccctct 16620
 cttttctgtg tgtcctggga caagtcactt ggttctgtg gcttcatttt ctcagtgtgc 16680
 cagccagggg gttggcctc atatgcaata acagcagcaa tgaccttac tgagtgtcca 16740
 tgtgcgtcaa gcacgtgtgc tttacacttg ttcttattat taggtttaat aatagaataa 16800
 ttgccacatt tactgagcac tcattatggg ccaggccctg ccctaagtg ttaattagct 16860
 ttagctcctc taatccttat cttatcccca cacggcatgt tatgttatcc ccattattca 16920
 gttgagaaca ttgaggctca aagaggcaaa gtaacttgac caaatacttg taaacgatct 16980
 tgcagcccc ttccagctgc catttagtaa gactctaatt tcataccacc ctaaatctcg 17040
 tctgcttccc cctcgtcctt ctgcctatct cccaccgag cagttggcca agatctgacc 17100
 gtgatggcgg ccattggctt gggcttcctc acctcgagtt tccggagaca cagctggagc 17160
 agtgtggcct tcaacctctt catgctggcg cttggtgtgc agtgggcaat cctgctggac 17220
 ggcttcctga gccagttccc ttctgggaag gtggctcatca cactgttcag gtattgggat 17280
 ggtggctgga tcacttctgg gtcatagagg gaatggacct cgaaaggaca ggttccagaa 17340
 gatctgggat attgccccct ctctgtctag caccagtgct gtgcaatatt taggcatcc 17400
 ttatactaaa agattattca ttgtttaaaa ttcaaattaa ctgggcatcc tgtattttac 17460
 tggacagccc tactccgtgt atcacaagga atccaggcct acattcctcc tgcaccttt 17520
 ctttcctggt attgtcgatt atgattttgt aaagttacat aatcaatata agtttatgga 17580
 aaacgtaaga aggaaacacg ttagacagag agaaatagac atgccacacc tagagagaca 17640
 ttctattttt tttttttttt ttgagacgga gtttacttt tgttcccag gctggagtgc 17700
 aatggcgcta tctcggcaca ccacaacctc agccttctgg gttcaagcga ttctcctgcc 17760

tcagccgct gagtagctgg gattacaggc atgtgccacc ggcctggct gattttgtat 17820
 ttttagtaga gatagggttt ctccgtgttg gtcaggctag tctcaactc ctgacctcag 17880
 gtgatccgcc cgcctcggcc tcccaaagtg ctgggattac agacatgagc caccgcgtcc 17940
 agcctgagag acattctctt gaaaagaaag gactttcagc cccctaatgc tgctagacaa 18000
 taaatagcca tgcctttatt ttcattaaat tacctgtgct ttgtttacat gcattttgtt 18060
 gaaatgctaa gaaccatcac aactaatgta tggtgccaga agtcagaata gttgttacct 18120
 gggcaggagg tggatattga ttaggaagga acacaaaata accgcatggg gtgcagaaaa 18180
 tgttctctat gttcacctgg gtgatgatta cacatcaagc tatacacgtt ttaaaagggc 18240
 attggcactt aataggagga agtaggctaa attttttctt gaaacattgt tttgttttgt 18300
 tcaaacctct gaatccctgt gctgccaga tgatggtaaa cgtcaccta ggcactctag 18360
 ggacctctca aggccattcc agcctcccct tctaagacc tgctaaacct ctgggactg 18420
 ctgttaacaa tttctctatg agccaggaac tgtgctgagc actccacaaa tattattttg 18480
 tttactctt ccgggtaggg atctaacctg gtatacaggt aaggaagtgg aagctcagag 18540
 agggcaaggc acttgccctag ggccacacag ctaagtggtg gagatggctc caacttttta 18600
 ttataacctt ttccacatgc tccagagtgc tcagaacatg aaacacagtc tagccagctc 18660
 ccgattggcc ctggagggaa aaaactttat atatttttct tttttaaag gtttagaggc 18720
 tgggcatggt ggttcacacc tgtaatcca gtacttttgg gaaccgaggt gggcagatca 18780
 cttgagccca gaagttaag accagcctga ctaacacagt gagatcctgt ctctgcagaa 18840
 aatagaaaaa tcagctaggc gtggtggtgt gcacccacag tcccagctac ttgggaggct 18900
 gaggcaggag gatcacctga acccagtgag gttgaggctg agtgagccat gatcgtgcc 18960
 cttcactcca gcctggacaa cagagtgaga ccctgtctca aaaaacagtt ttaggggccg 19020
 ggcgcagtgg ttcatgctg taatcccagc actttgggag gccaaaggcg ggggatcatg 19080
 aggtcaggag atcgagacca tcttggttaa ctcgagaaa ccctgtctct actaaaaata 19140
 caaaaaatta gccgggctg gtggtggcg cctgtagtcc cagccactcg ggaggctgag 19200
 gcaggagaat ggcgtgaacc cgggagcg agtttgagc gaaccgagat ggtgccactg 19260
 cactccagcc tgggtgacag agcgagactc cgtctcaaaa aaaaaaaca aaaacagttt 19320
 taggccaggc gcggtggttc atgcctgtaa tcttagtact ttaggaggcc tagcaggtgg 19380
 attacctgag gtcaggagtc cgagaccaac ctgagcaaca tggtgaaatc ctgtctctac 19440
 taaaaacaca aaaattagct ggggtggtgg gcaggcacct gtaatccag ctacttggga 19500
 ggctgaggca ggcgaatcac ttgaaccgg gaggcggagg ctatagttag ccgagatcgc 19560
 accattgcac tgtagcctgg gcgacagagt gaggtctgt ctcaaaaaca aaacaaaaca 19620
 aaaacagtct atgagttaat tcccaccaga attcaatata cacacgcaca catgcacgca 19680
 tacacacact gtgtccacct gggaaagtac aaagggcacc ctgggggatt tcaaatggtg 19740
 gtggccctgg tttggtgttg ctgccttagc ttaaggtcac accagcctc agcctctgc 19800
 cccacagtct agggctgctc cctcatctg atgtccacag ggacctgtt gttcttgact 19860

ES 2 445 709 T3

caatctagaa agacgagaag ggagagaagt cactcgcagc ctgagtgaac tcccctgccc 19920
 caccctgac tgcttgatc cccctagggg tgaccctgc tgaaactggc tccttctga 19980
 ccggttcccg tcagggctgt gctgatgggt ggtgccagg cctgcccctg gggacggggt 20040
 actctccctt ggcaacactc cagcttgtgc cacttgactt gggactgatt tggttctgtt 20100
 ttgagtccct tcaggggagg ggcctatctt attcaacgtt gttgtttgtt ttcctcacat 20160
 actgataact tagcaaatgg ctattggagc aaaaatgaaa ataaacggaa ctctgaagtg 20220
 ggatgtttta aaattttatt tttttttta gagacagggt cttgctctgt tgcccagtct 20280
 ggagtgcagt ggtacaatca tagctcattg cagcctgtgc ctctgggct caagtgatcc 20340
 tcccactca gcctcctgag ttaaattttt ttacaggcgc ctgctacat gccctgctaa 20400
 tttttgtatt tttagtagac aaggggtttc accaggtggg tcaggttggg ctggaactcc 20460
 cgacctcaag tgatccacct gcctaggcct cccaaagtac tgggattaca ggcgtgagcc 20520
 actgtgtcca gcctaaaact gtttttgaga cagggctca ctctgttgc caggctggag 20580
 tgaagtggca tgttcatggc tcaactcagc tcaacctcac tgggttcagg tgatcctcct 20640
 gcctcagcct cccaagtgc tgggactgtg ggtgcacacc accacgccta gctgattttt 20700
 ctattttctg cagagacagg acctcactgt gttgctcagg ctggtctcaa actcctgggc 20760
 tcaagtgatc tgcccacctc ggctctgaaa agtactggaa ttacagcctc ctgagttagct 20820
 gagaccacag gcacacacca ccacactag cttttttttt ttttgctttt tgtagagatg 20880
 gagtctcact atgttgccca ggctggcttc aaactccagg ccttaagcaa tcctcccacc 20940
 tcagcctccc aaagtgcgaa gattacaggt gtgagccacc attcctggcc ttaaaagtgt 21000
 gatattttta atgtattttg aaatctgcag gactctccct agaagataat agcaataacc 21060
 aactccttta ttgtgcttga cgtatatcaa ctcaacttgc ccttaccgtg gctccagagg 21120
 cattgggtcc acctataaa tggaggcacc aaggcacaga gtgattaat aaattgccca 21180
 ggatcacaca gccagaaagt gtctgagtca agattccagc ccaggcagcc tagacctgag 21240
 agcacgctcc taaccactgc acatcactgt cttagcacct cctcagcaca aactggccct 21300
 tgaggaatga aataccgccg ccggcacaca cgctcctgag ttaagccttt gtcaatgaaa 21360
 tgaacaccca cttaaaagga ataacctgtc caggcacgat ggaacattga gtaaccctt 21420
 attctaaatt cctggtcctt gtaagactcc tccccatgc ccttgccctt ttctgacctt 21480
 ccctaaagt ccttgaggct taagcgggca tagtctgcag caaacactgg ggaagctgag 21540
 tccagacttc agagcacagg ctttgatctt aggccagctg gatttgaacc tcacatttgt 21600
 gatcagctgg catgactgtt tccaaaaagt ccattttaat cctctacgtg accctctgta 21660
 aaatgggata ctgaatggtg agctagcacg attttacaga gagtgaattt tttttgtgtg 21720
 tgtgtgaggc agtcttactc tgttgcccag gctggagtgc agtgggtcag tctcgccca 21780
 ctgaaacctc tgctcccgg gtcaagcga ctgccatgcc tcagcctcga gagtggctgg 21840
 gattacaagc atgcaccacc atgcccgggt aatttttgta ttttagttg agacagagtt 21900

tcaccatggt ggccaggcca ctctgaacc cctggcctca agtgatccac ctgccttggc 21960
 ctcccaaagt gctgggagta caggcatgag ccaactgcacc cagccttata gggttaaaat 22020
 ttaaaagagg tgatgctggt acaagcctgt tttacaaaat gctcttataa taaatcatta 22080
 tcatcactgt tgctgtgggt gtagcatcat catcattaac tcccagaggg aggagggagt 22140
 ctcagagcaa gctgctcagg ggagactgga tgtccatgga ttgtccagct cagtaccact 22200
 tcctccagga agtcctccct gataagtcca gtcagcatca ccctctcctt ccaatgaacc 22260
 ccactagcct tgtgatatca cagatattct tagttgacag gctcatggtg tagcctgtct 22320
 agatcataag tacatTTTTT tTTTTTTTgg atcataagta tcttcaagac caaataaatt 22380
 ttctactcct gagcatgctc attggtcaaa ggaaggaagg aatcataata gcgttaataa 22440
 ggctagcgtc ttttcagaag ttggttcttt gtgccagctt tgggtgctaga cacaccgata 22500
 ggaagaatac tccttcacat ccccaggaca ccaacatggg atacgtttga tcatcattct 22560
 taatttgcag aaggagaaat aggctcagtg agatgaaata gccactccag tggcaaggct 22620
 gggactggaa gccgggcttg tctgattcc aaatccagtt tctttccact gccacggaga 22680
 cggagagaag ggacagtggc cccagatggg gatgggggta ctggatgtgg gcaggcctgc 22740
 gggggaagag tgccctctgt tgagcatccg aatgatggca gcagaaaaga agactgggca 22800
 gaatcccagt tatcagatcc cctgagggaa cagtcacccc gatcacctc agtcagatga 22860
 gtgtgtgtag atcaatgcct catagatgaa ggcactgagg cacagagtgg ttaagtcac 22920
 tgccagacca catggctcag ggtgcagagg ccacctaac gggagaagag atggtcactc 22980
 cactctgcag catcagcgcc caggtgggta gaaatcttgt cttctattcc cacagaaagt 23040
 aggtgcccaa cagtgtttgt tgaagaatg aatgaatgaa tgaatgaatg aatgaatgag 23100
 tgagaggcat ccttcttct cagtcgtcct ggctctccct ctctcccca gtattcggct 23160
 ggcaccatg agtgctttgt cgggtgctgat ctcagtggat gctgtcttgg ggaaggtaaa 23220
 cttggcgcag ttggtggtga tgggtgctgg ggaggtgaca gctttaggca acctgaggat 23280
 ggtcatcagt aatatcttca acgtgagtca tgggtgctggg aggagggacc tgggagaaaa 23340
 gggccaaaag ctccatttgg tggggtttcc agggttttga aaaataaaga caacctgtaa 23400
 tcccagctac ttgggagggt gaggaggaa gatcacttga ggccaggagt ttgagaccag 23460
 cctgggcatc atagcaagat cctcatctct aaaaagtaat tttttctaaa ttatccagtt 23520
 gtggtggcat gcacctgtag tctcagttac tcaggaggct gaggtgtgag ttggaaggat 23580
 tgtttgagcc caggagttag ggaccgagct gggcaacata gcaagacctc atctctaaat 23640
 aataggtag gtggatagac agatagatag atagacagac agacagacag acagacaggc 23700
 tgggtacagt ggctcacacc tgtaatccca gcactttggg aggccaagga gggcagatca 23760
 cctgaggta gtagttcaag accagcctgg tcaacatggg ggaacctcat ctctactaaa 23820
 aatacaaat ttagctgggc atggtggcag gcgcctgtaa tcccagctac tcaggaggct 23880
 gaggcaagag aatcgcttga acccgagagg tggaggttgc agtgaaccga gatcgcgcca 23940
 ttgactgca gcctggggga caagagcaag acttcatctc aaatttaaaa taaagaaaaa 24000

agaaaagaaa agattgatag atagatagat atccaaatga gtttacaaaa atgtggctctg 24060
 tgcaaatggt taaacacaac aaaccaatgc ctttaactac tacagtataa tcctgtagga 24120
 ttgtgctatt catgatataa ttatggttat ataaaagtaa ttaattctca gagcctcacc 24180
 agcagtgggg ccagcaagt tgtacagcca gcatcttctt tcagtcagtg cgtgtcagta 24240
 actgcatatg tcctctcatt gggagagcct gtcgaaagtc taaatttgaa ggcagctgtg 24300
 aaggtaaagg caatccaaat ggctctccca gatcctctgc tgtaaccctg accctgagtg 24360
 aggacatagc caaccttccc atctcatagg tgagaaagct gatgcctgga gaggggaagg 24420
 gactgcccaa gatcacatag caagatagtg gcagaacca agcgagaacc cacagttcca 24480
 gcctggctta gaagaaagt cactggactt ggagtcaaag gctggggttt gcatcccagc 24540
 tctgccataa atccctgtgt gactctgggc aatttaacct cttagagctt tagtttcttc 24600
 atctgtaata tgagggtagc agtactacca catagggttt tgagggagta attgaattaa 24660
 tcacatgaga tgatgcatgt ttacaaaaaa aagcatgaag cccctttact gtgcctcagt 24720
 gtcccaaagg actttggatt ttactctgag aaatacaggg agaactaggg agtgttgggc 24780
 agaggagagc catgatctga cttatgtttt aagatactct ggcttctggg ttcagaaaag 24840
 actgaagggg caagagagga agcaggtgga gaccagagcg gcagtgattg ccatcatcca 24900
 gactcagact aggacaatag ctgtgagagt gatgggaagt ggttggatcc tgactgtatt 24960
 ttaatagcag aattgacagg atttgctgat agactgcacg tggggtggga gagggtcaag 25020
 atgacttcaa ggttctcadc tggcacaact cagcggctgc tggtgccatt tactgagatg 25080
 gggaaatggtt ggggtgggata gatctgggag ggaaaaccca gagttcagtg tcgaatgtgg 25140
 tagcgttagg gttaagggtt ggggaggggg ggtagagatg tgtatgaaac atcccagtg 25200
 agacactgaa tggagatgta caagtctgaa gcttagtgga aaggttaggg ctagggatat 25260
 aaatttggga gttgttacia tacagatggt gtttaaagcc atgagacca aggagatcac 25320
 tcaggagtga ggataaagag agatgggaag aagtctgagg actgagtcct agaacaccct 25380
 gcattttaga ggggggacat gtgtaagagc cagcaaagga gacagaattg tgcttgaga 25440
 ggcaggagga agcccaggag agcgtgaggt cctggaaggc aaggaaagag agggccccag 25500
 gtgggctgaa tgctgctgag aggtcaagtc ggatgagggc tgggaagtag ccattggatt 25560
 tggccaggag accttggcat gcatggttgt agaggaggat gaaggcaaca gcctggcttg 25620
 actgattcaa gagcaggaga tgagaaagt gagacagcat gcaggggcag ctctgccaag 25680
 gactttgcta taaaggggaa cagagaaatg gaggagaagc aggagggcaa taatccgata 25740
 gagaggaaaa atctgatgat acagaagaga gatgaactgc aagagtcaag cttttgagtt 25800
 ggaaagcagg agtgggattt tgagcactga tacctttagg ccgatgcagg gacagttcat 25860
 cttttttttt tttttataca acattttatt taaaaaatt attttcatag aatacatttt 25920
 cacattagag attcccattg tgcggaaata acaatttatt acttatagtt ttatatttgt 25980
 ggacagattg ttttagaaca agtagaatac atttgagaat taaatctcag tttacaatgg 26040

ES 2 445 709 T3

ataatatttt gatatgtctc tggggaaact tgcccttaaa tggaaacttct gtatcttcag 26100
 aagcactcca agcgtttctt cctaggattt agaaatttat aatatgagat agcagcattt 26160
 cctaatttta aaatttcctt agtatatgta accatcagta ggtggtatct actgactaga 26220
 gagggagtt tttgaaaatt aaacactgtc taattttctg caaagttttt attcatgaat 26280
 taagagtatt tccctttgtc cattattccc aaggcaaata tggaaatttg atcatgtact 26340
 aatcataata aagctggatt ctctttaaga gattgagaaa ttaaaaggca aaagctgata 26400
 tatcatgttt agttatattg tgagtcttat aagaagctgg gaggcaaccc cattaactca 26460
 ccagaataca gaactcagtc tcacaactta gatataattc ctctcaaacc ttttctcaa 26520
 agattaaatt ctgaaaataa tcttgtgatt aagagaagaa ggctgtccac caatgggctt 26580
 atctgttatt tcttccttat tgtgagctta atggcatgac aaagcagagg caaagaggca 26640
 tacatcaatt ctcaaagta ggaagtcaaa aaggctcagag ctccacagc atggcaacag 26700
 ctttgcagat gccacatcg tgatagtga aatagcaaag cccagcaaag gttaaagctg 26760
 aaaatgccaa aagccctgcc ttggcagctt tctgcgaggc atccccatga acataatcag 26820
 taacaacttg tccaaggccc cagtgaccat gaagagtga ggctgcagcc agggaatagt 26880
 ccgtcgcaga gcaaggattc aaataagcag ccggaagcag acccgggagc aaaacactga 26940
 caaccctctc gctagtccag tggagagatg cagccttggg gccagaatgg tggctcggtg 27000
 acaagtgtat gtgctgact ccacaccatt ctgggatagg tgggtcctga agaaatgctg 27060
 agatatgagc aggtctgacc actggagttc gcagcaacag agctcggcct ccttgggcac 27120
 cgaaacggc actcagcctc cagggaaacc ccatctcgtt cctgaggcgg agagtccatc 27180
 ttaacgagag aatggcagg gactgtgaat aggccggcag atttggtggc ggggtccaca 27240
 ggttcagtct cctgcagggg gagggaaaaa tgccttacta attccttgta ttttctcaga 27300
 gaaacaagag gcaccgtcat cagcctcatg tgaggggtggg aaggagggat ggggtttgctg 27360
 gagagggaaa gtgtggtatg gtcattctgt ggagtggaag agagtgagag ggctgcaggg 27420
 gtgcagcggg actgcaggct ggcaccaggg tccctagggc ttgtagtgg tggaaagtgc 27480
 atcagtgacc agggctgtgt gcagctgctc caggcaggtg tggagaagc agagttgaac 27540
 ttgccagcc tggagtctg cccagagtga gcccaaagcc caggggagac cagagatggg 27600
 gctgtttgca aaggaggaag tataacagta gcccaaaaa tctgagctgg ttaagaaagg 27660
 agagagagtg aaaatgggga gccagcctg gcagcctggg tacacatctc agctcaacc 27720
 aactagctg aatccatttg ggccccttcg ttgacctctc tgtgcctcag tttccctatc 27780
 tatagaatgg ggataagaat aaggctactt cctagggctg ttgtgaggat tgaacaagtg 27840
 accgaacact tgttcaattt tgaacactgt tctaaagcat ttaggacagt gcctggcatg 27900
 gggtaagtgt tgcggcagtg ctgttatttt catcatcacc attgttctca ggctgcggtg 27960
 attggagctg ctgaagggag gcaatttaag gaagtgaacc ggacagatag gaggtgggtg 28020
 tggttatcag gtgcgatgct tgaactgag gcttcggagg caacagttac tggtaatgac 28080
 aaggtctaag gcttgacagt ggggtggcaga agtgaacgc agggaaagag acgagcggtc 28140

aaggagccga gaggaagga gttgggtgga ctaagatcat ttgtggaaga atgatggaga 28200
gaaaggctga agggcagggg ctgacatcat cagtgaccaa gaggcggccg ggaggctgag 28260
accacagcaa gaaagggaga gtgtgatggc atcttcttca agggagctgg ggatgtttgg 28320
ggtggaaaaa agaacaatgg tctgggaggg aatatgggaa attttttttt tttttttttt 28380
tttttttttt gagatggagt ttcgctgttg tcatccaggc tggattgcaa tgttgcaatc 28440
ttggctcact gcaacttctg ccttccaggt tcaagtgatt ctctgtctc agcttcccga 28500
gtagctgaga ttacaggcac acaccaccac gcctggctta cttttgtatt ttagtagag 28560
acggagtttt gccatgttgg ccaggctggt ctcaaactcc tgacctcagg tgatccaccc 28620
gccttggcct cccaaagtgc tgggattaga ggtgtgagcc accgcgccca gcctggaagt 28680
ttgtatttat taatttttgg ttgtcttcat ctgtgtatgt gactttaacc cctaaatact 28740
tcagtgtaca tttctttttt ttttttctt tgagacagag tcttgctcca tcaatcacc 28800
aggctggagt gcggtggtgt gatctcggt cactgcaacc tccgctcct ggattcaagc 28860
aattcttgtg cctcacctc ccgagtagct gggattaggg gcatgccacc atgcccagtt 28920
aatttttga ttttagtag agatggagtt tcaccatatt ggccaggctg gtcttgagct 28980
cctggcctca gttgatccac ctgtctcagc ctcccaaatt gctgagatta caggcgtggg 29040
ccaccataac cggcctcagt gtatatttct gatgcagttg ggttctgtat cccctccaa 29100
tctcatctcg aattgtaatc cccacgtgtt gagggcatga cctcgtggga ggtgattgga 29160
tcacaggggt ggtttcccc atgctgttct tgtgacagtg agtgggtttt caggagagct 29220
gatggttga aagtgtggca cttctctct ctctttctct ctctctctca cctgacacca 29280
cgtaagatgt gccttgctt cctttcacct tccaccatga ttgtaagttt cctgaggcct 29340
ccccggccat gccaaactgt gagtcaattc agcctctttt gttataaat tacgcagtct 29400
caggaagtat ctttatagca gtgtgaaaac agactaacac aatttcctaa aacaagggga 29460
cattcttta cataacctt tttcagttaa caaaaatgag aaattgacat tgatatatta 29520
tgattacctt attctcattt caccaatttt ctcaataata tcttttctag aaaaaatat 29580
atatttttgg tggctgagga ttacatcttg catttagttc tcatgtctta ttaaattcca 29640
tcaatctgga gcagtttctt catctttctt tatctttcat gaccttgaca tgttttgaag 29700
tttcgagcca gttcttttgt agaatgtggg tttgtctgct gttcctcatg attagattgt 29760
gggtatgcat ttttggtagg aattctccaa gagccgtgtg tgcccttctt agtatatcat 29820
atcagaagac atgctatcaa tttgccccat tactgggtgt gtttaactgtg atcattgggt 29880
taagatgga cctgccagga tcttccactg caaagtact attttccct ttgtaattaa 29940
taaacatctt gtgaggagat aatttcctat agaaatctg ttgatcatcc aactttcacc 30000
cactgatttt agtgttcatt gattcttccc tgaataaatt agtactataa taattgcca 30060
tgggtggttt ctaattccat ctttcttca gtagttggca ttcttctgta aggaaaagct 30120
ttcgcttctc tgttcatcca ctcatctatg tacttattta tatcaccatg ggctcctgga 30180

ttccggttta cacacttcca ttttctgcct tttctctctg cttaatataa ggattaatga 30240
 gaactccctg attcccagga agaaaatgtc agcagagctt tcttaggcgg aatgaagaga 30300
 attcagtgta agaaccataa aggtgtatct gtgtagtatg gacagtttta aaaaacaaac 30360
 aaacacaaag aacctccaag ggcaggaggt gctgccagac tcaggagggc actagaactg 30420
 gctatgagaa gccactgaga tcccaggtag tctgtgctct ccattctttg gctcttattc 30480
 tctccgtaca tctaacatct ctgtacacca gctttctctt tagcgaaaaa cgtgtcccct 30540
 ccaccacccc atccacctcc acttgttctt gcatttctat gtcccagatc ctgcagaaaa 30600
 caactctttt ctctcagtta gtctcaattc tgtagtccag ggagagagaa tctgatcagt 30660
 cccctgggtc atttttccac tctggtccaa gcagctacag ctggcatggg aaatagttca 30720
 cacagtaaaa acatggetgt caagaagagg agtaaatttc agaggcagaa cactccctgt 30780
 gagcccgaac ctcttctctg tttgttgtag tcttcataac gattgcttta aaagactgca 30840
 ttgatataac atcatctctc ttctctgcat ctttgacttg ctagcttaac tggcttagag 30900
 gagggcttag cactgatttt gagtattcat tttcctcaaa acttcaattc agcctggggt 30960
 tcttcagcag gagggcccgg gggaaaccaga gccagggacc agagtcatth cagtgcacca 31020
 gctcaagaaa tgaatattec agccaagaa tccccagtg ttcttctga actccttctt 31080
 ggtggagtcc aaagagatga aaaacacaag cccgcttttc agttcttate aggaâactgc 31140
 atagactttc ctctttatgt atgactgagg gctttttacc atcatttggt cccttcaaa 31200
 atatttattt ggtatttact atataccagg gactcttctg gcagtggaaa atacaactct 31260
 catggaacgt ctgttccaga aggaaagact gccataaac aataaaatag gcaaaagata 31320
 tagcatgtta gagagtggta agtaccacag ataaaaatga aatggagaaa agaaacacga 31380
 aaagttgggg agagaggata actgtttgag aggggtggcca ggggcagctt catcttatca 31440
 agaggggtgat tttttgagta cagacctgaa ggtaacgagt gcacaagcca tatgggtacc 31500
 tgagaacagc ggcagaacaa tggcagggtg ctgggagggc tgtttaccag ccacgctgtt 31560
 tagaattgtc agcacatggt gataaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaca ggctgggagc 31620
 agtggctcat gcctgtaatc ccagcgtttt gggaggccaa ggcggatgga tcacttgagg 31680
 tcaggagttc gagaccaggc tggggaacat ggtgaaacc cgtctctact aaaaatacaa 31740
 aaattagccg ggcacggtgg tgggtgcctg taatcccagc tacttgggag gctgaagcag 31800
 gagaatcgct tgaaccaac ggggtggaggt tgcagtgagc caagatggca ccagtgcact 31860
 ctagcctggc gacagagtga gactccgtct caaaaataaa taaataaata aatacaata 31920
 aaaagcagac agacttttta gttggcttta gaattcttag acaccctcta cagacaaggc 31980
 accccgattg cttgcacca ggggtgacta ctcccctcac cctgcccttg ttacaccctg 32040
 gctgggggtc agcatttcag gcagctgaat gacccaaagt gggaacacgc tagtggggtt 32100
 gaggatgagc aagtggagga gggcaatagg aggtgacgcc cgagaggtca ggtgagagt 32160
 gatcctgcag ggtcgtggca agaacctgga ccttgacttt gagtgacatg ggagccgctg 32220
 gaggcttctg agcagaggag taacatgatc tgacttgcatt tttattttat ttatttattt 32280

gacgcagtgt cactctgtcg ctgaagctgg agtgcagtgg cgacatctca gctcactata 32340
gcctcegcct cccaggttcc agtgaatctc ctgcatcagc ctcccaggta gataggatta 32400
caagcaagca tcaccacgcc tggctaattt ttgtatTTTT agtagagaca gggTTTTgcc 32460
atgttggcca ggctggatc gaactcctga cctcagggtga tccaccacc tcagcctccc 32520
aaagtgctgg gattacagge aaaattagaa tatatctaga atttcctgaa gaccttagtt 32580
tggtattata agaagtctgg ttgcttcctg ttgcaaaatt tatatcactc atcactcccc 32640
cagagttaaa attccgctga gaagtaggaa tcagtgaggt gcgtgtccat gtgggTTTT 32700
gccacaccta agtgaacctt ggtcaaaagc atataagagc tactgatagg cggggtgtgg 32760
tggctcatgc ctgtaatctc agcactttgg gagggaaagga tctcttgagc ccaggagttc 32820
aagaccagcc tgagcaacat agcaagattc catctttaca caaaatttaa aaattggcca 32880
ggcatggttg tacattcctg taatcccagc tactcaggag gctgaggtgg gaggattgct 32940
tgagcctggg agttggagac tacagtgagc tgtggccaca ccactgcact ccagcttgag 33000
caatggagca agactctgtc tcaaaaaaaaa aaaaaaaaaagg ccaggcgcag tggtctatgc 33060
ctgtaatccc agcactttgg gaggccgagg cgggtggatc gcctgaggtc aggagtttga 33120
gaccagcctg gcaaacacgg tgaaacccca tctctactaa aaatacaaaa ttagcccagc 33180
gtagtggcgc atgcctgtaa tcccagctac tagggaagct gaggcaggag aatcgcgtga 33240
acctgggagg caaatgttcc agtgagccga gatcgtgcc a ttgcaactca gcctgggcag 33300
agcctgctgg gttgggctgg gtaagctctg aacaccagtc tcatggcttc aagtcacacc 33360
tcctaagtga agctctgaac tttctccaag gactatcagg gcttgccccg ggcagaggat 33420
gccgacactc actgctctta ctgggtttta ttgcagacag actaccacat gaacatgatg 33480
cacatctacg tgttcgcagc ctatTTTggg ctgtctgtgg cctggtgcc t gccaagcct 33540
ctaccgagg gaacggagga taaagatcag acagcaacga taccagttt gtctgccatg 33600
ctgggtaagg acaagggtgg gtgagtggtc tctacttgg gctgagcaga atggctcaga 33660
aaaggctctg gctgaaaaaa tctccctct ttaaccaagt cccctgggtg tctgaagccc 33720
ttccatcatg attcatttct ttgagtagtg tttgctaaat tcatacctt gaattaagca 33780
cttcacagag caggttcagg aggcctgggg tatgcagatt tcaacctct tggcctttgt 33840
ttccttgtct gtaaaatgtg gttagctggt atcagcttga gagctcggag gggagacgtg 33900
acttccccat ctaactctaa gtgacaaggc tgagactctc cagccctagg atttctatcc 33960
aaaaccctc gaggtcaga ctttggagc aggagtgtga ttctggccaa ccaccctctc 34020
tggccccag gcgccctctt cttgtggatg ttctggccaa gtttcaactc tgctctgtg 34080
agaagtcaa tcgaaaggaa gaatgccgtg ttcaacacct actatgctgt agcagtcagc 34140
gtggtgacag ccatctcagg gtcaccttg gctcaccctc aagggaagat cagcaagggtg 34200
agcagggcgc tggccttggg cagcacttgg gtctaacagg actagcacac atatttatgc 34260
ccctccccac cccagggcca gcgtgggttg ggagagggca tgccgggtgg tggagctgtg 34320

cctgcctcta cagtggagct ctaggtagaa tgctgggtgg tcacagtggg cctgggactc 34380
aggagactgt ccagtgatca aaggctttct ggggtagtgg attaaatcca tccatgctaa 34440
catgaaacag acctcagttt gaacccatt tctgctagtt gctaaagtca gtcacatga 34500
gcgagagtca gcagcaacag actagactag aattagccag cctctctctt cccccaaca 34560
aatttcaaga atggaacat cagaatcaga agtagagaag tatgtgacac tagccatgtg 34620
gctctggtca agccacttca acgttttgag tctcagtggc ctcatctgta aagtgggaat 34680
taagagatgg tgcagtataa gtgctaacg gggagtaaat ggtaggcaaa cattagctgc 34740
tgctattagt aaagagagac gatggtgtgt gtgagtcttg tgggcagaga tgggtgagag 34800
gggagacaaa acaagttctc atgatgatgg gggagggggc tccagctggg ggtgtcggag 34860
ggaagtctgg acagaccagt ggtggggctc gggtagggagg cactgggggg gctggagtgg 34920
aaagaatgtg gccacagatg acagcttcac agcagaattc agtgctaaga ggaagtgagt 34980
ggccatgagt tccatggtga cagaaagtct aagacacca gcaaggcagg agtgggtgtc 35040
aactcagga agcccagagg ctaatcctag gtgagagctg aggggtgtcag ataagagcaa 35100
ggcaaggctc cggttctgga gcagtgaagg acatagcaga gctatgacct aggaacaagg 35160
cccagcttat tgaaactggg cccagtcaca cagggtggca caggcaccaa gtagccaata 35220
ataataataa aaacaataac aatgatttgt gtctactggg catttattca tgttctatgc 35280
cagacactgg gctaagagct ttatatgtgg aaactcattt aatccttaca ataacctat 35340
gaagaaggta catccaaaac cccattcttc taggccagggt gcagtggctc acacctgtaa 35400
tccaatatt ttgggaggct gaggcaagag gattggttga ggccaggagt tcaagaccag 35460
cccaggcaac atagcaagac cctgtctcta aaaaataaaa caaaaacca ttctccccgc 35520
tgcccaggga cacaccacta atgagtgtga tgggtgccta ggatgctgag cacctggact 35580
tcccagctca ttccctaat gctgcacaat cagggttaact gtgccctgag cctaagaggc 35640
agtagtgagc tggccatca tgtccactga tgaaggacac gtagcccaa cacagggag 35700
aagtggtttc aggatcagca aagcaggag gatgttacag ggttgccttg ttcccagcgt 35760
gctggtcact tgcagcaaga tgggtttctc tctctacctt gcttcttta cccacacgt 35820
atctctttgc agacttatgt gcacagtgcg gtgttggcag gaggcgtggc tgtgggtacc 35880
tcgtgtcacc tgatccctc tccgtggctt gccatggtgc tgggtcttgt ggctgggctg 35940
atctccgtcg ggggagccaa gtacctgccg gtaagaaact agacaactaa cctcctctgc 36000
tttgctgaa ggccagcagg acgctgggac ctgatgggcc actgtgcagt gcacagctgc 36060
attaggcagg tgtcggcgca ttctcttatt ggcttcaacg cctagtgagg gatccatcct 36120
ggctcgggtg cgcatctgtt aagatgctcg ggagcagggtg gcagaacca tttagcttg 36180
cttgggcatt ggggagaatt tgttatcagg ctactggggt gtcacagaac tcaaggacag 36240
ggactggagt gttgtgggga gccccgaagc ccctgtttta cttctttctt tgcttttct 36300
gaatatctgc tttattctta ctctatagac atgcttctc ctctttcacc ccacattgtg 36360
gggtgtagtc ttttgcttca agaaagcagc ctggtggatg gaatctcttg gcccattcc 36420

caaattctct ggagaagggg ctctttgggt taacttggat aatgttgct tcagctgggg 36480
 gtgggcacat cgtgcatatg tggctgctgc cggggaacca cgtggatgat gtgagaggag 36540
 cagcaccag aagagggagt gctgggctga tggccaggt cgtgtccact tctgattggt 36600
 taattctct tetaagtga tggatctttc tccaatactc agcaaactct gatcgttcca 36660
 gaatacttca ttatagcaa ttggttataa tgtgcttctc taagagaaat atttagggac 36720
 aacaaactct catgggtttg aagacttgat ggaggaaaa ggagtagatt ttcgaaggct 36780
 ggatttggat gaacaggggc tattcagggg gtgcattcca acctaaaatt aggaaaaact 36840
 ggctgggctc agtggctcac gcgctttggg aggccgaggc gggcagatgg cctgagggtca 36900
 ggagttcaag accagcctgg ccaacatggt gaaaccatc tctactaaaa gtacaaaaat 36960
 tagccaggca tgggtggcgg cacctgtcat cttagcgact caggaggctg agacacgaga 37020
 atcacttgaa cctgggagac agagcttgca gtgagctgaa atcgtgcat ggactccag 37080
 cctgggctac agaacaagac tctgtcttaa aaaaaaaaa agtggtttat atacagagtg 37140
 gaatattatt tagccataaa aagaatgaaa tcctgtcatt tgcagcaaca tggatggaac 37200
 tggaggtaat taaaaataa aattaaataa ggaaaaacgt atcaatactt cgattaacca 37260
 aaaccagggc aatctgatt ttcattcttg caaggggaaac aaatttctt tatctcctct 37320
 ggctttgaaa ccctgaaatg aaaggaggaa gggcagaaaa aagaacacat agcaagttat 37380
 catcagtctc agcgeccatc gcattccctg agcttgtttc cttgacttca tcaactggcag 37440
 gactattcaa aatgattcg ctcatcatt catatattca ttcattcacc attccttcat 37500
 tcaacacata cgttttaaca ctcatcttgc ttttcaagct atagtttagt gagcgaaatg 37560
 gatacacaca atacagtgtg agaacagcaa gagggcacat ctgagctagc ctgggatggg 37620
 tctggaaatg cttcctggag cagaggaaac ggttgacagc caagtgttga cagagaagta 37680
 gtattagcca ggcagagaca tggggaatgt attccaggca gaaggcacag tgtgtatgaa 37740
 agcttattgt taagaagagt gtgtggccca accaggaaac agacattcta aaggcatagg 37800
 gtccaccag gagcatggtg gaccagatc cctgaaagat gggaggtgct caggcacact 37860
 tcctgggcta gttgaggagt ctggatattt atttatttat ttatttattt atttatttat 37920
 ttattgagac agagtctcat tctgtcacc aggctggagt gcagtgggtc aatctcagct 37980
 cactgcaacc tccacctcct gggttcaagt gattctccta cctcagcctc ctgagtagct 38040
 gggattacag gtgccacca ccatgcctgg ctaattttcg tgtgtgtatg tattttgttg 38100
 ttgtttgtgt tgttgtgtgt gttgtgtgtg agacgggtgc tgcctctttt gccagggctg 38160
 gagtgcagtg ggcctctc agcttactgc aagctccgcc tcccgggtc acaccattct 38220
 cctgcctcag cctcctgagt agctgggtct acaggcgccc accaccagc ccagctaatt 38280
 ttttgtgttt ttagtagaga cggggtttca ccatgttggc cctgctggtc ttgaactccc 38340
 gacttcaggt gatccacca tgtcggcctc ccaaagtgt gggattacag gcatgagcca 38400
 ccgtgccc aa cctggatttt tattctgaag actaataggg attctaagga aggaaccagc 38460

ctgattgaat ttgcatatgt gtccacatct gctggctcac ggctgtgtgg gaggctgagt 38520
gatggggagg aaggattact gagtagggat ctgaagggtg ggcctcatgc tttctttcta 38580
accagctgtg ttgtctttgg gatggtgctt aaatttgggc tagaccagtg ggtcttggtc 38640
acccccagg ggacatctta caatgtctgg aggcgttctt ggttgacaca gtggggtgag 38700
ggctgctact ggcagctcgt ggggagagac cagggatgct gcttaacatc ctacagtaca 38760
cagggcagcc cccaccacaa ggaattatca gctgaaattg tgaacagtgt ctacactaga 38820
cccttgctac tcatagtgtg gtccgtagac cagcagcatt ggcatcacct gggaccttgt 38880
tagaaatgct gttagacccc accccacatc cactaaagcc agctcttcat ttcaacaaac 38940
tccccgatga tgtgagtgca cattcaagtc tgagaagggc ttctttgagg tgagccttag 39000
tgccccatccc cctttgggtg ccccgatac caaggggtgtg tgaaggggt gggtagggaa 39060
tatgggtctc acctgccaat ctgcttataa taacacttgt ccacaggggt gttgtaaccg 39120
agtgtggggg attccccaca gctccatcat gggctacaac ttcagcttgc tgggtctgct 39180
tgagagatc atctacattg tgctgctggt gcttgatacc gtcggagccg gcaatggcat 39240
gtgggtcact gggcttacc cccatcccct taacactccc ctccaactca ggaagaaatg 39300
tgtgcagagt ccttagctgg ggcgtgtgca ctcggggcca ggtgctcagt aggcttcggt 39360
gaatatttgt tggctgattt attcagaaat tctgtccagc ccctaccttg gatggattta 39420
tcacctctc aggccacctc ttctttccaa atagggccac ctaggatatag accaaagaca 39480
cgaaatcttt tgtgatccca caaacacaga gcaggtcaaa taggcccaag ccaattgaga 39540
ctgtggttca ggtcgtgatg cagagcttgg ctgtggacgt gctcccactg cgtactagct 39600
gggcatgtgg cttaaccttt ctcagcctca gtcgccccat tgtaaattgga gataatgata 39660
ctatctcccc tcacaggact gttgggatgc tactggattt aataagctaa tgcagggaca 39720
tgctaagcac aaccatccc tgaggcccag agaggggtgg gccttggtg aggtctcact 39780
gcgaggtggg aatgtgggccc tccagaccag aggtaggtcc tgtggcccct agacagtgga 39840
cagcaatggt cagtttgaca caccagagcc ctagccatta ctctctggat gttgtgtgaa 39900
tattttctgg acatggctta tataaaatga aaaagtgaat tgggcacgat acagggatag 39960
attttttagag atgaactggt agcatgatga taatcatatt cactgataac atttactact 40020
gttattgact gctttaaag tgttgggcat tgtgctagaa accattatat gcattatctc 40080
cttgaattct cacaaccgcc tactgaggtg ttctcagact ctaagaaatg agatttaaga 40140
gaagttatct gcccaaggtc actcggtggt aacctggctg taaaaatggc tgaagcaggt 40200
gatgaggagc tgatgcgttt ggacgtgtct cagagaaatc atggaggcgc tgcggttcct 40260
accggttctt ggatgccttc tacagagaca accatagccc caaattatag ggatcacata 40320
tcagtgggtg agacatcctt gcttgggatg aggaggggat gagctgtgtg aagcaaggcg 40380
cctctgtgat gggttccagt gatgtgtctg ccactgtctt aataactgtg caattctaag 40440
cagaaccttt cctgtctctg ggcctgagag ttccccctctg aaagatgagg acttgaccta 40500
gcaaggtcct actcacatgc ctgtagagaa caggcagggg aagttagaaa aaaaaaaaaag 40560

ccagtgaagg aagggagctc ttcagcttgc acccatcatc acagtgcagg gacccaggct 40620
 cagtgttgcc agatccaatg acttctcaag agctcaaaat ctagagtttt gcatgtgctc 40680
 tccaagtac tggcagaaaa ttcaagattg ttagtaacac tgtgtggcta aattctgctt 40740
 gtgggctgcc tagattccca attctgtgat tctgtggttc tctggaagca ttggttctcc 40800
 acagcacctg catcacttgg aaacttgta gaaatgcaag ccctacctac ggccccaccc 40860
 cagacctacc cagttagaaa tctgggggtg ggacctatca gtccatgttt gaacaagccc 40920
 cacaagtgtt ctcttgcaag ctcaagtttt agaaccactg acctatagcc aaaaaagaaa 40980
 aagccaatca gtggttttct ggtaaaggat taacttaaca aactggcttt ccaagaaaat 41040
 aaagccttga ttggtagcac ttgcaatttc tatggtacaa acgcttcccg catgactgag 41100
 ttcaagctgt caaggagaca tcaactataca tggacttggg aagagatgag aacaatcagc 41160
 cactgagcc tatgggaact ggctccagca catccctgca agtcaactct catcaggggtg 41220
 agtgagtga ggaccaagaa gcagttatcc tcttgcttt gcaggacca ggcaaaggga 41280
 agggcatagt gacagtgatg atctctctc cggaagtctt tggtttgctg agagtaaaag 41340
 gcggtgggctt caccagtggg gaagccagtc atgcagcctt agtctctgga ctgaaactct 41400
 ctaaateca gttttctatc tgtaaaatgg gaaaataaga cctatgtcac agggttgctg 41460
 tgcagattta gcaacagaac atagccccgt tctttatgat gactgatgct gcatccgtat 41520
 gaggacatct ctatgtaatg gaaagatgga gagaggatta agcgcaaagt cacaacactt 41580
 aatgggaact gtggattagc tacttgggtg cattgggcaa gtcagttgac tttgattaa 41640
 ttccacaaac aatatttccc aatttctat tcagatgagc atatgtgatt gagtcatag 41700
 ctgtgatcag aaccaggatg gagcatttcc cacaaactgt gggattttta agtaatggga 41760
 aggcacactg aatggcact gaatcatgca gttgcagata ctcttttca attctcagtc 41820
 ctttgattac gtcagggaga aaagaaagtc cccacttggc ctgagaatct ctgcaccctt 41880
 ctagctcttg ttaaccactc ttttgaatag cagagaaaac ctcagactgc catatctggg 41940
 agagatttta gcaacatttt gttttcattg tatctctttt tacagctacc tcccatttcc 42000
 cttctatttc aagctagtaa ctcagtttcc ttttaaatc aattatttaa atgtaaaaat 42060
 aagtctattt ggagaaaaaa aattttaata gcatctctgg aatgccagta tggctaaaat 42120
 catgaatgtt gtcctcaaat gctgaaatct gggaaagcatc tggccaagct ttgtggacag 42180
 gcctgcctag tttgaatccc aagagccacc cagtccaagc cacaaaacat tggaaattctt 42240
 ggttcacttc ctaacctga acttgccctc tgtgaaatag ggacactaat agctcactca 42300
 cagggctgct gtgaggacat gtgttgagct gagggctctg ccaggggaga ccctgtgcag 42360
 ggagactgtt atcatggtga tggatttctg cttcattcat ttcttttcc agacagcatc 42420
 atatagaatg agttgtggg tggcagtcag caggtttggg tttatcctct attctgccac 42480
 ttattactta aaaaaacccc aaaaaaccca acttatatag tataagctat atccagaaaa 42540
 gtgcaaatat catacaagta ccatttgatg aatcttctga tatccccaca taaccaacac 42600

ccagaacctc ttcttgtctc attccaggat aaccactaac ctgacttcta acagcatcag 42660
tcagttttgt ctgtttttgt acattatata tgtgatgggt tgaatgtgtc ccccaaattt 42720
catgtgctgg aaacttaatc cttcaattca tatgttgatg gtttttgag gaagggcctt 42780
tgggaagtaa ttaggattag ataaggtcat ggggtgaggt atgatggcac tggtgactta 42840
taagaagaga aagagaaatc tgagctggca tgctcttgcc ctctcactgt gtgatgactt 42900
ctccatgtca tgatgcagca agaaggccct caccagatgg tggcaccatg cttttggact 42960
tcccagcctc tagaactgtg agctaaatca atttattttc tttataatca cccagtttga 43020
tattttgtca tagcaacaga atatggacaa agaaagaaaa ttaatgcaag aagtagagtt 43080
tttactgtaa cagattcctg aaaatgtgga agtggccttg gaactgggtg atgggaatag 43140
gttgaagag ttttgaggag caggctagaa aaagcctgta ttgtcaagaa tggagcatta 43200
tgccaggcac ggtgtctcag gcttataatc ccagcacttt gggaggccaa agcaggtgga 43260
tcacctgagg tcaggagttc gagaccagcc tagctaacat ggtgaaacgc tgtttctacc 43320
aaaaatacaa aaaattagct gggcgtggg ggcgcacacct gtaatctcag ctactcagga 43380
ggctgaagca ggagaatcac ttgaaccag gaggcagagg ttgcagtgag ctgagatcgt 43440
gctattgcac tccagcttgg gcaacaagag caaaactcca tctcaaaaaa aaaaaaaaaag 43500
aaagaaaaag aatggagcat taaagacagt tctgcagttc tggtgagggc ttaaaggaag 43560
accccagaac tagggaaagt ctggaacttc ttaatggta ctgaagtcgt tgagatcaga 43620
gtgctgatag aaatatggct ggtaaaggcc attctgatga ggtctcagat agaactgaag 43680
aaccacgtgt tggaaactgg agcaaaggtc atccttttta taaagaagca aagatcttag 43740
ctgaactttt tctgtgccag agtcatttat ggaaggcaga aaatctgtag gtcagccatg 43800
ttgtagggaa tgaaagaaca tttcagctg agaacactga gagtgtgaca caactaccga 43860
ctgataagaa aactagtaca cataaattag ccaggcgtgg tggggggcgc ctgtattccc 43920
agctacctgg gaggctgagg caggagaatg gcatgaacct gggaggcaga gcttgacgtg 43980
agccaagatc gcgccactgc actccagcct gggcgacaga gcaaaactcc gtctcaaaaa 44040
gaaaaaaaaa aggaagaaag aaaattagta cacatagaac aaagccagag gctgttcac 44100
aggacaagg agaaaaactc caaagccatt tcagagatct tcaagactgc cctccatt 44160
actggcccag agctctaaga gggcagaatg gtttggaatg accagctgct gccagggt 44220
gccttgggtc tctgtcccc acatttctgg tgcagcattc ctcagccatc ccagctgtgg 44280
ttcaggtggc cacaggtgtg atgtggaagg taaaagtcac aaacctggc agcatacaca 44340
tggcactaat tttgcagggtg tgcagaatgc aaaagctgag ggggcatgcc ttctccacc 44400
tacatttcaa aggggtgctgt gaacagccac cccagagagc ccctagtaga gcagggtcta 44460
gtggagctac aagggtgggg ccaccgcaa gacccagaa tggtagagct atcatagtgc 44520
aatgccagct tgggagaact gcaggcatga gactccaacc tgtgcgaagt gcaacatggg 44580
cagaaccag caaaaccaca ggggcagagc tccccgaagc ttcgggggtc caaattccat 44640
agtgtgtcca ggaggtggca cacagagtaa aagatcattc tgaaggttta aggtttaatg 44700

ttgttttcta tgttgggttt tgtactttcc tggaaccagt tacccttttt cccttgccctc 44760
 tttttccttt tagaatggga atgtctgtcc tatgcctggt ccaactgttg attttggag 44820
 tcaataactt gttttgactt tacaggctta cagccagagg gaatctcca tagaatgaat 44880
 tgtaccttaa gtctcaccca catctgattt agatgagacc atggactttg gaattttgag 44940
 ttgggtgctgg aacaagttaa gactttgggg gttgtctaag tgtgggtgtt catgcctgta 45000
 atcccagtgga tttgggaggt tgaggtggga ggattgcttg agcccaggag ctcaagacca 45060
 gcctgggcaa catagtgaga cctgtctcta caaaaaataa aaataaaaaa attagccagg 45120
 tatttgggca tatacctgta attctagcta ctcaggaggc tgaggtgaga ggatcacttg 45180
 agcccaggag tttgaggctg cagtgagcta tggctgtgcc actgcattcc agccagggca 45240
 acagagtgag actctgtctc taaaaataaa attaaataaa cttagctgga tatgggtggca 45300
 cacatctgta gtcctagcta ctcaggaggc tgagacagga ggattacttg agccaaggag 45360
 tttgaggctg cagtgagcta tgatcatgcc actgcattcc agcctggatg atagagcaaa 45420
 atcccatctc taaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaacttt agtgctattg 45480
 gaatgaattt tgcattgtaag aaggacatgc attttggggg ctggggcagg atgctgtggt 45540
 ttgaatgcat ccctcaaatt tcatgtgttg gaaacttaat ctccaaattc atatgttgat 45600
 gaaattggag gtgaagcctt tgggaggtaa ctaggattag ataaagtcag cagggtgggg 45660
 cccctatgat gagactggtg gcttacaaga ggaagagaga actgagctga catgctcttg 45720
 ccctcttgcc atgtgatacc ctctgccatg taatggcagg cacagcaaga aggtcctcaa 45780
 cagatgccag cagcatgttc ttggacttcc cagcctccag aacctgagc tatatatact 45840
 tattttaca attaccatt ctgtggtatt ctgttatagc aatagaaaat gaactgagat 45900
 aatatacatg gaatcataca gtaagtctgt gcttttgtat gcttctttta ctcaacattg 45960
 tagttgtgag attcatccag gttgttaagc attgctgtac ctttttcca ctgggatata 46020
 gtgttctgtc atgcttgggt cttaatattat aaaggtgact gagtggcatt ttcttccagt 46080
 attattggaa ggaaagtfff gttgttcaca gttcccctgt aaacaagagg cagaacacgt 46140
 catgcagggc cacacaaaac tgtatcatcc agggaccagg cagcagaaag agagggggaa 46200
 ctgggactat gcctttatga aaaagagtgg tgggagagta actgggtgag ggcattccact 46260
 aatgggcagg aagtgaaaac acatatgtta gaattttag ctgaggggtt tataatatga 46320
 gtttcctatg cctgagaaaag ctgacttgca agaaaatgag ataaacaact ttggccatta 46380
 gtgtggccct gtcataaatg aatgccagat aggcaaatag agaacttaag aaaagatagt 46440
 tggaacaagt gttccattgt gtgaatgcag cagaatttat ttatccatta ttgaggagga 46500
 tttgggtagt ttccagttg gagctattat gaatattcta gtattgctcc tatgaacatt 46560
 ctgactctt tatttttggg gcacacgaat gcacttctgt tgattatag cctagaagtg 46620
 aaattgttga attatacagt attcacacag tcagctttag tggctactgc taaacaattt 46680
 tctctagtag tttgcgcaa tctaaccacc agtagtgtat agaagctcct tttactccac 46740

ES 2 445 709 T3

attttgccaa cacttggtgt tttccttctt tttgattagt catttagcaa tcaaacctat 46800
 tgtttacatt ttgatatctc caataactaa ctaaattggag cacttttaat atgctttttg 46860
 gacagttgaa tatcttttct tgtgaaatgt ctattcaagt tagtttgccc attttctatt 46920
 gtgggtgttct gtctttttct tattgatttg taggaattcc ttacgtatcc tggatatgaa 46980
 tcccactttg tgcgttacct tttccttctt ttctttcttt ttgaaacaga gtctccttct 47040
 gtcacccagg ctggaatgca gtggcgctat ctcagccac tacaacctct gcctcccagc 47100
 ttcaagcaat tctcactctt catcctcctg agtagcttag attacaggcg catgccacca 47160
 tgcccagcta acttctgtat agacaaaata atttttggta gagacagggt tttgccatgt 47220
 tggacaggct gatcttgac tcctggcctc aactttggcc caccttggcc tcccaaagtg 47280
 ccaggattac aggtgtgagc caccatgccc agcccacctt ttacttttct aatgggtgtct 47340
 tttgaacaag agaggttctt aattttaata tagcccaatt tatcattggt ccctttatgt 47400
 ttagttcttt tatgtccttt ttaagaattt ttgcagccag cgcggtggct cacacctgta 47460
 atcccagcac tttgggaggc tgaggctggc ggatcacaag gtcaagagat cgagatcatc 47520
 ctggccaaca tggatgaagc ctgtgcctac taaaaataca aaaaattagc tgggcgttgt 47580
 ggctcttgcc tgtagtctca gctactcggg aggctgagat cagccactg cactccagcc 47640
 tgggtgacaca gcaagactcc atctcaaaaa aaaatttttt ttgcaaggte atgcatatgt 47700
 ccccctgatt ttttccctaa aaatcactta ttattagatc aatgaattga gtaattgact 47760
 acatttttca gtcattcaac aaatatttcc ctgaggtttt gataacctga actgtgtttg 47820
 gagctgggga ggaagcaaac tattgaagat atacaaagat ggcaaagatg agggcctgga 47880
 gcttgccaca cggaaggggg gatggctgcc tgaatggttg ggcaggtagt tgttgacatc 47940
 tgcactccct acatgagcag cagggtggca actcttttta tctttttaat ttatttttct 48000
 tttctttctt tctttttttt tttttgagat ggagtctcgc tgtgttgccc aggctggagt 48060
 gcagtggcgt gatctcagct cactgcaaac tccacctccc aggttcacgc cgttctcctg 48120
 cctcagcctc ctgagtagct gggactacag ggccttgcca ccaactcccgg ctaatgtttt 48180
 gtatttttag tagagaaggg gtttactgt gttagccagg atggtctcca tctcctgacc 48240
 tcatgatctg cccgcctcgg cctcccaaag tgtggggatt acagggtgta gccaccacac 48300
 ccggccttaa tttatttttc tagtctgcag gtaattcttt ttaattctct ccaactctct 48360
 atgatcttat gaggtagga ctgtcattat ttctcccact ttataatgaa caatcagtaa 48420
 agacagggaa gataaccaa tgacatacaa ggtgggttcc accccatgag gctgcaggct 48480
 tggagctttg ctttgtctta aaaatgagaa catgagctgc ccacctgttg agacaagaaa 48540
 caggaaaggc ttaaaaaact ggcttgttat gtacaactat ccgtggggct gcagtgaacg 48600
 ggctggcagt gccaggtgc aggctgaacc ctgggacaat cacattcagc atccaagggc 48660
 ccccgttaata gcttaatgtt tgaattgaac ccctgggggt gccttgaagg agagaggtcg 48720
 tggaaatag ttcaaggggt agggatgggc aggggagatg ggtctgaaag ccaagctcta 48780
 ccccaccac cttgccccaa gagaaataga accttcatct ttaattgcct aacgagaaaa 48840

ES 2 445 709 T3

ctggggctgg ccagatgtgg tggctcatgt ctgtaatccc agcactttgg gaggccgagg 48900
 cgggcagatc acttgaggtc aggagttcga gatcacctcg gtcaacatgg tgaacccccg 48960
 tctctattaa taatacaaaa attatccagg tatggtggcg catgcctgta gtcccagcta 49020
 cttgaggcac aagaatcgct tgaacctggg ggacagaggt tgcagtgagc cgaccactgc 49080
 actccagtct ggacgacaga gtgagactcc atctcacaaa caaaaacaga aaaaaaaaaa 49140
 aaaaaaagag agagagagaa aactggaggc tctgagaggt tgagggactt gcccagggtc 49200
 ttgcagctag taagtgacag agctgggact tgagcttggg ttttctgact cctggtctgg 49260
 ttcattatcc atgaggtgct gggaaactaaa ataagccaca atcttggaaat ctccgtcgcc 49320
 tccctccctc ccacatgtct gcgtggcttt ttgggaaaat gccaggggaa tgtaccagcc 49380
 agggagagga cccttgtttt cctcatggcc cttcctggca atggcactac tgacaccgac 49440
 agtccttttt gtccctgatg acctctgctg cctgatgccc aagtgaccac ctctgctttg 49500
 tcatttctag gattggcttc caggtcctcc tcagcattgg ggaactcagc ttggccatcg 49560
 tgatagctct cacgtctggt ctctgacag gtcagtgtga ggccaccttt cttccaccat 49620
 tgccaggaca cagcaccac gtccagagcg caccctgccg tgtggctgga tgtctatgtg 49680
 ccccatctcc ttcctgagg atcacataat ttcagaattg gaaagttct tagaggtcac 49740
 ctgctgctaa tgtggactgt gaggccaggg cagggaaagg acatccctga ggtataagt 49800
 agggtgagtg gcaacgttgc agacttttga acccagggt ggtgatcaca ctcagttttg 49860
 cacagaagcc cgagaaaatc cttacacca aaagcctacc ttttatttct gaggacacc 49920
 ataatactat tttattcaac agatatttat tcaatatcca ctatgagcca ggactgggg 49980
 acacagcagt gagcaaaaca aattccctga ccccatggaa ttgaccttct agtgggggaa 50040
 ggtattagca ataaatagac aaataagtgt ctactacgcc agatgggaag aagtggctgt 50100
 gaagacagag caaactagag aaacatagag tcaatgtggg atggggtgtt cttttagggg 50160
 ggtggctcagg gaaagcttat ctgagtagtt agcttttaag cagagacccc aatgaagagg 50220
 agggagatat gcgatgcatt tagttagggg aagaacattc catgaaaata ggatagcaag 50280
 tgcaaaggcc ctgagacagc agcatgcttt gtgtgttgag ggaacagtaa ggagaccagt 50340
 gtggttggtg tgaatggagt gagaaggagc agcaggggtt gagggcagaa tggtagtgag 50400
 gagcaggccc ttataaaaga tgggaagcca ctggagatct ttcaacaaag gggaaaagta 50460
 tgtttctggt cttgcaataa aatagaacag caaaaaatct aggggagttg ctaattagcc 50520
 agttttactt atatgccagg tgaaaatatg tggctaggtg cagtggctca tacctgtaat 50580
 tgcagcagtt tgggagaccg aagtgggagc atcatctgag atcaggattc aagaccagca 50640
 tggccaacat ggtgaaacc catctctact aaaaattaaa aaataagcca ggcgtggtgt 50700
 tggatcccag ctacttggga ggctgaggca gtagaattgc ttgaacccgg gaggcagagg 50760
 ttgcagtgag ccgagactct gtctaaaaaa aaagaaaaaa agaaaataca cattcaggcc 50820
 aggtgcagtg gctcacgctt gtaatcccag cactttggga ggctgagaca ggtagatcac 50880

ttgaggtcag gagttcgaga ccagcctgac caacatggca aaaccctgtc tctaccagaa 50940
 atacaaaaat tagccaggcg tggaggcgtg tgccctgtagt cccagctact ggggaggctg 51000
 aagtagggga atggcctgac cccaggaggt ggaggttata gtgagtcgag gttgcaccac 51060
 tgccctccag cctaggtgac agagtgagac tgtctcaaaa aaaaaagaaa gaaaatatac 51120
 attccatcca gaactgttca cctttattct acaagcaaac atcttttatt ggtagacac 51180
 ccatatatgt gtccctaagc aggaggtgaa tgccaaataa gagacaaatg gcgtaagaca 51240
 ctatgagttg tgtgacgttg ggcattgtcac tttactccct ctgagccttg gttagcttct 51300
 ctgtaaaatg aaaggattat ggtaactaag ctggcttcct tccagcttta acaaactgta 51360
 tggaggctact ttttgagtt acctgggtaa tttttgagtg tgagattggc tagaattgct 51420
 ttaataatcc atgtctggcc ttagcttttt gcagagtctt tgtgaagaag cagaggcggga 51480
 gtagcgttaa ttccgtaagt taacgttcag ttcgtggcag ctggcaatcc aaccctggga 51540
 aaggctgccg gatttagcaa aaatgcaagg tgtctgtttt taaatttgaa atgaattggg 51600
 tatcctgcat tttatttggc aaccctgtcc tgggactcac actattcact gttatcactg 51660
 gtatgttcaa agtgggtgctg acttgccctc tgtcttgcaa agtaccagga ggtcttttct 51720
 tattcttcac tggagtcaaa aaagagaata gaggaaaaga caatcatatt gttcctttaa 51780
 gagttaagac caacaagttt tcttctttac atgttgtttt tgacatgagc aaactgggtga 51840
 ttaaaaacaa cttgggtggc tcatacttgt aatcccagca ccttgggaag ctgagggtggg 51900
 agaatagctt gaggccagga gttcaagcca gggcaacata gtgagacccc atctctacaa 51960
 aagatacaaa aattagccag gcgtgggtgtt acacctgtag tcccagctgc tctggaggct 52020
 gagatgggag gatcagttga gcttgggagg cagaagttgc agtgagctga gatcatgcca 52080
 ctgcactcca gcctggacaa cagagcaaga cctgtctca aaaaaggaaa caaaacaact 52140
 tggacaatgg aagggggaaa aagttcctca agcagccaaa attgcaccaa atggactccc 52200
 agaagacaag catttaattt gttaattgag ccctctatgg gcctgtctgt atttatttaa 52260
 gaaacaatcc tatcaagcat agttattggg tttctcagcc caggtagatt agaaatagca 52320
 gattagaggt gggctaggtt tctagaggta aagtacacca gcagaagtta gaagtgaag 52380
 caaagagcct aacagaggaa gagaaattct ttttttttc tttttttaga cgcagttttg 52440
 ctcttgttgc ccaggctgga gtgcaatggc gctatctcgg ctactacaa cctcagcctc 52500
 ctgggttcaa gtgattctcc tgccctcagcc tcccagtag ctgggattac aggcattgcac 52560
 caccacacc ggctaatttt gtatttttag tagagacagg gtttctccat gttggctatg 52620
 ctggtctcga actcctgacc tcagggtgat cggccacctt ggctctccaa agtgctggga 52680
 ttacagggat aagccactgc gaccggccga caaattctta aaactggaca caagaacaca 52740
 aaacgcttg gctgctgaga gattagaaca acaaccctcc acagctacac accttttcca 52800
 cgttatatgg cacgttataa gtgggtgttc ctagtgatgg ttctgatttt ttttaaaaaa 52860
 agtctaataa tgtttaatgt tgtctcagaa gacaaaatat attttagaca gatattcctc 52920
 agtgatgagt aagcctcagc tatctggaaa attcatgcag gcgccagaga tcgttactga 52980

gtaattcaag ctaactgcgt catgctgggt gtaccctgca tgccaatata agctaaaagc 53040
 agcaccacga aagggaata cgaatctcac taagcactcg cccattcttg ttaacgacac 53100
 tggaactgat catccttaat aatacacaga taaatctata aggagcattt ccttgcttcc 53160
 tgtgaaagga agcactcatt ccatgtgtcc tgtgaaattc atccaacttc aggaagctgg 53220
 aggaatacat atggccaagc tatctgggca gagagtagac agggaatgga ggttgggcac 53280
 agtggctcac acctgtaac gcagccattt agaaggcaaa ggcgggcaga tcaacttgagc 53340
 tcaggtgttc aagaccagcc tgggcaacat ggctaagtcc tgtctctgca aaaaatacca 53400
 aaaactgagc tggatatggt agcacacacc tgtgggccca gctacttggg aggctgaggt 53460
 gggaggggtt cttgaccccg ggagtttgag gctgcaatga gctgtgattg tgccactgca 53520
 ctccagcctg gataacagaa tgagactctg tccccaaaaat aaaaaataaa atcaaagaca 53580
 cttaaaaaga tggggaaaag gaaggacagg cacttaagca agttataagc tactttccta 53640
 actacacaag tggaatctta agctgaggtt cccaggagtt gactggagcc agagaagaca 53700
 gacctatagg agcacccaat tggagtcacc ctccatagta gcccatatgt cttacatgga 53760
 tcagctttcg tggggccctt ttactccatc tggggaaggg cgtcagatct gtggctctca 53820
 tgtactgtc agtacactgc cattcccagt tctttttttc aaaaaaaaaa aaaaaatgtc 53880
 tacagaatcg gccagggtgt gtggctcatg cctgtaatac tagcactttg gaaggctgag 53940
 gtgggtgat cacctgaggt cgggagttcg agaccagcct ggccaacatg gtgaaactcc 54000
 atcttacta aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa attagctgga tgtggtggca ggcgcctata 54060
 atctcagcta cttgggaggc tgaggcagga taatcgcttg aacctgggag gcagaggctg 54120
 cagtgagccg agatcacgcc attgtactcc agcctgggcg atagagtgag actctgtctc 54180
 aaaataaata aaataaaata aaataaaata aaataaaata ggctacagaa ttaagctgggt 54240
 ccaggaatga cagggcttcc atttatttgt ctttcaattg tgggagaaa aggatttctg 54300
 ttgagatact gtcgttttga cacacaatat ttcgattaat cttgagatta aaaatcctgt 54360
 gctccaaatc ttttaacatt aaattatgca tttaaacagg tttgctccta aatcttaaaa 54420
 tatggaaagc acctcatgag gctaaatatt ttgatgacca agttttctgg aaggtaagat 54480
 ttttcaccta ttaacgtgat agattttgag tgcataaact taaaaacata cctgagtata 54540
 tatgttgact tgctgtttat gagtaaaaca aaaacaaaaa tggagtaagg agcattgcag 54600
 gaggaactag aggagaaaca aatccatgat atgcatgtgt gtgggggagg gtggcgggga 54660
 ggtggtaaag gtcaccattt ccctgatacc tcaaattcat tcagagtcag ggatgagaca 54720
 gctttcactg gccacacttc cctccccct atctgcagtc ctcagcgtag ccaaatagtc 54780
 tgacatgagg gtgacagaac cccacaatgc aaaagctgga agaaacctca agccttgag 54840
 tccaaccct ttttgacag atgctaagag tggagacatg acttatcaag atcttacaac 54900
 tggtgggca cgggtggctca cgctgtgat cccagcactt tgggaggctg aggtggggcg 54960
 atcacctgag gccaggagtt cgagaccagc ctggccaacg tgtcgaaacc ccatctctac 55020

taaaaataca aaagttagct ggggtgtggg gacatgcct gtaatcccag ttactcagga 55080
ggctgaggca ggagaatcac ttgaacctgg gaagcgaagt ttgcagtgat ctgagatcat 55140
gccactgcac tccagcctgg gtgacagagc gagactttgc ctcaaaaaca aaacaaaaca 55200
attgtacata tttaaagtgt tgtaaccaag tgagttacag agaaacacca cactttgagc 55260
ctaattcagg agtcctttat tagccggcga cctagagacg actagtgtctc aaaattctct 55320
cggcccaaaa gaaggggcta gattttcttt tataccttgg tttagaaagg ggagcgggaa 55380
ttgagctgaa gcaatcttac agaagtaaaa caggcaaaaa agttaaaaag acaaatgggtt 55440
acaggaaaac aaacagttcc aggtgcagga gctttaaaagc catcacaagg tgacaggtgc 55500
gggggctctg ggtgctatct gccggacaca aacgcagggg cactagagta ctatcacccg 55560
ggcaaattcc tgggaactgc ggacacagct tgccacagta ccttatcagc taattgcact 55620
ctttgatgtg ctgggagtca gcttgcaaaa gttaagtctt tgaggaaggg ggtgggtaag 55680
gagcccttaa cgtcttgcga atgaaggagc cgaatggaat ccctccggct ttcttagcta 55740
agagagagtc aatcaagtta atacaagtta gggatcaca aaagtatata atttgataca 55800
ttttaacgta tttatacact gaagagacca tcaccaccat caagacaagg agcacacca 55860
tcacttcac acacttcctc ctgctccttt gaaattcctc cctccctacc cacctggtcc 55920
cacccaaagg caaccactga actactttct gtcactaagg tttgcatttt ctgtaatttt 55980
tttgtttgag acagggctc actccgccac ccacaccgta atgcagtggc accatcatgg 56040
ctcaactgtag cctcaacctc cccaggetca ggagatcctc cccctcagc ctctgagta 56100
gctaggacca caggtgtagg ccaccatggc aggctaattt ttgtattttt ttgtagagat 56160
ggggtttcac cgtattacct aggctggtct cgaactcatg ggttcaagca atcctcctgc 56220
cttggcctct caaagtgtg ggattatagg catgagccac tgtgcccagc cctctgtaat 56280
gttacacaaa gggaatcatg cagcacgtac tgcccttggc ctggcttctt ttgctcagca 56340
tgattattct gagaatcatc cgtgttgttg cgtgtaactg acttcatcag ctctctctg 56400
cagctgtcag ctcttggctt ctcccaacag ccaatctctc tttatcccct gcaagtgttc 56460
ttgcctattt agcagaatca aggtactcta tcgaaaagac tcggaaaatt ggtttaatct 56520
attcattcat tcctcaggta tttatcgaat aactattcta taccaagtac tatgctaate 56580
aaccaaggac agcacaaca ggagaaatct ccagctcagt cacttgagtt gcaataaata 56640
tttgctggat aggtcaggtg cagtggctca cacttgtaat cccagcactt tggggattac 56700
tgagacggga ggatctcttg agcccaggag gccaaaggctg cagagaacca tgatcatgcc 56760
actgcactcc agcctgggtg acagagtgag atcctgtctc tgaaaaaaaa tatttgctgg 56820
ataaattaag gaaatctgac gaaccccatc agtagccatt gcagcaacag gtaactaga 56880
acgagtgtga atttggaatg aggaaaccg atgttgcca tcattctgta atgtcatgta 56940
ttatgtaatg tattatata taatgtatgt attatgtagg caagttcctt gacctctctc 57000
actggtaca taagagtagt aatctttgtg ctacttcaact gggttatttt aaagatcaag 57060
tgaggtaata atgtctgtaa caacattctg taaaatgcaa accgccacat gaatgtgaaa 57120

ES 2 445 709 T3

gtttattact agggatttag ccaaccacaa gggaaatgtgt gagcataaga gctatcatat 57180
 tgcaagccta cagtttctga ttttgtgcta ggtgcttttc cacattacct gattttatcc 57240
 tcacaacagc cctgcataaa agtaagtatg tcgcccaggt gcggtggctc atgcctataa 57300
 tcccagcact ttgggagccc gaggtgggca aatcacttga gatcaggagt ttgaaaccag 57360
 cctggtaaac gtggtgcaac cctgtctcta ctaaaaatac aaaaaaaaaat tagacaggcg 57420
 tgggtggtgga tgcctgtaat cccagctact tgggaagctg aggcaggaga atggcttgag 57480
 cccgggagat ggagattgca gtgagatgag attgcccac tgcactccag cctgggtgac 57540
 agagcaaggc tatgtctcaa aagagaaaaa aaaagtaagt atctcagtct tgaagatgat 57600
 gaaatggagg cctagagaga ttaagtaact tgcccaaat gacagaacta atgcatagaa 57660
 aagaagaaat gtgatgtctt ttggctcaa agacacccca catatgcgtt ggttacagtt 57720
 actagagaaa agttattcca cccccacccc acccccagaa atcttctgac ttgttttctc 57780
 gcagttgagt aggaccattt attcggcagt gtaccattct cagcttgag ttgaaagcca 57840
 aatatccatt aaagaggcaa ggatgcaaac ttgctaagct gataaatcca ggggtgattt 57900
 tttttttttt tgcaaaccat ccaacaagac attttaaata ctattgaat ttcatagaac 57960
 tgactgccag gattggaaag acattaaagc cagctcagcc actgcctcgc tggttggcca 58020
 gaccacgcct ggcacttctg ggagggagca ctcaccaccc cccaagggca cccatctcat 58080
 cctccgaagg tttatgaaaa tgcactcatc atttgcta atcttccact acgtgtatta 58140
 cctaatttgt gacacgatgt gaagtaccag agagataatt ctaaataaaa tatagttatg 58200
 ggtctcaagg agccagatat gctaactctc tctctctctg cagtttacag tggctctcac 58260
 cagatactta tttacaaaaa ttcagtttat tttttttttt tttgagacag agtcttgctc 58320
 tatagctcag gctagagtgt aatggtgtga tctcggctca cttcaacctc tgctcccag 58380
 gttcaagtga ttctctgcc tcaacctccc aagtagctgg gactacaggc acctgccacc 58440
 acggctaatt tttggagttt tagtagagac agggtttcac cacgttggcc aggctggcct 58500
 cgaactcctg acctcaggtg atctgccac atcagcctcc caaaatgttg ggattacagg 58560
 cgtgagccac catgcccggc caaaacttca gtttataaca caatctttca cgtgtcttct 58620
 gctttcatta aaagaataga cagttccctt ctttatttca gtttaataaa ccatggattt 58680
 ttttcatgc tttgcaaac acaaggctc actgacatgc acttcttaa ctaattctgg 58740
 ctggtgcct gtaattccag cactttggga ggctgaggcc gacagatcac ttcaagtcag 58800
 gagttcaaga ccagcctggc caatatggtg aaaccacgct tctaccaaaa atataaaaa 58860
 ttagccaggt gtggtggtgc gtgactataa tcccagctac tcagggcct gaggcagaaa 58920
 aatcacttga acccgggagg cggaggttac agtgagctga gatcgcgcca ctgcactcca 58980
 gcctgggcga cagagtgaga ctctgtctca aaaaataaat aaatacaaat aatgtaaaat 59040
 acgaaacaag caatcctggc agtagctgct ggaatgagag gagggagagg tcatagggag 59100
 gtcggggaca atggagcatg gagttgtgtt ggatttggct aagcagcagg aagtgcaagg 59160

cattccaagc aagaggaggg gggcaggtgg ggagcatctg caagaacaga agcagcatga 59220
gcaacctggc tcggcagtggt gtgaaaaggc tgaaagggtgg ctagagccac ttcaatttca 59280
tccttcaggc aaatgggaaa ttcccaaagg tttgagtygg gaagcaatgc ctacaatgaa 59340
agtttgagag tgaagcagag tgatcgaatt aagcatgtag gccgagttct gaaataactg 59400
caatgtgctg aagatcatcc attggcttct gaatgagtat ttgcagttta ttttttaaaa 59460
tgattttatt gccaagaaaag ataaacacta ctgttttggg acaaaaacat aacaaaatgt 59520
gttgagtccc tcttgctggt ttacgcgaag ttttaaaaat ctactcttgt cacagtggtgta 59580
tcaccctac ttctgatttc aaataaatgt tctagagaca cagtaagggc ccaacaaacg 59640
cttgttcaac aacacaagga gagccagctt ttaaagtagg aaaacaggcc gggcgccgtg 59700
gctcacacct gtaatcccaa cactttggga ggctgaggtg ggcagatcac ttgaggtcag 59760
gagttcaaga acagcttggc caacatggtg aaaccctgtc tctactaaaa acacaaacat 59820
tagccaggcg tgggtggtgca caccagtagt cccagctatt caggaggctg aggcaggaaa 59880
atggcttgaa ctggggaggg agtgggtgca gtgagccgag atcgtgccac tgactccag 59940
cctgggggac agagggagac tccatctcaa aataaaacaa aacaaaacca aatcatacaa 60000
aacattagc tgggtgtggt ggtgcatacc tgtaatccca gctacttggg aagctgaggc 60060
agaattactt gaacccttgg ggggaggttg cagtgagctg agatcttgcc actacactcc 60120
agcctgggca acagagttag gagactctgt ctcaaaaaat atatatatta aaaaaaagaa 60180
aaaaaaaaagt aaactaggaa aacacatcag cagcctgcc aacagactccc ctagcctcgg 60240
tgagggccag tgttctggga ggcagatctg aattctagtc ctagtccacc cactggcagg 60300
ctggtgccct tgggcaggtc gcttctctgg ggctcagttt ctctctctat aaaatgagat 60360
caaatcccat gttctaagag tttgtgctct ggagtcagac agatctgggt tctaccactg 60420
ccagctctgt gatctttag cttcagctct gtcactctgac atggagataa cagtaactgt 60480
ctcactgtgt tgtaggggt taaaggagat aatgtatgtg aaatgttagc aaacaagtgt 60540
tagctaccct gatttccggt ttcagagttc tgtggtccca gtttatgcca catgcagtga 60600
cgttgtatgg taggctgtgg tgtggcacca ctccagaact cagcgcagtc acagcttgca 60660
gaagagaagg ccagaggaga cctaagaagg ctcttcgaac acttgaaaga ccggcatgta 60720
ggccgggagc agtgactcac gcctgtaac ccagcagttt tggaggtcga ggcgggtgga 60780
tcacctgagt ttgggagttt gataccagcc tgaccaacaa ggtgaaaccc cgtctctact 60840
aaaaaataca aacattagct gggcatggtg gcgggtgcct gtaatcccag ctactccggt 60900
ggttgaggca gaattgcttg aaccgggag gcagaggttg cagtgagctg agattgcatc 60960
actgcactcc agcctgagac aagagcga aa ctccatctca aacaaaacaa acaaccaacc 61020
aaacaaacc aaaaaaaaa ctggcatgta gaagaaaaat actttttctc tacacttctc 61080
caaagaattt aactaggccc aggggaggtg cagtataaat ttctaacaat ctcaactgtc 61140
tgccaaatgg aatgagctac ttcatatggc agtagtgagt cctctgtctt tggaggcatt 61200
caaataaaag ccagatggcc atttatcaac aatccatgta aaacgttaga tgaataaaaa 61260

cctatatac caagatctct tccaattcag attttatgaa agaatttcta aggtctttgt 61320
aatgagacat ttaggctggt tcaagagatc aagccaaaat cagtatgtgg gttcatctgc 61380
aataaaaatg tttgttttgc ttttacagtt tcctcatttg gctgttggat ttttaagcaaa 61440
agcatccaag aaaaacaagg cctgttcaaa aacaagacaa cttcctctca ctgttgccctg 61500
catttgtacg tgagaaacgc tcatgacagc aaagtctcca atgttcgctc aggcactgga 61560
gtcagagaaa atggagttga atcctttctc tgccactctt tgaggagaat ctcaccattt 61620
attatgcact gtagaataca acaataaaat acagccatgt accacataac aacatcttgg 61680
taaacaacag actgcatata tgatgggtgt catccagtaa gctaaggtta atttattatt 61740
attccttgtt tttttttttt tttttttttt tttgagatgt agtcttactc tgtcaccag 61800
gctagagtgc aatggcacca tcttggctca ctgcaacctc tacctcctgg gttcaagcaa 61860
atctcctgcc tcagcctcca aagtagctgg gattacaggc acccaccaca tctggctaata 61920
tttttgtatt tttagtaaag atggggtttc accatgttgg ccaggctgat ctcaaaactcc 61980
tgacctcaag tgatctgccc gcctcggcct cccaaagtgc tggaaaccaca ggcctgagcc 62040
actgtgceca gccttgtttg cttttttaac agataacagt gtgctcatag aaactgcttt 62100
gacatgactg caatcatgtg cttcatagaa acttaattag attataccac tagagtcttc 62160
agatttttat actttttttt tttgaaacgg agtctcactc tgtcaccagg ctggagtgca 62220
gtgccgcaat ctcggctcac tgcaacctcc gcctcccagg ttcaagcaat tctcctgcct 62280
cagcctcccg agtagctgga attacaagtg cgcactacca caccagcta atttttgcat 62340
ttttacttga cagggtttca ccatgttggc taggatagtt tcaccaggat ctcttggcct 62400
catgatcagc ctgcctcggc ctcccaaagt gctgggatta cagggtgtgag ccaccgtgcc 62460
cagcctatac ttcccttttt gaataccatt tgggtgtttt aagaattaac agctttgtga 62520
acgtggcagt gcttgtgatt caggcttcca ttgagaccaa ggggagaacc tggttgcagg 62580
acaacagac ggacagcgtg tggcagtgtt taaatgctct tctgaaggct gatacgacag 62640
ctctctgtgc actgattgca tatgcatccc aagattatat tattgttttc tactgctatg 62700
tgtcacactt tgccaaacag gatgtgaaa atgaataagc ggttttctta ggcacttctt 62760
aacagacaat tggcaaaat gaactccatt gcttaagaaa cacataaaca ccatttagtc 62820
actgaacata gctatatgta tggttgttac tatgggaaat cttgttttgc caattttctt 62880
tgaaaattct ggcagaccaa ggttcttttt gtttacataa tacttgaaaa ataaaaatga 62940
acaagctaac aaactacca gttttcactt acataaatgt agttgcatac agaaaatgtg 63000
actgtgaatt aatttttcta ggacttttaa actataagca ctatttgac aaaagagaac 63060
caatctatca attacaaact cacataattt tacagatttt ttttttctta cacagcacat 63120
aaaacagaag gaatttgaag ccaccctcca aacacagggg aaggaggctg tgtgtatatac 63180
ctcattgtct ttcacattct aagggtggtc cactcagtga ctgaaatcct taagcgttgt 63240
attagtctgc ttgggtacc ataacagcag cttaaactgt tgtttagcca ctcagactta 63300

aacaacagaa atttatttcc ttatagttct ggaggctgga agttcaaggt gccggcaagg 63360
ttggtttctg gtgagacctc tctccctgtc ttgcagatgg ctgcctcctc cctgtgtcct 63420
catagagcct gtcttctgct tttacacttc tgggtgcatc ttcctttttt tttttttttt 63480
tttttttttt ttgagacaga gtctcgtctt atcgcccagg ctggagtgca gtggcccgat 63540
ggatctcggc tcaactgcaac ctctgcctcc caggttcaag caattctcct gcctcagcct 63600
cccaagtagc tgggactaca ggtgcccacc atcatgcctg gctaattttt gtatttttag 63660
tagagacagg gtttcaccat attggccagg ctggtctcga actcctgacc ttgtcatctg 63720
cctgcctcgg cctcccaaag tgctaggatt acaggcgtga gccaccgcac cggcctcctt 63780
cctcttctta taaggacacc agtctatta gattagggct ccaccctcat aacctcattt 63840
gaccttaact attatttctt taaagcacct atttccaaat atagtcactt taggggtag 63900
ggcttcaaaa gatgaatctg agggagctca attcagtaaa tagcagtagt cattaatgga 63960
caatgtatac aaagataatt tcgtgattac tgtccttatg cataaacgtc ctcagtgttc 64020
cactgcgttt atccagattt agtatcaca agactttgct ctgagaaaaa tgtgattttt 64080
tttttttttt ttttttgaga cagagtcttg ctctgtcacc caggatggag tgcagtgggtg 64140
caatctcggc tcaactgaaac ctccgcctcc caggttcacg ccattctcct gcctcaatct 64200
cccagtagc tgggactaca ggcgtccgcc aagatgcca gctaattttt tttttttttt 64260
ttttttttga gacggagtct cgctctgtta cccaggctgg agtgcagtgg cgcgatctcg 64320
gctcactgca agctccgcct cccgggttca cgccattctc ctgcctcagc ctccggagta 64380
gctgggacta caggcgcccc ccaactagcc cggttaactt ttttgattt ttagtagaga 64440
cggggttca ccatgttagc caggatggtc tcaatctcct gacctcgtga tccacctgcc 64500
tcagcctccc aaagtgctgg gattacaggc atgagccacc gcgccagca gatttttttt 64560
tttttttttg agatggagtc ttgctctggt gcccaacctg gagtgcagtg ttatgatttt 64620
ggctcactgc aacctctacc atgttcaagc gattctcca cctctgcctc ccgtgtagct 64680
gggatcacag gcacacgcca ccacacctag ctactttttg tatttttagt agaaatgggg 64740
tttcaccatg ttggccagga tgggtcccga ctcctgacct caagtgatcc tcctgcctcg 64800
gccttccaaa gtgctgggat tacaggtgtg agccactgtg cctggccaaa aatgtgattt 64860
cttatttccc acattgcca ttccatttca attaactata atagctatgt ctattgagca 64920
ctcaagcgta ttctagaaac tgttctgat tctggg 64956

<210> 42
<211> 65624
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<400> 42

acccttggcg tggacacatt tccagggagg gaccggagga cctcctacct cattggctac 60
tgccagtgac tgagcttgac tcaggtagga gggcatggca ggtattctca gggagtctgg 120
tgtttacaga aaagtcatga ttacacgtga aagctgtggg ctccctggct tgattcacca 180

5

10

cacctgcagg aagcctggct gctcagacca gcacgccgtg gacatagcac cacttgctca 240
gcttcatttc cgtaactcag gctgccaggc ctgctgacaa attttcacgt ttgtaataac 300
cctgtgagga gaccagagta catcttactt gactcataag gaaattgaga ctgggtgatt 360
tagtaacttg ggaggcagaa ttgcaaagtg attagcaaca caagccatgg tgtcagatgg 420
atctgggtta ggtcccacct ctgccgttta ttagctgtgt ggctttgggt actcacgcca 480
cctctctgag cagcagtttc ctcttttgta agcgtaatga tgcctacact cacaggcttg 540
agaggaagat ccgatgaaat agcatatgca aaatgattgg ttccgtgctt ggcattccag 600
aaatggtagc tgttattcag ccaacaaata tttattgagc acctactatg gacttccctg 660
gtgctgagga tacaacagca accacagcag tcaaaagtcc ctgtctttat gttgctcaga 720
ttctcatagg ggaaagcaga taatgaacaa atacacggcc agacgcagtg gctcacgcct 780
gtaatcccag tactttgcga ggccaagggtg ggcaagtcc ctgaggtcag gagttcgaga 840
ccagcctagc caacatggtg aaaccctgct actactaaaa atacaaaaat tagcgcagtg 900
tgggtggctca tgcctgtagt cccagctact tgggaggctg aggaaggaga atcgcttgaa 960
cctaaaaggc agaagttgca atgagccaag atcgtgccac tgcattccag cctgggtgac 1020
agagtactcc atctaaaaa aaaacctaaa tacacaagta aaaatataga cttcgtcaga 1080
tgctagtaag tgctgtgaag gaaactaaaa ggggaacaca aggaaccctt gtcaagggga 1140
gcagaaaggg gagttgatgc tgtcctttta aatagggcaa tcagaggcca ggcacagtgg 1200
ctcacactta taatcccagc actttgggag ttcgaggcag gtggatcact tgaggtcagg 1260
agttcaagac cagccaggcc aatgtggtga aaccctgtct ctactaaaac tacaaaaact 1320
agccagggtg ggtatcgcgt gcctataatc ccagctactc gggaggctga ggcgggagaa 1380
tcgcttgaac ctgggaggcg gaggttgtag tgagccgaga ttgtgccatt gcagtcacgc 1440
ctgggcaaca agagcaaac ttcatctaaa aaaaaaacac agcaaaaaag ggcagtcagg 1500
gaaaacttcc ctgagaaggg gatggtggag tacagatcca gggaggtgag gtggggagca 1560
agccagtaca gttgttcctt gactttcgat gaggttatgt cctgataaag ccatggtaag 1620
taggaaatat tgtaagtcaa aaatgcattt aatacaccta acctacggaa catcatagct 1680
tagtgtcacc taccttaaac atgcttagaa cgcttacatt agcctacggt tgggcaaaat 1740
catctaacac aaagcctatt ttatgataaa gtattgaata tctcatgtaa tgtactgagt 1800
actgtacgga aagtgaaaga cggagtgggtg ggtatgggaa tctaagcacg gcttccactg 1860
catgtgtggt gctttcgcgc catcataaag ttgaaaagcg ttaagtcaaa ccaccgtacg 1920
tcggaggcca tctgtatctg gtaggaggag tgtttcagac agagagaaca gcagggtcaa 1980
tagagtgctt ttttcccagc attttattat gaaaaatttc aaacatctac caaaaaagt 2040
tgaaagactt gtacggtgaa aagccataca tctcacagct agaatcaaca attaacattt 2100
tactgtattt ggtttttgac ttatctatcc tagatccctt gtgctttctg tagcagggtga 2160
cctgccttga agattttaaag acagaatatc gggaaatgta gtcagaaaaat ggggcctttt 2220
ataagagtca gaggggaaga gcaaaaactc tgctttcgag aaatctgtcg ggagaggcca 2280

ES 2 445 709 T3

actgcagggg tacctccctt ttttaatgaa agcatttctg ttctgcgagg agcgggatcc 2340
 tcttgtaag cagtcagtcc ctgctgcttc cttactgggg caggatcagg acgcacaggg 2400
 atttgagtg ccttggaacc aaccaccacc cacgctgttt gccagctggt aaacatgcct 2460
 gtcaggctca ggggttgga ttgcctggaa atcttttagtg ttcattcttg tgacatctgg 2520
 tgccctcggg taggtaggtg cagttggctg cctggtttac agagcttgta ctgggccag 2580
 gttagcaggg gtcacatccc tttatcccac tgtgcagggg agttccttct caggaaacce 2640
 agtttataag aagtactgac tgccagaaat agagcagaga tcagaaccag gaggcaattg 2700
 tgagaggaat ggagacttct gacctctggg gattggggta cctccccct taattgctgt 2760
 tggggtagca gagggcttag aagcccatgt tcctagactt ttagaattgg aagaagactt 2820
 agaagtaatc taggctgggg gtcccccaacc cccaggtgt ggccccgttag gaacctgacc 2880
 gcacagcatg aggggtaggc cagcgagcac taccgcctga gctccgcctc ctgtcagatc 2940
 agcagcggca ttagattctc acaggggcac aaaccctatt gggaaaccg catgagaggg 3000
 atctaggttg cgtgctcctt aggagaatct aactaatgcc tgatgatctg aggtggaaca 3060
 gtttcatccc cacaccatcc ctccaacctc accccggtcc atggaaaaat tgtcttctac 3120
 aaaaccgctc cctggtgcca aataggttgg ggaccctga tctaggctac agttaagtgg 3180
 tcaaacaccc aggtcctgaa gttaggctgc ctgggtttaa atcccagctc tactgcttac 3240
 tagccctgtg accttgagca agtcacttag ttttctgtg cctcagttta ctcatctgta 3300
 ataaaagctt aatagtacct atcccaggtg catgaaactaa gttcatatat gtaaagtgtc 3360
 tagaatggtg cctagcaagt acttagtaac agttagctct gaaaatgtat aaagcaaat 3420
 taaccaatgt tttagtgggt tgcagccaac tttttctat gcgtgtgcta acatattatt 3480
 ttataagagt gggaaatata tgtacatgct gttatataac ttgcttttc actaaacagt 3540
 ctatcctctg tgtcagtttt gataaaagcg tttcctctt gcttttcctg catatgttca 3600
 gaaccatcat attggtagca agtttcatgt cctgcagttt tcttaaccaa ccccctgcta 3660
 gcggacattt aggttagtct cagtttttc cttctgtaa taaagctgca ctgagcaaga 3720
 agtgaccgat gccaaagtac tagatgacct taggtatgac ctctctgggt cttggtttct 3780
 tggcttaaaa acaaaatgac aggattcgac tgggtgatta aaatctctc tgatctacat 3840
 aggaattggt ttcaagacat ttctgcattc ctctagtac aggggtgctca ctacctcatg 3900
 agtatttcag tggacaactg taatggtaaa taaagtatcc actttccacc ttccacttcc 3960
 ctgtagctcc tggccctggc ttattctct ggggtccac acattcagtt tacactcagt 4020
 ggccagtggc tggggccatt gtagaaaatg aggaaactcc aattcctcc ttcttttctt 4080
 ccttttcat ccttctctc ctccctacat cctctctct cttcttctc tcttgacac 4140
 ttaccatgta ccagacctc tgccaggcac atggatggga gcacagtcc gggaaagtgg 4200
 ctgcaggggt agaactaagt cccaagcccc gtaaagctca tgccagggga ctggactgtc 4260
 cagtactgag ggatggggat gctgaggctg gtggccttcc tcagatgcac tgtagtggcc 4320

caggcagagt cctgggctgc cctgtgagga ggtgaccaga ggtagagcaa cttcaccceta 4380
 aggctggatc aggatcccct ccagggttttt actagagcca aaccacacatc tcctttctct 4440
 tctgccaccc ccccttaaaa tgcttagaaa cacatagatt taaatacaag ttcaaatgta 4500
 agtaatttca actgtgtaac tatgaggagt caattctacg tgggtcctat ctgtatcctc 4560
 cccagggctc agctccattc tttgctttca ttcattctca ttcaatacat tgttgtaag 4620
 agctcactgg gtgccctctc tgtcatgtag taaggtttta aaaagaaagc ctcttctgag 4680
 cttcagtttc cttatttata aaataggagt attgatccgt tccttgcttt tcttacaagg 4740
 atatgctgaa gatgactgaa gtacagagta aagaaggatt atgtttgggt gtcaaaggaa 4800
 tagaatgccc tctttcaaac tgagcacagc aggaacctgt aacaggaaca cagcaacttg 4860
 ttgaatgaat gacaatattg gaaaacatac atttctccc ctccccatca tagtccctct 4920
 gcttccgtgt taactcata gacaggccag cacagccagc cttgcagcct gagataaggc 4980
 ctttggcggg tgtctccctc atcgtccct caagccctca agtaggtgtt ggagagaggg 5040
 gtgatgcctg gtgctggtgg aaccctgca cagagacgga cacaggatga gctctaagta 5100
 cccgcggctc gtccggcgct gcctgcccct ctgggcccta aactggaag cagctctcat 5160
 tctcctcttc tattttttta cccactatga cgcttctta gaggatcaaa aggggctcgt 5220
 ggcacacctat caaggtgaga gttcattgga acagtgttca caggagcaaa tagcaggggc 5280
 aggggcgggg gaggcctatg gttctccagg ggcacagatg ttcctttcta caaatcccc 5340
 aggaaaagat tccccatct tcttccgtag attgcaccga aattcagtea acaatgtaag 5400
 ctttctttta gaagcagcct gggcatgccc tcttctgtga agcctgcctt gatttttcag 5460
 cacagtgaga ggcacacctt ttggtgttcc tcaaattccc tctaccaaag ggtcttata 5520
 attctctgct tctctgcttc ccttctctc tccttagtgg caaggathtt ttttattttt 5580
 atagatttag gggatacaag tgcagctagc ttatgcaagc aatttcagtg tgttggtttt 5640
 tcgggttttg tttccttttt gtggcctctc gctcatttct tatttctttt tgagacaggg 5700
 tctcactctg ttgccaggc tgaagtgcag tggcatgatc atggttcact gcagccttga 5760
 cctcctagtc tcaagcaatc tteccacctc agcctcccaa gaagctggga ccacaggagg 5820
 gcaccacatc gcctggctaa atttttttt ttttttgta gagatgtggg tctcctctgtg 5880
 tttcccagac tggctcaaaa ctcttgaca caagcgatcc tccagcctca gtctccaaa 5940
 gtgctggaat tacaggcgtg aagcactgtg cccagctctc ttgctatat ctatactagt 6000
 tttcttttgg aagcttcagc ctgttgctac cccccacccc caccaccacc gaccccagct 6060
 tcttctcac ttaggggctg ggaagtctgc atgctgtcta taaatccaga accagaaggt 6120
 atggctgaag gggagggtag gatgatggtt attttatatt cagctaaaaa tattcccaga 6180
 ctgtgatgag acaactgtaa ataagacaga tgtccacaat ggtgtgactt tgctttttta 6240
 aaaatattga aatgagtttc aggcattca gtgggctgat aggttggtga taatggacag 6300
 ggcctccttg aagaatgtcc ctgagacaaa gttgaagctt gagcctggtt gagtgcttgc 6360
 ttgttcctag gttgatatga acggctagtt aactggaagc aaagagaagt catcctgggg 6420

gccatggcag tgacaagtag gacttaggga ggaagccct tataaccattt aagggtgctgg 6480
cccagagagg agccttcagt gacagacaaa caagagctgg cacaatttta attcatttca 6540
atttacttta attcatttca atccaataca attcaatgca ttccattcat tcaaccatgt 6600
atgacatcca atgtgggatc cagacacatg atgattagaa ctgatattta tgagcactta 6660
ctatgtacca ggcactattc tacatgcttt acattgaacc ctcacaataa cccaatgagg 6720
tgggtactat tatgatcttc gtttttcata tgaggaaact aggcataatgg atgttgagta 6780
atthgccccaa ggtcgtcag ctagcaatag cacagcgtat ttaaatttag ccacctgga 6840
tttagtttcc ttacacttaa ccattatgca tcatggcccc attttacagt ggcgttgagt 6900
catttgtcat ataaccaggt aggtgtagca gccactattc caacctgta gattgactct 6960
aggtccatg ttctttacc ctgcaccgtg ctactaacgt aggtacaaaa tgcctcaga 7020
aactcacttt atatggaagc tcagaggagg gtccacaacc caggcagggg agacgatgg 7080
gtcaggggag gcttctggag ggaggtgcct gccagccag ctcttgaagg ctcagtagga 7140
attacctgtg ggacaaaggc ggtcatcca agtgagggca cagtgggtgc cattgcgtgt 7200
gcacacacta gagcagactg agcttgggct taacattgca ttgccctgta gcctaaaaag 7260
agaagcaagg ggctgggcga ggtagctgac acctgtaatc ccagcacttt gggaggccaa 7320
ggctggagaa tcacctgagg ttaggagttc aagaccagcc tggccaacat ggcaaaacc 7380
catctctact aaaattataa aaactagccg ggtgtggtgg cacacgtctg taatcccagc 7440
tacttgggag gccattacac tccagcctgg gcgacagagc aagacttcat ctcaaaaaac 7500
caaacaaaa caacaacaac aacaaaaaac aaagaggaga gcagggactg ggtgtggtgg 7560
ctcatgcctg taatcccaa cactttggga ggccaaggcg ggcagatcac ctgaggtcag 7620
gagttcgaga ccagcctggc ccatatggtg aaacctgtc tctactaaaa atacaaaaat 7680
tagccgatg tgggtggcacg tgctgtagt cccagctgct tgggaagctg agggaggaga 7740
attgctttaa cccaggagg agaggtagct gagctgagaa tacgccactg cactccagcc 7800
tgggtgacag agtgggactc tgtctgaaaa aaataatagt aataataaa aataaacagg 7860
gaagcagtgg gtggtagact cactgggctg catacggagt ttggcttcag tctgaggtcc 7920
gaatagtaa caggagcgcg acaagtttg gtttgggtca tggcggatgc catgccaggg 7980
ctggtgttg gcacagggga aggggcatgg cttgagacac aagaccagcg tggaggctgt 8040
agtgtagtat tgacccgagg gcttcaacct tctgatggtg tacacacat tttttgagca 8100
tgtaccatgg ttatatgtta cactttaagt attactacat taatatattt tgtatgttat 8160
aataaataca tacaatttag gaaaattgaa agagatcaga atgaaatata taatattttc 8220
aaattactaa tcataatggt gtcaatctcc aggcagggtc cattgctaca gttgacgata 8280
gtggatgaaa attcactcct cagagtcttc ttgataattt gaaattgtct tgattgactt 8340
gtcagatctg attagatcga cattttttaa atctcgaatg tgactgacag cttgtacaag 8400
gagaagtttc actctgcctt tcctttttgt tcacttgact gccattattt ctctgcttcc 8460

aatctgtgtt	tttctgcacg	agttgggtaa	gccattactt	cattttgtga	aagtttggtg	8520
agttaaactt	aggtaactta	atctgtcaat	ccacttaatt	gaattcagtc	ctggtaaact	8580
ataatagatt	attcaaacct	gccattcta	aaaagacatt	ttgagacaat	caggaaatct	8640
gaatatagca	tgaatatctt	acgatataca	aggattattg	ttaattttgt	taggtatgat	8700
aaaagcatgg	tgggtttttt	ttttgttttt	gttttttaag	gctctatctg	ttagagaggc	8760
acattgaaat	ggcatgatat	ctggggtttg	ctttcatacc	agaaaaaaga	aaaagtagag	8820
aaggattata	gaaacaagat	tggtctcatg	tgacaatcat	cagagtttgg	agatgggcac	8880
gtagggtcac	cgtgctgttc	tctctgtttt	catatatgct	ttgaaagttc	tgtaatagtt	8940
aattaaanaa	aaaaaaaaa	ccctggctga	gcacttaggg	aggccaagtg	gggaggattg	9000
cttaaaccaa	gaagttcaag	accagcctag	gaaacatagg	gagaccccc	cccgccatct	9060
ctaaaaaaaa	aaaaaaaaa	ctgtaaaatt	taaccagtg	tggtggcaca	tgctgtagt	9120
cccagctact	cagtaggctg	aggtgagagg	cttgcttgag	cctgggagct	tgaggctgca	9180
gtgggacggg	attgtaccac	ttcactccag	catgggcgac	agagcaagac	cctgtctcaa	9240
aaaaaatga	aaatatttga	ggtgaagcga	gactgtaata	acaaatttaa	aaatataaat	9300
aaaacataaa	ggctgggtgc	ggtggctcac	gcctgtaate	ccagcacttt	gggaggccaa	9360
ggcaggcaga	tcacgaggtc	tggagatgga	gaccatcctg	gctaacatga	tgaaacccca	9420
tctctactaa	aaatacaaaa	aattagctgg	gtatgggtggc	gggtgcctgt	agtcccagct	9480
acttgggagg	ctgaggcagg	agaatggcgt	gaaccagga	ggcggagctt	tcagtgagct	9540
gagattacac	cactgcactc	cagcctgggc	aacagggcga	gactccatct	caaaaaaaaa	9600
atgaaaataa	aaataaataa	aacataaac	cctgccatta	gttgcaacat	gaagaatata	9660
gagaaatgcg	tatcaaatcc	ttctcattgg	accaatattc	ccttagggca	ccttccaaag	9720
ctaggagact	caaggctgta	tgacatcctg	agcaagtgag	gggtggcttc	tgggtgaatc	9780
tgaatattaa	atatttgcag	aattgaaaac	ttcaciaaagt	acctttagag	atagaatagc	9840
ctagatccat	gtttctcaaa	gtgtgggtccc	cagacctgct	gcctcagcat	ctcctgghaa	9900
tttagtagaa	atgcagattc	tcaggcccta	ggccagacct	actgatcaga	agctctgggc	9960
ctggggccca	gcaatctgtg	ttttcacaag	ccctctgggt	gattcttctg	tgctgaaag	10020
ttcgagaatt	cctggagcta	gactgattca	aatcttgctt	ctgtatctta	gagaccttgg	10080
gcagattagt	caacctcttt	ctgcctctgt	ttctacttct	gtcagaggat	gatagtactt	10140
gtttcattaa	gttgttgaag	ggataaatga	attgacacac	ataaagagta	ttagctttta	10200
ttatcaaaaag	cttttttttt	ttgagacaga	gttttgctct	tattgccag	gggagtgcag	10260
tggtgcgac	ttggctcacc	gcaacctccg	cctcccagggt	tcaagtaatt	ctcctgcctc	10320
agcctcccga	gtagctggga	ttacaggcat	gcgccaccac	gccccgctaa	ttttgtattt	10380
ttagtagaga	cggggtttct	ccatgttgggt	caggctggtc	tcgaactccc	aacctcaggt	10440
gatccacccg	cctcggcctc	ccaaagtgct	gggattacag	gcgtgagcca	ccatgcctgg	10500
cccaaaagct	ttaatttctt	aattttttta	ataaaataaa	taaaactaga	attgcttggt	10560

ttcttccagc taccctggtg attgtattga gcattttctg ggggtgtgtg tctttgctgt 10620
 aatgactact ggtctggatg acctgtgatg agaccagatg ggcaggggca gtggaggaga 10680
 ttctagagat atttaggaga taaagtcagc tgtacttgat gaaaagagtg gggagttaag 10740
 actggctgca gatgtatgat ttggcataga gaggtgccag ttctgaggt gagagacaga 10800
 aggggagggg caggtttgtg ggatgaaatg acaatgatat gttcattctg ggcttggagt 10860
 taaggggcct atgatatgct taggggaagc agagagtatc aattacctat tgctgcataa 10920
 cagccacccc aaacttagtg gcttaaaata gcaacctttt aatttactca tgatcatgat 10980
 tctgtggtgc aacaactggg ctgggttcag ctgggcagtt cttctgttag tttcacccag 11040
 ggtcattcat gcactctgag tttgggtggt gatggcctca gatgacctca ttcacatggt 11100
 tggcaattgg tgattcactg ggggccatta ctgtaacaat cgcctaccag gcagagcttc 11160
 cctaaggcta ccaaactggg agactatcct gggtcctgtg ctgtggatac cactcagtc 11220
 cccatcccca cccatactc ctcaaaggca gagagagggg ctactagaag acagaggagt 11280
 tttcccagtg acatgtaaac actccaaacc ctggcacctt ccacactgca gctttggtct 11340
 gccctttgg gaaatctctg ttttcttcc caggctgctg gaggggtgag agtcgccggt 11400
 agagtagagg ctgtgggca ggaggtggcg gcctcctgag gctgcagtgg tctttccagg 11460
 cagcagtggg agcacagggt ggaggtcaac cctagagcct gggggagtga agctggttct 11520
 gccttcagag ctcttgggtg tgaagtttct gcaggccaga gggaggggca agagtgggag 11580
 ggggtgcaga tccagaatca cagaggcagc tgaccggagg aggcagctgc ccaaggggat 11640
 ggactcagaa ggccaaagtg ctgttatcca aacgaactct ttgcaagtgg tctctttgca 11700
 acaggcctgg gggagagcag tcttgccaa agtcacaccg ctaatcagcg gccggcacgg 11760
 ggtaacagtt actaacactc actacgtacc caatgctggg caaagtgact tgcatgagcc 11820
 agcgagctca atgctcatgg caatcctctg agcagctggc attgtttcat ctcaatttta 11880
 cagctcagga agctgggaca cagaggaaga gccaggctct gaacactgac aacctgattg 11940
 agagaccac actgttcac accgttacgc tatatatgct gtatagaaag gcaggatggc 12000
 ataatggtta aacctaggta ggtagggttt gaatcctcct gctaccattt actagctctg 12060
 tgacttggac tagttatagc acctctctgt gcctcccttt cccctctctt aaaatgggga 12120
 taataaatcg tacctcctac ctgaggctgt tgtgggctaa gtctgtaagg cacgtagaac 12180
 agtgccctgga acgtggggta ctgtctatct gtgtgcctgc tgttacaaca atggtgagta 12240
 ttgccttatc tctcgctgct gaactaccag gttagacttc tttctgcaag tcatgaggct 12300
 ttcataaact tttcctgaag gctttccgta gaatgtacaa tttccctctg ggcccaggca 12360
 tgggcgcccc ggtaggacat ccacttctta tcaccctga acaccttaga gcccatcagc 12420
 ttatcaaac agcagctgat gtgagtgcag agcagactgt gagaggtgga ggctgatacc 12480
 agtgaggatg ctccaagctg ggaccagcc ctgaagcggg agcccagata atggacgggt 12540
 ggaaatgggc ctggagccca agagaggtgg gaggatgagg gggcaggggg aggagaagcc 12600

tgaaatcaaa tgttatttcc tgaccagttt ggggtgcatg agctctgtca acagctcatg 12660
 gaaactgctg ccctaatttc atcttgttgg ctgaggcaca attcctctct cagggacagt 12720
 gtagagcctt ggggaggaag gccctgagcg catatacctg gaatcagggga atcgggatca 12780
 ggggcagcag ctgtgcccga taaagcccc acccaggatc ctctgacttc ctcatctctc 12840
 ttttttttgg agccggagtc tcaactctgtc atccaggctg gactacagtg gtgcatctc 12900
 ggctcactgc aacctcagcc ttctgggttc aagcgattct cctgcctcag cctcctgagt 12960
 agctgggatt acaggcatgc gccaccatgc caggctaatt ttgtattttt agtagagacg 13020
 ggatttcacc atgttgcca ggctggcttc aaactcctga cttcaagtga tctgcccacc 13080
 tcagcctccc aaagtgctag gattacaggc ataagccact gtgcccggcc tttttttttt 13140
 tttttttttt tttttttaa aaaagggctc ccctctgtcg cctaggctgc tggagtatag 13200
 tgatgtgatc gtggctcact gcagccttaa ctttctaggc acaagccatc ctcccacctc 13260
 accctcctga gtagctggga ctacaggcac ttgccaccac gcccaagtaa ttttgtattt 13320
 tttgtagaga caaggtcttg ctatgttgcc taggctggtc ttgaactcct cagctcaagc 13380
 aatcctcctt ccttggcctc ccaaagtgct gggattacag gtgtgagcca ccacacctgg 13440
 tctgacttcc taacttttag ggccccaaact ctgcccttat ccaggcaact ctctctccc 13500
 catcttccac taacttctt ggaatattcc agagctgtaa aagccttaga gagtatcaag 13560
 tccaactcct atgtgttaca gacagggaaa ctgaggccta aagagggtaa tggacttgcc 13620
 taagatcgct tagtgaggtg agagaagaaa gagctagaga cagcctagcc tgtgcaagga 13680
 catagttcca ggcattcaga gctgcgctct gctgcccggca tgtttggggc ctggtagtta 13740
 gttcactgct gaactaccag gttagatttt ctttctccaa gttgtggggc tttcataaac 13800
 ttttctgaa ggtcttctt acaatgtaca attctcctct gggcccggtc atgagcggcc 13860
 ctacagget ctctctggtc cccttctgta aatgagagg aaaatggaag aattgctcta 13920
 ctcatggaat cttcaataag tctggaccct atgcatatag cattgctaca aaatggcaga 13980
 tgcactttaa caatcgtgtt taataaaagg ttggatttgc atatctgaag tggggcatgc 14040
 agtctccaac tgaacacaag cctcactgct cccacatgtg cactgcacct tcatatacat 14100
 atttctgct tggctcctga ggaatttga gtaatccca gaggaacccc tgtagaaaat 14160
 gtcccctggt cacacacccc cattcctaag gatgcaagca ggagatagaa acattccctg 14220
 cacctcctc cttgctgtca gaagaagtgc aaagagttga atccttcta atgcccactt 14280
 ctaccccag ccccaatcc ccaggctccg tggaggtcct tgggggtctc ctatatcctg 14340
 gtggtgtcag gttgatttgg aaatgtcagt gtctccctt gtctctctg gcagaccctg 14400
 ggtgtgtgta cgtttcaatg gaagtgaatt taaatgtact ttataaatca aagactttt 14460
 ctgagacttt ggagagtcc agtaatgaga gcttctcatt gttatcaaag ccagggttg 14520
 agaccagtgg cagggtgagt cctattgctg tgattgtcat gatgatgtt atgaacagcc 14580
 actatttatt gagtgttctc catgtgctag gcactgtact aaacattatt tccttcggat 14640
 gtcccagaaa cctctcaggt ggctctaatt acccttattc tgttgataag gaaagtaagc 14700

aacttagaag accacagggc tatgaagttg aaacacgtaa attgatattt tattttattt 14760
atattttat ttattttatt tgagacagag tctcactgtg tcgcccaggc tggagtgcag 14820
tggtgcggtc tcagctcact gcaacctccg cctcctgggt tcaagcgatt ctcctgcctc 14880
agcctcccga gtagctggga ttacaggtgc ccgccaccac atccagctaa tttttttgta 14940
attttagtag agacggggtt tcaccatggt gcccaggcta gtctcgaact gctgacctca 15000
tgatctgccc acctatcct cctaaattgg tatttttata tgtccaaaag agtcaactgg 15060
tggcaattta gtgaggttta atctaattag aaatgataga gctgggatcg aacagagcta 15120
tgtgaactca aaacctatgc ttccccttcc accttttcga aaaacattgt ctaggctggg 15180
cacggtggct catgcctgta atcccagcac tttgggagac ggaggtgggt ggattacatg 15240
aggtcaggag ttcgagacca gcttgccaa aaattagcca ggcgtggtgg tgcgcgcctg 15300
tggttcccac tgaagcacag gaggctgaag cacaagaatc acttgaacct gggaggcaga 15360
ggttcagca aaccgagatc gcaccactgc actccaacct gggtaacaga gagactctgt 15420
ctcgaaaaaa aaaaaattgt ctacatgctg gttgcagaaa atttaaaccac taaaactaaa 15480
aaagtaaac atctcccaa gttagagaca atattcatga tgggaaaaaa aaaattcttc 15540
aagatttctc tctctccagt catttattca tgtgcgaaaa cagttggtga ttattgataa 15600
gaagagggag ggcagatggt gtggtagtcc aaggcacagg ctccagcaga ttatctaggt 15660
ttaaatcttg gctgtaggcc aggccctgtg gctcatgtct gtaatcccat cactttggga 15720
aaccgagtg ggcagatcac ttgaggtcag gagttgaga ccagcttggc caacatagtg 15780
aaacccttc tctattaaa atacaaaaat tagccgggca cgggtggtgg cacctgtaat 15840
cccagctact tgggaggctg atgcaggaga atcacttgaa cccaggaggc agaggttgca 15900
gtgagccaag atctcgccac tgtactccag cctgggtgac aagagtgaaa ctctatctca 15960
aaattaaaaa aaaaaaatct tagctctacc caccggggca agttacataa cgctctgtg 16020
ccttggtttt catatctgta aaatggtgac agtaacagca cccatgtcaa agtggtgtg 16080
tgagaacgaa acaagatagt ctatgtaaag tgattaaac agcgtaggca catggtaaac 16140
gcttaggaaa tgtaggctgt tataaagctc agagatgta agtaactaga tcaagaccac 16200
acagttagag agtgccacag tcttgatttg aacccaaatt tgtctcgttc tggagctcaa 16260
gctgctaacc ctttttcaa actggaatta aaccaaagt ctcacctcc gctttgctgg 16320
gccctccct gccctcaggt gcatctcttc cactcacctg ccacagcagc ctctgctcag 16380
ggtctgagac tgggaaaggt gagggctacc caggtggccc tgatgttttc tgccagccag 16440
ctcaccaggt ccctcgcagc aggcggcaaa gggagggagg tttgctgtga agattatgtg 16500
gttcccaaca acaagagcac tggcctatc tctgccctct cttttctgtg tgcctggga 16560
caagtcaact ggcttctgtg gctttatttt ctcatgtgcc cagccagggg gttggccctc 16620
atatgcaata acagcagcaa tgacctttac tgagtgtcca tgtgcatcaa gcacgtgtac 16680
tttaccttg ttcttattat taggtttaat aatagaataa ttgccacatt tactgagcac 16740

tcattatggg ccaggccctg ccctaagtgc ttaattagct ttagctcctc taatccttac 16800
 cttatcccca cacggcatgt tatgttatcc ccattattca gttgagaaca ttgaggctca 16860
 aagaggcaaa gtaacttgac caaatacttg taaacgatct tgcattgcccc ttccagctgc 16920
 catttagtaa gactctaatt tcataccacc ctaaactctg tctgcttccc cctcctcctt 16980
 ctcaccatct ccccaccgag cagtcggcca agatctgacc gtgatggcgg cccttggcctt 17040
 gggcttcctc acctcaaatt tccggagaca cagctggagc agtgtggcct tcaacctctt 17100
 catgctggcg cttgggtgtc agtgggcaat cctgctggac ggcttcctga gccagttccc 17160
 tcttgggaag gtggatca cactgttcag gtattgggat ggtggctgga tcacttctgg 17220
 gtcatagagg gaatggacc cgaaaggaca ggctccagaa gatctgggat attgccccct 17280
 ctctgtctag caccagtgtc gtgcaatatt taggacatcc ttatgctaaa agattattca 17340
 ttgtttaaa ttcaaattta actgggcatc ctgtatttta ctggacagcc ctactctgtg 17400
 tatcacaagg aatccaggcc tacattcctc ctgcatcctt tctttcctgt tattgtcgat 17460
 tatgattttg taaagttaca taatcagtat aagtttatgg aaaacgtaag aaggaaacac 17520
 gttagacaga gagaaataga catgccacac ctagagagac attctatttt tttttttct 17580
 tttttgagac ggagtttcgc ttttgttgc caggctggag tgcaatggcg ctatctcggc 17640
 acaccacaac ctcagccttc tgggttcaag cgattctcct gcctcagcct cctgagtagc 17700
 tgggattata ggcattgtcc accacacctg gctgattttg ttttttagt agagataggg 17760
 tttctctgtg ttggtcaggc tagtctcaaa ctctgacct caggtgaccg gcctgcctcg 17820
 gcctcccaaa gtgctgggat tacaggcatg agccaccgcg tccagcctga gagacattct 17880
 cttgaaaaga aaggactttc agccccctaa agctactaga caagaaatag ccatgccttt 17940
 attttcatta aattacctgt gctttgttta gatgcctttg tgtgaaatgc taagaacct 18000
 cacaactaat gtatgggtcc agaagtcaga atagtggtta cctgggcagg aggtggatat 18060
 tgattaggaa ggaacacaaa atagcccat ggggtgcaga aaatgttctc tgtgttcacc 18120
 tgggtgatga ttacacatca agctatacac attttaaaag ggcattggca cttaatagaa 18180
 ggaactaggc taaatTTTTT cctgaaacat tgtttgttt tgttcaaacc tctgaatctc 18240
 tcagctcccc agatgatggt aaacgtcatc ctaggcatct tagggacctc tcaaggcctc 18300
 tcaaggccat tccagcctcc ccttctaaga cctgctaaa cctctgggca ctgctgttaa 18360
 acatttctct atgagccagg aactgtgctg agcactccac aaatattatt ttgttact 18420
 cttccaggta gggatctaac ctggtataca ggtaaggaag tggaagctca gagagggcaa 18480
 ggcacttgcc tagggccaca cagctaagtg gtggagatgg ctctaacttt tttttataac 18540
 cttttccaca tgctccagag tggtcagaac atgaaacaca gtctagccag ctctgactg 18600
 gccctagagg aaaaaactg tatgtatTTT tcttttttaa aaggtttaga ggctgggcat 18660
 ggtggttcac gcctgtaatc ccagtacttt tgggagctga ggtgggcaga tcacttgagc 18720
 ccaggagttt gagaccagcc tgagcaacgc agtgagacc tgtctctgca gaaaatagaa 18780
 aaatcagcta ggcgtggtgg tgtgcaccca cagtcccagc tacttgggag gctgaggcag 18840

ES 2 445 709 T3

gaggatcacc tgaaccagtg gaggctgagg ctgagtgagc catgatcgtg ccactttact 18900
ccagcctgga caacagagtg agaccctgtc tcaaaaaaca gttttagggg ccgggcgcgg 18960
tggctcatgc ctgtaatccc agcactttgg gagggtggggg tgggcagatc atgaggtcag 19020
gagatggaga ccatcctggc taactcggag aaaccctgtc tcgactaaac atacaaaaaa 19080
ttagctgggc gtggtggcgg gcgcctgtag tcccagccac tcgggaggct gaggcaggag 19140
aatggcgtga accttgagg cggagtttgc agtgagccga gatcgtgcc a ctgactcta 19200
gcctgggcga cagagcgaga ctctgtctca aaaaaaaaaa aaccaaaaac aacagtttta 19260
ggccaggcgc ggtggttcat gcctgtaate ctagtacttt aggaggccta gacagatgga 19320
ttacctgagg tcaggagtgc gagaccgacc tgagcaacat ggtgaaatcc tgtctctact 19380
aaaaacacaa aaattagctg ggcattgtgg caggcacctg taatcccagc tacttgggag 19440
gctgaggcag gcgaatcact tgaaccggg aggcgaggc tatagtgage cgagatcgcg 19500
ccattgcact gtagcctggg cgacagagtg aggtccgtc tcaaaaacaa aacaaaacaa 19560
aaaccatctt agagttaatt cccaccggga ttcaatacac acacacacac acacacacac 19620
acgcacgcac gcacgcacgc ccgcatacac aactgcate cacctggaaa gtgacaaagg 19680
gcaccctggg gggattcaa atggtggtgg ccctggtttg gtgttctgc cttagcttaa 19740
ggtcacacca gccttcagcc tctgccccca cagtctaggg ctgctccctt catctgatgt 19800
ccacagggac ctgttcattc ttgactcaat ccaggaagat gagaaggag agaagtcact 19860
cgcagcctga gtgaactccc ttgctccacc cctgactgct tggatcccc taggggtgac 19920
ccctgctgaa actggctcct tctgaccgg tcccgtcag ggctgtgctg atgggtggtg 19980
cccaggcctg cccctgggga cggggctact tcccttgga aactccagc ttgtgccact 20040
tgacttggga ctgatttggg tctgttttga gtcccttcag gggaggggccc tatcttattc 20100
aacgttgttg tttgttttcc tcacatactg ataacttagc aaatggctat tggaaacaaa 20160
atgaaaataa atggaaccct gaagtgggat gttttaaat tttatttatt attttttag 20220
agacagggtc ttgctctggt gccagctctg gactgcagtg gtacaatcat agctcactgc 20280
agcctctgcc tcttgggctc aagtatcct cccacctcag cctcctgagt taaatttttt 20340
tacagacgcc tgctaccatg cccggctaat ttttgtgttt ttagtagaga cggggtttca 20400
ccaggtgggt caggttggtc tcgaactcct gacctcaagt gatccaccg cctaggcctc 20460
ccaaagtact gggattacag gcgtgagcca ctgtgcccgg cctaaaactg tgtttgagac 20520
agggctctac tctgttgc aggttgaggt gaagtggcat gttcatggct cactcagcct 20580
cagcctcact gggttcaggt gatcctcctg cctcagcctc ctaagtagct gggactatgg 20640
gtgcacacca ccacgcctag ctgatttttc tgtcttctgc agagacagga cctcactgtg 20700
ttgctcaggc tggctcaaaa ctctgggct caagtgatct gccacctcg gctccgaaaa 20760
gtactggaat tacagcctcc tgagtagctg agaccacagg cacacaccac cacgcctagc 20820
tttttttttt ttttttttgc tttttgtaga gatggagtct cactatgttg cccaggctgg 20880

tctcaaactc caggccttaa gcaatcctcc cacctcagcc tcccaaagtg ctaagattac 20940
aggtgtgagc caccattcct ggcccttaaaa gtgtgatatt tttaatgtat tttgaaatct 21000
gcaggactct ccctagaaga taatagcaat aaccaactcc tttattgtgc ttgacgtata 21060
tcaactcact ttgcccttac cgtggctcca gaggcattgg gtccacctta taaatggagg 21120
caccaaggca cagagtgatt aaataagttg cccaggatca cacagccaga aagtgtctga 21180
gtcaagattc cagcccaggc agcctagacc tgagagcacg ctcctaacca ctgcacatca 21240
ctgtcttagc acctcctcag cacaaactgg cccttgagga atgaaatacc gccgccggca 21300
cacacgctcc tgagttaagc ctttgtcaat gaaatgaaca cccacttaa aggaataacc 21360
tgtccaggca cgatggaaca ttgaataacc ccttattcta aattcctggc cctgtaaga 21420
ctccttcccc atgcccttgc cttttatga ccttccccta aagtccttga ggcttaagcg 21480
ggcatagtct gcagcaaca ctggggaagc tgagtccaga cttcagagca caggctttgg 21540
atctaggcca gctggatttg aacctcacat ttgtgatcag ctggcatgac tgtttccaaa 21600
aagtcattt taatcctcta cgtgaccctc tgtaaaatgg ggatactgaa cggtgagcta 21660
gcacgatttt acagagagtg aattttttt tttttttt tttgtgagac agagtcttac 21720
tctgtcgccc aggctggagt gcagtgggtc aatctcggct gactgcaacc tctgctccc 21780
gggttcaagc gactgccatg ctcagcctc gagagtggct gggattacaa gcatgacca 21840
ccatgcccgg gtaattttt tatttttagt tgagacagag tttcaccatg ttggccaggc 21900
cactcttgaa cccctggcct caagtgatcc acctgccttg gcctcccaa gtgctgggag 21960
tacaggcatg agccactgcg cccagcctta taggggttaa atttaaaaga ggtgatgctg 22020
ttacaagcct gttttacaaa atgctcttat aataaatcat tatcatcact gttgctgtgg 22080
ttgtagcatc atcatcatta actcccagag ggaggagggg gtctcagagc aagctgctca 22140
ggggagactg gatgtccatg gattgtccag ctcagtacca cttcctccag gaagtcctcc 22200
ctgataagtc cagtcagcat caccctctcc ttccaatgaa cccactagc cttgtgatat 22260
cacagatatt cttagttgac aggctcatgg tgtatgtagc ctgtctagat cataagtaca 22320
ttttttttt ttttgatca taagaacct caagaccaa ataattttct cctcctgagc 22380
atgctcattg gtcaagggaa ggaaggaatc gtaatagtgt taataaggct agtgtctttt 22440
caggagtgg ttctttgtgc cagtcttggc gctagacaca ccgataggaa gaatactct 22500
tcacatcccc aggacaccaa catgggatac gtttgatcat cattcttaat ttgcagaagg 22560
agaaataggc tcagtgagat gaaatagcca ctccagtggc aaggctggga ctggaagccg 22620
ggcttgcct gattccaaat ccagtttctt tccactgcca cggagagggg gagaagggac 22680
agtgggccca gatgaggatg gggtgactgg atgtgggcag gcctgcgggg gaagagtgcc 22740
ctctgttgag catccgaatg atggcagcag aaaagaagac tgggcagaat cccagttatc 22800
agatcccctg agggaacagt caccctgatc accctcagtc agatgagtgt gtgtgatca 22860
atgcctcata gatgaaggca ctgaggcaca gagtggttaa gtcatctgcc agaccacatg 22920
gctcagggtg cagaggccac cttaacggga gaagagatgg tcaactccact ctgcagcatc 22980

agcgcccagg tgggtagaaa tcttgtcttc tatttcaca gaaagtaagg tgcccaacag 23040
 tgtttgttga atgaatgaat gaatgaatga atgagtgaga ggcacccctc cttctcagtc 23100
 atcctggctc tccttctcac ccccagtatt cggctggcca ccatgagtgc tatgtcggtg 23160
 ctgatctcag cgggtgctgt cttggggaag gtcaacttgg cgcagttggt ggtgatggtg 23220
 ctggtggagg tgacagcttt aggcaccctg aggatggtca tcagtaatat cttcaacgtg 23280
 agtcatggtg ctgggaggag ggacctggga gaaaagggcc aaaagctcca tttggtgggg 23340
 cttccggggt tttgaaaaat aaagacaacc tgtaatccca gctacttggg aggttgagga 23400
 gggagatca cttgaggcca ggagtttgag acccgctgg gcatcatagc aagatcctca 23460
 tctctaaaaa gtaatttttt ctaaattatc cagttgtggt ggcattgcacc tgtagtgtca 23520
 gttactcagg aggctgaggt gtgagttgga aggattgctt gagcccagga gttagagatg 23580
 aacctgggca atatagcaag acctcatctc taaataaata ggtaggtgga tagatagata 23640
 gatagataga tagatagata gatagacaga cagacagaca gacagacaga cagacaggct 23700
 ggttacagtg gctcacacct gtaatcccag cactttggga ggccaaggag ggcagatcac 23760
 ctgaggtcag gagttcaaga ccagcctggt caacatgggg gaacctcatc tctactaaaa 23820
 atacaaaatt tagctgcgca tgggtggcagg tgcttgaat cccagctact caggaggctg 23880
 aggcaagaga atcgcttgaa cccggagggt ggaggttgca gtgaactgag atcgcccat 23940
 tgcactgcag cctgggggac aagagcaaga cttcatctcc aataaaaaaa aaagaaaaaa 24000
 gaaaagaaaa gattgataga tagatagata cccaatgag gttacaaaag tgtggtctgt 24060
 gcaaatgttt aaacacaaca aaccagtgcc tttaactact acagtataat cctgtaggat 24120
 tgtgctattc atgatgtaat tatggttgta taaaagtaat taattctcag agcctcacca 24180
 gcagtgggtc cagcaagttt gtacagccag catcttcttt cagtcagtgc gtgtcagtaa 24240
 ctgcacatgt cctctcattg ggagagcctg tcgaaagtct aagtttgaag gcagctgtga 24300
 aggtaaggcc aatccaaatg gctctcccag ctctctgct gtaaccctga ccctgagtga 24360
 ggacatagcc aaccttccca tctcataggt gagaaggctg atgcctggag aggggaaggg 24420
 actgcccag atcacatagc aagatagtg cagaacccaa gcgagaacct acagttccag 24480
 cctggcttag aagaaagtgc actggacttg gagtcaaagg ctggggtgtg catcccagct 24540
 ctgccataaa tccctgtgtg actctgggca atttaacctc ttagagcttt agtttcttcg 24600
 tctgtaatat gagggtagca gtactaccac atagggtttt gagggagtaa ttgaattaat 24660
 cacatgaaat gatgcacgtt tacaaaaaaa agcatgaagc ccctttactg tgccctcagta 24720
 tcccaaagga ctttgattt actctgagaa atacagggag aactagggag tgttgggcag 24780
 aggagagcta tgatctgact tatgttttaa gatactctgg cttctgggtt cagaaaagac 24840
 tgaaggggca agagaggaag caggtggaga ccagagcagc agtgatggcc atcatccaga 24900
 ctcagactag gacaatagct gtgaggggtg tgggaagtga ttggatcctg actatatttt 24960
 aatagcagaa ttgacaggat ttgctgatag actgcacgtg ggggtgggaga ggggtcaagat 25020

gacttcaagg ttctcatctg gcacaactca gcagctgctg gtgccattta ctgagatggg 25080
gaacattggg gtgggataga tctgggaggg aaaacccaga gttcagtgtc gaatgtggta 25140
gcgtaggggt taaggttggg gcgggtagag atgtgtatga aacatcccag tggagacact 25200
gaatggagat gtacaagtct gaagcttagt ggaaagggta gggctagggg tataaatttg 25260
ggagttggtt caatacagat ggtgtttaaa gccatgagac ccaaggagat cactcaggag 25320
tgaggataaa gagagatggg aagaagtctg aggactgagt cctagaacac cctgcatttt 25380
agagggggga catgtgtaag agccagcaaa ggagacagaa ttgtgcttgg agaggcagga 25440
ggaagcccag gagagcgtga ggtcctggaa ggcaaggaaa gagagggccc caggtgggct 25500
gaatgctgct gagaggtcaa gtcggatgag ggctgggaag tagccattgg atttgacaag 25560
gagaccttgg catgcatggt tgtagaggag gatgaaggca aaagcctggc ttgactgatt 25620
caagagcagg agatgagaaa gtggagacag catgcagggg cagccctgcc aaggactttg 25680
ctctaaaggg gaacagagaa atggaggaga agcaggaggg caataatccg atagagagga 25740
aaaatctgat gatacagaag agagatgaac tgcaagagtc aagcctttga gttggaaagc 25800
aggagtggga ttttgagcac tgataccttt aggccgatgc agggacagtt catctttttt 25860
aaaattatta ttattatata acattttatt taaaaattta ttttcacaga atacattttc 25920
acattagaga ttcccattgt gcgaaaataa caatttatta cttatagttt tatatttgtg 25980
gacagattgt tttagaacaa gtagaataca tttgagaatt aaatctcagt ttacaatggg 26040
taatattttg atacgtctat ggggaaactt gcccttaaat ggaacttctg tatcttcaga 26100
agcactccaa gcgtttcttc ctaggattta gaaatttata atatgagata tcagcatttc 26160
ctaattttaa aatttcctta gtatatgtaa ccatcggtag gtggtatcta ccgactagag 26220
agggagttt ttgaaaatta aacactgtct aattttctgc aaagttttta ttcattgaatt 26280
aagagtattt cccttagtcc attattccca aggcaaatat ggaagtttga tcatatgcta 26340
atcatactaa agctggattc tctttaagag attgagaaat taaaaggcaa aagctgatat 26400
atcatgttta gttatactgt gagtcttata agaagctggg aggcaacccc attaactcac 26460
cagaatacag aactcagtct cacaacttaa atataattcc tctcaaacct tttcctcaa 26520
gttaaattct gaaaataatc ttgtgattaa gagaagaagg ctgtccacca atggacttat 26580
ctgttatttc ttccttattg tgagcttaat ggcattgaca agcagaggca aagaggcata 26640
catcaattct tcaaagtagg aagtcaaaaa ggtcagagct tccacagcat ggcaacagct 26700
ttgcagatgc ccacatcgtg atagttgaaa tagcaaagcc cagcaaagggt taaagctgaa 26760
aatgccaaaa gccctgcctt ggcagcttct tgcgaggcat ccccatgaac atagttagta 26820
acaacttgtc caaggcccca gtgaccatga agagtggagg ctgcagccag ggaatagtcc 26880
gtcgcagagc aaggattcaa ataagcagcc ggaagcagac ccgggagcaa aacactgaca 26940
accctctcgc tagtccagtg gagagatgca gccttggagc cagaatggtg gctcggtgac 27000
aagtgtatgt gctgcactcc acaccattct gggataggct ggtcctgaag aaatgctgag 27060
atatgagcag gtctgaccac tggagtctgc agcaacagag ctcggcctcc ttgggcaccg 27120

caaacggcac tcagcctcca gagaaccgcc atctcgttcc tgaggcggag agttcatctt 27180
 aacgagagaa atggcagggg ctgtgaatag gccggcagat ttggtggcgg gtgccacagg 27240
 ttcagtctcc tgcagggaga ggagaaaatg cttactaat tccttgattt ttctcagaga 27300
 aacaagaggc accgtcatca gcctcatgtg aggggtggaa ggagggatgg ggtttgcgga 27360
 gagggaaagt gtggtatggg catctgtggg agtggaagag agtgagaggg ctgcaggggt 27420
 gcagcgggac tgcaggctgg caccagggtc cctagggctt gtagttgggt gaaagtgcac 27480
 cagtgaccag ggctgtgtgc agctgtctca ggcagggtgt gaagaagcag agttgaactt 27540
 gccagcctg gagtgtctcc cagagtgggc ccaaagccca agggagacca gagatggggc 27600
 tgtttgcaaa ggaggaagta taacagtagc ccacaaaatc tgagctgggt aagaaaggag 27660
 agagagttaa aatggggagc ccagcctggc agcctgggta cacatctcag ctcaaccac 27720
 actagctgaa tccatttggg ccccttcggt gacctctctg tgcctcagtt tccctatcta 27780
 tagaatgggg ataagaataa ggctacttcc tagggctggt gtgaggattg aacaagtgc 27840
 cgaacacttg ttcaattttg aatactgttc taaagcattt aggacagtgc ctggcatggg 27900
 gtaagtgttg cggcagtgct gttattttca tcatcaccat tgttctcagg ctgcgttgat 27960
 tggagctgct gaagggaggc aatttaagga agtgagccgg acagatagga ggtggtggtg 28020
 gttatcaggt gcgatgctg aaactgaggc ttcggaggca acagttactg gtaatgacaa 28080
 ggtctaaggc ttgacagtgg gtggcagaag tgtaacgcag ggaaagagac gagcggtaaa 28140
 ggagccgaga ggaaggagt tgggtggact aagatcattt gtggaagaat gatggagaga 28200
 aaggctgaag ggcaggaact gacatcatca gtgaccaagg ggcggccagg aggtgagac 28260
 cgcagcaaga aagggagagt gtgatggcat cttcttcaag ggagctgggg atgtttgggg 28320
 tggaaaaaag aacaatggtc tgggagggaa tatgggaagt tttttttttt tttttcagat 28380
 ggagtttctc tgttctcacc caggctggat ggcaatggtg caatctcggc tcaactgcaac 28440
 ctctgccttc caggttcaag tgattctcct gtctcagctt cccgagtagc tgagattaca 28500
 ggcacacacc accacgctg gcttactttt gtatttttag tagagacgga gttttgcat 28560
 gttggccagg ctggtctcaa actcctgacc tcaggtgatc caccgcctt ggctcccaa 28620
 agtgcctggg ttagaggtgt gagccaccgc gccacgctg gaagtttgta tttattaatt 28680
 tttggttctc ttcactctgt tatgtgactt taaccctaa atacttcagt gtacatttct 28740
 tttttttttt tttttttttt tgagacagag tcttgctcca tcaccaggc tggagtgcag 28800
 tgggtgtgat tcggctcact gcaacctccg cctcctggat tcaagcaatt cttgtgcctc 28860
 accctcccga gtagctggga ttaggggcat gccaccatgc ccagttaatt tttgtatttt 28920
 tagtagagat ggagtttccac catattggcc aggtggtctt tgagctcctg gcctcagttg 28980
 atccacctgt ctcagcctcc caaattgctg agattacagg cgtgggccac cataaccggc 29040
 ctcagtgtat atttctgatg cagttgggtt ctgtatcccc ctccaatctc atctcgaatt 29100
 gtaatctcca cgtgttgagg gcaggacctt gtgggaggtg atgggatcac aggggtggtt 29160

tccccatgc tgttcttgtg acagtgagtg ggttttcagg agagctgatg gtttgaaagt 29220
 gtggcacttc ctctctctct ttctctctct ctctcacctg ccaccacgta agatgtgcct 29280
 tgcttccctt tcaccttcca ccatgattgt aagtttcctg aggcctctcc ggccatgcca 29340
 aactgtgagt caattcagcc tcttttgttt ataaattacg cagtctcagg aagtatcttt 29400
 atagcagtgt gaaaacagac taacacaatt tcctaaaaca aggggacatt ctcttacata 29460
 accattgttc agttaacaaa aatgagaaat tgacattgat atattatgat taccttattc 29520
 tcatttcacc aattttttca ataatacctt ttctagaaaa aaatacatat tttttgtggt 29580
 cgaggattac atcttgcatt tagttctcat gtcttattaa attccatcaa tctggaacag 29640
 tttcttcatac tttctttatc tttcatgacc ttgacatggt ttgaagtctc gagccagttc 29700
 tttttagaaa tgtgggtttg tctgctgttc ctcatgatta gattgtgggt atgcattttt 29760
 ggtaggaatt ctccaagagc cgtgtgtgcc cttcttagta tatcatatca gaagacatgc 29820
 tatcaatttg cccattact ggggtgtgta actgtgatca ttgggttaag atggtacctg 29880
 ccaggatctt cactgcaaa gttactattt tcccctttgt aattaataaa catcttvtga 29940
 ggagataatt tcctatagaa atcctgttga tcatccaact ttcaccact gatttttagt 30000
 ttcattgatt cttccctgaa taaattagta ctataataat tgccaatggt ggttttctaa 30060
 ttccatcttt ccttcaatag ttggcattct cctgtaagga aaagctttcg cttctctgtt 30120
 catccactca tctatgtatt tgtttatatt accatggact cctggattcc ggtttacaca 30180
 cttccatttt ctgccttttc tctctgctta atataaggat taatgagaac tccctgattc 30240
 ccaggaagaa aatgtcacca gagctttctt aggtggaatg aagagaattc agtgtaaaga 30300
 ccataaagggt gtatctgtgt agtatggaca gttttaaaaa acaaacaaac aaaaagaacc 30360
 tccaagggca ggaagtgtg ccagactcag gagggcacta gaactgacta tgagaagcca 30420
 ctgagatccc aggtagtctg tgctctecat cttttggctc tgattctctc tgtacatcta 30480
 acatctctgt acaccagctt tctctttagc gaaaaacgtg tcccctccac ccaccatcc 30540
 acctccactt gttcttgcatt ttctatgtcc cagatcctgc agaaaacaac tcttttctct 30600
 cagttagtct caattctgta gtccagggag agagaatctg atcagtcccc tgggtcattt 30660
 ttccactctg gtccaagcag ctacagctgg catgggaaat agttcacaca gtaaaaacat 30720
 ggctgtcaag aagaggagta aatttcagag gcagaacact ccctgtgagc ccgaacctct 30780
 tcctgctttg ttgcagtctt cataacgatt gctttaaag actgcattga tataacatca 30840
 tctctcttct ctgcatcttt gacttgctag cttaactggt cttagaggagg gcttagcact 30900
 gattttcagt attcattttc ctcaaaactt caattcagcc tgggtttctt cagcaggagg 30960
 gctcggggga accagagcca gggaccagag tcatttcagt gcaccagctc aagaaatgaa 31020
 tattccaggc caagaatccc caagtgttct ttctgaagtc cttcctgggtg gagctcaaag 31080
 agatgaaaaa cgcaagcccg cttttcagtt cttatcagga aactgcatag actttcctct 31140
 ttatgtatga ctgagggtt tttaccatca ttgttctact tcacagatat ttatttggtta 31200
 ttactatat accaggcact cttgtggcag tggaaaatac aactctctgtg gaacatctgt 31260

tccagaagga aagactgcc aataagcaata aataggcaa aagatatagc atgtagaga 31320
gtgtaagta ccacagagaa aaataaaatg gagaaaagaa acacgaaaag ttggggagag 31380
aggacaactg tttgagggg tggccagggg cagcttcac tcacaaagg ggtgatttt 31440
tttgagtaca gacctgaagg taacgagtg acaagccaca tgggtacctg agaacagcgg 31500
cagaacaatg gcaggggtg gggagggcta tttaccaccc atgctgttta gaattgtcag 31560
cacatggtga taaaaaaaa aataggctgg gtgcgggtgg tcatgcctgt aatcccagcg 31620
ctttgggagg ccaaggcggg tggatcactt gaggtcagga gttcagacc aggctgggga 31680
acatggtgaa accccgtctc tactaaaaat acaaaaatta gccgggcaca gtggtgggcg 31740
cctgtaatcc cagctacatg ggaggctgaa gcaggagaat cgcttgaacc cagtgggtga 31800
agtttgcagt gagccaagat ggcaccactg cactccagcc tggcgacaga gcgagactcc 31860
gtctcaaaaa taaataaata aataaataa aataaaaagc agacagactt tttagttggc 31920
tttagaattg ttagacacc tctgcagaca aggcaccccg attgcttgca cccagggtgg 31980
actactccct ccactctgcc cttgttacac cctggctggg ggtcagcatt tcaggcagct 32040
gaatgacca aagtgggaac acgctagtgg gtttgaggat gagcaagtgg aggagtgcaa 32100
taggaggtga cccccgagag gtcaggtgag agtggatcct gcagggctgt ggcaagaacc 32160
tggacctga ctttgagtga catgggagcc gctggaggct tctgagcaga ggagtaacat 32220
gatctgactt gcattttatt ttatttttt atttgacgca gtctcactct gtcgccgaag 32280
ctggagtga gtggcgccat ctcagctcac tacagcctt gccctccagg ttccagtga 32340
tctcctgct cagcctcca ggtagatggg attacaagca agcatcacca cgctggcta 32400
atTTTTgtat ttttagtaga gacagggttt tgccatgttg gccaggctgg tatcgaactc 32460
ctgacctcag gtgatccacc cacctcagcc tcccaaagtg ctgagattac aggcttgagc 32520
caccacgccc ggcctgactt gcattttaac agggctactc tgtctgctgt gtggagaaca 32580
gtccgcagga agacaagggt ggaaatgggg agaccagtta ggaggttact gtaacaattt 32640
gggtagcgg tgatggtggc ttaaaccaag atggggtcag tgggaaatgg tgctaaaaat 32700
cctgccaatt ctgggtattt ttagaaagca cagctgacag ctttctccag tagccacta 32760
aataagttat gaagcattac taaaatgtga tagtcatgat gcaaaattag aatataatcta 32820
gaatctccc aagaccttag tttggtatta caagaagtct ggttgcttca tgttgcaaaa 32880
tttatatcac tcactctcc tgcagagtta aaattccgct gagaagtagg aatcagtga 32940
gtgcgtgtcc atgtgggttt ttgccacacc taagtgaacc ttggtcaaaa gcatataaga 33000
gctactgata ggccgggctg ggtggctcat gcctgtaatc tcagcacttt gggagggag 33060
gatctcttga gccagagat tcgagaccag cctgagcaac atagtgagat tccatcttta 33120
cacaaaattt aaaaattggc caggcatggt tgtgactcc tgtaatcca gctacttagg 33180
aggctgaggt gggaggattg cttgagcctg ggagttggag actacagtga gctgtggcca 33240
caccactgca ctccagcttg agcaatggag caagactctg tctcaaaaa aaaaaaaaa 33300

aaaaaaaaa gaggccgggc acagtggctc atgcctgtaa tcccagcact ttggggaggcc 33360
 gaggccgggtg gatcgccctga ggtcaggagt ttgagaccag cctggcaaac acggtgaaac 33420
 cccatctcta ctaaaaatac aaaattagcc cagcgtagtg gcgcatgcct gtaatcccag 33480
 ctactaggga agctgaggca ggagaatcgc gtgaacctgg gaggcaaatg ttccagtgag 33540
 ccgagatcgt gccattgcac tccagcctgg gcaaagcctg ctgggttggg ctgggtaagc 33600
 tctgaacacc agtctcgtgg cttcaagtca cacctcctaa gtgaagctct gaactttctc 33660
 caaggaccat cagggctttc ccctgggcag aggatgccga cactcactgc tcttactggg 33720
 ttttattgca gacagactac cacatgaacc tgaggcactt ctacgtgttc gcagcctatt 33780
 ttgggctgac tgtggcctgg tgccctccaa agcctctacc caaggaacg gaggataatg 33840
 atcagagagc aacgataccc agtttgtctg ccatgctggg taaggacaag gtggggtgag 33900
 tggctcctata cttgggctga gcagaatggc tcagaaaagg ctctggctga aaaaatctcc 33960
 ctcctttacc aacttcccct ggggtgtctga agcccttcca tcatgattca cttctttgag 34020
 tagtgtttgc taaattcata ctttgaatt aagcacttcc ttttagggac ctctcttcat 34080
 taatatccac tagaaaggag agactcatta tgtgtgagtt tcaataagtt tatccaatcc 34140
 ctttgtttcc aactgaaagg agggaaacgg acaagtgaag aaggtagggc ccaggagtga 34200
 aggaacaagg gtgggaatag taataatggt gtactttgaa aatctactgg gaaaatgatg 34260
 aacttagact gctgggagag gctaatagaa aatcgggcag tgagcttgat agtaggcaaa 34320
 ggactatcag gccacggggt caagttaaag cagcacattc attaaaaaaaa aaaaaataag 34380
 cgtttgggcc aggcgtgggt gctcaagcct gtaatcccag cactttggga ggccaagggtg 34440
 ggtggatcac ctgaggtcag gagttcgaga ccagcctggc caacagggcg aaaccccatc 34500
 tctactaaaa atacaaacaa atcagctggg catggtgggtg cacgcctgta atcccagcta 34560
 cttgggaggc tgaggcagga gaatcttttg aatccagggtg gtggagggtg cagtgagcca 34620
 agatcgcgcc actgcactcc agcctgggca acagagcaag agtccatctc aattaaaaag 34680
 aaaaaaaaaat taaaataagc atttgaccat cacagagcag gttcaggagg cctggggtat 34740
 gcagatttca accctcttgg cttttgttcc cttgtctgta aaatgtggtt agctgggtatc 34800
 agcttgagag ctccggagggg agacgtgact tccccatcta actctaagtg acaaggctga 34860
 gactctccag ccctaggatt ctcatccaaa acccctcgag gctcagacct ttggagcagg 34920
 agtgtgattc tggccaacca ccctctctgg ccccagggcg ccctcttctt gtggatgttc 34980
 tggccaagtg tcaactctgc tctgctgaga agtccaatcc aaaggaagaa tgccatgttc 35040
 aacacctact atgctctagc agtcagtgtg gtgacagcca tctcagggtc atccttggct 35100
 ccccccaaa ggaagatcag catggtgagc agggcgctgc ccttgggcag cacttgggtc 35160
 taacaggact agcacacata tttatgcccc tccccacccc agggccagcg tgggttggga 35220
 gagggcatgc cgggtgggtg agctgtgcct gcctctacag tggagctcta ggaagaatgc 35280
 tgggtggtca cagggggcct gggactcagg agactgtcca gtgatcaaag gctttctggg 35340
 gggagtgatt aaatccatcc atgctaacat gaaacagacc tgagtttgaa ccccgtttct 35400

ES 2 445 709 T3

gctagttgct caagtcagtc accatgagcg agagtcagca gcaacagact agactagaat 35460
tagccagcct ctctcttccc cccaacaaat ttcaagaatg gaaccatcag aatcagaagt 35520
agagaagtat gtgacactag ccatgtggct ctgggtcaagc cacttcaacg ttttgagtct 35580
cagtggcctc atctgtaaag tgagaattaa gagatgggtgc atgtaaagtg cttaacgggg 35640
agtaaattggt aggcaaacat tagctgctgc tattagtaca gagagacaat ggtgtgtgtg 35700
agtcttggtg gcagagatgg gtgagagggg agacaaaaca agttctcatg atgatggggg 35760
caggggggtcc agctgggtgt gtcggagggg agtctggaca gaccagtggg ggggctcggg 35820
tgggaggcac tgggggggct ggagtggaaa gaatgtggcc acagatgaca gcttcacagc 35880
agaattcagt gctaagagga agtgagtggc catgagttcc atgggtgacag aaagtctaag 35940
acacctagca aggcaggagt ggggtgtcagc tcaggggaagc tcagaggcta aacctagggtg 36000
agagctgagg gtgtcagata agagcaaggc aaggctccgg ttctggagta gtgaaggaca 36060
tagcagagct ataaccagc aacaaggccc agcttattgg aactgggacc agtcacacag 36120
ggtggcacag gcaccaagta gccaaataata ataataaaaa caataacaat gatttatgtc 36180
tattgggcat ttattcatgt tctatgccag aacttgact aagagcttta tatgtggaaa 36240
ctcatttaat cttacaata accttatgaa gaaggtagat ccaaaacccc attcttctag 36300
gccaggtgca gtggtcaca cctgtaatcc caatattttg gaaagctgag gcaagaggat 36360
tggttgaggc caggagtca agaccagccc aggcaacata gcaagaccct gtctctaaaa 36420
aataaaacaa aaaccattc ttcccgtgt ccagggacac accactaatg agtgtgatgg 36480
gtgcctagga tgctgagcac ctggacttcc cagctcattc cctaaatgct gcacaatcag 36540
ggtaactgtg ccctgagcct aagaggcagt agtgagctgg cccaccgtgt ccactgatga 36600
aggacacgta gcccacac aggggagagg tggtttcagg atcagcaag cagggaggat 36660
gttacagggt tgccttgct ccagcgtgct ggtcacttgc agcaagatgg tgttctctct 36720
ctacctgct tcttttacc acacgctatt tctttgcaga cttatgtgca cagtgcgggtg 36780
ttggcaggag gcgtggctgt gggtagctgc tgtcacctga tcccttctcc gtggcttgc 36840
atgggtctgg gtcttggtgc tgggctgatc tccatcgggg gagccaagt cctgccggtg 36900
agaaactaga caactaatgc tctctgcttt ggctgaaggc cagcaggacg ctgggacctg 36960
atgggacct gtgcagtgca cagctgcatt aggcaggtgt tgggtcattc tcttattggc 37020
ttcaacgcct agcgagggat ccatcctggc tcgggtggcac atttgttaag atgctgggga 37080
gcaggtggca gaaccattt gagcttgctt gggcactggg gagaatttgt taccaggcta 37140
caggggtgtc acagaactca aggacagggg ctggagtgtt gtggggagcc cagaagcccc 37200
tgttttactt ctttcttgc ttttctgaa tatctgcttt attcttactc tatagacctg 37260
cttctcctc tttcacccca cattgtgggg thtagtcttt tgcttcaaga aagcagcctg 37320
gtggatggaa tctcttgcc ccaatcccaa attctctgga gaaggggctc tttggtttaa 37380
cttgataat gttgtctca gctgggggtg ggcacatcgt gcatatgtgg ctgctgccgg 37440

ggaaccacgt ggatgatgtg agaggagcag caccagaag agggagtgtt gggctgatgg 37500
 tccaggtcgt gtccacttct gattgtttta ttcttcttct aagtggatgg atctttctcc 37560
 aatactcagc aaatcctgat cgttccagaa tacttcatta tagccaattg gttataatgt 37620
 gcttctctaa gagaaatatt tagggacaac aaatcttcat gggtttgaag acttgatgga 37680
 ggaaaaagga gtagattttc gaaggctgga tttggatgaa caggggctat tcagggagtg 37740
 cattccaacc taaaattagg aaaaactggc tgggcgcagt ggctcacgcg ctttgggagg 37800
 ccgaggcggg cagatggcct gaggtcagga gttcaagacc agcctggcca acatggtgaa 37860
 accatctcta ctaaaagtac aaaaattagc caggcgtggt ggcgggcacc tgcatctta 37920
 gctactcagg aggctgagat gcgagaatca cttgaacctg ggagacagag cttgcagtga 37980
 gccgaaattg cgccactgca ctccagcctg ggcgacagaa caagactctg tcttaaaaaa 38040
 aaaaaagtgt tttatataca gagtgaata ttatttagcc ataaaaagaa tgaatcctg 38100
 tcatttgtag caacatggat ggaactggag gtcattaaaa aataaataa aataaataag 38160
 gaaaaacgta tcaatacttc gattgacca aaccagggca aatctgattt tcatctttgc 38220
 aaggggaaca aatttctttt atctcctctg gctttgaaac cctgaaatga aaggaggaag 38280
 ggcagaaaaa agaacacata gcaagttacc atcaggctca gcgcccatcg cattccctga 38340
 gcttgtttcc ttgacttcat cactggcagg actattcaaa aatgattccc tcattcattc 38400
 atatattcat tcattcatca ttccttcatt caacacatac gttttaacac tcattcttgc 38460
 tttcaagcta tagtttagtg agcgaatgg atacacagaa tacagtgtga gaacagctac 38520
 agggcacatc tgagctagcc tgggatgggt ccggaatgc ttctggagc agaggaaacg 38580
 gttgacagcc aagtgttgac agagaagtag tattagccag gcagagacat ggggaatgta 38640
 ttccaggcag aaggcacagt gtgtatgaaa gcttattggt aagaagagtg tgtggcccaa 38700
 ccaggaaca gacattctga aggcataagg tccaccagc agcatggtga acccagatcc 38760
 ctgaaagatg ggaggtgctc aggcacactt cctgggctag ttgaggggtc tggattttta 38820
 tttacttatt tttttattta ttgagacaga gtctcgttct gtcaccagc ctggagtgca 38880
 gtggtgcaat ctgagctcac tgcaacctcc acctcctggg ttcaagtgat tctcctacct 38940
 cagcctcctg agtagctggg attacaggtg cccaccacca tgccctggcta atttgtgtgt 39000
 gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt tttgttgtt ttgttgtgt tgagacggtg 39060
 tctcgtcttt ttgccagc tggagtgcag tggcgcctc ttggcttact gcaagctctg 39120
 cctcccgggt tcacaccatt ctctgcctc agcctcctga gtagctggga ctacaggcgc 39180
 cctccaccac gccagctaa tttttgtgt ttttagtaga gacggggtt cgccatgttg 39240
 gccatgctgg tcttgaactc ttgacttcag gtgatccacc cacgttggcc tcccaaagtg 39300
 ctgggattac aggcattgag caccgtgcc gacctggatt tttattctga agactaatgg 39360
 ggatcctaag gaaggaacca gcctgactga atttgcatat gtgtccacat ctgctggctc 39420
 atggctgtgt gggaggctga gtgatggga ggaaggatta ctgagtaggg atctagaggt 39480
 gtggcctcat gctttcttc taaccagctg tgttgtcttt gggatggtgc ttaaatttgg 39540

ES 2 445 709 T3

gctagaccag tgggtcttgg tcacccccca ggggacatct gacaatgtct ggaggcgttc 39600
ttggttgaca cagtggggtg agggctgcta ctggcagctc gtggggagag accaggaatg 39660
atgcttaaca tcctacagtg cacagggcag cccccatcac aaggaattat cagctgaaat 39720
tgtgaatagt gcctacacta gacccttgct actcatagtg tggtcctgtag atgagcagca 39780
ttggcatcac ctgggacctt gttagaaatg ctcttagacc ccaccccaca tccactaaag 39840
ccagctcttc atttcaacaa actccccatt gatgtgagta cacattcaag tctgagaagg 39900
gcttctttga ggtgagcctt agtgcccatc cccatttggg ggcgccggat accaagggtg 39960
tgtgaaaggg gtgggtaggg aatatgggtc tcacctgcca atctgcttat aataacactt 40020
gtccacaggt gtgttgtaac cgagtgctgg ggattcacca catctccgctc atgactcca 40080
tcttcagctt gctgggtctg cttggagaga tcacctacat tgtgctgctg gtgcttcata 40140
ctgtctggaa cggcaatggc atgtgggtca ctgggcttac cccccatccc cttaacactc 40200
ccctccaact caggaagaaa tgtgtgcaga gtccttagct ggggcgtgtg cactcggggc 40260
caggtgctca gtaggcttcg gtgaatattt gttggctgat ttattcagaa attatgtcca 40320
gcccctacct tggatggatt tatcacctct ccaggccacc tcttctttcc aataggacc 40380
acctaggtat agaccaaaga cacgaaatct tctgtgacct cacaaacaca gagcaggtca 40440
aataggccca agccaattga gactgtggtt caggtcgtga tgcagagctt tgctgtggac 40500
gtgctcccac tgcgtactag ctgggcatgc ggcttaacct ttctcagcct cagtcgcccc 40560
cttgtaaatg gagataagga tactatctcc cctcacaggg ctgttgggat gctactggat 40620
ttaataagct aatgcagggg catgctaagc acaaccatc cctgaggccc agagaagggg 40680
gggcctcggc tgaggtctca ctgtgaggtg ggaatgtggg cctccagacc agaggtaggt 40740
cctgtggccc ctagacagtg gacagcaatg gtcagtttga cacaccagag ccctagccat 40800
tacttcctgg atgttgtgtg aatattttct ggacatggct tatataaaat gaaaaagtga 40860
attgggcacg atatagggat agatttttag agatgaactg atagcatgat gataatcata 40920
ttcactgata acatttacta ctgttattga ctgctttaa agtggtgggc attgtgctag 40980
aaaccattat atgcattatc tccttgaatt ctcaaacccg cctactgagg tattctcaga 41040
ctctaagaaa tgagatttaa gagaagtat ctgccaagg tcacccggct ggaacctggc 41100
tgtaaaaatg gctgaagcag gtgatgagga gctgatgtgt ttggacgtgt ctcaagaaa 41160
tcatggaggc gctggggttc cttccggttc ttggatgcct tctacagaga caaccatagc 41220
cccaaattat agggatcaca tatcagtggg tgagacatcc ttgcttggga tgaggagggg 41280
atgagctgtg tgaagcaagg tgacctgtga atgggttcca gtgatgtgtc tgccactgtc 41340
ttaataactg tgcaattcta agcagaacct ttctgtctc tgggcctgag agttccccctc 41400
tgtaagatga ggacttgacc tagcaaggtc ctactcagat gcctgtagag aacaggcagg 41460
ggaagttaga aaaaaaaaaa gccagtgaag gaagggagct cttcagcttg caccaccat 41520
cacagtgcag ggacccaggc tcagtgttgc cagatccaat gacttctcaa gagctcaaaa 41580

tctagagttt tgcattgtgct ctccaagta ctggcagaaa attcaagatt gtttagtaaca 41640
ctgtgtggct aaattctgct tgtgggctgc ctagattccc aattctgtga ttctgtggtt 41700
ctctggaagc attggttctc cacagcacct gcatcacttg gaaacttggt agaaatgcaa 41760
gccctaccta cggccccacc ccagacctac ccagttagaa atctgggggt gggacctatc 41820
agtccatggt tgaacaagcc ccacaagtgt tctcttgcaa gctcaagttt tagaaccact 41880
gacctatagc caaaaaagaa aaagccaatc agtggtttgc tggtagagga ttaacttaac 41940
aactggcttt ccatgaaaat aaagccttga ttggtagcac ttgcaatttc tatgggtacaa 42000
acgcttccca catgactgag ttcaagctat caaggagacg tcaactgcaca tggacttggg 42060
aagagatgag aacaatcagc ccaactgagcc tatgggaact ggctccagca catccctgca 42120
agtcaactct catcagggtg agtgagttga ggaccaagaa gcagttatcc tcttgctttt 42180
gcaggacca ggcaaagga agggcatagt gacagtgatg atctctcttc cggaaagtctt 42240
tggtttgctg agagtaaaag gcgtgggctt caccagtggt gaagccagtc atgcagcctt 42300
agtcctggta ctcaactcc ctaaaactca gttttctatc tgtaaaatgg gaaaataagt 42360
cctatgtcac agggttgctg tgcagattta gcaatagaac atagccccgt tctttatgat 42420
gactgatgct gcatcagtat ggggacatct ctatgtaatg gaaagatgga gagaggatta 42480
agtgcaaagt cacagcactt aatgggaact gtggattagc tacttgggtg cattgggcaa 42540
gtcagttgac tttgcattaa ttccacaaac aatatttccc aatttcctat tcagatgagc 42600
atatgtgact gagtcagatg ctgtgatcag agccaggatg gagcatttcc cacaaactgt 42660
gggattttta agtgatggga aggcacactg aaatggcatt gaatcatgca gttgcagata 42720
ctctttttca attctcagtc ctttgattac atcagggaga aaagaaagtc cccacttggg 42780
ctgagaatct ctgcaccctt ctagctcttg ttaaccactc ttttgaatag cagagaaaac 42840
ctcagactgc catatctggg agagatttta gcaacatttt gttttcattg tatctctttt 42900
tacagctacc tcccatttcc cttctatttc aagctagtaa cacagtttcc ttttaaattc 42960
atttatttaa atgtaaaaat aagtctattt ggagaaaaaa aatttttaat agcatctctg 43020
gaatgccagt atggctaaat tcatgaatgt tgtcctcaaa tgctgaaatc tgggaagcat 43080
ctggccaagc tttgtggaca ggccttccca gtttgaatcc caagagccac tcattccgag 43140
ccacaaaaca ttggaattct tggttcactt ccctaactg aacttgtcct ctgtgaaata 43200
gggacattaa tagctcactc acagggctgc tgtgaggaca tgtgttgagc tgagggctctg 43260
gccaggggag accctgtgca gggagactgt tatcatgggtg atggatttct gcttcattca 43320
tttcttttcc cagacagcat catatagaat gagttgtggg gtggcagtca gcaggtttgg 43380
gtttatcttc tattctgcca cttattactt aaaaaaaaaa acccaactta tatagtataa 43440
gctatatcca gaaaagtgca aatatcatac aagtaccatt tgatgaatct tctgatatcc 43500
ccacataacc aacaccaga acctcttctt gtctcattcc aggataacca ctaacctgac 43560
ttctaacagc atcagtcagt tttgtctgtt tttgtacatt atatatgtga tggtttgaat 43620
gtgtcccca aatttcaggt gctagaaact taatccttca attcatatgt tgatgctatt 43680

tggaggaagg gcctttggga agtaattagg attagataag gtcattggggg gaggtatgat 43740
 ggcactgggtg acttataaga agagaaagag aaatctgagc tggcatgctc ttgccctctc 43800
 accgtgtgat gacttctcca tgtcatgatg cagcaagaag gccctcacca gatggtggca 43860
 ccatgctttt ggacttccca gcctctagaa ctgtgagcta aatcaattta ttttctttat 43920
 aatcacccag tttgatattt tgtcatagca acagaatatg gacaaagaaa gaaaattaat 43980
 gcaagaagta gagtttttac tgtaacagat tcctgaaaat gtggaagtgg ctttggaaact 44040
 ggggtgatggg aataggttgg aagagtttg aggagcaggc tagaaaaagc ctgtattgtc 44100
 aagaatggag cattaggcca ggcacggtgg ctcagactta taatcccagc actttgggag 44160
 gccaaagcag gtggatcacc tgaggtcagg agttcgagac cagcctggct aacatggtga 44220
 aacgctgttt ctacaaaaa tacaaaaaat tagctgggca ctctggcgca cacctgtaat 44280
 cccagctact caggaggctg aagcaggaga atcacttgaa cccaggaggc agaggttgca 44340
 gtgagctgag atcgtgctat tgcactccag cttgggcaac aagagcaaaa ctccaactca 44400
 aaaaaaaaaa aaaaagaaaa agaaaaagaa tggagcatta aagacagttc tacagttctg 44460
 gtgagggctt aaaagaagac cccagaacta gggaaagtct ggaacttctt aatggttact 44520
 gaagtcggtg agatcagaat gctgatagaa atgtggctgg tgaaggccat tctgatgagg 44580
 tctcagatgg aactgaagaa ccacgtgttg gaaactggag caaaggctcat cttttttata 44640
 aagaagcaaa gatcttagct gaactttgtc tgtgccagag tcatttatgg aaagcagaaa 44700
 atccgtaggt cacccatggt gtagagaatg aaagaacatt ttcagctgag aaaactgaga 44760
 gtgtgacca gctaccgatt gataagaaaa ctagtacaca taaattagcc aggcgtggtg 44820
 gtgggcgctt gtagtcccag ctacatggga ggctgaggca ggagaatggc atgaaccggg 44880
 gaggcagagc ttgcagtgag ccgagatcgc gccactgcac tccagcctgg gcgacaaagc 44940
 gagactccat ctcaaaaaa aaaaaaaaaa aaaggaagaa agaaaattag tacacataga 45000
 acaaagccag aggctgttca tcaggacaag ggagaaaaac tccaaagcca tttcagagat 45060
 cttcaagact gccctccca ttactggccc agagctctaa gagggcagaa tggtttggaa 45120
 tgaccagctg ctgccaggg ctgccttggg tctctgctcc ccacatttct ggtgcagcat 45180
 tcctcagcca tcccagctgt ggttcaagtg gccacagggtg tgatgtggaa ggtaaaagtc 45240
 ataaaccttg gcagcataka catggcacta attttgcagg tgtgcagaat gcaaaagctg 45300
 agggggcatg cttctccca cctacattc aaagggtgct gtgaacggcc accccagaga 45360
 gccctagta gagcaaggtc tagtggagct acaagggtgg ggccaccgcc aagacccag 45420
 aatggtagag ctatcatagt gcaatgccag cttgggagaa ctgcaggcat gagactccaa 45480
 cctgtgcgaa gtgcaacatg ggcagaacct agcaaaacca caggggcaga gctccccgaa 45540
 gcttcggggg tccaaattcc atagtgtgtc caggaggtgg cacacagagt aaaagatcat 45600
 tctgaaggtt taaggtttaa tgttgtttc tatgttgggt tttgtacttt cctggaacca 45660
 gttacccttt tcccttggc tcttttctt tttagaatgg gaatgtctgt cctatgcctg 45720

ttccactggt gtattttgga agtcaataac ttgttttgac tttacaggct tacagccaga 45780
 ggaatctcc catagaatga attgtacctt aagtctcacc cacatctgat ttagatgaga 45840
 ccatggactt tggaattttg agttgggtgct ggaacaagtt aagactttgg gggttgtcta 45900
 agtgtgggtg ttcatgcctg taatcccagt gatttgggag gctgaggtgg gaggattgct 45960
 tgagcccagg agttcaagac cagcctaggc aacatagtga gacctgtctc tacaaaaata 46020
 aaaaataaaa gttagccagg tattgtggca tgtgcctgta attctagcta ctccaggaggc 46080
 tgaggtgaga ggatcacttg agcccaggag tttgaggctg cagtgagcta tggctgtgcc 46140
 actgcattcc agccagggca acagagtgag actctgtctc tacaataag attaaataaa 46200
 cgtagctgga gatgggtggca cacgtctgta gtcctagcta ctccaggaggc tgagacagga 46260
 ggattacttg agccaaggag tttgaggctg cagtgagcta tgatcatgcc actgcattcc 46320
 agcctggatg atagagcaaa atcccatctt taaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaatat 46380
 atatatatat atatatatat atatatatat atatatatat actttgggtg tattgggatg 46440
 aattttgcat gtacgaagga catgcatttt gggggctggg gcagaatgct atggtttgaa 46500
 tgcacccctc aaatttcatg tgttggagac ttaatctcca aattcatatg ttgatgaaat 46560
 tggaggtgaa gcctttggga ggtaactagg attagataaa gtcacagggg tggggccctc 46620
 atgatgagac tgggtggccta caagaggaag agagacctga gctgacatgc tcttgcctc 46680
 ttgccatgag ataccctctg ccatgttatg gcacagcaag aaggctctca acagatgcca 46740
 gcagcatgct cttagacttc ccagcctcca gaaccatgag ctatatataa ttattttata 46800
 aattaccat tctgtggtat tctgttatag caacagaaag tgaactgaga taatatacat 46860
 ggaatcatac agtaagtctg tgcttttgta tgcttctttt actcaacatt gtagttgtga 46920
 gattcatcca ggttggttaag cattgctgta ctttttttcc actgggatat agtgttctgt 46980
 catgcttggg tcttaattta taaaggtgac tgagtggcat tttcttcag tattattgga 47040
 aggaaagttt tgttgttcac agttcccctg taaaaagag gcagaacacg tcttgcaggg 47100
 ccacacaaaa ctgtgtcatc cagggaccag gcagcagaaa gagaggggga actgggccta 47160
 tgcctttatg aaaaagagtg gtgggagagt aactgggtga gggcatccac taatgggcag 47220
 gaagtgaaaa cacatagtgt ggaatttgta gctgaggggt ttataatatg agtttcccat 47280
 gcctgagaaa gctgacttgc aagaaaacga gataaacaac tttggccatt agtgtggccc 47340
 tgtcataaat gaatgccgga tagacaaatc gagaatctaa gaaaagatag ttggaacaag 47400
 tgttccattg tgtgaatgca gcagaattta tttatccatt attgaggagg atttgggtag 47460
 tttccagttt ggagctatta tgaatattct agtattgctc ctctgaacat tctagcactt 47520
 ttgtttttgg agcacacgaa tgcacttctg ttgattatat gcctagaagt gaaattgttg 47580
 agttatacag tattcacaca gtcagcctta gtggctactg ctaaacagtt ttctctagta 47640
 gtttgcgcca atctaatac cagtagtgta tagaagctcc ttttactcca cattttgtta 47700
 acacttgggt ttttcttct ttttgattag tcatttagca gtgaaaccta ttttttcat 47760
 tttgatatct ccaataacta actaaatgga gcacttttaa tatgcttttt ggacagtga 47820

atatcttttc ttgtgaaatg tctattcaag ttagtttgcc cattttctat tgtgggtgtc 47880
 tgtctttttc ttattgattt taggaattcc ttacatatcc tggatatgaa tcccactatg 47940
 tggcttacct ttttccttct ttctttttga aacagagtct ccttctgtca cccaggctgg 48000
 aatgcagtgg cgctatctca gctcactaca acctctgcct cccaggttca agcaattctc 48060
 atacttcagc ctctgagta gcttagatta cagggtgatg ccaccatgcc caccgaattt 48120
 ttgtatagac aaaataattt ttggtagaga cagggttttg ccatgttggc caggctgatc 48180
 ttgaatccta gcctcaactt tggcccacct tggcctccca aagtgccagg attacagggtg 48240
 tgagccacca tgcccagccc accttttact ttcttaatgg tgtcttttga acaaggaggt 48300
 tcttaatttt aatatagccc aatttatcat tgttcccttt atgcttagtt cttttatgtc 48360
 ctgtttaaga atttttgcag ccagctcggg ggctcacacc tgtaatccca gcactttggg 48420
 aggctgaggc tggcagatca caaggtaag agatcgagat catcctggcc aacatggtga 48480
 aaccctgtcc ttactaaaaa taaaaaaat tagctgggcg ttgtggctct tgctgtagt 48540
 ctgagctact cgggaggctg agatcacgcc actgcactcc agcctggtga cacagcaaga 48600
 ctccatctaa aaaaaaaga aatttgcaag gtcatgcata tgtccccctg aatttttttc 48660
 taaaaatcac ttaattttag atcaatgaat tgagtaattg actccatttt tcagtcattc 48720
 aacaaacatt tccctgaggt tttgataacc tgaactgtgt ttggagctgg ggaggaagca 48780
 aactattgaa tatatacaa gatggcaaag atgagggcct ggagcttggc acacggaagg 48840
 ggggatggct gcctgaatgg ttgggcaggt agttgttgac atctgcactc cctacaagag 48900
 cagcagggtg gcaactcttt ttatcttttt aatttatttt tcttttctct ttttttttg 48960
 agatggagtc ttgctctgtt gcccaggctg gagtgcagtg gcgtgatctc agctcactgc 49020
 aaactccacc tcttgggttc acaccgttct cctgcctcag cctcctgagt agctgggact 49080
 gcaggcacct gccaccactc ccggctaatt ttttgtattt ttagtagaga aggggtttca 49140
 ctgtgttagc caggatggtc tccatctctc gacctcatga tccaccgcc tcggcctccc 49200
 aaagtgcggg gattacaggt gtgagccacc acaccggcc ttaatttatt tttctagtct 49260
 gcaggttaatt ctttttaatt ctctccactc tcctatgatc ttatgaggtg gggactgtga 49320
 ttatttctcc cactttataa tgaacaatca gtaaagacag ggaagataac caaatgacat 49380
 acaaggtggg gtccacccca tgaggctgca ggcttggagc tttcctttgt cttaaaaatg 49440
 agaacatgag ctgcccacct gttgagacaa gaaataggaa aggccttaaaa aactggcttg 49500
 ttgtgtacaa ctatccgtgg ggctgcagtg aacgggctgg cagtgccag gtgcatgctg 49560
 aaccctggga caatcacatt cagcatccag gggccccgt aatagcttaa tgtttgaatt 49620
 gaaccctgg gggtgccttg aaggagagag atcctggaag tatgttcaag gggtagggat 49680
 gggcagggga gatgggtctg aaagccaagc tctacccac ccaccttggc ccaagagaaa 49740
 tagaaccttc atctttaatt gcctaacgag aaaactgggg ctggccagat gtggtggctc 49800
 atgtctgtaa tcccagcaat ttgggaggcc aaggcgggca gatcacttga ggtcaggagt 49860

tcgagttcag cctggtcaac atggtgaaac cccgtctcta ttaataatac aaaaattatc 49920
 caggtatggt ggcgcatgcc tgtagtccca gctacttgag gcacaagaat cgcttgaacc 49980
 tgggggacag aggttgacgt gagccgacca ctgcactcca gtctggacga cagagtgaga 50040
 ctccatctca caaacaaaaa cagaaaaaaa aaaaaaaaaa agagagagag agaaaactgg 50100
 aggctctgag aggttaaagg acttgcccag ggtcttgacg ctagtaagtg acagagctgg 50160
 gacttgagct tgggttttct gactcctggt ctggttcatt atccatgagg tgctgggaac 50220
 taaaataagc cacaatcttg gaatctcctg cgccctccct cctcccacat gtctgcgtgg 50280
 ctttttggga aatgcccagg ggaatgtacc agccagggag aggacccttg ttttctcat 50340
 ggcccttctt ggcaatggca ctactgacac cgacagtcct tttgtccct gatgacctct 50400
 gctgcctgat gcccaagtga ccacctctgc tttgtcattt ctaggattgg cttccaggtc 50460
 ctctcagca ttggggaact cagcttggcc atcgtgatag ctctcacgtc tggctctctg 50520
 acaggtcagt gtgaggccac ctttcttcca ccattgccag gacacagcac ccacgtccag 50580
 agcgcaccct gccgtgtggc tggatgtcta tgtgccccat ctcttccct gaggatcaca 50640
 taatttcaga attggaaagg ttcttagagg tcacctgctg ctaatgtgga ctgtgaggcc 50700
 agggcagggg agggacatcc ctgaggttat aagtaggggt agtggcaacg ttgcagactt 50760
 ttgaaccag ggctggtgat cacactcagt tttgcacaga agcccagaaa aatccttaca 50820
 cccaaaagcc taccttttat ttctgaggac acccataata ctattttatt caacagatat 50880
 ttattcaata tccactatga gccaggcact ggggacacag cagtgagcaa aacaaattcc 50940
 ctgaccccat ggaattgacc ttctagtggg ggaaggtatt agcaataaat agacaaataa 51000
 gtgttacta cgccagatgg gaagaagtgg ctgtgaagac agagcaaac agagaaacat 51060
 agagtcaatg tgggatggg tgttctttta ggggggtggt cagggaaagc ttatctgagt 51120
 agttagcttt taagcagaga cccaatgaa gaggagggag atatgcatg catttagtta 51180
 ggggaagaac attccatgaa aataggatag caagtgcaaa ggccctgaga cagcagcatg 51240
 ctttgtgtgt tgagggaaaca gtaaggagac cagtgtggtt ggtgtgaatg gagtgagaag 51300
 gagcagcagg ggttgagggc agaatggtag tgaggagcag gcccttataa aagatgggaa 51360
 gccactggag atctttcaac aaaggggaaa agtatgtttc tgttcttgca atacaataga 51420
 aaagcaaaaa atctagggga gttgctaatt agccagtttt acttatatgc caggtgaaaa 51480
 tatgtggcta ggtgcagtgg ctcatacctg taattgcagc agtttgggag accgaagtgg 51540
 gcagatcatc tgaggtcagg attcaagacc agcctggcca acatggtgaa accctgtctc 51600
 tactaaaaat taaaaaatta gccaggcgtg gtggtgggca cctgtaatcc cagctacttg 51660
 ggaggctgag gcaggagaat tgcttaaac cgggagggcag aggttgacgt gggccgagac 51720
 tctgtctaaa aaaaaaagaa aatacacatt caggccaggc acagtggctc acgcctgtaa 51780
 tcccagcact ttgggaggct gaggcagta gatcacctga ggtcaggagt tcgagaccag 51840
 cctgaccaac atgggaaaac cctgtctctg ccagaaatac aaaaattagc caggcgtggt 51900
 ggtgtgtgcc tgtagtccca gctactcggg aggctgaagt aggggaatgg cttgacccca 51960

ggaggtggag gttatagtga gccaaaggttg caccagccta ggtgacagag tgagactgtc 52020
 tcaaaaaaaaa aaaaaagaaa gaaaatatac attccatcca gaacttgтта ttctacaagc 52080
 aaacatcttt tattggttag acacccatat atgtgtccct aagcaggagg tggatgccaa 52140
 ataagagaca aatggcgtaa gacactatga gttgtgtggt gacattgggc atgtcacttc 52200
 actccctctg agccttggtt agcttctctg taaaatgaaa ggattatggt aactaagctg 52260
 gcttccttcc agctttaaca aactgtatgg aggtacattt tggagttact tgggtaattt 52320
 ttgagtgtga gattggctag aattgcttta atataccaat gtctggcctt agcttttggc 52380
 agagtctgtg tgaagaagca gaggcggagt agagttaatt ccgtaagtta acgttcagtt 52440
 cgtggcagct ggcaatccaa ccctgggaaa ggctgccgga tttagcaaaa atgcaagggtg 52500
 tctgttttta aattcgcaat gaattgggta tcctgcattt tatttggcaa ccctgtcctg 52560
 ggactcacac tattcactgt tatcactggt atattcgaag tggtgctgac ttgccctctg 52620
 tcttgcaaaag taccggggg tcttttctta tgcttctctg gactcaaaaa agagaataga 52680
 ggaaaagaca atcatattgt tcctttaaga gttaagacca acaagctttc ttctttacat 52740
 gttgtttttg acatgagcaa actggtgatt aaaaacaact tgggtggctc atacttgtaa 52800
 tcccagcact ttggaaagct gaggtgggag aatagcttga ggccaggagt tcaagccagg 52860
 gcaatcctat agtgagaccc catctctaca aaagatacaa aaattagcca ggtgtggtgg 52920
 tacacctgta gtcccagctg ctccggaggc tgagatggga ggatcagttg agcttgggag 52980
 gcagaagttg cagtgagctg agatcgtgcc actgcactcc agcctggaca acagagcaag 53040
 accctgtctc aaaaaaggaa acaaaaacaac ttggacaatg gaaggggggag aaagttcctc 53100
 aagaagccaa aattgcacca aatggactcc cagaagccaa gcatttaact tgttaattga 53160
 gccctctgtg ggcctgtcta tacttattta aggaacaatc ctatcaagca tagttattgg 53220
 gtttctcagc ccaggtagat tagaaatagc agattagagg tgggctaggt ttctagaggt 53280
 aaagtacacc agcagaagtt agaagtgaaa gcaaagagcc taacagagga agagaaattc 53340
 tttttttttt ttttagacgg agttttgctc ttgttgccca ggctggagtg caatggcgct 53400
 atctcggctc aacgcaacct ccgcctcctg ggttcaagtг atctcctgc ctcagcctcc 53460
 tgagttagctg ggattacagg catgcaccac cacgcccggc taattttgta tttttagtag 53520
 agacagggtt tctccatgтt ggtcatgctg gtctcgaact cctgacctca ggtgatccgc 53580
 ccaccttggc ctcccaaagt gctgggatta caggcataag ccactgtgcc cggccaacaa 53640
 attcttaaaa ctggacacaa gaacacaaaa cgcttgggct gctgagagat tagaccaaca 53700
 accctccacg gctacaaacc ttttccacgt tatatggcac gttataagtг ggtgttccta 53760
 gtgatggttc tgattttttt tttaaaaagt ctaaatatgt ttaatgttgt ctcagaagac 53820
 aaaatatatt ttagacagat attcctcagt gatgagtaag cctcagctat ctggaaaatt 53880
 catgcaggcg ccagagatca ttactgagta attcaagcta ataactcgt catgctggtt 53940
 gtaccctgca tgccaatatc tgctaaaagc agcaccacga aagggaaata cgaatctcac 54000

taagcactca cccattcttg ttaacgacac tggaaactgat catccttaat aatacacaga 54060
 taaatctatc aggagcattt ccttgcttcc tgtgaaagga agtactcatt ccatgtgtcc 54120
 tgtgaaattc agccagcttc ggggaagctgg aggaatacat atggccaagc tacctgggca 54180
 gagagtagac agggaatgga ggttgggcac agtggctcac acctgtaatt gcagcccttt 54240
 agaaggcaaa ggcgggcaga tcacttgagc tcaggtgttc aagaccagcc tgggcaacat 54300
 ggctaaaccc cgtctctgca aaaaatacaa aaaaatgagc tgggtatggt agcacacact 54360
 tgtggctcca gctacttggg aggctgaggt ggggggggtt cttgtgcctg ggagtttgag 54420
 gctgcaatga gctgtgattg tgccactgca ctccagcctg gataacagaa tgagaccctg 54480
 ttccaaaaat aaaaaataaa atcaaagaca cttaaaaaga tggggaaaag gaaggacagg 54540
 cacttaagca agttataagc tactttccta actacacaag tggaatctta agctgaggtt 54600
 cccaggagtt gactggagcc agagaagaca gacctatagg agcacccaac tggagtcgcc 54660
 ctccatagta gcccatatgt cttacatgga tcagctttcg tggggccctt ctactccgtc 54720
 tggggaaggg cgtcagatct gtggctctca tgtactgctc agtacctgc cattcccagt 54780
 tcttttttcc aaaaaaaaaa aaattgttta cagaatcggc cgggtgtggt ggcttatgcc 54840
 tataatacta gcaatttggg aggctgaggt gggtgatca cctgaggtca ggagttcgag 54900
 accagcctgg ccaacatggt gaaaccccat cctactaaaa aaaaaaaaaa aaaaaatta 54960
 gctggatgtg gtggcaggcg cctataatct tagctacttg ggaggctgag gcaggagaat 55020
 cgcttgaacc tgggagycag aggctgcagt gagccgagat catgccacgy tactccagcc 55080
 tgggtgatag agtgagactc tgtctcaaaa taaataaaat aaaataaaat aaaataaaat 55140
 aaaataaaat agtctacaga attaagctgg tccaggaatg acagggcgtc cattttattg 55200
 tctttcaatt gtgggagaaa aaggatttct gttgagacac tgtcgttttg acacacacaa 55260
 tattttgatt aatcttgaga ttaaaaatcc tgtgctccaa atcttttaac attaaattat 55320
 gcatttaaac aggtttgctc ctaaatecfa aaatatggaa agcacctcat gtggctaaat 55380
 attttgatga ccaagtttcc tgggaaggtaa gatttttcac ctattaacgt gatagatttt 55440
 gagtgcatac acttaaaaac atacctgggt atatatgttg acttgctggt tatgagtaaa 55500
 acaaaaacaa aaatggagta aggagcattg caggaggaaac tagaggagaa acaaatccat 55560
 gatatgcatg tgtgtggggg aggggtggcg ggaggtggta aaggtcacca tttccctgat 55620
 acctcaaat cattcagagt cagggatgag acagctttca ctggccacac tttccctccc 55680
 gctatctgca gtcctcagcg tagccaaata gtttgacatg cgggtgacag aaccccgcaa 55740
 tgcaaaagct ggaagaaacc tcaagccttg ggtccaacc cttttttga cagatgctaa 55800
 gagtggagac atgacttatc aagatcttac aactggctgg gcacgggtggc tgacgcctgt 55860
 aatcccagca ctttgggagg ctgaggtggg gcgatcacct gaggccagga gttcgagacc 55920
 agcctggcca acgtgtcaaa accccatctc tactaaaaat acaaaagtta gctgggcgtg 55980
 gtagcacatg cctgtaatcc cagttactca ggaggctgag gcaagagaat cgcttgaaat 56040
 caggaggcag aggttgcagt gagctgagat tgcgccactg cactccagcc tgggtgacaa 56100

gagctgacac tctgtctcaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aattcttaca gtgtgtgagt 56160
atccaggctg agtcctgaac acagctcttg ataaatgata acaagcaggc acaaaaaaat 56220
tgtagtacag gagtctgagg tcacttagca aagggacata aagttcaaac agctcagcag 56280
ctgctgaggg tcccgtgtaa cattgtagca tttgttgttg tgactgggct agaaagaagg 56340
tgaagaaggt tggagctcac tccctgcctc ccctcccact ctctccctt tgacctacac 56400
tcatagttca cgcagcactc tgatgtgtcc ccttaggcca tcctctagtc aatgctgtgg 56460
gtaggctgga ccagcagggg ccagatttgt cacagcaagt ccaggccaac agtggtcagg 56520
ctgctgcccc gtgttgtgcc tttgtgagtg gcagatccaa gaccggaacc caggccttct 56580
gagtcccagg ccaatgcttg cccacccag catccaagat gttgctcact aaagagacag 56640
agaagcagcc ttattatggg cctggacacc tgtgcatgag gggtaagca gagaggacct 56700
ggggagagac cctgccccct cttttccttc tccttcctct cctttctctt cttcttcctc 56760
ttcaaatagc tttttgaggt gtaactggca tacaatcaat tgtacatatt taggctgggt 56820
atggtggctc acgcctgtaa tcccagcact ttgggaggcc aaggcgggtg gatcacttga 56880
ggtcaggagt ttgagaccag cctgggcaac ccggtgaaac cccgtctcca ctaaaactac 56940
aaaaattagc caggcgtggg ggcagctgcc tgtaatcccg gctactcggg aggctgagge 57000
aggagaatca cttgaacctg ggaagcgaag tttgcagtga tctgagatca tgccactgca 57060
ctccagcctg ggtgacagag cgagactttg cctcaaaaac aaaacaaaac aattgtacat 57120
atttaaagtg ttgtaaccaa gtgagttaca gagaaacacc acactttgag cctaattcag 57180
gagtccttta ttagccggcg acctagagac gactagtgtc caaaattctc tcggcccaa 57240
agaaggggct agattttctt ttataccttg gtttagaaag gggaggggga attgagctga 57300
agcaatctta cagaagtaa acaggcaaaa aagttaaaaa gacaaatggt tacaggaaaa 57360
caaacagttc caggtgcagg agctttaaag ccatcacaag gtgacaggtg cgggggctct 57420
gggtgctatc tgccggacac aaacgcaggg gcactagagt actatcaccg gggcaaatc 57480
ctgggaactg cggacacagc ttgccacagt acctatcag ctaattgcac tctttgatgt 57540
gctgggagtc agcttgacac agttaagtcc ttgaggaagg ggggtgggtaa ggagccctta 57600
acgtcttgca aatgaaggag ccgaatggaa tccctccggc tttcttagct aagagagagt 57660
caatcaagtt aatacaagtt agggatcac aaaagtatat aatttgatac attttaacgt 57720
atttatacac tgaagagacc atcaccacca tcaagacaag gagcacaccg atcacttcca 57780
cacacttctt cctgctcctt tgaaattcct cccttctac ccacctggtc ccacccaag 57840
gcaaccactg aactactttc tgctactaag gtttgcgttt tctgtaattt ttttgtttga 57900
gacagggctc cactccgcca cccacaccgt aatgcagtgg caccatcatg actcactgta 57960
gcctcaacct ccccaggctc aggagatcct cccccctcag cctcctgagt agctaggacc 58020
acaggtgtag gccaccatgg caggctaatt tttgtatfff tttgtagaga tggggtttca 58080
ccgtattacc taggctggtc tcgaactcat gggttcaagc aatcctcctg ccttggcctc 58140

tcaaagtgct gggattatag gcatgagcca ctgtgccag ccctctgtaa tgttacacaa 58200
 agggaatcat gcagcacgta ctgcccttgg tctggcctct tttgctcagc atgattatc 58260
 tgagaatcat ccgtgttggt gcgtgtaact gacttcatca gcttctctct gcagctgtca 58320
 gctcttggct tctcccaaca gccaatctct ctttatcccc tgcaagtgtt cttgcctatt 58380
 tagcagaatc aaggctactct atcgaaaaga ctcggaaaat tggtttaatc tattcattca 58440
 ttctcaggt atttatcgaa taactattct ataccaagta ctatgctaata caaccaagga 58500
 cagcacaac aggagaaatc tccagctcag tcaattgagt tgcaataaat atttgctgga 58560
 taggtcaggt gcagtggctc acacttgtaa tcccagcact ttggggatta ctgagacggg 58620
 aggatctctt gagcccagga ggccaaggct gcagagaacc atgatcatgc cactgcactc 58680
 cagcctgggt gacagagtga gatcctgtct ctgaaaaaaaa atatttctctg gataaattaa 58740
 ggaaatctga cgaaccccat cagtagccat tgcagcaaca ggtaactag aacgagtgtg 58800
 aatttggaaat gaggaaccc gatgttggcc atcattctgt aatgtcatgt attatgtaat 58860
 gtattatata ttaatgtatg tattatgtag gcaagttcct tgacctctct cactggtaac 58920
 ataagagtga taatctttgt gctacttcac tgggttattt caaagatcaa gtgaggtaat 58980
 aatgtctgta acaacattct gtaaaatgca aaccgccaca tgaatgtgaa agtttattac 59040
 tagggattta gccaaccaca agggaatgtg tgagcataag agctatcata ttgcaagcct 59100
 acagtttctg attttctgct aggtgctttt ccacattacc tgattttatc ctcacaacag 59160
 tcctgcataa aagtaagtat gtcgcccagg tgcggtggct catgcctata atcccagcac 59220
 tttgggagcc cgaggtggc aatcacttg agatcaggag tttgaaacca gcctggtaac 59280
 cgtggtgcaa ccctgtctct actaaaaata caaaaaaaaa ttagacaggc gtggtgggtg 59340
 atgcctgtaa tcccagctac ttgggaagct gaggcaggag aatggcttga gcccgggaga 59400
 tggagattgc agtgagatga gattgcgcca ctgcactcca gcctgggtga cagagcaagg 59460
 ctatgtctca aaagagaaaa aaaaagtaag tatctcagtc ttgaagatga tgaaatggag 59520
 gcctagagag attaagtaac ttgccccaaa tgacagaact aatgcataga aaagaagaaa 59580
 tgtgatgtct tttggctcca aagacacccc acatatgcgt tggttacagt tactagagaa 59640
 aagttattcc acccccacc caccaccaga aatcttctga cttgttttct cgcagttgag 59700
 taggaccatt tattcggcag tgtaccattc tcagcttgca gttgaaagcc aaatatccat 59760
 taaagaggca aggatgcaaa cttgctaagc tgataaatcc aggggtgatt ttttttttt 59820
 ttgcaaacca tccaacaaga cattttaaat actcattgaa tttcatagaa ctgactgcca 59880
 ggattgaaa gacattaaag ccagctcagc cactgcctcg ctggttggcc agaccacgcc 59940
 tggcacttct gggaggagc actcaccacc cccaagggc acccatctca tcctccgaag 60000
 gtttatgaaa atgcactcat catttgctaa ttcattccac tacgtgtatt acctaattg 60060
 tgacacgatg tgaagtacca gagagataat tctaaataaa atatagttat gggctctcaag 60120
 gagccagata tgctaatect ctatcctcct gcagtttaca gtggtcctca ccagatactt 60180
 atttacaata attcagttta ttatttattt ttttgagaca gagtcttgct ctatagctca 60240

ggctagagtg taatggtgtg atctcggctc acttcaacct ctgcctccca ggttcaagtg 60300
 attctcctgc ctcaacctcc caagtagctg ggactacagg cacctgccac cacggctaata 60360
 ttttgagatt ttagtagaga cagggtttca ccacgttggc caggctggcc tcgaactcct 60420
 gacctcaggt gatctgcca catcagctc ccaaaatggt gggattacag gcgtgagcca 60480
 ccatgcccgg ccaaaacttc agtttataac acaatcttcc acgtgtcttc tgctttcatt 60540
 aaaagaatag acagttccct tctttatttc agtttaataa accatggatt ttatttcattg 60600
 ctttgcaaaa cacaagggct cactgacatg cacttcttaa actaattctg gctggtcgcc 60660
 tgtaattcca gcactttggg aggctgaggc cgacagatca cttcaagtca ggagttcaag 60720
 accagcctgg ccaatatggt gaaaccacgt ctctaccaa aatataaaaa attagccagg 60780
 tgtggtggtg cgtgactata atcccagcta ctcaggggcc tgaggcagaa aaatcacttg 60840
 aacccgggag gcgagggtta cagtgagctg agatcgcgcc actgcactcc agcctggggc 60900
 acagagttag actctgtctc aaaaaataaa taaatacaaa taatgtaaaa tacgaaacaa 60960
 gcaatcctgg cagtagctgc tggaatgaga ggagggagag gtcataagga ggtcggggac 61020
 aatggagcat ggagttgtgt tggatttggc taagcagcag gaagtgaag gcattccaag 61080
 caagaggagg ggggcaggtg gggagcatct gcaagaacag aagcagcatg agcaacctgg 61140
 ctcggcagtg tgtgaaaagg ctgaaaggtg gctagagcca cttcaatttc atccttcagg 61200
 caaatgggaa attcccaaag gtttgagtgg ggaagcaatg cctacaatga aagtttgaga 61260
 gtgaagcaga gtgatcgaat taagcatgta ggccgagttc tgaataaact gcaatgtgct 61320
 gaagatcatc cattggcttc tgaatgagta ttgacagttt attttttaaa atgattttat 61380
 tgccaagaaa gataaacact actgttttgg tacaaaaaca taacaaaatg tgttgagtcc 61440
 ctcttgctgt tttacgcgaa gttttaaaaa tctactcttg tcacagtggg atcaccctca 61500
 cttctgattt caaataaatg ttctagagac acagtaaggg cccaacaaac gcttgttcaa 61560
 caacacaagg agagccagct tttaaagtag gaaaacaggc cgggcgccgt ggctcacacc 61620
 tgtaatccca acactttggg aggctgaggt gggcagatca cttgaggtca ggagttcaag 61680
 aacagcttgg ccaacatggt gaaaccctgt ctctactaaa aacacaaaca ttagccaggc 61740
 gtggtggtgc acaccagtag tcccagctat tcaggaggct gaggcaggaa aatggcttga 61800
 actggggagg cagtggttgc agtgagccga gatcgtgcca ctgcactcca gcctggggga 61860
 cagagggaga ctccatctca aaataaaaca aaacaaaacc aatcataca aaaacattag 61920
 ctgggtgtgg tgggtcatac ctgtaatccc agctacttgg gaagctgagg cagaattact 61980
 tgaaccctg gggggagggt gcagttagct gagatcttgc cactacactc cagcctgggc 62040
 aacagagtga ggagactctg tctcaaaaaa tatatatatt aaaaaaaga aaaaaaaag 62100
 taaactagga aaacacatca gcagcctgcc aacagactcc cctagcctcg gtgagggcca 62160
 gtgttctggg aggcagatct gaattctagt cctagttcac cactggcag gctggtgccc 62220
 ttgggcaggt cgcttctctg gggctcagtt tcttctcta taaaatgaga tcaaatccca 62280

ES 2 445 709 T3

tgttctaaga gtttgtgctc tggagtcaga cagatctggg ttctaccact gccagctctg 62340
 tgatcttgta gcttcagtct cgtcatctga catggagata acagtaactg tctcactgtg 62400
 ttgttagggg ttaaaggaga taatgtatgt gaaatgtag caaacaagtg ttagctaccc 62460
 tgatttccgg tttcagagtt ctgtggcccc agtttatgcc acatgcagtg acgttgatg 62520
 gtaggctgtg gtgtggcacc acttcagaac tcagcgcagt cacagcttgc agaagagaag 62580
 gccagaggag acctaagaag gctcttcgaa cacttgaaag accggcatgt aggccgggcg 62640
 cagtactca cgctgtaat cccagcagtt ttggaggctg aggcgggtgg atcacctgag 62700
 tttgggagtt tgataccagc ctgaccaaca aggtgaaacc ccgtctctac taaaaaatac 62760
 aacattagc tgggcatggg ggcgggtgcc tgtaatccca gctactccgg tggttgaggc 62820
 agaattgctt gaacccggga ggcagagggt gcagtgagct gagattgcat cactgcactc 62880
 cagcctgaga caagagcgaa actccatctc aaacaaaaca aacaaccaac caaacaaaac 62940
 caaaaaaaaa actggcatgt agaagaaaaa tactttttct ctacacttct ccaaagaatt 63000
 taactaggcc caggggaggt gcagtataaa tttctaaca tctcaactgt ctgccaaatg 63060
 gaatgagcta cttcatatgg cagtagtgag tcctctgtct ttggaggcat tcaaataaaa 63120
 gccagatggc catttatcaa caatccatgt aaaacgtag atgaaataaa acctatatac 63180
 ccaagatctc ttccaattca gattttatga aagaatttct aaggctcttg taatgagaca 63240
 tttaggctgt ttcaagagat caagcaaaa tcagtatgtg ggttcatctg caataaaaat 63300
 gtttgttttg cttttacagt ttcctcattt ggctgttggg ttttaagcaa aagcatccaa 63360
 gaaaaacaag gcctgttcaa aaacaagaca acttcctctc actggtgcct gcatttgtag 63420
 gtgagaaacg ctcatgacag caaagtctcc ttatgtataa tgaaacaagg tcagagacag 63480
 atttgatatt aaaaaattaa agactaaaaa cttagttaa gagtcaattt aataagtta 63540
 aaataaatgt ttagtttcat taggatgatg ctatcaatat tttcttggtt acagacacat 63600
 tattaagtt ttgggttaat tttattgaca attcttaaga ttctttctca tgcttaataa 63660
 agcatgctac tcagttaact cttgtctaca tcagcaaagc agataataca aacaggaaa 63720
 attacaaatc actgatactt agtccttggt ggaatcatgc ttttctcca gcagttttac 63780
 aagggtgctg gcattccctg agcatattct gaattgcact gtggggaaag aggttgtgct 63840
 cagttgtagg gtggggggat gcactgcctg aggattaaaa aactagttct gtgaccgtga 63900
 ggaagtcggt taaatttcca tggctgttc cctcctatgt gaaaagagaa ggtgggcttc 63960
 aacctctaag atcttctcca gttttcacat tttatggact tttgtagaaa aaacatcagg 64020
 agttcatgtg ggatgacagc aagtcatctc tttgaggaga gtcttgatca ccaggcaata 64080
 ttcacagtgt agagactgtc agatgaccat ggctagcatg gaaatgagac ccacacattt 64140
 aaatcaccca gcaaatattc cgaaggctaa ttgtagcaca ttttatgaaa gacatttcaa 64200
 actgtggctc tgaagagtgt atccatctt gcagaggtgg ggagcctggg gggacaagag 64260
 ttctgaagag gaagagacaa caagagtcc cagtagctaa tgtttgcat tctagttgac 64320
 cgtgctggtc tattaggcta gtggttcagt acacagatga aatgcaacat ggaaccctg 64380

ES 2 445 709 T3

ttattatcag aacaactaca aagaaattgt cccctgtcta agactggagt gtcaagtctc 64440
 tgcccttttt tcctttcctt caatgggtga tgtggagtga ctgtgcatcc caccagaacc 64500
 acgtgtcatg gctgagtcac atcttcctgc ccttggaatg agaggcacag cggaagacct 64560
 tcccatggaa gggacacagg gagcctgggt gctggacat ggtgcttctc tcttccaaca 64620
 cgtccactca ccccttggga gaccctcaaa agccagttac attacatggt cacagaattt 64680
 ttgtaaaaag taaatacaca ttatagttag gaagaatttt gaccacggaa tttttaaaa 64740
 actaaaaaat gtttatattt catttaacat ttgacacaga agagaccaca tttgaataaa 64800
 cacattaaat cttcagagca ctttcattgt ggttttggac ctcagatatg acaataactt 64860
 acattgacaa atccataatt tcttttgtaa tttcttttta tttttacaaa ttataccatg 64920
 ataaaatttg acaaaaatta ttcattgtgaa agtttcctct aacattttat aagttaatca 64980
 agtgcatacc acaatagatt tttggttggt gtttaggtgt tctcgtgatt ttagtattac 65040
 acaactttaa gctgagacta cactcagaaa taagtttaga aaatggcatt acaaaagggt 65100
 gggagtgagc agtaaaaaaa caaacaacc catgcagggc tgttgtgctg tgggaaatca 65160
 gatgtgttca ctgccataag tcttcagtgc ggccaaactt aaaaaccagc cctctgtgaa 65220
 taaaacaaga aatatcacat gactccctga atttgagaaa agagtatgtg agatttcgag 65280
 aatgggtgga aacaaacaac gaagaataat tgatgagttg tagaagaaat tttggtacga 65340
 aatgtatcaa aacagaaact gatcattcta aggtagttaa ttcttcatt atgttcaact 65400
 gtgctattaa ccaccatatt cccaacaacc ttaactttca agtactgaat acacatgga 65460
 cttttaaaaa gttaccagtg tttactatgt aaccattata tgtctgattt ttttttttt 65520
 ttttgagaca gagtcttgct ctgtcgccca ggctggagtg cagtggcgtg atctcggctc 65580
 actgcaagct ctgcctcccg ggttcatgcc attctcctgc ctct 65624

REIVINDICACIONES

1. Un método para diferenciar las variantes de grupo sanguíneo *RHD*DIlla-CE(4-7)-D* o de tipo *RHD*DIlla-CE(4-7)-D*, que expresan el antígeno C^W y carecen de un antígeno D, de *RHD*DIlla*, *RHD*DIva-2* y otras variantes de grupo sanguíneo de un sujeto, comprendiendo el método:

determinar al menos 4 marcadores en una muestra que se ha obtenido del sujeto, en donde los marcadores comprenden:

- (i) la presencia o ausencia de un alelo de RHCE*C;
- (ii) la presencia o ausencia de un alelo del exón 3 híbrido de RHD/RHCE (RHD/CE Hex03);
- (iii) la ausencia de, o una variante de polimorfismo de un único nucleótido (SNP) dentro de, uno cualquiera del exón 4 de RHD, el exón 5 de *RHD* o el exón 6 de *RHD*; y
- (iv) la ausencia de, o variante de SNP dentro del, exón 7 de RHD,

en el que:

la ausencia de dicho alelo de RHCE*C; la presencia de dicho alelo del exón 3 híbrido de RHD/RHCE; la ausencia del exón 4 de *RHD*, exón 5 de *RHD* o exón 6 de *RHD*; y la ausencia del exón 7 de *RHD* en combinación indican que la muestra contiene dicha variante de grupo sanguíneo *RHD*DIlla-CE(4-7)-D* o dicha variante de grupo sanguíneo de tipo *RHD*DIlla-CE(4-7)-D*.

2. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que:

- a) la variante de SNP dentro del exón 4 de *RHD* está en la posición 602 de la secuencia codificante de *RHD* (rs1053355),
- b) la variante de SNP dentro del exón 5 de *RHD* está en la posición 667 de la secuencia codificante de *RHD* (rs1053356),
- c) la variante de SNP dentro del exón 6 de *RHD* está en la posición 819 de la secuencia codificante de *RHD*; y/o
- d) la variante de SNP dentro del exón 7 de *RHD* está en la posición 1048 de la secuencia codificante de *RHD* (rs41307826),

en el que la secuencia codificante de *RHD* es como se expone en SEC ID N°: 1.

3. Un método de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que los marcadores comprenden además:

- (v) la presencia o ausencia de un alelo del exón 3 de RHD,

en el que la ausencia de dicho exón 3 de *RHD* indica además que la muestra contiene dicha variante de grupo sanguíneo *RHD*DIlla-CE(4-7)-D* o dicha variante de grupo sanguíneo de tipo *RHD*DIlla-CE(4-7)-D*.

4. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que:

- a) el método comprende además determinar los fenotipos de antígenos RHD y RHC del sujeto de acuerdo con la Tabla 1; y/o
- b) el método comprende detectar la presencia o la ausencia de una variante de grupo sanguíneo seleccionada de: *RHD*DIlla*; *RHD*DIva-2*; o variantes de grupo sanguíneo *RHD*DIlla-CE(4-7)-D* o variantes de grupo sanguíneo de tipo *RHD*DIlla-CE(4-7)-D*, por ejemplo en el que el método comprende detectar la presencia o la ausencia de variantes de grupo sanguíneo *RHD*DIlla-CE(4-7)-D* o variantes de grupo sanguíneo de tipo *RHD*DIlla-CE(4-7)-D*; y/o
- c) el marcador (iii) es el SNP dentro del exón 4 de RHD en la posición 602 de la secuencia codificante de RHD (rs1053355); y/o
- d) el alelo de RHCE*C se determina determinando la presencia o la ausencia del intrón 2 de RHCE*C, o una cualquiera de las siguientes posiciones en la secuencia codificante de RHCE: posición 307 (exón 2), posición 48 (exón 1), posición 150 (exón 2), posición 178 (exón 2), posición 201 (exón 2) y/o posición 203 (exón 2),

en el que la secuencia codificante de *RHD* es como se expone en SEC ID N°: 1 y en el que la secuencia codificante de *RHCE* es como se expone en SEC ID N°: 2.

5. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la muestra comprende ácido nucleico y el método comprende amplificar el ácido nucleico o una parte del mismo por PCR usando cebadores, por ejemplo en el que:

- a) los cebadores de PCR para determinar el alelo de RHCE*C son un cebador de PCR directo específico para RHCE*C y un cebador de PCR inverso no específico, por ejemplo en donde

- (i) el cebador inverso no específico está compartido con RHD, RHC*C y/o RHC*c; y/o
(ii) los cebadores de PCR comprenden:

5 Directo: 5'-GGCCACCACCATTTGAA-3' (SEC ID N°: 3)
 Inverso: 5'-CCATGAACATGCCACTTCAC-3', (SEC ID N°: 4); y/o

b) los cebadores de PCR para determinar el alelo de RHD/CE Hex03 son cebadores de PCR directo e inverso que se dirigen a secuencias localizadas en los intrones 2 y 3, o intrones 3 y 2, respectivamente, por ejemplo en donde

10 (i) los cebadores de PCR comprenden:

 Cebador directo: 5'-TCCTGGCTCTCCCTCTCT-3' (SEC ID N°: 9)
 Cebador inverso: 5'-TTTTCAAACCCCGGAAG-3 (SEC ID N°: 10);
15 y/o

c) los cebadores de PCR para determinar el SNP dentro del exón 4 de RHD en la posición 602 de la secuencia codificante de *RHD* (rs1053355) son cebadores directo e inverso que se dirigen a secuencias localizadas en los intrones 3 y 4, o intrones 4 y 3, respectivamente, por ejemplo en donde

20 (i) los cebadores de PCR comprenden:

 Cebador directo: 5'-GCTCTGAACCTTCTCCAAGGACT-3' (SEC ID N°: 17)
25 Cebador inverso: 5'-ATTCTGCTCAGCCCAAGTAG-3' (SEC ID N°: 18); y/o

d) los cebadores de PCR para determinar el SNP dentro del exón 5 de RHD en la posición 667 de la secuencia codificante de *RHD* (rs1053356) son cebadores directo e inverso que se dirigen a secuencias localizadas en los intrones 4 y 5, o intrones 5 y 4, respectivamente, por ejemplo en donde

30 (i) los cebadores de PCR comprenden:

 Cebador directo: 5'-TTGAATTAAGCACTTCACAGAGCA-3' (SEC ID N°: 19)
35 Cebador inverso: 5'-CACCTTGCTGATCTTCCC-3' (SEC ID N°: 20); y/o

e) los cebadores de PCR para determinar el SNP dentro del exón 6 de RHD en la posición 819 de la secuencia codificante de *RHD* son cebadores directo e inverso que se dirigen a secuencias localizadas en los intrones 5 y 6, o intrones 6 y 5, respectivamente, por ejemplo en donde

40 (i) los cebadores de PCR comprenden:

 Cebador directo: 5'-AGTAGTGAGCTGGCCCATCA-3' (SEC ID N°: 21)
 Cebador inverso: 5'-CTCAGCCAAAGCAGAGGAG-3' (SEC ID N°: 22); y/o

45 f) los cebadores de PCR para determinar el SNP dentro del exón 7 de RHD en la posición 1048 de la secuencia codificante de *RHD* (rs41307826) son cebadores directo e inverso que se dirigen a secuencias localizadas en los intrones 6 y 7, o intrones 7 y 6, respectivamente, por ejemplo en los que

50 (i) los cebadores de PCR comprenden:

 Cebador directo: 5'-ACAACTCCCCGATGATGTGAGTG-3' (SEC ID N°: 35)
 Cebador inverso: 5'-GAGGCTGAGAAAGGTTAAGCCA-3' (SEC ID N°: 36); y/o

55 g) dependiendo de la reivindicación 3, los cebadores de PCR para determinar el alelo del exón 3 de RHD son cebadores directo e inverso que se dirigen a secuencias localizadas en los intrones 2 y 3, o intrones 3 y 2, respectivamente, por ejemplo en donde

60 (i) los cebadores de PCR comprenden:

 Cebador directo: 5'-TCCTGGCTCTCCCTCTCT-3' (SEC ID N°: 15)
 Cebador inverso: 5'-GTTGTCTTTATTTTCAAACCCCT-3' (SEC ID N°: 16);

en el que la secuencia codificante de RHD es como se expone en SEC ID N°: 1.

65 6. Un método de acuerdo con la reivindicación 5, en el que el ácido nucleico amplificado comprende un marcador, por ejemplo en el que

- a) el marcador comprende un nucleótido biotilado; y/o
- b) el marcador comprende un resto fluorescente.

5 7. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la muestra comprende ácido nucleico, y el método comprende amplificar el ácido nucleico o una parte del mismo por PCR usando cebadores, fragmentar el ácido nucleico amplificado y marcar el ácido nucleico fragmentado con ddNTP biotilados usando una enzima desoxinucleotidil transferasa terminal (TdT).

10 8. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que determinar la presencia, la ausencia o la variante de SNP de un marcador comprende poner en contacto ácido nucleico que contenga cada marcador con una o más sondas, por ejemplo, en el que:

15 a) dependiendo de la reivindicación 3, las sondas para determinar la presencia o la ausencia de RHD/CE Hex03 o el exón 3 de RHD entran en contacto con un SNP localizado tanto en RHD/CE Hex03 como en el exón 3 de RHD, en el que una variante de SNP es específica para RHD/CE Hex03 y otra variante de SNP es específica para el exón 3 de RHD, por ejemplo en el que

20 (i) el SNP está en la posición 410 de la secuencia codificante, localizada tanto dentro de RHD/CE Hex03 como del exón 3 de RHD; y/o
(ii) las sondas comprenden:

- (1) 5'-TTTTACAGACGCCTGCTACCATG-3', (SEC ID N°: 5)
- (2) 5'-CATGGTAGCAGGCGTCTGTAAAA-3', (SEC ID N°: 6)
- 25 (3) 5'-TTTTACAGACGTCTGCTACCATG-3', (SEC ID N°: 7) y
- (4) 5'-CATGGTAGCAGACGTCTGTAAAA-3', (SEC ID N°: 8); y/o

30 b) las sondas para determinar la ausencia o la variante de SNP del SNP en: posición 602 de la secuencia codificante de *RHD* localizada dentro del exón 4 (rs1053355), posición 667 de la secuencia codificante de *RHD* localizada dentro del exón 5 (rs1053356), o posición 819 de la secuencia codificante de *RHD* localizada dentro del exón 6 comprenden:

(i) exón 4 de RHD:

- 35 (1) 5'-ATAAAGATCAGACAGCAACGATACC-3' (SEC ID N°: 23)
- (2) 5'-TAAAGATCAGACAGCAACGATAC-3' (SEC ID N°: 24)
- (3) 5'-ATAAAGATCAGAGAGCAACGATACC-3' (SEC ID N°: 25)
- (4) 5'-TAAAGATCAGAGAGCAACGATAC-3' (SEC ID N°: 26);

40 (ii) exón 5 de RHD:

- (1) 5'-CTGGCCAAGTTTCAACTCTGC-3' (SEC ID N°: 27)
- (2) 5'-TGGCCAAGTTTCAACTCTG-3' (SEC ID N°: 28)
- (3) 5'-CTGGCCAAGTGTCAACTCTGC-3' (SEC ID N°: 29)
- 45 (4) 5'-TGGCCAAGTGTCAACTCTG-3' (SEC ID N°: 30);

(iii) exón 6 de RHD:

- 50 (1) 5'-GTGCACAGTGCGGTGTTGGCAGG-3' (SEC ID N°: 31)
- (2) 5'-TGCACAGTGCGGTGTTGGCAG-3' (SEC ID N°: 32)
- (3) 5'-GTGCACAGTGCAAGTGTGGCAGG-3' (SEC ID N°: 33)
- (4) 5'-TGCACAGTGCAAGTGTGGCAG-3' (SEC ID N°: 34); y/o

55 c) las sondas para determinar la variante de SNP del SNP en la posición 1048 de la secuencia codificante de *RHD* localizada dentro del exón 7 (rs41307826) comprenden:

- (1) 5'-TGCTGGTGCTTGATACCGTCGGA-3' (SEC ID N°: 37)
- (2) 5'-GCTGGTGCTTGATACCGTCGG-3' (SEC ID N°: 38)
- (3) 5'-TGCTGGTGCTTCATACCGTCGGA-3' (SEC ID N°: 39)
- 60 (4) 5'-GCTGGTGCTTCATACCGTCGG-3' (SEC ID N°: 40);

en el que la secuencia codificante de *RHD* es como se expone en SEC ID N°: 1.

65 9. Un método de acuerdo con la reivindicación 8, en el que

- a) una o más de las sondas comprenden un marcador, por ejemplo en el que el marcador es un resto

fluorescente; y/o

b) una o más de las sondas están unidas con un soporte sólido o conjugadas con una o más partículas.

5 10. Uso de un conjunto de cebadores en un método para diferenciar las variantes de grupo sanguíneo *RHD*DIlla-CE(4-7-D)* o de tipo *RHD*DIlla-CE(4-7)-D*, que expresan el antígeno C^W y carecen de un antígeno D, de *RHD*DIlla*, *RHD*DIva-2* y otras variantes del grupo sanguíneo, amplificando ácido nucleico que comprende al menos los cuatro marcadores de la reivindicación 1, en el que el conjunto de cebadores comprende al menos tres pares de cebadores seleccionados de los cebadores expuestos en:

- 10 (i) reivindicación 5(a),
 (ii) reivindicación 5(b),
 (iii) una cualquiera de las reivindicaciones 5(c), 5(d) o 5(e)
 (iv) reivindicación 5(f), y
 (v) reivindicación 5(g).

15 11. Uso de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el conjunto de cebadores comprende al menos tres pares de cebadores seleccionados de los cebadores expuestos en:

- 20 (i) reivindicación 5(a)(ii),
 (ii) reivindicación 5(b)(i),
 (iii) una cualquiera de las reivindicaciones 5(c)(i), 5(d)(i) o 5(e)(i),
 (iv) reivindicación 5(f)(i), y
 (v) reivindicación 5(g)(i).

25 12. Uso de acuerdo con la reivindicación 10 o reivindicación 11, en el que al menos el 50 % de los cebadores en el conjunto son los pares de cebadores definidos en la reivindicación 10 u 11.

30 13. Uso de un conjunto de sondas en un método para diferenciar las variantes de grupo sanguíneo *RHD*DIlla-CE(4-7-D)* o de tipo *RHD*DIlla-CE(4-7)-D*, que expresan el antígeno C^W y carecen de un antígeno D, de *RHD*DIlla*, *RHD*DIva-2* y otras variantes del grupo sanguíneo, determinando la presencia, la ausencia o la variante de polimorfismo de un único nucleótido (SNP) de al menos los cuatro marcadores de la reivindicación 1, en el que el conjunto de cebadores comprende:

- 35 (i) las sondas de SEC ID N°: 5, 6, 7 y 8;
 (ii) las sondas de SEC ID N°: 23, 24, 25 y 26;
 (iii) las sondas de SEC ID N°: 31, 32, 33 y 34
 (iv) las sondas de SEC ID N°: 27, 28, 29 y 30; y
 (v) las sondas de SEC ID N°: 37, 38, 39 y 40.

40 14. Uso de acuerdo con la reivindicación 13, en el que:

a) las sondas se inmovilizan en un soporte sólido o se conjugan con una o más partículas, por ejemplo en el que el soporte sólido comprende uno o más marcadores unidos, por ejemplo en el que el marcador es un fluorocromo; y/o

45 b) una o más sondas comprenden un marcador, por ejemplo en el que el marcador es un resto fluorescente.

15. Uso de un kit para genotipar un sujeto, comprendiendo el kit un conjunto de cebadores de PCR como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, y un conjunto de sondas como se han definido en una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 14.

50

FIGURA 1

1 ATGAGCTCTA AGTACCCGCG GTCTGTCCGG CGCTGCCTGC CCCTCTGGGC CCTAACACTG
 EXÓN 1

61 GAAGCAGCTC TCATTCTCCT CTTCTATTTT TTTACCCACT ATGACGCTTC CTTAGAGGAT
 121 CAAAAGGGGC TCGTGGCATC CTATCAAG TT GGCCAAGATC TGACCGTGAT GCGGGCCATT
 EXÓN 2

181 GGCTTGGGCT TCCTCACCTC GAGTTTCCGG AGACACAGCT GGAGCAGTGT GGCCTTCAAC
 241 CTCTTCATGC TGGCGCTTGG TGTGCAGTGG GCAATCCTGC TGGACGGCTT CCTGAGCCAG
 301 TTCCTTCTG GGAAGGTGGT CATCACACTG TTCAG TATTC GGCTGGCCAC CATGAGTGCT
 EXÓN 3

361 TTGTCGGTGC TGATCTCAGT GGATGCTGTC TTGGGGAAGG TCAACTTGGC GCAGTTGGTG
 421 GTGATGGTGC TGGTGGAGGT GACAGCTTTA GGCAACCTGA GGATGGTCAT CAGTAATATC
 481 TTCAAC ACAG ACTACCACAT GAACATGATG CACATCTACG TGTTCCGAGC CTATTTTGGG
 EXÓN 4

541 CTGTCTGTGG CCTGGTGCCT GCCAAAGCCT CTACCCGAGG GAACGGAGGA TAAAGATCAG
 601 ACAGCAACGA TACCCAGTTT GTCTGCCATG CTGG GCGCCC TCTTCTTG TG GATGTTCTGG
 EXÓN 5

661 CCAAGTTTCA ACTCTGCTCT GCTGAGAAGT CCAATCGAAA GGAAGAATGC CGTGTTC AAC
 721 ACCTACTATG CTGTAGCAGT CAGCGTGGTG ACAGCCATCT CAGGGTCATC CTTGGCTCAC
 781 CCCAAGGGA AGATCAGCAA G ACTTATGTG CACAGTGCCG TGTTGGCAGG AGGCGTGGCT
 EXÓN 6

841 GTGGGTACCT CGTGTACCT GATCCCTTCT CCGTGGCTTG CCATGGTGCT GGGTCTTGTG
 901 GCTGGGCTGA TCTCCGTCCG GGGAGCCAAG TACCTGCCG G GGTGTTGTAA CCGAGTGCTG
 EXÓN 7

961 GGGATTCCCC ACAGCTCCAT CATGGGCTAC AACTTCAGCT TGCTGGGTCT GCTTGGAGAG
 1021 ATCATCTACA TTGTGCTGCT GGTGCTTGAT ACCGTCCGAG CCGGCAATGG CAT GATTGGC
 EXÓN 8

1081 TTCCAGGTCC TCCTCAGCAT TGGGAACTC AGCTTGGCCA TCGTGATAGC TCTCACGTCT
 1141 GGTCTCCTGA CAG GTTTGCT CCTAAATCTT AAAATATGGA AAGCACCTCA TGAGGCTAAA
 EXÓN 9

1201 TATTTTGATG ACCAAGTTTT CTGGAAG TTT CCTCATTTGG CTGTTGGATT TAA
 EXÓN 10

SEC ID Nº: 1

FIGURA 2

1 ATGAGCTCTA AGTACCCGCG GTCTGTCCGG CGCTGCCTGC CCCTCTGGGC CCTAACACTG
EXÓN 1

61 GAAGCAGCTC TCATTCTCCT CTTCTATTTT TTTACCCACT ATGACGCTTC CTTAGAGGAT
 121 CAAAAGGGGC TCGTGGCATC CTATCAAG TC GGCCAAGATC TGACCGTGAT GCGGGCCCTT
EXÓN 2

181 GGCTTGGGCT TCCTCACCTC AAATTTCGGG AGACACAGCT GGAGCAGTGT GGCCTTCAAC
 241 CTCTTCATGC TGGCGCTTGG TGTGCAGTGG GCAATCCTGC TGGACGGCTT CCTGAGCCAG
 301 TTCCCTCCTG GGAAGGTGGT CATCACACTG TTCAG TATTC GGCTGGCCAC CATGAGTGTG
EXÓN 3

361 ATGTCGGTGC TGATCTCAGC GGGTGTGTG TTTGGGAAGG TCAACTTGGC GCAGTTGGTG
 421 GTGATGGTGC TGGTGGAGGT GACAGCTTTA GGCACCCTGA GGATGGTCAT CAGTAATATC
 481 TTCAAC ACAG ACTACCACAT GAACCTGAGG CACTTCTACG TGTTCGCAGC CTATTTTGGG
EXÓN 4

541 CTGACTGTGG CCTGGTGCCT GCCAAAGCCT CTACCCAAGG GAACGGAGGA TAATGATCAG
 601 AGAGCAACGA TACCCAGTTT GTCTGCCATG CTGG GCGCCC TCTTCTTGTG GATGTTCTGG
EXÓN 5

661 CCAAGTGTC AACTCTGCTCT GCTGAGAAGT CCAATCCAAA GGAAGAATGC CATGTTCAAC
 721 ACCTACTATG CTCTAGCAGT CAGTGTGGTG ACAGCCATCT CAGGGTCATC CTTGGCTCAC
 781 CCCCAAAGGA AGATCAGCAT G ACTTATGTG CACAGTGCGG TGTGGCAGG AGGCGTGGCT
EXÓN 6

841 GTGGGTACCT CGTGTACCT GATCCCCTTCT CCGTGGCTTG CCATGGTGCT GGTCTTGTG
 901 GCTGGGCTGA TCTCCATCGG GGGAGCCAAG TGCCTGCCG G TGTGTTGTAA CCGAGTGCTG
EXÓN 7

961 GGGATTCAAC ACATCTCCGT CATGCACTCC ATCTTCAGCT TGCTGGGTCT GCTTGAGAG
 1021 ATCACCTACA TTGTGCTGCT GGTGCTTCAT ACTGTCTGGA ACGGCAATGG CAT GATTGGC
EXÓN 8

1081 TTCCAGGTCC TCCTCAGCAT TGGGGAAGTC AGCTTGGCCA TCGTGATAGC TCTCACGTCT
 1141 GGTCTCCTGA CAG GTTTGCT CCTAAATCTC AAAATATGGA AAGCACCTCA TGTGGCTAAA
EXÓN 9

1201 TATTTTGATG ACCAAGTTTT CTGGAAG TTT CCTCATTGG CTGTTGGATT TTAA
EXÓN 10

SEC ID Nº: 2