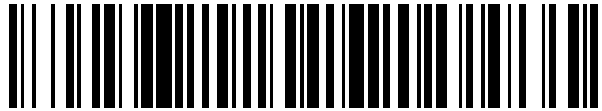


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 449 152**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.11.2008 E 08851071 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.01.2014 EP 2220256**

54 Título: **Procedimiento in vitro de diagnóstico del cáncer de piel**

30 Prioridad:

21.11.2007 FR 0759193

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

18.03.2014

73 Titular/es:

**ASSISTANCE PUBLIQUE - HÔPITAUX DE PARIS
(100.0%)
3 AVENUE VICTORIA
75004 PARIS, FR**

72 Inventor/es:

SOUFIR, NADEM

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 449 152 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

Procedimiento *in vitro* de diagnóstico del cáncer de piel.

5 La presente invención se refiere al diagnóstico del cáncer de piel y, más específicamente, a un procedimiento de diagnóstico *in vitro* del cáncer cutáneo para un sujeto sospechoso de tener o de estar predispuesto al cáncer cutáneo.

10 El conocimiento de la predisposición genética al melanoma ha evolucionado considerablemente estos últimos quince años. Se han identificado dos genes importantes de predisposición al melanoma, correspondiendo dichos genes a CDKN2A y CDK4. Estos dos genes están esencialmente implicados en la predisposición familiar y en múltiples casos esporádicos de melanomas (HUSSUSSIAN *et al.*, Nat. Genet., vol. 8, p. 15-21, 1994; KAMB *et al.*, Nat. Genet., vol. 8, p. 23-6, 1994; ZUO *et al.*, Nat. Genet., vol. 12, p. 97-9, 1996).

15 Unos estudios recientes han identificado unos sitios principales implicados en la susceptibilidad sobre los cromosomas 1p22 (GILLANDERS *et al.*, Am. J. Hum. Genet., vol. 73, p. 301-13, 2003) y 9q21 (JONSSON *et al.*, J. Natl. Cancer Inst., vol. 97, p. 1377-82, 2005).

20 Por lo tanto, existen hoy día unas evidencias recurrentes de una implicación de múltiples factores genéticos en la predisposición al melanoma, y está en progreso la identificación de otras variantes genéticas asociadas a una menor contribución al riesgo de melanoma. Entre estas nuevas variantes, se pueden citar así las variantes de tipo RHC del gen *MC1R*, para el cual se ha demostrado que constituye un gen del melanoma de baja penetrancia (PALMER *et al.*, Am. J. Hum. Genet., vol. 66, p. 176-86, 2000; KENNEDY *et al.*, J. Invest. Dermatol., vol. 117, p. 294-300, 2001; MATICHARD *et al.*, J. Med. Genet., vol. 41, p:e13, 2004; STRATIGOS *et al.*, J. Invest. Dermatol., 2006; LANDI *et al.*, J Natl. Cancer Inst., vol. 97, p:998-1007, 2005; DEBNIAC *et al.*, Int. J. Cancer, vol. 119, p. 2597-602, 2006; HEALY, Photodermatol. Photoimmunol. Photomed., vol. 20, p. 283-8, 2004) y que se trata como un elemento modificador del riesgo de melanoma en los individuos que tienen unas mutaciones de CDKN2A (BOX *et al.*, Am. J. Hum. Genet., vol. 69, p:4, 2001; VAN DER VELDEN *et al.*, Am. J. Hum. Genet., vol. 69, p:4, 2001; CHAUDRU *et al.*, Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., vol. 14, p:2384-90, 2005.). Así, se han identificado cinco variantes alélicas de *MC1R* (D84E, R142H, R151C, R160W y D294H) por estar muy asociadas con un fenotipo caracterizado por cabello pelirrojo, piel clara, pecas y sensibilidad al sol, y son conocidas ahora bajo el término de variantes RHC.

30 Por lo tanto, existe también una necesidad importante de identificar otros genes implicados en la susceptibilidad al cáncer de piel con el fin de identificar claramente y completamente a los sujetos que presentan la mayor predisposición al melanoma, con el fin de seguir estos sujetos con prioridad.

35 La presente invención se basa en el descubrimiento de una asociación fuerte entre algunos alelos del gen *MATP/SLC45A2* y el melanoma y, más específicamente, entre el alelo *SLC45A2 374F* y un riesgo incrementado de melanoma, mientras que el alelo *SLC45A2 374L* presenta un efecto protector frente al melanoma. Además, se había demostrado previamente que el alelo *SLC45A2 374F* estaba asociado a una disminución de la cantidad de melanina fotoprotectora (eumelanina) en la epidermis (NORTON *et al.*, Mol Biol Evol., 24:710-22; 2007), lo cual sugiere o bien una disminución de la expresión, o bien una pérdida de función de la proteína *MATP/SLC45A2*. A partir de los resultados obtenidos por los inventores, es por tanto posible concluir asimismo que la presencia del alelo 374F del gen *MATP/SLC45A2* está también asociada a un riesgo incrementado de melanoma, y que la presencia del alelo *SLC45A2 374L* está asociada a un efecto protector contra el melanoma.

40 Por "gen *MATP/SLC45A2*" se entiende en la presente memoria el gen que codifica para la proteína transportadora asociada a las membranas (*MATP*) denominada originalmente *AIM1*, y renombrada recientemente "miembro 2 de la familia de los transportadores de soluto" (o *SLC45A2*). El gen *MATP/SLC45A2* está situado en el cromosoma 5p (Gen ID 51151) y presenta la secuencia tal como se describe en el número de acceso NT_006576.15 (SEC ID n° 1). La proteína *MATP/SLC45A2* (Secuencia del ARNm: número de acceso NM_001012509) presenta la secuencia proteica SEC ID N° 3 (número de acceso: NP_001012527).

45 La proteína *MATP/SLC45A2* está designada en la presente memoria indistintamente por los términos "*MATP*", "*SLC45A2*" o "*MATP/SLC45A2*".

50 Debido a su sobreexpresión establecida en ciertas líneas celulares de melanoma con respecto a su expresión en los melanocitos normales (ausencia de expresión en los tejidos normales), el gen *MATP/SLC45A2* se conocía como un antígeno de melanoma (Harada M *et al.*, Cancer Research, 1089-1094; 2001).

55 La presente invención se basa en el hecho de que el alelo *SLC45A2 374F* está asociado a un riesgo incrementado de melanoma, mientras que el alelo *SLC45A2 374L* presenta por el contrario un efecto protector frente al melanoma.

60 El polimorfismo *SLC45A2 L374F* se conocía ya en la fecha de la invención. Este polimorfismo había sido descrito en efecto en la técnica anterior como uno de los numerosos polimorfismos identificados en individuos que padecen albinismo oculocutáneo. En dichos pacientes, esta variante parece bastante común y el 8,5% de los individuos

ensayados presentan esta variante de manera heterocigota (Rundshagen U. *et al.*, Human mutation; 23:106-110; 2004). Sin embargo, no se sugiere el paralelismo entre este polimorfismo y la pérdida de pigmentación relacionada con el albinismo. Asimismo, Newton *et al.* (Am. J. Hum. Genetic; 69: 981-988; 2001) habían identificado este polimorfismo en 67 individuos, incluso en individuos con pigmentación normal, y esto de manera homocigota. Según este último artículo, la mutación L374F de la proteína SLC45A2 es "neutra" frente a los mecanismos de hipopigmentación responsables del albinismo.

Por otra parte, otros estudios han puesto en evidencia la asociación entre el alelo L374F de *MATP/SLC45A2* y la pigmentación humana normal en algunas poblaciones, en particular en los afro-americanos (Norton HL *et al.*, Mol. Biol. Evol, 24(3):710-722, 2007; Graf *et al.*, Hum. Mutat., vol. 25, p. 278-84, 2005). Sin embargo, esta asociación no se podría sugerir en la presente invención, ya que varios centenares de genes influyen en la pigmentación sin por ello estar asociados a una predisposición al melanoma (véase por ejemplo Sulem P, Nature Genetics; volumen 39, número 12, 2007).

Así, los presentes inventores han podido demostrar por otro lado que, a pesar de que está asociada a la pigmentación, la variante de *MATP/SLC45A2* 374 identificada en la presente memoria predice el riesgo de melanoma de manera independiente de las características pigmentarias. Más particularmente, los presentes inventores han mostrado que el efecto *SLC45A2* L374F sobre la predisposición al melanoma persiste incluso después de la estratificación sobre las características de pigmentación o en un modelo de regresión logística que integra los 2 factores de riesgo genético (*MATP* L374F, variantes MC1R) y los factores de riesgo clínicos (color de los ojos, del cabello, fototipo y número de nevus). Esto sugiere que frente al riesgo de melanoma, la información relacionada con el genotipo SLC45A2 L374F no es redundante con las características de pigmentación, y que esta variante es por lo tanto un factor de riesgo de melanoma fuerte e independiente (véase también el artículo de los inventores Guedj M *et al.*, Human Mutation 29(9), 1154-1160, 2008).

En consecuencia, un primer objeto de la invención se basa en un procedimiento *in vitro* destinado a identificar a un sujeto que padece o que presenta una predisposición al cáncer de piel, caracterizado porque comprende la etapa de análisis de una muestra biológica que procede de dicho sujeto mediante:

- a) la detección de un polimorfismo del gen *MATP/SLC45A2* (SEC ID n° 1), asociado a un solo nucleótido (SNP) se selecciona de entre el grupo que comprende la SNP rs 1689182 (nucleótido N en la posición 301 de la SEC ID n° 2, estando el nucleótido G asociado a un cáncer cutáneo) y que conduce a la presencia de una fenilalanina en la posición 374 de la proteína *MATP/SLC45A2* (SEC ID n° 3) y el SNP rs26722 (nucleótido N en la posición 301 de la SEC ID n° 4, estando el nucleótido C asociado a un cáncer cutáneo) que conduce a la presencia de un residuo glutamato en la posición 272 de la proteína *MATP/SLC45A2* (SEC ID n° 3).

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "sujeto" se refiere a un mamífero, preferentemente a un ser humano.

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "muestra biológica" se refiere a cualquier muestra sólida o líquida procedente de un sujeto. A título de ejemplo de muestras sólidas, se puede citar una muestra de piel y, a título de ejemplo de muestras líquidas se puede citar una muestra de sangre.

Preferentemente, dicha muestra biológica es una muestra sanguínea cuando se efectúa una etapa de detección de un polimorfismo del gen *MATP/SLC45A2*.

Más preferentemente, dicha muestra biológica es una muestra de piel cuando se efectúa una etapa de análisis de la expresión del gen *MATP/SLC45A2*.

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "cáncer de piel" se refiere a un cáncer que implica un tipo celular de la epidermis o de la dermis, preferentemente dicho cáncer de piel es un melanoma.

Más ventajosamente, dicho polimorfismo del gen *MATP/SLC45A2* está asociado a un nivel de expresión significativamente más bajo del gen *MATP/SLC45A2*.

Preferentemente, dicho SNP corresponde al SNP rs1689182 (nucleótido N en la posición 301 de la SEC ID n° 2, estando el nucleótido G asociado a un cáncer cutáneo) y que conduce a la presencia de una fenilalanina en la posición 374 de la proteína *MATP/SLC45A2* (SEC ID n° 3).

El experto en la materia, frente a sus conocimientos generales y a la presente descripción, podrá identificar simplemente otros polimorfismos del gen *MATP/SLC45A2* asociado a una predisposición al cáncer de piel.

En un modo de realización preferido, el procedimiento de la invención permite identificar a un sujeto que padece o que presenta una predisposición al cáncer de piel analizando, además de uno de los polimorfismos del gen *MATP/SLC45A2* y/o su expresión, un polimorfismo de otro gen de susceptibilidad al melanoma.

Este otro gen de susceptibilidad es, por ejemplo, el gen *MC1R* (gen que codifica para el receptor a la melanocortina 1). En efecto, los presentes inventores han podido demostrar que cuatro polimorfismos del gen del receptor a la melanocortina 1, o *MC1R* (NP 002377.4, SEC ID n° 5), están asociados a un riesgo incrementado de melanoma.

5 La proteína MC1R está codificada por el gen humano *MC1R* (Gen ID 4157), que está transcrito en un ARNm de secuencia NM 002386.3 (SEC ID n° 10). Se han identificado cinco variantes alélicas de MC1R (D84E, R142H, R151C, R160W y D294H) por estar asociadas en gran medida con un fenotipo caracterizado por cabellos pelirrojo, piel clara, pecas y sensibilidad al sol. Estas variantes alélicas son conocidas ahora bajo el término "variantes RHC" (FLANAGAN *et al.*, Hum Mol Genet, vol. 9, p. 2531-7, 2000; DUFFY *et al.*, Hum. Mol. Genet., Vol. 13, p. 447-61, 2004; REES, Am. J. Hum. Genet., vol. 75, p. 739-51, 2004; Sulem P, Nature Genetics; volumen 39, número 12, 2007).

15 Ya se han asociado estas variantes con el riesgo de melanoma en múltiples poblaciones (STURM *et al.*, Pigment Cell Res., vol. 16, p. 266-72, 2003; REES, Annu. Rev. Genet., vol. 37, p. 67-90, 2003), y todas se han identificado como generadoras de una pérdida de función en los estudios funcionales (BEAUMONT *et al.*, Hum. Mol. Genet., vol. 14, p. 2145-54, 2005; BEAUMONT *et al.*, Hum. Mol. Genet., 2007). Los inventores han mostrado en la presente memoria también que algunos de estos SNP de *MC1R* están asociados a un riesgo incrementado de melanoma, de manera independiente a los polimorfismos de *MATP/SLC45A2* identificados anteriormente.

20 En este modo de realización, el procedimiento de la invención es un procedimiento *in vitro* destinado a identificar a un sujeto que padece o que presenta una predisposición al cáncer de piel, caracterizado porque comprende, además, c) la detección de un polimorfismo del gen *MC1R* (SEC ID n° 10).

25 En un modo de realización aún más preferido, la detección del polimorfismo del gen *MC1R* asociado a una predisposición al cáncer de piel corresponde a varios SNP seleccionados preferentemente de entre el grupo que comprende la SNP rs1805006 (nucleótido N en la posición 26 de la SEC ID n° 6 (ss2425919), estando el nucleótido A asociado a un cáncer cutáneo) y que conduce a la presencia de un glutamato en la posición 84 de la proteína MC1R (SEC ID n° 5), el SNP rs1805007 (nucleótido N en la posición 301 de la SEC ID n° 7, estando el nucleótido T asociado a un cáncer cutáneo) y que conduce a la presencia de una cisteína en la posición 151 de la proteína MC1R (SEC ID n° 5), el SNP rs1805008 (nucleótido N en la posición 301 de la SEC ID n° 8, estando el nucleótido T asociado a un cáncer cutáneo) y que conduce a la presencia de un triptófano en la posición 160 de la proteína MC1R (SEC ID n° 5), el SNP rs1805009 (nucleótido N en la posición 26 de la SEC ID n° 9, estando el nucleótido C asociado a un cáncer cutáneo) y que conduce a la presencia de una histidina en la posición 294 de la proteína MC1R (SEC ID n° 5).

35 Son bien conocidas por el experto en la materia unas técnicas para identificar un polimorfismo del gen *MATP/SLC45A2* o de *MC1R*, e incluyen en particular el polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP), una técnicas de hibridación, las técnicas de secuenciación del ADN, la resistencia a la exonucleasa, la microsecuenciación, la extensión en fase sólida que utiliza unos ddNTPs, la extensión en solución utilizando unos ddNTPs, unos métodos de ligadura de oligonucleótidos, los métodos para detectar los SNP tales como la hibridación dinámica específica de alelo, la reacción en cadena de la ligasa (LCR), la minisequenciación, la utilización de chips de ADN o también la hibridación de oligonucleótidos específicos de alelo como complemento de una sonda que presenta un marcado simple o doble y con la ayuda de reacciones de PCR.

45 Preferentemente, dicha técnica para identificar un polimorfismo del gen *MATP/SLC45A2* o de *MC1R* es una técnica que permite detectar un polimorfismo asociado a un solo nucleótido (SNP).

50 El análisis de la expresión del gen *MATP/SLC45A2* se puede realizar gracias a uno de los numerosos métodos bien conocidos por el experto en la materia y que permiten la detección del producto de expresión de dicho gen, tal como su ARN o su producto proteico.

55 En un modo de realización preferido, la expresión del gen *MATP/SLC45A2* se efectúa por análisis de la expresión de transcritos de ARNm o de precursores de ARNm, tal como un ARN nativo, de dicho gen. Dicho análisis se puede realizar preparando el ARNm/ADNc de células de una muestra biológica de un paciente, e hibridación de ARNm/ADNc con un polinucleótido de referencia. El ARNm/ADNc preparado se puede utilizar en un análisis por hibridación o amplificación que incluye, sin limitarse a ellos, los análisis Southern y Northern, los análisis por PCR ("polymerase chain reaction"), tal como la PCR cuantitativa (TAQMAN) y la utilización de sondas ("probes arrays") tales como las matrices ADN GENECHIP® (AFFYMETRIX).

60 Ventajosamente, el análisis de la expresión del nivel de ARNm transcrito a partir de un gen *MATP/SLC45A2* implica un procedimiento de amplificación de los ácidos nucleicos, como por ejemplo la RT-PCR (modo de realización experimental descrito en la patente US n° 4.683.202), la reacción en cadena por la ligasa (BARANY, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 88, p. 189-193, 1991), la replicación de secuencias auto-sostenida ("self sustained sequence replication") (GUATELLI *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 87, p. 1874-1878, 1990), el sistema de amplificación transcripcional, (KWOH *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 86, p. 1173-1177, 1989), la "Q-Beta Replicase" (LIZARDI *et al.*, Biol. Technology, vol. 6, p. 1197, 1988), la "rolling circle replication" (Patente U.S. n° 5.854.033) o

5 cualquier otro método de amplificación de ácidos nucleicos, seguido de una etapa de detección de las moléculas amplificadas por técnicas bien conocidas por el experto en la materia. Estos modos de detección son particularmente útiles para la detección de moléculas de ácidos nucleicos en muy bajas cantidades. Tal como se utilizan en la presente memoria, los cebadores de amplificaciones se definen como un par de moléculas de ácidos nucleicos que pueden emparejarse respectivamente a las regiones 3' y 5' de manera específica (hebra positiva y negativa, o a la inversa) y encuadran una región corta de dicho gen. De manera general, los cebadores de amplificación tienen una longitud de 10 a 30 nucleótidos y permiten la amplificación de una región de una longitud comprendida entre 50 y 200 nucleótidos.

10 En otro modo de realización preferido, la medición de la expresión del gen *MATP/SLC45A2* se realiza por análisis de la expresión de la proteína traducida a partir de dicho gen. Dicho análisis se puede realizar utilizando un anticuerpo (por ejemplo un anticuerpo radiomarcado, marcado con un cromóforo, un fluoróforo, o una enzima), un derivado de anticuerpo (por ejemplo un anticuerpo conjugado a un sustrato o a una proteína o un ligando de una proteína de un par ligando/proteína (por ejemplo biotina-estreptavidina)) o un fragmento de anticuerpo (por ejemplo un anticuerpo de una sola cadena, una región hipervariable de un anticuerpo aislado, etc.) que se une específicamente a la proteína traducida a partir del gen *MATP/SLC45A2*.

15 Dichos análisis se pueden realizar mediante numerosas técnicas al alcance del experto en la materia que incluyen, sin limitarse a ellos, los ensayos inmunológicos basados en la utilización de la actividad enzimática ("enzyme immunoassay" EIA), los ensayos inmunológicos basados en la utilización de isótopos radioactivos (RIA), el análisis por transferencia Western y los ensayos ELISA ("enzyme linked immunoabsorbant assay").

20 A título de ejemplo de anticuerpos dirigidos contra la proteína *MATP/SLC45A2*, se pueden citar los anticuerpos disponibles en ABNOVA CORPORATION o en SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY.

25 Por lo tanto, unos anticuerpos policlonales también pueden ser preparados por inmunización de un animal apropiado, tal como un ratón, un conejo o una cabra, con la proteína *MATP/SLC45A2* (Homo Sapiens; SEC ID n° 3) o un fragmento de ésta. La concentración de anticuerpos en el animal inmunizado puede estar seguida en el transcurso del tiempo por unas técnicas estándares, tales como un ensayo ELISA, utilizando un polipéptido inmovilizado. Un cierto tiempo después de la inmunización, por ejemplo cuando los títulos de anticuerpos específicos son más elevados, las células que producen los anticuerpos pueden ser extraídas del animal y ser utilizadas para preparar unos anticuerpos monoclonales (mAc) mediante las técnicas estándares, tales como la técnica de los hibridomas inicialmente descrita por KOHLER y MILSTEIN (Nature, vol. 256, p. 495-497, 1975), la técnica de los hibridomas de las células B humanas (KOZBOR *et al.*, Immunol., vol.4, p. 72, 1983), la técnica de los hibridomas EBV (COLE *et al.*, En Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., p. 77-96, 1985) o la técnica de los triomas. La técnica para la producción de hibridomas es bien conocida (véase: Current Protocols in Immunology, COLIGAN *et al.* ed., John Wiley & Sons, New York, 1994). Los hibridomas que producen el anticuerpo monoclonal deseado son detectados por cribado de los sobrenadantes de cultivo de hibridomas para los anticuerpos que se unen al polipéptido de interés, por ejemplo utilizando un ensayo ELISA estándar.

40 El procedimiento según la presente invención puede comprender además una etapa de comparación del nivel de expresión del gen *MATP/SLC45A2* en la muestra biológica de dicho sujeto con el nivel de expresión de dicho gen en una muestra control.

45 Como muestra control, se puede utilizar en particular una muestra biológica que procede de un sujeto sano, a saber que no padece y que no está predispuesto a un cáncer de piel.

50 Un nivel de expresión significativamente más bajo que el nivel de expresión del mismo gen en la muestra control indica que el paciente padece o está predispuesto a padecer un cáncer de piel.

55 Un "nivel de expresión significativamente más bajo del gen *MATP/SLC45A2*" se refiere a un nivel de expresión en una muestra biológica que es inferior a por lo menos el 20% del nivel normal de expresión de dicho gen, preferentemente inferior a por lo menos el 50% del nivel normal de expresión de dicho gen, y de manera particularmente preferida inferior en por lo menos el 90% al nivel normal de expresión de dicho gen.

El nivel "normal" de expresión del gen es el nivel de expresión de dicho gen en una muestra control que corresponde potencialmente a la muestra biológica de un paciente que no presenta cáncer de piel o, preferentemente, a la media del nivel de expresión de dicho gen en diferentes muestras control.

60 Otro objeto de la presente invención se basa en la utilización, para la preparación de una composición destinada al tratamiento y/o a la prevención de un cáncer de piel en un sujeto, de un compuesto que aumenta específicamente la expresión del gen *MATP/SLC45A2* en una célula de la piel.

65 Por célula de la piel, se entiende una célula de la dermis o de la epidermis. Preferentemente, dicha célula de la piel tiene un melanocito.

Preferentemente, dicho compuesto que aumenta de manera específica la expresión del gen *MATP/SLC45A2* se selecciona de entre el grupo que comprende la proteína *MATP/SLC45A2* y sus derivados, un polinucleótido que codifica para dicha proteína o un vector que comprende dicho polinucleótido.

- 5 Por proteína *MATP/SLC45A2*, se entiende preferentemente la proteína *MATP/SLC45A2* de *Homo Sapiens* (NP_001012527; SEC ID nº 3).

10 Por "derivado" se entiende una proteína cuya secuencia presenta un porcentaje de identidad de por lo menos el 80%, por ejemplo de por lo menos el 85%, preferentemente de por lo menos el 90%, y de manera particularmente preferida de por lo menos el 95% con la secuencia polipeptídica de la proteína *MATP/SLC45A2*.

15 Por porcentaje de identidad entre dos secuencias polipeptídicas, se entiende el porcentaje de aminoácidos idénticos, entre dos secuencias que deben ser comparadas, obtenido con la mejor alineación posible de dichas secuencias. Este porcentaje es puramente estadístico y las diferencias entre las dos secuencias se reparten aleatoriamente en toda la longitud de las secuencias de aminoácidos. Por mejor alineación posible o alineación óptima, se entiende la alineación que permite obtener el porcentaje de identidad más elevado. Las comparaciones de secuencias entre dos secuencias de aminoácidos se realizan habitualmente comparando dichas secuencias después de que éstas hayan sido alineadas según la mejor alineación posible; la comparación se realiza entonces sobre segmentos de comparación con el fin de identificar y comparar unas regiones de similitud. La mejor alineación posible para efectuar una comparación se puede realizar utilizando el algoritmo de homología global desarrollado por SMITH y WATERMAN (Ad. App. Math., vol. 2, p. 482, 1981), utilizando el algoritmo de homología local desarrollado por NEDDLEMAN y WUNSCH (J. Mol. Biol., vol. 48, p. 443, 1970), utilizando el método de similitud desarrollado por PEARSON y LIPMAN (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 85, p. 2444, 1988), utilizando unos programas de ordenadores basados en tales algoritmos (GAP, BESTFIT, BLAST P, BLAST N, FASTA, TFASTA, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI USA), utilizando los algoritmos de alineación múltiples MUSCLE (Edgar, Robert C., Nucleic Acids Research, vol. 32, p. 1792, 2004). Para obtener la mejor alineación posible, se utilizará preferentemente el programa BLAST con la matriz BLOSUM 62 o la matriz PAM 30. El porcentaje de identidad se determina comparando las dos secuencias alineadas de manera óptima, dichas secuencias podrán comprender unas adiciones o deleciones con respecto a la secuencia de referencia con el fin de obtener la mejor alineación posible entre estas dos secuencias. El porcentaje de identidad se calcula determinando el número de posición idéntica entre las dos secuencias, dividiendo el número obtenido por el número total de posiciones comparadas y multiplicando el resultado obtenido por 100 para obtener el porcentaje de identidad entre estas dos secuencias.

35 Por polinucleótido, se entiende una secuencia de ARN o de ADN, preferentemente dicho polinucleótido es una secuencia de ADN.

40 Más ventajosamente, dicho polinucleótido está unido de manera operacional a una secuencia de expresión génica que dirige la expresión de dicho polinucleótido a una célula eucariota, preferentemente a una célula de la piel. Dicha secuencia de expresión génica corresponde a cualquier secuencia de regulación, tal como una secuencia promotora o una combinación entre una secuencia promotora y una secuencia activadora, que facilita la transcripción y la traducción eficaz del polipéptido tal como se ha descrito anteriormente. Dicha secuencia de expresión génica puede corresponder a una secuencia promotora viral o eucariota, constitutiva o inducible.

45 A título de ejemplo de vectores que comprenden dicho polinucleótido, se pueden citar los plásmidos, los cósmidos y los virus, en particular los adenovirus y los retrovirus.

Ventajosamente, dicho compuesto que aumenta específicamente la expresión del gen *MATP/SLC45A2* puede estar asociado a un soporte farmacéuticamente aceptable.

- 50 A título de ejemplo de soporte farmacéuticamente aceptable, la composición puede comprender unas emulsiones, unas microemulsiones, unas emulsiones aceite en agua, unos lípidos anhidros y unas emulsiones agua en aceite, u otros tipos de emulsiones.

55 La composición descrita puede comprender además uno o varios aditivos tales como los diluyentes, los excipientes, los estabilizantes y los conservantes. Dichos aditivos son bien conocidos por el experto en la materia y están descritos en particular en "Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, 6^a Ed." (diferentes editores, 1989-1998, Marcel Dekker); y en "Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems" (ANSEL *et al.*, 1994, WILLIAMS & WILKINS).

60 Otro objeto descrito se refiere a un procedimiento de selección *in vitro* de un compuesto susceptible de ser útil para el tratamiento del cáncer de piel, caracterizado porque comprende las etapas siguientes:

- a) obtención de una célula que expresa el gen *MATP/SLC45A2*;
- 65 b) puesta en contacto de dicha célula con por lo menos un compuesto a ensayar;

- c) comparación de la expresión del gen *MATP/SLC45A2* entre las etapas a) y b);
- d) selección del compuesto que induce un aumento del nivel de expresión del gen *MATP/SLC45A2* en la célula en la etapa b) con respecto al nivel de expresión de dicho gen en la etapa a).

5 Ventajosamente, dicha célula que expresa el gen *MATP/SLC45A2* se obtiene a partir de un sujeto que presenta un cáncer de piel.

10 Preferentemente, dicha célula presenta un nivel de expresión significativamente más bajo del gen *MATP/SLC45A2*, por comparación con una célula extraída de un sujeto que no presenta cáncer de piel.

Preferentemente, dicha célula corresponde a una célula de la piel, y más preferentemente a una célula procedente o derivada de un melanoma.

15 Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "compuesto" se refiere a cualquier tipo de moléculas tales como los polipéptidos, los polinucleótidos, los azúcares, los lípidos o cualquier otro compuesto químico.

Los métodos para determinar la expresión del gen *MATP/SLC45A2* son bien conocidos por el experto en la materia. Por ejemplo, se pueden utilizar los métodos descritos anteriormente.

20 La presente invención se describirá con mayor detalle ahora con la ayuda de los ejemplos que ilustran la invención sin limitar de ninguna manera su ámbito.

25 Ejemplos

Materiales y métodos

Estudio de la población

30 Se incluyó prospectivamente en el estudio entre 2003 y 2003, 1019 pacientes y 1466 sujetos control, todos de origen caucásico. Los pacientes "melanoma" se reclutaron entre 2003 y 2006 en la cohorte del melanoma (MELAN-COHORT), una cohorte prospectiva que incluye a todos los pacientes con un melanoma del departamento dermatológico de todas las universidades afiliadas al hospital de París (Bichat, Percy, Ambroise Paré, Henri Mondor, Cochin y los hospitales de Saint Louis). El estudio de población está constituido por pacientes de 18 a 80 años de edad con melanomas malignos histológicamente probados. Los pacientes no eran incluidos si eran inmunodeficientes (VIH o trasplantados), o si sufrían de genodermatosis, que predispone a un cáncer de piel (albinismo, síndrome de Gorlin, o epiteliomatosis pigmentaria). El grupo control estaba compuesto por 1466 personas caucásicas, sin ningún antecedente de cáncer de piel.

40 El comité de ética médica local aprobó el protocolo de estudio. Se obtuvo un consentimiento informado de todos los pacientes y sujetos control inscritos para el estudio. Después de dicho consentimiento informado, el ADN genómico se aisló de los leucocitos de la sangre periférica de todos los participantes utilizando el QIAAMP BLOOD MINI KIT (QIAGEN).

45 *Recogida de los datos sobre los factores de riesgo del melanoma*

Los datos sobre las características de la pigmentación se han recogido para todos los pacientes y los 220 sujetos control. Se realizó una entrevista personal y estandarizada, y un examen de la piel del conjunto del cuerpo por un dermatólogo. El informe de los resultados utilizó un formulario de informe de examen estándar.

50 Las características de la piel se midieron por tipo de piel según la clasificación de FISTZPATRICK (FISTZPATRICK, Arch. Dermatol, vol.124, p. 869-71, 1988) y se evaluaron de la siguiente manera: siempre quemada, nunca morena (tipo de piel I), siempre quemada y después morena (tipo de piel II); siempre morena a veces quemada (tipo de piel III); y siempre morena, nunca quemada (tipo de piel IV). El color de los ojos se clasificó como oscuro (marrón o negro) o claro (azul, verde/castaño o gris) y el color original del cabello (antes del cabello gris) se clasificó utilizando 5 categorías: pelirrojo, rubio, marrón claro u oscuro, y negro. También se han evaluado por medio de un examen físico el recuento total de los nevus del cuerpo (dividido en 4 categorías: <10, 10-50, 50-100, >100), la presencia o ausencia de síndrome del lunar atípico (SLADE *et al.*, J Am. Acad. Dermatol., vol. 32, p. 479-94, 1995) y la presencia o ausencia de lentigos solares. Por otra parte, en el grupo de melanoma, también se han detallado la localización anatómica de los melanomas, la edad del paciente a diagnosticar y unos datos histopatológicos pertinentes.

Genotipo MC1R, SLC45A2 y OCA2 variables

65 Los polimorfismos de *MC1R* retenidos para el análisis genético eran los asociados con el fenotipo color de cabello pelirrojo (Alelos RHC) e incluyen c.252 C>A p.D84E, c.425G>A p.R142H, c.p.R151C, c.476 C>T p.R160W y c.880G>C p.D294H (FLANAGAN *et al.* Hum Mol Genet, vol. 9, p. 2531-7, 2000; DUFFY *et al.*, Hum. Mol. Genet., vol

13, p. 447-61, 2004; REES, Am. J. Hum. Genet., vol. 75, p. 739-51, 2004). Estas variantes están también asociadas con el riesgo de melanoma en múltiples poblaciones (STURM *et al.*, Pigment Cell Res., vol. 16, p. 266-72, 2003; REES, Annu. Rev. Genet., vol. 37, p. 67-90, 2003), y han sido todas identificadas como generadoras de una pérdida de función en los estudios funcionales (BEAUMONT *et al.* Hum. Mol. Genet., vol. 14, p. 2145-54, 2005; BEAUMONT *et al.*, Hum. Mol. Genet., 2007). Las 2 variantes de *SLC45A2* estudiadas eran unos SNP no-sinónimos (C.1122 C>G, L374F y c.814G>A, E372K) que habían sido identificadas anteriormente como asociadas con la pigmentación humana normal (GRAF *et al.*, Hum. Mutat., vol. 25, p. 278-84, 2005). Las variantes de *OCA2* estudiadas eran los 3 SNP intrónicos recientemente presentados por estar asociados en gran medida con el color de los ojos, del cabello y de la pigmentación de la piel (rs7495174, rs4778241 y rs4778138) en una población anglo-céltica de Queensland. (DUFFY *et al.*, Am. J. Hum. Genet., vol. 80, p. 241-52, 2007).

Todos los SNP han sido genotipados utilizando el sistema de genotipaje de SNP por PCR de KBIOSCIENCE. El sistema de genotipaje de SNP por PCR de KBIOSCIENCE es un nuevo sistema homogéneo y fluorescente de genotipaje, que utiliza una forma única de PCR específica de alelo que es distinta y diferente del método de discriminación alélica convencional. Este método de genotipaje se validó después por un método de genotipaje independiente, el método de genotipaje de discriminación alélica por ensayo TAQMAN de los SNP (APPLIED BIOSYSTEMS). Además, para los 2/3 de los SNP, la verificación de los genotipos correspondientes también se ha efectuado mediante la secuenciación de 50-100 muestras de ADN (ABRIPRISM 3130).

El genotipaje de las variantes de *MC1R* se efectuó con éxito en 828 pacientes (82%) y 1067 del control (72,78%). Las 2 variantes *SLC45A2* han podido ser genotipadas eficazmente en el 95% de los pacientes y de los control. El genotipaje de las variantes *OCA2* también se han efectuado para el 95% de los pacientes y de los control, salvo para *OCA2*-rs477824, que se ha podido genotipar sólo sobre el 81,2% de los pacientes.

Análisis estadístico

El elemento principal del análisis estadístico se realizó utilizando el COMPUTER R PACKAGE (versión 2.4.1). El nivel de significación para todos los ensayos se fijó a un nivel que corresponde a un porcentaje de error de tipo I de $\alpha = 5\%$. Tomando en consideración el número de ensayos realizados y el nivel de sus asociaciones, la mayoría de ellos habrían permanecido significativos si se hubiera aplicado una corrección de BONFERRONI para tomar en consideración el problema de ensayos múltiples. Todas las relaciones odds (OR) se han detallado con su intervalo de confianza del 95% (CI).

Asociación de los factores genéticos con el melanoma

La conformidad con el equilibrio HARDY-WEINBERG se ha ensayado en los controles utilizando un clásico, un grado de libertad, el ensayo chi al cuadrado. El análisis de la asociación individual de los factores genéticos con los melanomas (las variables *MC1R*, *SLC45A2* y *OCA2*) se ha realizado comparando los casos y los controles utilizando un ensayo exacto de FISHER de genotipos (codificado con 0, 1 y 2, siendo 0 el genotipo más frecuente). Los OR correspondientes han sido fijados utilizando un análisis lógico estándar de regresión sobre los datos con, para cada polimorfismo, la referencia tomada como el genotipo más frecuente (0). Además, se realizó un análisis de la diversidad haplotípica sobre cada gen por el algoritmo de maximización de la esperanza (EM) utilizando el programa ARLEQUIN (Versión 3.01) (SCHNEIDER *et al.*, Genetics and Biometry Lab, Dept of Anthropology, University of Geneva 2000). El desequilibrio de unión (LD) entre los pares de sitios polimórficos se midió en los controles utilizando las estadísticas comunes D, D' (LEWONTIN, Genetics, vol. 49, p. 49-67, 1964) y r (HILL & ROBERTSON, Genetics, vol. 60, p. 615-28, 1968). Por último, las interacciones gen-gen se evaluaron utilizando el mismo sistema de regresión lógica.

Asociación de los factores clínicos con los melanomas

También se realizaron los análisis individuales de los factores clínicos habituales (color de la piel: pálida e intermedia frente a oscura, tipo de piel: I-II frente a III-IV, color del cabello: pelirrojo-rubio-marrón claro frente a marrón-negro, color de los ojos: claro/pálido frente a negro, el número de nevos: <50 frente a >50, las efelides y los lentigos dorsales: presencia frente a ausencia, comparando todos los casos y 220 del control con un ensayo exacto de genotipos de FISHER. Los OR correspondientes se han utilizado de nuevo utilizando un análisis de regresión lógica sobre los datos.

Asociación de los factores genéticos con los factores clínicos

En la medida en la que los tres genes analizados intervienen en la pigmentación, se realizaron también los análisis de asociación individual de los factores genéticos para cada factor clínico, adaptados al estatuto control-caso, de manera que ninguna asociación observada se debía a la asociación entre el melanoma y los factores clínicos considerados. Los OR correspondientes se examinaron por medio de las regresiones lógicas.

Integración de la genética y de los factores clínicos

Debido a que se han asociado con los 3 genes y con el melanoma, los factores clínicos pueden crear unas confusiones potenciales cuando se analiza la asociación de estos genes con la enfermedad. En esta parte de los análisis, se ha utilizado un modelo lógico basado en un grupo de factores clínicos y genéticos para verificar si las asociaciones genéticas con el melanoma se revelaban también en presencia de los factores clínicos. Por último, los OR se han recalculado para los factores genéticos y clínicos seleccionados finalmente por ser los más pertinentes para el melanoma.

Resultados

Asociación de los factores genéticos con el melanoma

Para los controles, las frecuencias de genotipo para todos los polimorfismos ensayados se sitúan en el equilibrio de HARDY-WEINBERG.

Los resultados para MC1R se presentan en la tabla I.

Tabla I

Genotipo MC1R	Caso	Control	P	OR (CI)
0/0	510	841		referencia
1/0	280	202	$< 2,2 \times 10^{-16}$	2,29 (1,85-2,82)
1/1	48	24		3,3 (2-5,45)
Alelos RHC de MC1R	Caso	Control		OR (CI)
Sin alelos RHC	0,793	0,887		referencia
R151C	0,088	0,0042		2,35 (1,78-3,11)
R160W	0,065	0,038		1,88 (1,40-2,54)
D294H	0,042	0,019		2,49 (1,67-3,71)
R142H	0,013	0,008		1,73 (0,92-3,28)
D84E	0,0116	0,006		2,10 (1,04-4,25)

Los resultados han mostrado que la presencia de variantes RHC MC1R está asociada en gran medida con el riesgo de melanoma ($P < 2,20 \times 10^{-16}$). El riesgo de melanoma aumenta con el número de alelos RHC de OR = 2,29 con un alelo variante, a OR = 3,3 con dos alelos variantes. Por consiguiente, el efecto de estos polimorfismos sobre la enfermedad es prácticamente acumulativo. Los resultados muestran las frecuencias alélicas menores para los 5 polimorfismos RHC y, con una excepción (R142H), son todos significativamente, individualmente más elevados en los pacientes con un melanoma que en los control.

Además, la asociación de las variantes de *MC1R* con el melanoma sigue siendo significativa después del ajuste con el tipo de piel ($P = 1,6 \times 10^{-6}$), el color del cabello ($P = 9,3 \times 10^{-7}$), el color de los ojos ($P = 6,48 \times 10^{-7}$), el color del cabello ($P = 8 \times 10^{-7}$) y el número de nevus ($P = 3,3 \times 10^{-8}$).

Las tablas IIa y IIB resumen los resultados para las variantes de *SLC45A2*.

Tabla IIa: genotipo SLC45A2 para los sujetos y los control

SNP	Genotipo	Caso	Control	P	OR (CI)
SLC45A2 E272K	CC	933	1,305	$1,10 \times 10^{-6}$	referencia
	CT	33	119		0,39 (0,26-0,58)
	TT	2	3		0,93 (0,16-5,59)
MAF		0,019	0,044		
SLC45A2 L374F	GG	895	1,160	$2,12 \times 10^{-15}$	referencia
	GC	65	246		0,34 (0,26-0,46)
	CC	5	20		0,32 (0,24-0,43)
MAF		0,39	0,10		

MAF: frecuencia alélica menor

Tabla IIb: genotipo SLC45A2 para los sujetos y los control

SLC45A2 haplotipos	Caso (n=1882)	Control (n=2794)	OR (CI)	
1	C ₈₁₄ G ₁₁₂₂	1807 (96)	2509 (89,8)	referencia
2	C ₈₁₄ C ₁₁₂₂	39 (2,1)	164 (5,9)	0,33 (0,33-0,47)
3	T ₈₁₄ C ₁₁₂₂	30 (1,16)	112 (4)	0,37 (0,25-0,56)

SLC45A2 haplotipos		Caso (n=1882)	Control (n=2794)	OR (CI)
4	T ₈₁₄ G ₁₁₂₂	6 (0,32)	9 (0,34)	0,92 (0,34-2,5)
1/1	CG/CG	867 (92,1)	1,126(80,6)	Referencia
1/2	CG/CC	39 (4,1)	148(10,6)	0,34 (0,24-0,49)
1/3	CG/TC	28 (3)	100 (7,16)	0,36 (0,24-0,56)

Los resultados muestran que las 2 variantes de *SLC45A2* (L374F y E272K) están estrechamente asociadas con el melanoma ($P=2,12 \times 10^{-15}$ y $1,10 \times 10^{-6}$ respectivamente), con un desequilibrio de unión prácticamente completo entre los dos polimorfismos ($D = 0,036$, $D' = 0,92$ y $r = 0,59$). La frecuencia alélica *SLC45A2* 374F en los control es de 0,90, mientras que es de 0,96 para los pacientes ($P=1,30 \times 10^{-11}$). El análisis del haplotipo ha confirmado la asociación entre *SLC45A2* y el melanoma (el ensayo exacto de FISHER aplicado a las frecuencias de Haplotipo da $P=3,67 \times 10^{-15}$, tabla 2b). El haplotipo C₈₁₄C₁₁₂₂ es el más frecuente, habiendo sido encontrado en el 96% de los pacientes y el 89,8% de los control, mientras que los haplotipos C₈₁₄C₁₁₂₂ y T₈₁₄C₁₁₂₂ son significativamente más frecuentes en los controles (una diferencia que era debida a la variante L374F, como se precisa en la tabla 2b) y tienen por tanto un efecto protector contra el melanoma. Un análisis similar de los diplotipos indica que 2 diplotipos (CG/CC y CG/TC) que están presentes hasta en el 17,76% de los controles procuran una protección contra el melanoma, mientras que el diplotipo más común (CG/CG) es significativamente más frecuente para los pacientes (92,1%) que para los control (80,1%) (el valor de P del ensayo exacto de FISHERS de los diplotipos = $1,89 \times 10^{-13}$).

Por último, como los resultados han mostrado que el gen *MATP/SLC45A2* está unido en gran medida con el melanoma, la secuencia codificante entera (7 exones) de este gen se secuenció para 48 pacientes que padecen melanomas, pero no se han identificado ninguna otra variante no sinónima o mutación patógena del gen *SLC45A2*.

De manera interesante, la asociación de *MATP/SLC45A2* L374F con el melanoma sigue siendo significativa después de la adaptación con el tipo de piel ($P = 1,6 \times 10^{-6}$), el color del cabello ($P = 8,7 \times 10^{-7}$), el color de los ojos ($P = 1,21 \times 10^{-4}$), y el número de nevus ($P = 1 \times 10^{-5}$).

En el caso de *OCA2*, un solo SNP (*OCA2*-rs4778138) se mostró débilmente asociado con el melanoma ($P = 6,93 \times 10^{-3}$). Los análisis de haplotipos y de diplotipos inducido por los 3 SNP de *OCA2* no indican ninguna asociación significativa más importante de este gen con el melanoma, a pesar de que el haplotipo TGT y el diplotipo anteriormente identificados como asociados en gran medida con el color de los ojos claros eran más frecuentemente observados en los pacientes que padecen melanoma que para los control. Sin embargo, la asociación de este SNP con el melanoma no era tampoco significativa después de la adaptación con el color de los ojos o después de la corrección para unos ensayos múltiples.

Se desarrolló un modelo logístico que incluye los factores genéticos, que presenta una asociación estadística con el melanoma (variable MC1R, *SLC45A2*, L374F, *SLC45A2*, E272 K. y *OCA2*-rs4778138). Se tuvo en cuenta MC1R en función del número de alelos RHC (0, 4 ó 2) y los otros tres se codificaron combinando los genotipos menos frecuentes para reducir el modelo genético de dos parámetros sin perder ninguna información. Las asociaciones de las variantes de *MC1R* y *SLC45A2* L374F con el melanoma son las únicas a ser mantenidas, lo que sugiere que estos factores genéticos desempeñan un papel fuerte e independiente en la enfermedad.

La tabla III muestra el cálculo combinado de OR de los genotipos MC1R y *SLC45A2* L374F.

Tabla III: cálculo de OR combinado para los genotipos MC1R y *SLC45A2* L374F

Genotipo MC1R	Genotipo SLC45A2	Caso	Control	OR
0	0	444	561	Referencia
0	1	32	118	0,34 (0,23-0,51)
0	2	3	13	0,29 (0,09-0,96)
1	0	249	130	2,42 (1,89-3,09)
1	1	20	30	0,84 (0,47-1,49)
1	2	2	3	1,26 (0,22-7,19)
2	0	39	11	4,48 (2,29-8,74)
2	1	3	2	1,89 (0,38-1,52)
2	2	0	0	na

El valor 0 designa los genotipos más frecuentes, que son tomados como referencia (en el caso de MC1R, la ausencia de variantes RHC, en el caso de *SLC45A2* L374F, el genotipo GG), 1 designa la presencia de por lo menos un alelo RHC para MC1R y del genotipo CG para *SLC45A2* L374F, y 2 designa la presencia de dos variantes RHC para MC1R y del genotipo CC para *SLC45A2* L374F.

"na" corresponde a "no aplicable".

La tabla III muestra los OR respectivos de todas las combinaciones de genotipos de los dos importantes factores

genéticos que predisponen al melanoma (MC1R y SLC45A2), e ilustra las diversas combinaciones de riesgo o protectoras.

5 Por último, se ha realizado un estudio de las interacciones potenciales entre la presencia de la variante de *MC1R* y cada variante de *SLC45A2* o de *OCA2*, pero no se ha podido identificar ninguna interacción gen-gen.

Asociación de los factores clínicos con el melanoma

10 Se han estudiado las características clínicas principales de la cohorte del melanoma y 220 del control. Este estudio ha puesto en evidencia que los factores de riesgo más importantes correspondían a un número de nevus > (o igual) a 50 (OR=5,91), a un color de los ojos claro (OR=2,55), al tipo de piel I o II (OR=2,35), a un color de cabello claro (OR=2,18) y a unos lentigos solares (OR=3,19).

15 *Asociación de los factores genéticos con los factores clínicos*

En la medida en la que se han identificado estos tres genes por actuar los tres en la pigmentación, se han realizado también unos análisis de asociación individual de los factores genéticos sobre os factores principales de riesgo clínico, y se han adaptado para permitir distinguir el estatuto del control del del paciente que padece melanoma.

20 La asociación más fuerte era aquella entre *OCA2* y el color de los ojos ($P < 2,20 \times 10^{-16}$ para cada uno de los tres SNP *OCA2*), lo que confirma la asociación recientemente demostrada entre estos SNP y el color de los ojos (DUFFY *et al.*, Am. J. Hum. Genet., vol. 80, p. 241-52, 2007). Se ha ensayado también la asociación específica del haplotipo TGT con el color de los ojos, y se ha encontrado también un valor de P muy significativo ($P < 2,20 \times 10^{-16}$). Las tres variantes de *OCA2* y el haplotipo TGT también estaban asociados en gran medida con el color del cabello ($P < 0,0001$).

El SNP *SLC45A2* L374F reveló estar estrechamente asociado con el color de los ojos ($IP = 2,09 \times 10^{-5}$), con el color del cabello ($P = 6,96 \times 10^{-8}$) y con el tipo de piel ($P = 6,2 \times 10^{-8}$).

30 Por último, las variantes de *MC1R* han mostrado una asociación significativa con el color del cabello ($P = 1,49 \times 10^{-8}$) y con el tipo de piel ($P = 1,30 \times 10^{-8}$).

En resumen, el tipo de piel está asociado en gran medida con las variantes de *SLC45A2* y de *MC1R*, el color de los ojos con *OCA2* y en una menor medida con *SLC45A2*, y el color del cabello con los tres genes.

35 Notablemente, el número de nevus, que era el índice clínico del melanoma más importante en nuestro estudio, no estaba estadísticamente asociado a uno de estos genes de pigmentación.

40 *Integración de la genética y de los factores clínicos*

En base a unas asociaciones más fuertes identificadas en este estudio entre los factores clínicos y genéticos y el melanoma, se ha desarrollado un modelo lógico para ensayar la persistencia de las asociaciones con el melanoma y se recalcularon los OR correspondientes cuando los factores de riesgo estaban combinados.

45 En este modelo, se incluyó sólo el número de nevus ya que se trata del único factor de riesgo que no mostraba ninguna asociación con cada uno de los 3 genes. Se ha observado que la asociación de las variantes de *MC1R* y *SLC45A2* L374F con el melanoma era aún altamente significativa en presencia de un número de nevus ($P = 1,14 \times 10^{-7}$ y $3,32 \times 10^{-6}$ respectivamente).

50 Además, era fácil calcular los OR acumulativos que resultan de la combinación de estos factores. En este modelo, el OR de las personas que tienen un número de nevus > (o igual) a 50, un alelo RHC para *MC1R* y el genotipo más frecuente *SLC45A2* L374F (GG), $OR = 5,26 \times 3,85 = 20,25$, da una aproximación del riesgo del melanoma para estas personas que es 20 veces más elevado que las que tienen un número de nevus <50, ningún alelo RHC, y uno de los genotipos *SLC45A2* protectores.

55 Por último, el presente estudio ha permitido determinar que el genotipo GG *SLC45A2* L374F constituye un nuevo parámetro importante que permite apreciar el riesgo de melanoma en un paciente, estando el alelo *SLC45A2* 374F claramente asociado con el riesgo de melanoma, mientras que el alelo *SLC45A2* 374L protegería del melanoma.

60 Además, el hecho de que el efecto de esta variante de *SLC45A2* persiste después de la estratificación sobre las características de pigmentación o en un modelo de regresión lógica que integra los 2 factores de riesgo genético, y el número de nevus sugiere que con respecto al riesgo de melanoma la información relacionada al genotipo *SLC45A2* L374F no es redundante con las características de pigmentación, y que esta variante es por lo tanto un factor de riesgo de melanoma fuerte e independiente.

65 Los resultados que se refieren al marcador *SLC45A2* L374F han sido confirmados después sobre una cohorte de

individuos españoles (Fernández LP *et al.*, Human mutation 0,1-7, 2008).

Por otro lado, los presentes inventores han confirmado también los resultados que se refieren a los marcadores *SLC45A2* L374F y MC1R sobre una población italiana.

5 Estos resultados demuestran por lo tanto sin ambigüedad de que los marcadores *SLC45A2* L374F y también MC1R RHC son unos marcadores fiables de predisposición al melanoma, que pueden ser utilizados solos o en asociación para evaluar muy eficazmente el riesgo de predisposición al melanoma en el ser humano en general.

10 **Listado de secuencias**

<110> Assistance publique- Hôpitaux de Paris SOUFIR, Nadem

<120> Procedimiento *in vitro* de diagnóstico del cáncer de piel

15 <130> 353788

<150> FR 07/59193

<151> 21/11/2007

20 <160> 10

<170> PatentIn versión 3.3

25 <210> 1

<211> 40060

<212> ADN

<213> Homo sapiens

30 <400> 1

ES 2 449 152 T3

gccaggctcc acgtcaaadc cagtttgaaa cacagaccct aggaccacgc aggaggtggt 60
 gggctcgcag gaaggttcct ctcccagtggt ccatgggtag caacagtggg caggctggcc 120
 gccacatcta taaatcccta gctgatgatg gccccttga ctctgtggag ccgcctaaaa 180
 gacccaccag cagactcatc atgcacagca tggccatggt cggaagagag ttctgctacg 240
 cgggtggaggc agcgtatgtg accccagtcct tgctcagcgt aggtctgccc agcagcctgt 300
 acagcattgt gtggttcctc agccccatcc tgggattcct gctgcagccc gtggtcggat 360
 cggccagcga cactgccgg tccaggtggg gccgccggag accctacatc ctcaccctgg 420
 gagtcatgat gctcgtgggc atggctctgt acctcaatgg ggctactggt gtagcaggta 480
 agtgggctgc acaagggtggg cagacagggg tatgtgtctt agtgtgtacc tctgcaggag 540
 gaggatgttc atgtgtttga ccttctctag aaatttgta gaattgatct ctcctaggtt 600
 acaatgaact tccccttga caaatttggc ccagattctg tggttgggga gcctctactt 660
 ctagaaatat caaaataaat atgtttcatt gttgtgaaga tttaaaaata ggattaaatt 720
 tgtatctatt ttattaaatt tgtatctatt ttatcgaatt gaatattttt acatatttat 780
 caattgagtt actttttgag cccattatgc tctatttaat actcttatca aattgactgg 840
 ctgccaaata gctccataaa tatttacaat aagtcacctg tgtatccaaa taagttaatt 900
 ctgttcatag ttttatgtag agcgttttaa taggcgtagg gcataagccc atcagctcaa 960
 gaggaccttt ctggcattgc aaattctgga caaaagcaaa cctgagggta ggcatttttt 1020
 ctagcatta atcagctacc aattaatcag taattgatgg tagtacaata aagttgcatt 1080
 gcaaaaagga tcgctaaaaa tagcacacat ttgtagatca ttaactctca agctagcaga 1140
 atcgggtgatt atgaggcagg ataatcaatt atcatttgta catatttgaa agaaagcgta 1200
 aatgtacaaa tgtaggatat ttccaggaga atgaacaaaa agctgataag cattgttgac 1260
 tctaaggagg attactgaag gacaggaggt gagaagtggc gggtagactt attgttcatt 1320
 taattttata ctgcaatttt taaaacgtgt atataatcta tgctattctt aagtttaaaa 1380
 agcaaatgga aacaagagaa acaacaatgt atcttttata ggagattggg taaacgatta 1440

ES 2 449 152 T3

cagcgtatcc gtagaatgaa aatccagctg ttaaaaattg tgaggagctg aaattatatg 1500
 aagaaagtgt gttactgcat cagtgtctgtt caaagatgtg gcctctgacc tgcccctcag 1560
 catcagcaga gaccgttaga gatgcagttt ctcgggcccc cttcaggccc accaattgaa 1620
 tcagagtctt gggaaatggg gccagcaatc tgtgttttaa caagacatac aagcgatagt 1680
 tcaatatgcc agactttgag aagcactgctg tttgactacc attgtacacg tgtgtctgta 1740
 tgtgcagaag tgcgtaaaag gaggccttaa agcctgacct ttgctggggc tgggattgga 1800
 agcatctccc tcagcttttt taatagaatt ggaattgctt gcgataagca tgcatacttt 1860
 tttatttaag gagatatttt acataccaga aatttcacta attaaaagtg tacaattcag 1920
 tgcctttagt atgttgtgca accattacca ctctctaatt ctacaacatt ttcattcacc 1980
 ccaaaaataa cccattacca tcaatagtca cgtccacttt tcccctatgc accagcccta 2040
 agcaaccact aatttacttt gtgtctccat agatttgtgt tttctggaca ttcgcttgca 2100
 taatttttaa aacctgaaaa aaaatgtaa gctattttta tttggaaaa agcaaaaata 2160
 aagcaaggaa gatgatttta tggcaagaag tttaggtgga aattacaaaa cgcgatgat 2220
 tctaaaacag gatttaggag accaatgttt attttcttt tagctttgat tgctaacc 2280
 aggaggaagc tggtttgggc cataagtgtc accatgatag gtgtcgttct ctttgatttt 2340
 gctgccgact tcattgatgg gccatcaaa gcctacttat ttgatgtctg ctcccatcag 2400
 gacaaggaga agggcctcca ctaccatgcc ctcttcacag gtagggaata ttccagaaa 2460
 tctctccttc agctccccag acaatgaggc acttccacta aagccatcca gtgtctctac 2520
 acgtggagtt ttttgaatga acgggtcagc tgatgggctg ctcccgtcat gcgggactg 2580
 tctccccgtg catttctctg aacagtcagc ttgtgactag tgctgcagtt tctgcaaagg 2640
 aagtttacag aagagctttc ttaagaatgc tttgtggaga caattacaac tgaaatggaa 2700
 agaagccttg tggattgtac ttttgcatta gagcagagga tctcaagcat cagcaatgta 2760
 gcatccacat tccttagaag gtcattgaaa atacagttgc ctgggctcct tctccagtta 2820
 ttctgattca gtgagtctaa ggcggggccc agacatttgt attttattta ataaagacc 2880
 cagatgattt tgtggcaggt ttaaaaaaca aaaagagaaa acaaaccaag caaacaaaa 2940
 actcaacgtc ttagaaattt cttagttatg taaaagggtg gcatttcctc aacctgtgg 3000
 tttgaaaaag ttcattgccag gaggaaaatg ggagctctct tgatctcttg ggactgttg 3060
 cagcctactt tggttactgt tggcaattg tttagagcaa tgctactcag agcaccagt 3120
 aggactatgc tagaactagg cattgaaata taaggcgaca ggaggatcct ggccaagag 3180
 gatttttata tctaagaggg ggactctatc agcccacett atttgattgt cttttagacc 3240
 cagccaatgc ctttatttat gttttgatgt attctctctc cttccatggc caggtaggtc 3300
 catgaaaagc aagatttcaa gttttgctca tagtttctgt ctctagagct aagactgctg 3360
 cctgcccattg gaagccactg gagccaatat ttgtcatttg agcaaacatt tgaatagttg 3420
 aaaacatgaa ggagtgaggc cgttggagca cagttggtag atctctctct gtgtaaggaa 3480

ES 2 449 152 T3

ggcagagggg caggagtgca gccccgtctg tcaactggccc ctgcccacta tgtctccagg 3540
 tgtttaaagg cacctaagac atggccaggg cttgagactt cccctgcctc acctttgctc 3600
 ttggcttccc ttcccactgc actttccacg tgtgtctcct cactcgggtg ctcccacccc 3660
 gctggcgtcc ttctgtctct ggggtcagcc cagcccataca tacctgcccc agggtttggc 3720
 atgagctctt gccctgcctg ggacaccctt ccccatataa tcccatagtc atgcctttat 3780
 tccactcaga tttctcatca gatattctctc atcagtgagg tctttcttgg ctaccgtacc 3840
 tggcatagta tgaccactcc tctttctcct catccttatt gggtttgatt tttctttcta 3900
 gtgcttatca ataccagact aactgactgg ctatttattt atctatcacc tgtctctctc 3960
 tctccttctc ttttttcttt ctggttgtct ctcccattta gaacatcaat cccagctgag 4020
 cagacctgtt gttttgttct ctgatgaatc ttcagttcct ggaagtgtct gctgcatagt 4080
 aggtgctcag taaatactga acaaacattt ctcaaatacc ccatgtatga taataacat 4140
 gtattaggta ttttctctta cattatctcg atcctgacaa tggccatgtg gaagtgggtg 4200
 gattcccatt tttcagatgt ggaagctgag ccttgaaagc agtgggtgtc ttacagctgg 4260
 ctcatgctgg cttcttgaga atcaattgtc aaattttagg aattcagtgat acttgttgac 4320
 atcatattgc tggcttgaaa ctggccatga tggcagtatt aaaactctag aaattggcaa 4380
 agctataaat catggttttt ttttttttct tggaaagcca gttgttaa atttacctga 4440
 agtccactga ttggagtagg agggggggtc ggtgattaag tcaactgccc atagtccata 4500
 gccggaaagt ctattgaat agattccaac ttcattttcc taacttgaat ctgacaattc 4560
 cttctgtttt attataattt gttgaaatta attacaaggt catgggagac tttctggctt 4620
 ttgaaactga tattaagagt ttattgatct acaggacatt ggacaatgtg gccaccactt 4680
 cccagcttac aattgtatta gatgtggcta aaagacccat gctttgctgc cttgacatta 4740
 aaagacaaaa ctctgtgta gggaaacttt tccaaggcca atacatgata gtattgtaa 4800
 ccagaattaa aattctaacc cccagctaac tgaaggacc ttcctctcgg ccaaggatcat 4860
 cctaaagtaa atctgaaata ctagtttagg ccatgatggg aatgggtggg tggacatgcc 4920
 tcattatacc tctgtccctt tggaaattca gcacaattga tcagcattaa cattaaagca 4980
 gagactttaa aactgacaaa acagactgtt tgtagcaatt aggtattaac atgataacat 5040
 agcaggccct gaaagaaata gaagtatttc accccaatat acatttattt gatattttt 5100
 gaaatggccc tgaaaagctg tctcttatgg ggaaaatcta ccttctgtac tcctcactct 5160
 tccctttcca gtatttttcc tgatttagga tagaattaa taaagtatct ggcacctttt 5220
 taagtctgat aggaaacggt tacagttctat tctctctgaa gcctgctaca tggaggcttc 5280
 atctgtataa taagaacctt ggttgccaca accccttatt ttaaccaga cgctctcttc 5340
 tattgcttcc aagtctatag ataactctt caaccaattg ccaatcagga aatctttgaa 5400
 tcttctatg acctgggagc cccactttga tttgtcctgc ctttccagac caaaccaatg 5460
 tacatcttac atgtattgat tgatgtctga tgtctcccta aaatgtataa aaccaagctg 5520
 tagccctact gccttgggca catgtttcag gatctcctag agctgcgtca caggccatgg 5580

ES 2 449 152 T3

tcttcatatt tggctcagaa tatatctctt caaatatctt acagagtttg actcttttca 5640
ttgacagtat ttttatgagt ttcagacaat atatcccttt tgagattttc tgttgatatt 5700
agtatatggt atggtgccag caaacatcaa taattttaat attaccttca ttcaggctct 5760
tagtacatct catctgagct ttagtactgt tgatggaaaa aaattaaaat atttgaagaa 5820
gtttattctg agccaaatat gaatgactat ggcttggaac acaacctcaa gaggtcctca 5880
gaacagttgc ccaagttggt tgagttatag cttggtttta tatattttag ggagctagaa 5940
gttacaggca aagatataaa tcaataaatg taaggaatac attggttcgg cccagaaagt 6000
tggggcacct tgaagagggg ggctcacagg ttataggtag agtcaaaact ttttcaattg 6060
gcaattgatt cagagttaag ctttgcctaa agagttgaag tcaacagaaa gaaatgcttg 6120
agttaaggag gattgtgaa gccaaaggtc ttgttatgta gatgaggcct ccagatagca 6180
agttcagag agaatagatg gtaaagtctt ctttttgagt cttagaagggt gtcaggctct 6240
ctaaaaaaaa actggtaagg gaaggagggt ctctacagga aaaaaaatcc cccacaaaag 6300
atggctttgc agggccattc caagatata caagaaata tattttgggt aaaatgcatt 6360
aattttcttc agggctctgt atctgtcatg tgatggata ccagagtcag gttggaattt 6420
ggcatcctat tgctatgaag agtgtttgt atggcagtct taagatctct attttaatgt 6480
taatgctggt taattctgtc taaactcaa agggaagggt tataacaggg tatgtccaac 6540
acctcccttc tcatcatggc ctgaactagg ttttcagggt tctttgggat cctcttggcc 6600
aagaagggtg tccactcagt cagttggagg ccttagaatt ttattattgg tttgcagtac 6660
tcatccttta actgttctcc agtctccagt ttcttccac tccaattgag ccaactgata 6720
gcttccagat tcatattttt aaaagccagc cgtgatcagg acactttcct gcttgatgag 6780
ctcagtggc tccctatgtg cctcatgggt aaataatatt ttcctagaca gaggttcaa 6840
gctgccacaa tctgttccca tctactctc caagctttac tccccattac tcttccaca 6900
ttctctgtgc tctgaataat ttttcatcat gtttccagga gcagcgggca ggtctgtttt 6960
attcccctgca tcccctactc ctctaccact gccttgcata ttgtaggtgt tcaaaataaa 7020
taccaatggg acaaatgaag gagccagccc ttccttcttc aggttctggg tctttgctca 7080
catcgaaagt tcttttctcc ttttctgct gtggagatca aagctgcttg gaaatgctca 7140
ctcattttct aggaacaagg gccctcattc tcttcgaaac tgcaggata ctttaattct 7200
aacttggtcg gggactagat ccacaaaata atcaaagcac aaaagtttat tgagtagatg 7260
aacatgaagg tgccagtgag gtagataact ccatcaggaa gagaccattg aggctgcagt 7320
tgatcacaca tacatcctga attttcatct cctcctggg cctttatggt ctgtttgggc 7380
tgccatgcca gaatgtcact gactaggtaa acagaaatc attttccac agttctggag 7440
tatggaaatc caagatcaag aagctgtcag ggttggtttc tggtagggcc tctcttctg 7500
gctggcagac agccgccttc ttgctgtgtc ctcatgtggc ctttcttctg tgcacctgca 7560
ccctcactgt ctcttcttt tcttacatga acaccagtcc tattggattt gaattagggc 7620

ES 2 449 152 T3

tccacactta cagtctcatt taaccttaat tacctcttta aaggccttgt cgacaaatac 7680
 agtcccattg agggtttagag tatcaacaca ggaatcggga gtacagggac acaattgagc 7740
 ccataattga gccctttcac ttttaccctt gttgccgctg agtccagctc ctgaagcttg 7800
 gatgggatgt ggatggagca cacatgcttt tctctctctt cctcctccc caatcccttt 7860
 tgttttcctt ctttgcataa tgaagatatt ctagaatttt caaataaaca agaaaaacac 7920
 aaaaggcttt tttgtgttca taagagcagt tatggaactg gagtattgtg ttccaatcta 7980
 gctgttctca ggttctcatg cagaatgctc cctttaagat cttctaaaat ccctccacc 8040
 ctgtcctgca gggaggggaa aaaaatctcc cccaccccc tcaccctcc aacctccacc 8100
 ccaccttg agggaggggc agttggtggc aaagggaaag ttggctcaca ccctgaggaa 8160
 aacattttac cacctcccag cttagataaa cagtccagcc ctaaagggtt actttcttat 8220
 gtctctttct tggcctttgc cattttccac cttccatggt agttatttga atacatttct 8280
 aatcactctc attacaccat aaacttcttg agggaagggg gctgtccaga ggtaacatac 8340
 gtgtgaatga gtgagaggat aagggatgtg tgaatgagag acaatgttat atgcacttta 8400
 atgatctttt tgggggactg gtactgccac ccaaaaatcc aggttgattt ccttcagccc 8460
 ttccccgtgt tctcggcccc ttccctatca gcacttggtt tatgcttagg gaatagagtg 8520
 attaggaagg ggttgtttgc aagtcactaa cccccaaaa acagtggctt caaggcagat 8580
 gtttattttt cttatgtaac aaaaagtctg ggagtacgtg tctgtggctt ttcagtgagc 8640
 tgctagatgt cagagccaac aatttaatgt ttccttggca gctttaagga tgtattgcct 8700
 cctggatgca agacaattgc tacgggtcca tagctcttgt ttgtttcaag acaagaggag 8760
 gggagaggag ggtcagggag aaggaagggg gaatggggaa agagcctaca ttcactcttt 8820
 aaatgaagaa agcaaatctg ccctagaaac ctcccctctc ccagagctct gcttgtttct 8880
 cattaggcag aattgggtta tgtgagcatt cagtggccta aggaggttga aaagtgaggg 8940
 ttttgctggg agttggtcat gtatctccct aaaccacatt ggggttttat tagcaaaaag 9000
 gaaggagcaa ttacaattga atagacaaag ctggtagcta tcacataaaa tgcaaacaca 9060
 gttgaatgtt agcttaataa gaataattaa agaccaagac tattataaga aatgaatta 9120
 gagcttttaa agtcccatat atgagtaaat aattaaagga taattatatt ttggagtgat 9180
 atacatgcct gctcgaatt ttacctgatc tgcacatttg ttcactctct cccctgtatt 9240
 gtaatttaca aggtatttat ctaccctcc tgcaagattc gtaaactctc ccatgagggg 9300
 ttacctgcaa attccccatg gcttctaatt cattgccttg ctgttagcag gcacttaaac 9360
 atgttagttg tgtaaaaagga gacccgaggg ttacataacc ctgtttataa ttcattggttt 9420
 taaatgacac gacaaattgc atcaattaga caaatatgct catttaatta ctttgtctca 9480
 tgaccagcac tgaaccccga acctcagccg actgtctccc gtgcatgtct ttgctcatat 9540
 ggaagcagca gaggttgtgt ggatggctca gagcaatttc tttcccacac tagaaaaaca 9600
 acttaaaaca tcttctctt ttaggacagt gcagtggagt ctctcacttt gtttaaggct 9660
 tagattctaa agtccccaac tcagtgacaa tgacaatcga cattattcgt aaatatctct 9720

ES 2 449 152 T3

cagattactc ataaaataca atatgctttg ttttgtgtgt acaaacctgc acatatatat 9780
 atgcagattt gtctctcctt taatgtttac tcctgaaatt aatagaatta cccatactat 9840
 ttaaaatggt actcttgtct ttcttgcaat ctctctcttt ctccctgtgt tcaaagtgtg 9900
 aatagttgaa ttctggtgag ttaaagtgg gatatgtgat cccactgtgg tatcctcact 9960
 ctgaatgaaa aactgcatta aaagatgagt gaaaataaca agcagggcct tgtccctctg 10020
 ccctgtcttt gcatacatgc caaacttttt gaatttacat gcccttgaca aagagataac 10080
 tacagcattc cacttgaagc aaacgttttc cggcagaggc atgttcagtg tcagggccca 10140
 ttttgatttt tcatcaacag caaaatatta ttcacccaag gaatccaatc atcccagtaa 10200
 actgaaattc tttttttttt tttgtttcac tgcctgtggt ctgttccagc atttccaaat 10260
 gcttcataaa taagcatcca agggttcatt accaaaatat ttcccagcat atttctgaca 10320
 tttttttggg attttctaga gaaaagactg tactggctcc tagggagaca ttaattcct 10380
 ctagcttcta tctttcatat ttaaaggcaa ctctatctc ctccatccct ggcatatgtg 10440
 gtagccatgg taggtttggt gggtcaccc gcactttctc accacacaga tccttcactc 10500
 ctgggtgcac ctgaggctgt ggaaccgagt gagctaacag agtggtaact accaggggag 10560
 actggaaatc cttttgtgcc cagggagtct aaccaagcgt atttctgcta cttgaacca 10620
 agactttgct gttcttagca gtgggctttc ttgcttggcg ggaggctggg atcaggcatg 10680
 acaggaaagg ccagccctgt tcagctcctg gttcctccta ttcactgcag agtagcctca 10740
 gcatttctga gctttctca ttcttcaca ggcttgcaa tctctgcacc atgttagtta 10800
 ataaccacct tgcaagggc acaggcacag cacaatgaac catctaaagg atttcatcta 10860
 acccaaagag atgaaacgcc aatgtttat atttacttga tttccgctat cctcactacg 10920
 cctgcaaaca ttttatttgt aatgactcag tgagaaactt gccccattac atccttggaa 10980
 gaagaatggg taacttgtca gatatcaact tcttttaact tttgtctttt aatacttcaa 11040
 agtatgcaca aaaaatgcga acatgcaaca aatgctctaa atagcaaata attaagggct 11100
 aagaaaagag tcttaaaaac gaaattgaaa caagagactc tttgactaaa ccttttacac 11160
 agaggaaagg agtcacttca tgtttgagac tgttttaacc tttctctttt ttcacttcta 11220
 gatgagtggg tttgtttcat caaacaaaac ctttgaagtt ccacccatgg tagactttca 11280
 catctcctca ttcaggcagc ttggaagga tatggccagg gcagaaacca aggatacagg 11340
 gatttcagct tgtggataaa aagggtgatt tatgcaattt agggtgatta agtctccaaa 11400
 ttgccatctc ttttccattc aatgggatc aacacaactc tcaaagaatc tccaagtcag 11460
 attagagaag tgggaatctg ggggactttg tcctccctgt ttctctgct cgaaagtgtc 11520
 ttcccagga ccaattggca gttggctttt ggcctcctg ctttgttact ctgatcgcaa 11580
 acacacaccc ccagccctga ctccatcac agaggtacc atcattactt gacactgtat 11640
 tatttttca tttatttatt tctgtaggtc tgaatcaaac agattttatt caacttttta 11700
 gaatgagga aacaaatgat ataaaataag tcacaaaaat gctttcttat cctactacct 11760

caaacatttt tcaatgtttt acaaaatgct cacctagcaa atacgaaaag tttcaacaca 11820
 ttctttctctt gtaacttctg ctgcaataaa tgcgatatta gcaaacatac atacttccat 11880
 atcagtccta aaagttggat tactgaatta ttatactaata ttgtatgatg ttactcatat 11940
 ttttattcat acacttttaa tgagatcatt ggcaatacgt atagtatttt ctttaacttc 12000
 actttcacat taagccaatg tcttttatat agccatcaaa aagtaaatta cacaggttta 12060
 tagttcaatt taagctctag cgtcttagaa tcagccactt tctaaccttt catgatgcct 12120
 tcctgctttg caaacccatg atcagcatga attgcaaca tacctccttc agtacaagca 12180
 tttctcaggt ctctccatt aaagtcactt gcaaacttca caattactcc ataattaatt 12240
 tcaccatact ttgtaagggg acttgcatgg attttcaacg tgtctaactt tgctcgttca 12300
 tttggcaaat caatatgtat ttttttctat ctaatcttcc tggatgcagc aaagcaagat 12360
 cccgtgtatt tggctctgtg tattttaact ctgcgagag tatcaaatcc atccatttga 12420
 ttcagtaact ccattaaagt tctctgaatc tctctgtcag ctgaagtacc cttggaaaac 12480
 caacaacct caatagcatc taattcatcc ataaaaatga tgcattggtg atggtccctg 12540
 gcataattaa acatttctct gatccaatga gccctttcac caatgtgctt gtctacaata 12600
 gaactagata caacctttaa gaaattgcag tcctggccag gtgtggtggc tcacacctgt 12660
 aatcccaaca ctgtgggagg ccaaggcagg tggacctggg caccatggtg aaaccccatc 12720
 tctacagaag atacaaaaat tagctgggta actgggtgtg gtagctctca cctgtaatcc 12780
 cagtactttg ggaggccaag gtgggtggat tacctgaggt cgggagttcg agaccagcct 12840
 ggccaatgtg gtgaaatctc gtctgtacta aaaacacaaa aattagccag gcatgggggt 12900
 gcatgcctgt aatcccagct actcagaagg ctgaggcagg agaatcgctt gaaccagaa 12960
 ggtggagggt acagtgaacc aagatcacgc cactgcactc catcctgggc aacagatgag 13020
 actccgtctc aaaataaaaa ataaaaaata attaattaac taattaaata ttagttgggc 13080
 atggtggtgc acacctgtgg tctgagccac tccggaggct gaggtggaag gatcacctga 13140
 gcctgggaga tggagggtgc agtgagccaa gaccacagta ctgcactcca gcctggacaa 13200
 tagagtgaga ccctgtctcc aaaaaacaaa aaaaaaggaa aaaagttgca gtccagctgg 13260
 ccagcaatag cttgtgtgcc aagagtgtt ttctgttta tgggtgtcca cataacaac 13320
 agccttttgg aggtattatt cctacaagt ggaataactg ggtttgtaag tggtaacccc 13380
 tcaattcca catctattct gatagccctc caatctcaga ataagaaaca tcccaggatc 13440
 ctcatgagac atgttataaa tcagtggctc cacctctctt ggtaaatatc tcatgatagt 13500
 tagtgtagcc ctatccaaag caactcttgt tcctggcttc agctactttt gtgaagctgt 13560
 cgacgacaac tccaacaca tcttgggtcca tctgcagctt taacaatgaa ttttcttca 13620
 gtttaattgt taagcatgtt actcacaatc tgccaacac ttttagggc cttcagatca 13680
 ttttcagact tttcatcag tttggtaaat tcttgaatt gttcccttag ctcttaaga 13740
 tgggtgccc atccatgcac tctggcagct tcttgcgtga gtcctgaaat atcttatctc 13800
 tagggtccac catgatgaga agtgctattt gtttattgtt tattgtctgt ctcttaacc 13860

ES 2 449 152 T3

atcacataaa ctctcaagt acaagaacat tgtgtttcct gttcattgac caccactatc 13920
 ttgaatagtg cttggaatat ggaaggtgct caaaaaatat tgggtgagatg gatattcagt 13980
 tttaacatct taattttatt aatgattaag ctgtgttggt gagaggtaaa gtggctaacc 14040
 caaggtcaca cagctdgtta gtggtagact aggggtaaaa ccaaccaacc aaccaacca 14100
 ccaaccaaca agccagtcag ccaaccagct aaccaaagat gtggttcatg agttagtctg 14160
 gattcctcta aaagttgaac cccagagggt tgtatacaga tagtttattt gggaagggat 14220
 tctagagagc aagagtaagg aaatggtgga caggaacagg ccaaacaata agcattacag 14280
 agctggctct gaggaggctt aggaagggca ccaaagaact ctccatgtag gggatgaatg 14340
 agggaagatt aatccagtct gtactgactg actaaggggt gtaccatggg ttttgtaagc 14400
 cctgaacccc agctgtttct gtcttccctc agtttaggca ccatccagat gcacctgtcc 14460
 agtgcaaacg tggccggagc tggcttagat ttggtcactg cagcagctgc tggagcaagg 14520
 gaggcagggtg gggaccgaga aggtttgcag tggctcacag gggctgtcta actcagctga 14580
 tgacttctag tctgcagctt tttcattcta gcatttgtgc cctgtgctcc ctggtcacca 14640
 ctaggaggag ttaaagcatt ttgcaaacg ctccacgggt tgctgagcca ttacaactta 14700
 gaactggaaa tattagttct gtaaacttta agaaagctca agacagccat aaatggctcc 14760
 agaacgaggc caattaatgc ctgacctct gcacagcctt ttcttctg gattcttact 14820
 gcctccatgg ggtctgacca ggaaatgagg cacctatctt cttgctcttg gatccctcaa 14880
 gccttcagg ggaggctctg ctctctctt cccacctcc aactctagct aggccatca 14940
 agcagcgagc aagaccatcg ccgcctaagg gatttaccaa tatgtgtgca cccatcatga 15000
 atgctctgtc tagcctggga agcctgggtc ttaaagcaca ttttctaagt aatctactct 15060
 cgatgccttc gcagcctaag ggctttcgga actctgaagc aagacaaacc attcttattt 15120
 ctctgtctc tactgttaca tactgtctc aaagcaacga ggcatcctgg cccagcttaa 15180
 atgtgaaaga agggcccaat gagagaaagg gatgccagga ttagaggtag gtggatggaa 15240
 acagtgagca atattttaaa tatattatct cagcatctt gaagagaaaa gttgctttgt 15300
 aaacctaag aaatatcaga tcagcttgtc tggcaagct ggtctttgac cagagcatat 15360
 gtatcatttt ttttttattt taatttaaaa ttttttttt cttttcattg ggaacacaac 15420
 acatgtatca ttttgactgc tttttctgta ctgagcctcc aagagggcag aggtcatgtc 15480
 tgtcttgtc attgatgtat ctcaagtgtt tagcacagtt cctggtgaag ataggtgtc 15540
 taacaatttc tattgataaa caaatgggtc aaggacacca cacacacaca cacacacaca 15600
 cacacacaca gagagagaga gagagagaga gtagctggta cttatgttaa ctgtccagga 15660
 tttagtatgt acctggggtg aataagtagg aagcatgcac ctaatctgac actttcattg 15720
 ctattttttt caacatgtag aaaagaatca gaacgacttt ctcatgaacc ccatgggaag 15780
 atgggagttc tttagtctgt cctccttcag aggtaaagta gcaaacagca catagctagc 15840
 tctcatgact tgagctgtgt cagccctgggt gctgagcttg ccaagccaca cacctgatgc 15900

ES 2 449 152 T3

ctgcaggcaa ttacaggcag atggtaggtg cagagtttga tttagatgga ctctcttgag 15960
 tttcctttca tccttttagat tccttggtac tgacagttta ccaatttccc attttacctg 16020
 tcatagttgt ggactaaaga caatTTTTta catatttcta tatatttggga cttcttccag 16080
 tatgggccac tgttcaagtt gcatcattag ttatgaaata tgacatctgt cttctaaagc 16140
 catttattct gctgagtttg acaacacagc ctggcttggg gaggaagggg ccagctggac 16200
 cacttctggc ccttctttgt aaaagcttgt tatctaagt ggacagcagat gtcctccgaa 16260
 tgctctggct tatggcttgc ccaatagcct ggtgattgat tccagtggcc tcacagaggc 16320
 tgattttggc agcagaggta aatacagtct ggatgtaggt gtgggagggt gtaaaatggt 16380
 aaaactatca gcctttatca tagcgcaatt aggttttgtt ggggagattg tctttgaaga 16440
 taaaaccctt ggcttaagaa gaagaagcaa aagaaaggcc tttaatgaat tcctgcagcc 16500
 ctctactggc cctcatcata tctgaggcag caaatagata aagtttaaatt attttttcc 16560
 agtgtcttaa tattctgta ggataattcc cccagtggcc cactttgctt tcctggcatg 16620
 tcgtgttgta ctattctaac ttgcagctac aactacttca aaacagtagc tttgggacaa 16680
 ataagacagt tcttcccttt tttttttttt acccccttcc ctaagataag agagtgctaa 16740
 taattctcta agttatagat tatgtcaagg ttttaaatta acacattaat aaaggaacca 16800
 atggggaaga tataagaaga gtttccccca ggttcttgca ggaaatgtgt gtgtgtgtgt 16860
 gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtctagcaaa ataaaaaatg ctagactaaa 16920
 tatgaacctg gttaaccttc tacaagacaa ggggttataa aagtataacc cctctgtaat 16980
 acttttgag taatttcctt accaggcaac aaaaacccta tcatatctg caaactacct 17040
 taattttaca ggactgcaaa tctctgtgct ttatcagtta tgaattgtgg gtcaaatac 17100
 ctgtgacaac aaagtacctt ttctcaagaa aggaagttag ttagaaactg ctgtcacctg 17160
 gccactcaaa agagtgatgc ttggcccagc agcattgggtg tcagtgggta gcttgaaaga 17220
 aatgcagaat ctcaggctcc accttagacc ttcagaatca gaacttgcatt ttaacaagg 17280
 tgcccatatg atttgcgtgc acattaaagt ttaagaaggc tgctctagag gaatatttta 17340
 aaagtcaagc agttgcaatt ttacacttt ccaagtttga gatataattt actttcttga 17400
 tacttgctac atgccacaat agggtcaggg gtaagcccag gtctcagccc tcagaataat 17460
 ccattagttc taatcactgg gcctaaaatg actaaatcct ttcagcaagt tccaggcagg 17520
 ctgccttcag ccagttcagt gcagtagcta tcttctgctt ctaggggagg ctttggatt 17580
 agggttacta taggaagtca gcagggagct cagttttggg tctggttctg ccatggtatg 17640
 tgctggggct tgacgtggat tatttgcatt aatcctcact aaattcagat gaggaggcag 17700
 caccaccctt gtttctcaga gaagtgccca agagcatgtg actagaaagc acaaagatag 17760
 gaatggaaat caggcacgat tccaaatctc ttcttccctc tgtgtggtct tccatcacag 17820
 agtcaactaaa gctcatagct ttctgatcta actcttcaaa tctcctttta catccaaaat 17880
 ttttgaattc attgatatat tgaactctta taactttcat tgctaataaa gagaaatcct 17940
 gtcagattta ctaataatcg acatcacctt gttactatta actagacca ataatgactc 18000

ES 2 449 152 T3

ttgaaactc ctctgtactc tgagtaccca gctctgagtt ctagcttatac atttattact 18060
 gttttgaaag tagcttctcc ggtggcgggc gcctgtagtc ccagctactt gggaggctga 18120
 ggcaggagaa tggcgtgaac ccgggaagcg gagcttgagc tgagccgaga ttgcgccact 18180
 gcagtcgcga gtccggcctg ggcgacagag cgagactccg tctcaaaaaa aaaaaaaaaa 18240
 aaaaaaaaaa aagtagcttc tcccattatg tgcttctccc acttgaaacc accttctggg 18300
 gaaaaaaaaa ggaaactgtg tcttttttat gtttatatcc ccagaagttt gtagagtcac 18360
 ttacatatat ttagtgctcg atacatgttt attgaactaa agtaaaccag tagacatgca 18420
 actgcatcag gaaactcccc aattgtagga ctccattttc caaattagtc tctaatacaa 18480
 atccatcatt atatgcatat ctttatattt tttccataaa ataaaactac cattccattg 18540
 cacagtggag gatttatttc acatatcaat tctttcaaat gagcaggggt cttctgctct 18600
 atattcttcc aactgaggca atgagtaatg ctgagttgaa caaaaatttg aaagatagag 18660
 gcataagtga taagaaattg aatggcaatg tgaaaaccct tgatctgttt acaaatgata 18720
 gtttcgaaaa aggaatgtgt ctgtcatagg gttgacttag gtcaggggtt ctaaactagg 18780
 ggccactttt caacctcctt ccctcagaga tatttggcaa tatctagaga catttttggg 18840
 tgctgtaatg ggttggggag cagacttaat acattcttat tggttgattg cttggcttga 18900
 cgcatgactt ctgatacctt ctgcctctct acaattgaat agtcattgtc taataataac 18960
 cagaggcact acaaatccca gaacattctt ctgaatcagt cgtagagtgt ggctgtttca 19020
 ggaccttctc tttctctcaa atcctgggca cttcaccatc atctgtcctt tatctgttta 19080
 tgtatatgct catcacatat aactaggcca taaatttctt gcttccagag actatatgtc 19140
 ttacttctct gtgccccatt ggccacagtt tcttgaatt ctgccttaa acacttcagc 19200
 attcaggaca tgctaagat gctttatttt tggaaatcaa tgattagatt gttggtcctc 19260
 cttaaataag ctctatgta aattgcaact aaccagaata tgaagtgacc aaaattgtct 19320
 actctctcac taatttgaat aaattaggat tcatggtact tgacattcag gtttgtgttc 19380
 ttgaggtcag agtttatgta actttagatg tttaggggta gagaggaact cttttagttc 19440
 tattttcttc cttgattctc tagcttgatg agatattgtc cttatctgag aaataaaata 19500
 gagacttcac tcatacacac acacaaaaaa aatcaaaaac aaaaatgaaa gctgatctgt 19560
 tcagctagat aagttgtggt tggtaggcat gatgggagtt tgacgtttaa agaattttga 19620
 caggaggatc agtcctacat aagtttgtga catatgtagt ggatgtgtcc agcactcaac 19680
 tctttaattc cctgcacatc ccataatatg tccactgcc cctccccaac catgctatct 19740
 cccacacttt atcagaagtc actgatgtct gcaccagaag gaacatctga ggaacagtta 19800
 ctactttggg gctgagtaat ttcttgccca taccaggaac acgtgtattt taaaacagaa 19860
 actcaaaaaa ggaataacta ataattggat tttaaatatac agataattag gattgaaatg 19920
 attttgagga gcctttcttc agtatccctc aagtgcacac atgtttaagc ctgagaagat 19980
 aaaacaagca ccaaaaagac ctcaggttgg agtcctggga aacgataata ggatttttaa 20040

aaattcatgt ttaaactttt gttctcatta tttcctgttc ccagctatca actgggaaca 20100
 agtaccttga gcttctaata gaggaagaaa gacagctttt gaggggtgtt catctttgca 20160
 agcttacgtc atcccaggaa gcttaataat aagaaactgc aagtcattta attttattgc 20220
 tgccagaaat tggttttctt tggggctttt tctggtcaga aatttaagtt caaaagcagt 20280
 ctagagaatg cactttggaa aggtcacagt atctctgatg gtagcaatac ttagtaagcc 20340
 cttgctatgt gtctggcccc atcctgaaca ctttctattt tcaaatcatg accctactag 20400
 taggttactc ttttactatt acctccatat tctgggtgag gaagcccaag atcacagcaa 20460
 gtaaattgcta gagccaaaac ttgaaccac attgcctggc tgtgtgtttt tcagcctctt 20520
 gctgtattgc ttttccaatt atatccaggt tgcctctgct gtcttcaggg agttttccca 20580
 ctgaagggga gtgtctatgc atgaggaaaa tgaacgataa tttgctaaat atgctaacat 20640
 agcttttctt gctttccagg ttttggaggt gccctgggtt accttttggg tgctatagac 20700
 tgggccccatc tggagctggg aagactgttg ggtacagaat tccaggtcat gttcttcttc 20760
 tctgcattgg tgctcacttt gtgttttact gttcatctgt gcagtatctc tgaagcccca 20820
 ctacagagg ttgcaaaggg cattccccca cagcaaaccc ctcaggaccc tccattgtca 20880
 tcagatggaa tgtacgagta tggttctatc gagaaagtta aaaatggtta cgtaaatacca 20940
 gagctggcaa tgcagggagc aaaaaacaaa aatcatgctg aacaggtaaa gatgcaacat 21000
 tttttcttta caagggaaaa tattcttgct cttgtgtgtt gttgtgtgtt ttttaattgt 21060
 ttgttttgtc tgtttgacga gaagagtttc atgggttcta actgaattcc caaatcccc 21120
 gtagctatca tcccttggaa ttaaaatttt atatctcaaa gaaaaatgtc tgcattttcc 21180
 tctggtctc ctgtctctta ctctctcag gtagcatcca accagggag atgaagccag 21240
 ttgagaaagg ttaggcaaca agagaagcct aaaatcatcc ttaggccaga agaaatatcc 21300
 ccttagatta ggatcataaa ttagaaattt tttctccaa atggttagcat ccttgggttg 21360
 gtgactgagt tgggcatatc gaatttgctt gtcatgagtt gattggatat tttcgttcat 21420
 tttcagcga ctgcacagt aattcatcag cttaaaattt gaaataaaac tcaactaact 21480
 gccagagaaa tgagaccatg ttcagatgaa atgatcagag aagagactag aattaagctg 21540
 agcaatatag tagctaataa tcccgtgggg ctatttaaat taaaataaaa ataaaattag 21600
 aacttcattt cttcagttgc attagctaca tttcaaatgc tcaaaggccc catagggctt 21660
 ctagctaaaa tataggacgt gcagatgtaa gacattccca tcattgtaga acgttctgtt 21720
 ggacaacact gatgaaataa ttgcattttc cttcaagcta aaattgaatg caaaacctc 21780
 agggatatag aacagaggat ttcttgattg acaaaatgtt gtagaagact taagtcaaa 21840
 tcttggttcc tctagctgct gacttgtgtt attcattcag tgaatcacia atagctactt 21900
 gctatagggg aacctaaaga ttaagagcac agtgcttaaa tcctggctgt accacctctg 21960
 gattgcatga ctttgggcat ttacatttgt gttaaatgat aaaataatc catctaccta 22020
 caagggttc gtgcaggtg caggggctaa ttcaggtaaa gttacttaga gtgtttgcaa 22080
 ccacataata agctgttggg tttaggcctt gttattttga ccctggcaga aactagagt 22140

ES 2 449 152 T3

gccttaagca caaacagggga acacaaatct ggactccaac aactttcaga caagctcagt 22200
 gaatctcacc ttcctgtgag gtcaacttct tttgttggtc tggccagtct attttctagg 22260
 attattagga tgttcaacta agataaagca tacaaagaca ctttttcaa cttcacataa 22320
 atatatcaat acattataat cattattcat ttaacaaaca gcttggggta ctgagtatgt 22380
 gcaaagcact gtactagata tttggggacc ataaaactga caaatgtcca gtctctatgc 22440
 ccaggaattt gcagcctaac acgtggcata tgccatttat accatgactc ataatccatg 22500
 atagaacatg gtaaagtcta taaaacaatg tatcagttca gatcttttaa aaaggcacca 22560
 agataggatt tgacatgtaa gagattcatt ggagaaaaca gcatgaaaga taaagtggag 22620
 aaagcagaaa taggaagggga aagtcttctt atgtttgatgc aagtcaaaca cctgtgaaag 22680
 gagaaaggaa aggaaagagg atagggtagg aagcctctca gatgcagtga agtttcaaga 22740
 aagcttcact caggccaaat gggagtcctc cagccaaagt tgctccttag aggagtccca 22800
 actctttagt gaacaggcta acactaatac cccccgtctt gttagtactc atctgggaac 22860
 agccaggaaa ggggtaactt tggcaggaac aggtacagga acagagttcc ttggcaggaa 22920
 caggaacagt ggatccagag aggcagcatt cagcgtctgc gatcaactgt gttttctctg 22980
 gtaggtgacc caaacggcac atttccaagg tggccacaaa tggcaaaata gcaattgctt 23040
 ttagttttaa agaggggaagg attgtgccta aataaatgga gaaaagcgtt atggaagaga 23100
 tcgcccctga gttgtgcctt gaatgatagt taggatttga atagagattt tgggggaaaa 23160
 gtacttctga cagaagagca tcagcaaagc cacagacata aaaaattttt tttaaagcat 23220
 gaagcatatt tgtagaaagt ataagtggta ccatagatca cagagtttgt aactttagaa 23280
 ataaagttag gaaagcaaat tggagacaca ttttgggaagc ttttgaatgc cagcatagga 23340
 actaaaattt tattaggtgg atgatggagg tccatcaaaa ctagtggggc aaaggactcc 23400
 ttgatgtag ctttttttgg ttggtttttt gtttttgata ttaatccagc tgctgactac 23460
 agggaataaa gaggtacca ggagggttta tttgggtgaa taataagatg tcttggaatg 23520
 agttgactg tgtgcttggg tcattcactt gtgcattctt ttattcattc aatagctatt 23580
 aattacacct gccagacca gtgctgagca tcagaagact agtgaacacc acagcccttg 23640
 ttctaccca tggagttgtc acctagaaaa gtgtgcctat gtgttatttt gctttcttaa 23700
 tcaaagtta attagattta caaaaaagt gcagatagta gagagagttc ctatgtatgc 23760
 ttcaccagct tttctcttat gttaacatca tagagaacca tgtacatttg ttaaattaa 23820
 gaaattaaca ctgcttcaat actgttaggt aaacagcaga cttatttgaa tttcaccagt 23880
 ttttctacta atgccctttt tttaaaaaaa atgtatttcc ataggctatt ggggaacagg 23940
 tgggtgttgg ttacatgagt aagttcttta gtggtgattt gtgagacttt ggtgcacca 24000
 tcacctgagc agtacacact gcaccaatt tgtagtcttt tccccctcat cccctttcca 24060
 cacttcccc ctgagtcccc aacgtctgtt gtgtcattct tatgccttg catcctcata 24120
 gcttagctcc cacttatgag ttagaacata caatgtttgg ttttccattc ctgagttact 24180

ES 2 449 152 T3

tcacttagaa taatattctt caatctcatc taggtcactg caaatgccat taattcattc 24240
 cttttatggc tgagtagtat tccatcatat atataaaaga tacctgcaca cacgtttaca 24300
 gcagcacaat tcgcaattgc aaaaacgtgg aaccaaccta aatgcccatc aatcaacaag 24360
 tgaataaaaa aactatgata tatatatata tatatatgtc agatgaatgt ccataataaa 24420
 aaaaatagat gttgacgtgg atgcagtgaa caggggacac ttctaccctg ctggtgttga 24480
 tataaacttg tacaaccact atggaaaaca gtgtggagat tcctgaaaga actgaaagta 24540
 gagctacgat ttgatccagc aatcctattc ctgggtaata tcctttttct gatccaatct 24600
 aggataccac attacattta gctaagcggg ttacaaaatt taaaaacggg actttatttt 24660
 aatggatttt taaggaattt tttttgctat gtatagtcag tagaaaacct ctttttttg 24720
 tatacagtta tgtatataaa taaaagcaat acatcttagc tgtagttat aaaagtgtgt 24780
 aagtagtttt cccttgagat caagtgcctc ctccagtatt gtttactctg ttcatttgc 24840
 tagcattttt ccaaaataaa tgcaaaagta aacttcgaca ctgctcatgt ttgaattggc 24900
 aaaatggttg agtatgatct gctgaaacga ggcctcattc tataaacatg actgccttca 24960
 agttgagttg ccacagcgca tcaacctgcc tctcgccatg ccacttgata ggagaataca 25020
 gttgaagaga gtaatctatt catctgattc caacagtagc tcctatttta ggatgagtg 25080
 agtgtttttc ataactgtaa gagtgcaacg aggaactaag aggtcattgg gataaacct 25140
 tcattttatc tcaatcacac aagtagagaa aatttgagat tttaggtctc ctaatgcctg 25200
 gactcaacc cttttcccta caccaggctg cctggaggag aatacttgta ctctttgact 25260
 ctcttcacc aagaagccag aactcraaga ttactagttg gactggagcc ctctgtgcat 25320
 ttatgcagga cagccaaaga atcacggaat atctatatga taacattcat gcggtcatta 25380
 aaaatgtatg tttccgaagg tttactaaaa atatatcagg taaaataac attacatgca 25440
 caaaaccatc tttttttggg agaaaacaaa gctgcataac atagaggaaa aaatggaaag 25500
 gaaatataca aaaaatgaaa agtctggatg ataggctcac aggaagcttt aattttctat 25560
 ttttaaatcc tgcaatacat ccaaaatttc tataatagat aaaaaaggg aaaaagtaat 25620
 caaataatgt gaaagtgaaa attaaaaaat aatgtggtga tttggggaac aaaacaaggt 25680
 gcggttttac taaataaaaag tatatacgtg ataatagata acaccctgat agattatcta 25740
 cctctttgat gtccccttcg atagactggg actccccctc caagagtcgc ataggacagg 25800
 ggctgcacca tccactcaga ggctgctgtg aggatcacat gaaatcaact gagtgaagc 25860
 cttttgaaag tcatggaact cccacacgag tacaaaaata aatacaacag atacaacgaa 25920
 ctttctagta ggggccacat gaaaaatgtt gtagactctg aatgatcttg ttatttggtt 25980
 taaaaaacia attgagacca gtgcagtggc tcattcctgt aatcccagca actcatgagg 26040
 ccaaggtggg aggatccatt gaacccaagt gtttgatgct gcagtgagct gtgatcatgc 26100
 cgctgcacac ttgtcaaagc aacagagaga gacccacct ctaaaaacat aaataaataa 26160
 gcaataaaaa taagacaaaa agttaagta agaatatagc acagagtaat gcatcttact 26220
 ctcaaagcca tggatttgca cttctcttcc aaatgtgtgc cctgggaggt ctccagttaa 26280

ES 2 449 152 T3

gcaaaggaag tctgcacttc cccagggcca gggccaaggc ttcagggctg tcattgcttg 26340
ccaaagacat tgctttccaa aataaggggtg gctgtgtaat ttaagaacaa atttttcttt 26400
tttaatggca agagggctga attatttcag aagtttaaac cagatctcat aaaatctatc 26460
tccaattcct ccatgtcgtc agttgctccc ttaacattt aaatagtctc cttttgaggg 26520
tatgtttgtg aagttttctt tctccctgat gactctgtac ctttttcgct tgtaaattca 26580
tcactacca gtctccagct gacagtggtg caaataaat gcagtaaac aactcccaag 26640
gtttcagaat cattgaaagg tttttacca ggaattgat gagtcaggaa taatatcca 26700
gctgggtttt tattctgagt taaaatatac aaaggggctt tgaatattta cactctcagc 26760
ttttacagaa atactatgca cttttgaaa gctcatattt atttttagaa gaaaggagaa 26820
attaggctaa caatgaaagc aggctgaaaa ttatgtataa gtcagaagca tatattaata 26880
tttagaatga ggctgagtac ttgctgacca gattcgcttt ctcagttttg catttttggg 26940
aggagaggaa ggaagtgat gacaaacctt ttagttggag gcatgaaaac caggctgttg 27000
tttcttgggc tattgttagc tgcttcttc tgtggttag gaaaaagtag taattctgca 27060
cttcattttg gttataatca tttattttta caggaccat attgaactg cagaaaaaca 27120
gttattttcc ttcaatccag ggagatgtct atagtgttta aactgatta tcagaaaatg 27180
agtatagtta tggctcagtg gctagatact gcaagactga tgaatttta aaaatcaact 27240
tacacaacaa aattaaaatg ggccaatata atttccaca gcaaagaaga aaaaagcatg 27300
attatataag gttaagaagt ataaaaata tgctgttaca gttaaaatag aaaatctcag 27360
tagactgtct tataaactag ccagtactca atgtcgtgat tcagaataaa taaaaatag 27420
acaagaaaga ccaattacca aattgtgtct gatgtttatg gtctcagtg cttcagggaa 27480
gctaatacat taatattccc aaggtttctt tcttcttta tatgacaaga tgctaaaagc 27540
tattatcatt tttgtattt caaacagtt gtatcaatag tttaaagtt ctcattctct 27600
caatgttctt gaaaccagaa aaactatagc ttctagttt aacctattt aaatctaat 27660
taaggaatcg gggcctatat attcattttt tacatatatg tgtgtgggat gggccttctt 27720
aaagttaatg gaaaaataga attaaaagat aaaaattaaa aagaataaac tttatttctt 27780
aatgtaagct ccattgagtt cattgcttac ttttgaagc aatgatacca gccgtttagc 27840
ccatccctaa agaactgggg gtcctggaga tttagctatg tcaatgcagc cttttttaca 27900
atattaactg aaaaacctg ggtgccctt atagatttt taagattagg aaacagaagt 27960
cagaaggagc taaatcagga ctctgggatt gatgcctaaa gatattccat caaaattatc 28020
acaacattgc ccttgtttga tgataggaat gagcagaagc attgttatgg tggacaaaga 28080
cttcctgggtg aagcttttgt gtgttttct gctaaagctt tggctaactt tctcaaaaca 28140
ctctcatagt aagtagatat tatcaatctt tggccttcca gaaagtcaac aagcaaatg 28200
cctgagcatc cccaaaaaaa ctgttgtcat ggtcttttct cttgacctgt ctgcttttgc 28260
tttgactgga ccaattctac ctctcggtag ccattgctct gattgtgctt tgttttcagg 28320

ES 2 449 152 T3

atcatactgg taaggccatg tttcatctcc tgttacaact ttttgaagaa atgtttcagg 28380
atcttgatcc tgcattgtaa aaattttcat tgaaagctct gctcttgcct gcagttgatc 28440
tgggcacaat acttttggtg cccattgagt ggaagggttg ctgaacctta acttttccat 28500
cagaattgtg tgaactgaac caactgagat gtctatggtg ttgactattg tttctgccat 28560
taattgtcag tcctcttcaa ttagggcata aacaagatta acttttttat ttgcaaaactg 28620
atgtagatgg tctgcccctg aggacttcat ccttaacacc atctgggtcc ttcctaaaat 28680
gagttatcca tttgtaaact gctgatttct ttgggacatt gtcttcataa agttaaaaaa 28740
aaatcagtggt ttcaccattc ttctactgaa gcttcaccat aaatttgatg tttattctag 28800
cttcaatttt agtagaattc atgttgctct gttaggggct cttttcaaac tgatgtctta 28860
tccttcttag tgctcaaac taaatcttct tcagacatgc tataacaagt tagtatgagt 28920
ttatattgct tcaaaaaatt tttggaatcc atgcataatt ttttcataat atgcattttc 28980
cattaacata ttgaagaccg tgtgtgtgtg tgtgtgtttg tgtgtgtgtg tgtataaaca 29040
tatatatattg agttctacat tgttcttact tctaactcaa tgtaaggctc attaacatgt 29100
ttctgctatc attaggattc agagatataa cctgggagga gacatctggc taagaacagg 29160
gagctgactg gctctctgta ttaatgttct aatgaataaa aaattttcac aaacttagct 29220
gcttaaaaca acatcagttt attatctcac agttctgtag atcagaagcc tgggtaagct 29280
gcactagggtt ttctgcacag ggtcttacia ggttgaagtc aaagtgttag cagagctgta 29340
ttctcatctg gaagctcagt ggaagagacc cgctcaaag cacattcagg atgttggcag 29400
aatgcagttc catgtggtta taggattgag gtccctgctt tcttgtggac tgttggcctg 29460
gagttgctct cagcccctaa atgtcactct caggtccttt caagtggctt cctccacctt 29520
caaagcagac atttcttggg ctttgagttg ctctgacttt cccttctact accagctgga 29580
gaaaattctg tacttttcaa gggctcatgg aatttggtta ggatcaacca ggtaatctcc 29640
ctttcaatta actcaaagtg agcgattaat aaccttaatt attaataat ctgcaaaatc 29700
cctttgccat gtaacagcac ataatcacag ggatgacatc aggggaccaa gatcatgaca 29760
gacatcttgg atttgcctac tatgctctca cagttaagag acccaagaat tataatcatc 29820
taagagctgg cttatgtctg tgagctttgt ccttgtgcaa cagttctgtc attcagacat 29880
aggatgctca atgtctceta caccttggcc tgaagctagc accattctca ttcctttgc 29940
ccttgtgtcc aaagcctcat tctgggcctg aaactgcca gcagccactc gtgcttaaca 30000
gaatacctcc tgtgagtcta ctccatggaa acctagttcc atgtccagga aaagtgcac 30060
tttgtgtgat ggctgactga caaatacata acatgtctgt gtgttctggc tcccttagct 30120
ggctgagttt ctgcagtga gatcacacct ctgtttcatg ttttatttca gactcgcagg 30180
gcaatgacat taaagtcact gctgagagca ctgggtaaca tgctctctca ctaccgtac 30240
ctttgcatca gccacctcat tggatggaca gccttctgt ccaacatgct gttcttcaca 30300
gatttcatgg gccaggtaat gaacgtgtct gtgcacacaa tcactgttac acatcatttc 30360
ctccattaac acctgttgag gttcttctgg gctatcctct aagattggca cagtaagaat 30420

ES 2 449 152 T3

gtaggaaagg gtacatcaa gaagctgact tacagacagg tgtagaaaaa tgctactata 30480
 ccctggacaa ctagaggaca ctacggagcc tgccagtatt taatcaaata caacaaatag 30540
 ttgacagtgg ggtgttaaag tctcccatta ttaatgtgtg ggagtctaag tctctttgta 30600
 ggtcactcag gacttgcttt atgaatctgg gtgctcctgt attaggtgca taaatattta 30660
 ggatagttag ctctcttgt tgaattgatc cctttaccat tatgtaatgg ccttctttgt 30720
 ctcttttgat ctttgttggt ttaaagtctg ttttatcaga gactaggatt gcaaccctg 30780
 cctttttttg ttttccattg gcttggtaga tcttctcca tccttttatt ttgagcctat 30840
 gtgtgtctct gcacgtgaga tgggtttcct gaatacagca cactgatggg tcttgactct 30900
 ttatccaact tgccagtctg tgtcttttaa ttgcagaatt tagtccattt atatttaaaag 30960
 ttaatattgt tatgtgtgaa tttgatcctg tcattatgat gttagctggt gattttgctc 31020
 attagttgat gcagtttctt cctagtctcg atggtcttta cattttggca tgattttgca 31080
 gcggctggta ccggttggtc ctttccatgt ttagcgcttc cttcaggagc tcttttaggg 31140
 caggcctggg ggtgacaaaa tctgaacaga cacttctcaa aagaagacat ttatgcagcc 31200
 aaaaaacaca tgaagaaatg ctcatcatca ctggccatca gagaaatgca aatcaaaacc 31260
 actatgagat atcatctcac accagttaga atggcaatca ttaaaaagtc aggaaacaac 31320
 aggtgctgga gaggatgtgg agaaatagga acacttttac actgttgggtg ggactgtaaa 31380
 ctagttcaac cattgtgga gtcagtgtgg tgattcctca gggatctaga actagaaata 31440
 ccatttgacc cagccatccc attactgggt atatacccaa atgactataa atcatgctgt 31500
 ctataaagac acatgcacac gtatgtttac tgcggcacta ttcacaatag caaagacttg 31560
 gaaccaacc aaatgtccaa caatgataga ctggattaag aaaatgtggc acatatacac 31620
 catggaatac tatgcagcca taaaaaatga tgagttcatg tcctttgtag ggacatggat 31680
 gaaattggaa accatcattc tcagtaaact atcgcaagaa caaaaaacca aacaccgcat 31740
 attctcactc ataggtggga attgaacaat gagatcacat ggacacagga aggggaatat 31800
 cacactctgg ggactgtggt ggggtcgggg gaggggggag ggatagcatt gggagatata 31860
 cctaattgcta gatgacatgt tagtgggtgc agcgcaccag catggcacat gtatacatat 31920
 gtaactaacc tgcacaatgt gcacatgtac cctaaaactt agagtataat aaaaaaaaaa 31980
 aaattaaaaa aaaaaaaaaa acttttgctc aatagaaatt aacttgttag ctccggcctg 32040
 tatgaaatac attaaaaatg aaattcttac agcctgcaaa gtcttccaag ggggtaaagt 32100
 tccacattat atcacacaca tatgcatttt tgtttgcttt actgtgactt ggatttacta 32160
 cagagacctc taatttctta aatgactttt cacttatcta cagatggaag aataggacac 32220
 gtaaattgcat cactcataat tgagtgtttg taatacctct cacatcttga atcaaaataa 32280
 gaaataaaat gctgaaacta caaaaaaaaa aaatacaaca aataggcca attgatgtga 32340
 gctgtagcaa tcatggcagg cttcaaaaag gaggggtggg gttcaggccg ggcattgtgg 32400
 atcatgcctg taatctcagt gctttcgagg ccaaggtgga gcaatcattt gaggccaggg 32460

ES 2 449 152 T3

gttcaaggat gcggtgacct atgactgtgc cgctgtactc cttctgagt gacagaccaa 32520
 gaccctgtct cttaaaaaat aaaatatgat aataaataca cataaaaaag gaggtgcagt 32580
 atggtctggg ccttgaaggg tgagtaggag ttagaggaat attagagagg gagaaaaat 32640
 tccaagcagg aacaggaatg gcccatgtgg agatgagtca gaagccgatt ggctgtagca 32700
 gaagatgagt ggtgggattt cctaagtcag gtggggccag ctgtgagatg gaaggaggaa 32760
 tgtaaggat ccaagagagt gttgttgaga tctgatgcag caagcattag atttctgata 32820
 ggtccttgaa tgaagatgtg ataggatgcg acttggtcac gacagcatca gctctgtact 32880
 ctgaaaaggg tccctcaggc agggacattt gctccccaga ggtggagaag cagagtgcac 32940
 gagaaggggt cttactacat tgcatttgta cctcaacagc ctccaatctc tctttcagat 33000
 tgtgtaccgc ggggatccct atagtgcaca caactccaca gagtttctca tctacgaaag 33060
 aggagtcgag gttggatgtt ggggcttgtg catcaactcc gtgttttctt cactttattc 33120
 ttgtaagtct ttctctctcc taaggatgtc ttctaaaagt ttctggtcta gcacaacttg 33180
 gatttgatat ttctatgtgt atttcctact gtttaaaata ccagattctt aataaatcta 33240
 tggacgtcag gaaaaactat caccttaaaa aggaccatat aaagcatcct tttttcatca 33300
 tgaattctag gtgtcatttc ctactgatt actttgctct tggaaatcagt gggttcctga 33360
 tcaagtttct ctggaaaatg aaaggaatc tttacaagat gaagtgttg atggatgagt 33420
 cccagcagg tctgttctca ctggagcaag atcattggtg gcatttcata gataggctta 33480
 tcagatttgt agatgatata gaagagaagc aatattaata tgacagggtga caaagtcagc 33540
 atgcaaaatg accttagctc agatgtgtaa ctgggtgggt tataggagca ccacaccagg 33600
 attggggaca gctggcttcc cttcccagg gccagctttt ctgagcctct taacctccac 33660
 ttacctaatg tgcagctgtg aagacactga acaaagggat ttctgctatt gtctttatgt 33720
 aagtcagggt ggctgtgcta taactccagg gcattgcaca ggctgcattg tacttgccagc 33780
 tgtgtatgga tatctccaag ctctgtatac attgagtaa gtgaaacgct tggcctgaaa 33840
 aatgtatgca gttctcctaa ttataaagag ctctataaaa gagctcttct tctgcaagat 33900
 tgtaagaata actgaccccc aattcagggc tctgggcttt ggacaggctc aggggacagc 33960
 agggatatgg cccaggtgaa ggaagtggga agagatgggg agaatccctg ttaccattct 34020
 caggaggact cactctgtca ctgtcagcct gcttcttgtg aagggaaagt gtggatgtat 34080
 gtgagggccc cttccccttc cttttacctt gccatagcac agcaggaaac ctgcctcaag 34140
 acctcttaa aatttagccc aattgggaaa atgggacctc atataaacat gcaagttgat 34200
 gagcccaata atcacgtaac aacaacattc attattttaa aatttatgat actcaagag 34260
 tagtgcttaa agatcacatt tatttagcaa actcttttct tcctcttcca gtgtgcaaac 34320
 taagaaaaaa tccaggagga agatttcaag cacttaaaat agaataaaag aatgttagac 34380
 taaaagggtc tagtaaatta tccagcttaa gtccttcacg atttcaaggg ctgaggggac 34440
 tatttaccac taccctcatg cttttttttg ttttcttct ttttttaaga caaagtctca 34500
 ctctgccacc tgagctggag tgcagtggca tgatcatggc tctctgcagc ctcaaccttc 34560

ES 2 449 152 T3

tgggctcaag caagteccag ccctctgagt acccgggacc acaagcacat gccactgtgc 34620
 ctggcttatt aatttaaaaa aaatTTTTTT tttagagatg gggcttccct acattgcca 34680
 ggctggcttc gatctcctgg gctcaagtga tcctcctgtc tcagcctccc acagtgctgg 34740
 gattacaggc atgaggcact acatccagcc ctaccttcat ctttgtcaga aagaaaagtg 34800
 tcaatctaaa cttatTTTT ctcagggaac tcctactaga taacattcca ttagtcttgt 34860
 ccgcataaat tttatggcat ttgaaacttt aaagcatatt atTTTTtagt cccttctagt 34920
 taaaagcgtt tctagttaca aaagaaatta ttagttgaat agTTTTccaa agTTTTatta 34980
 atgtataaat ctatgggatc cctaccattg ttaattcaaa tcaacatttt atttataaaa 35040
 taccagccag ctctgctcaa ggatttttagg gattcccat gcccatagga taaagtcaaa 35100
 ttctgagct tttcacagtt tggcctagtt catactttgc cctTTTTcac tcccatatca 35160
 attaaccacc ctcaatgacc cactatgcag actttctcat ttctgggtat ttgccactgc 35220
 ttttagtttc ttctgcctga actgctcttt ctacttcccc aactggacaa cttctaataa 35280
 tatttttaga ccagcttaa atattacttc ctcaagtcaa tcattcaagt tttcttcccc 35340
 ctgcacctca acccactctg ggcaaatca atcctttcct ttccttccag agctcactat 35400
 attaccctct attttggatt catcacataa catcaggagc agattcagag tttctatcca 35460
 catggagggtt ggaggacaa tctggctgct gaggtggaga gtgctgatag ggacttgttt 35520
 ctaagctcct tttgtataca gcaggtacag gtataccaat tagaacaaca aactgagta 35580
 ctaagatatg gcctattggt cataccataa tatcatacac tactagtcac aactggtgct 35640
 taaatctata atttccccctc agtcctgaag agaggcattg tgtgaggata tgactaccac 35700
 tgggtatcag acccatcaga gggcaattca agcttggccc tgaagttcac tgaattatct 35760
 ttgtgaataa agtattcttt gccagacttt cagtctctgt actgaagtta cttatgtttc 35820
 caaatacttc tttgccctac tttgccttct cctctgctgg catacacact tggataagag 35880
 catttccta atgggtattg atggtatctt ttaggtattg agacacctta gattacattt 35940
 tctgtataaa tataattatt aagcaagcag aaactgttct agctttatc tcatttttgt 36000
 attctcaacc ttaacaacag tcctccagtc atggtataag tttaatagag gaagcaatgt 36060
 tgcctacttg tcatttccag atctttgtct tccatcagtg tgagagtgtt tagtttcata 36120
 attgattcaa atgtactgca aataagggtt cttgtctaca aggtgtaagt ccaataatta 36180
 tatgaataga tatggaaaat gtcattctta atagtcacgt ttcaagtatc tgttatttat 36240
 cctctgattc ttgtgttcca ggagaatggg gcaggaaga gatgaggaat gtgtggatta 36300
 aaaacgactg aggaagaag ataaaaaaa tttagagatt ttccttgcca ttgtagaaaa 36360
 ccttgtaaaa tgttttaaag cagaatTTTT ctttttaaa aattagttct gccactatac 36420
 tgatataagc aagccaagtt gacctgctag aagaggaacc cagttaaaag tcaactgtct 36480
 ccagctcagc ctgtcttggt gcttaattgg atgttttcta catgctaggc attaagctgg 36540
 gtgatttcat agacacttca tctcacttga tcctggcaac aactcaaaa gatggtttta 36600

ES 2 449 152 T3

ttattcccag ttttcagatg aggaagctgg ggTTTTgaga agtcaaggaa cttgtttacc 36660
 aagagttagg gagccagcga tgaggagatg ctgggtgctg tgggagcccc ttaccagtct 36720
 ggggaaggatt ggcaagtcag ggaagggtgc ttcagataat tgtacatctt ttacctcctt 36780
 ctCaggtgtg cagactccat tcagatgggg gctaagaaat catgaatgac ttagatcatt 36840
 ctgtaaattt tggTtgtttc aattttcccc aacctgactt tgggttgtag ggccaagata 36900
 ggCctgtgtt attattttcg tcctatgggg ccacagccca tctgatttag aataaccac 36960
 acttttcttg aagccccagg ttcccatagt taggtcagat tttccaccac ctttctcgtc 37020
 tctttttgct atccagctgt ctgctaaaca gtgccagatt cttctttgta gaaaaaaaaat 37080
 cagcctacca aggcaatttc aagctgtcct ttatggaaag gtctttaaaa tggttccaaa 37140
 agccagctgt tttcaacca cagataaggg gattcttttg ttcctggctc agtatcaaa 37200
 gatgtctaaa aagggtgaatc ttcagaagaa aggattgtct gaaattatta aatgttatga 37260
 ggCactgcc a gctgtaattt cccccctct tcttcccaca gactttcaga aagttttgg 37320
 atCctacatt ggattaaagg gtctttactt cacgggatat ttgctgtttg gcctggggac 37380
 gggatttatt gggctcttcc cgaatgtcta ctccacctg gtccctgtca gcctgtttgg 37440
 tgtaatgtcc agcaccctgt aactgtgcc cttaacctc attactgagt accaccgca 37500
 ggaagaaaag gaggtgtgct gtcattgaac ctctgcctg ggtaacatcc agactcatct 37560
 gaaggctggg gaggatttgg tagcaatgtg tagagcagag ctggaaaata agggttcttg 37620
 aaacagcaac agtcaaatgc ccaaccaact gcaaccatga tctggtacag gcatgctcac 37680
 cagcccagcc cagcccagct gtccctgtcct ccttattctc aactcctgct cacttaggga 37740
 gctgtagggc aagaagtgtt actcccattt ttctaattag aaaaaggctt ggtgaggctg 37800
 agaaaccagc ccacaattac acaaagacaa aaaaaggggg acccaggctc tctgtaacca 37860
 cctcataggt ctccctggtg ccacctgcag catttctaga taccgacaat aagggtctcc 37920
 ctatcccaa ctttcagagg tacatagtgg aatttcttgg cattatttgc tgagggtagg 37980
 aaagtcctag gcaatggagt ccagatttta gtaagtcaga ccccatgtgt gagaaggaaa 38040
 gctggaatca tgggtggtaa tccccactt gctgccctga gggggacctg tgccatttaa 38100
 accttgaac gcaactagtg aacaagcgc tatgcaatgc ttataacaga gttggtgtt 38160
 ccaactctaa attaccacct cttcttatca aaatttgca ctttcttct gtgaaaatag 38220
 gcttatagtt ccttaactgg agcaatgata taaaagctac agagataact ccaagttaa 38280
 tccagctcag catgaaactg caaaaacact gaacatataa ccatcagact ataattctgg 38340
 ccatgtttt catcatttga tctggcagca gggcagaggt gcaccaggag taaaaacct 38400
 tcaaaaaaga ggtgtggctt tcctcatccc ctggcaaca ttgtcacca ggtgggatgt 38460
 tgctgcta at gggagagtca tcataaaaaa ctgtccctac aaggagagtg ttacatggg 38520
 ttgggggaag aaaacctacg cttcaggctc agagaaacct ggattcaaat cctgcctctc 38580
 tcaactggaa gctgtgttac actggggatg ttatttactt gtttattagt tagcacttag 38640
 aatgagttca tttttagggtg agataatata ttcacaatga tacacaaaag tgcacactgt 38700

gtgctccctt taccatttac tatctccctc cagccccaac gtgttaccac tcttactagt 38760
 tttttgtaa tctttccggc atttttaaat aaaaaccaag caaatgtaa tctgttttct 38820
 tattttcctt tcttattcaa aggataatat gcgtttttca gcataatgct ttttttttgc 38880
 ctaatagtgt aggaaatcat catttaagct cgcaggccct cagtttcctc atgaggcaaa 38940
 tggaaagaat gttatttacc ttatagaaaa gcaaacaat tagtggatgt gcttagcata 39000
 gtgcccccta gcacccgaca aagactcaaa atgtgatagc tagtattata attgttacca 39060
 tgggggtaat gataataaca tgtgcatcca gggagggtgt gaggttгаа tacagtaaca 39120
 ggtaaaaaaa aaaccaggc ccagcacata agcgataccc aacaatgac aaagtatca 39180
 gccagttcgg aagaaatc aagtattaac caaacattat tataattaatc aagtagcaac 39240
 catattttga aagattgaaa tgctttttaa agttgcttct cttaaggaca tcagcaattc 39300
 aacatcctt ttaaaatcct tgaattttta acactaagaa aggaaaagaa tgggatattt 39360
 attaagtatc cactacattg tattgattat ggcccggcac ttgtttttgt acagtctgcg 39420
 agctaagaat tccttttaat tgtttaaatg attgaaaaaa actttcaaaa gaaggttaat 39480
 atcttgtgac aggtgaaaat tacatgaaat caaatgctaa taccatcaa tattcagttc 39540
 agttccacat caccaattca tgaaaattac atgaaatcaa atgctaataa tgtccatcaa 39600
 tatatattgg aaagccaact cagctccaca ttgccctgc ttttgcacta cagcagcaga 39660
 gttgagtagt tatgaccagg gctgtataat ccacgaagcc aaaggtattt actatctggc 39720
 tggtcacaga aaaattttgc tgacctgtgc cctaaatgac agttccttgt aggtcaaatg 39780
 gtggttctgt gcttcctttg cagaggcagc agggcccagg aggggacca gacaacagcg 39840
 tgagagggaa gggcatggac tgcgccacc tcacatgcat ggtgcagctg gctcagatcc 39900
 tggtcggagg tggcctggc tttctggtca acacagccgg gaccgttgc gtcgtggtga 39960
 tcacagcgtc tgcggtggca ctgataggct gttgctttgt cgctctctt gttagatatg 40020
 tggattaggt caataaagag acaatgacc taacctcaga 40060

<210> 2
 <211> 601
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (301)..(301)
 <223> N= C o G

<400> 2

ttccctttca tttccagag aaacttgatc aggaaccac tgattccaag agcaaagtaa 60
 tcagtgagga aatgacacct agaattcatg atgaaaaaag gatgctttat atggtccttt 120
 ttaaggatgat agtttttctt gacgtccata gatttattaa gaatctggta ttttaaacag 180
 taggaaatac acatagaaat atcaaatcca agttgtgcta gaccagaaac ttttagaaga 240
 catccttagg agagagaaa acttacaaga ataaagtgag gaaaacacgg agttgatgca 300

ES 2 449 152 T3

naagcccca catccaacct cgactcctct ttcgtagatg agaaactctg tggagtgtg 360
 tgcactatag ggatccccgc ggtacacaat ctgaaagaga gattggaggc tgttgaggta 420
 caaatgcaat gtagtaagaa cccttctcat gcactctgct tctccacctc tggggagcaa 480
 atgtccctgc ctgagggacc ctttctagag tacagagctg atgctgtcat gaccaagtcg 540
 catcctatca catcttcatt caaggaccta tcagaaatct aatgcttgct gcacagatc 600
 t 601

<210> 3
 <211> 460
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 3

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

10

ES 2 449 152 T3

Leu Gly Tyr Leu Leu Gly Ala Ile Asp Trp Ala His Leu Glu Leu Gly
 195 200 205

Arg Leu Leu Gly Thr Glu Phe Gln Val Met Phe Phe Phe Ser Ala Leu
 210 215 220

Val Leu Thr Leu Cys Phe Thr Val His Leu Cys Ser Ile Ser Glu Ala
 225 230 235 240

Pro Leu Thr Glu Val Ala Lys Gly Ile Pro Pro Gln Gln Thr Pro Gln
 245 250 255

Asp Pro Pro Leu Ser Ser Asp Gly Met Tyr Glu Tyr Gly Ser Ile Glu
 260 265 270

Lys Val Lys Asn Gly Tyr Val Asn Pro Glu Leu Ala Met Gln Gly Ala
 275 280 285

Lys Asn Lys Asn His Ala Glu Gln Thr Arg Arg Ala Met Thr Leu Lys
 290 295 300

Ser Leu Leu Arg Ala Leu Val Asn Met Pro Pro His Tyr Arg Tyr Leu
 305 310 315 320

Cys Ile Ser His Leu Ile Gly Trp Thr Ala Phe Leu Ser Asn Met Leu
 325 330 335

Phe Phe Thr Asp Phe Met Gly Gln Ile Val Tyr Arg Gly Asp Pro Tyr
 340 345 350

Ser Ala His Asn Ser Thr Glu Phe Leu Ile Tyr Glu Arg Gly Val Glu
 355 360 365

Val Gly Cys Trp Gly Phe Cys Ile Asn Ser Val Phe Ser Ser Leu Tyr
 370 375 380

Ser Tyr Phe Gln Lys Val Leu Val Ser Tyr Ile Gly Leu Lys Gly Leu
 385 390 395 400

Tyr Phe Thr Gly Tyr Leu Leu Phe Gly Leu Gly Thr Gly Phe Ile Gly
 405 410 415

Leu Phe Pro Asn Val Tyr Ser Thr Leu Val Leu Cys Ser Leu Phe Gly
 420 425 430

Val Met Ser Ser Thr Leu Tyr Thr Val Pro Phe Asn Leu Ile Thr Glu
 435 440 445

Tyr His Arg Glu Glu Glu Lys Glu Val Cys Cys His
 450 455 460

<210> 4
 <211> 601
 5 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 10 <222> (301)..C301
 <223> N= C o T

ES 2 449 152 T3

<400> 4

```

tgctctgaga ggagtaagag acaggaggac cagaggaaaa tgcagacatt tttctttgag      60
atataaaatt ttaattccaa gggatgatag ctacggggga tttgggaatt cagtttagacc    120
ccatgaaact cttctcgtca aacagacaaa acaaacaatt aaaaaaaca caacaacaaa     180
gagcaagaat attttcctt gtaaagaaaa aatgttgcat ctttacctgt tcagcatgat     240
ttttgttttt tgctccctgc attgccagct ctggatttac gtaaccattt ttaactttct    300
ngatagaacc atactcgtac attccatctg atgacaatgg agggtcctga ggggtttgct    360
gtgggggaat gccctttgca acctctgtaa gtggggcttc agagatactg cacagatgaa    420
cagtaaaaca caaagtgagc accaatgcag agaagaagaa catgacctgg aattctgtac    480
ccaacagtct tcccagctcc agatgggccc agtctatagc acccaaaagg taaccaggg     540
cacctccaaa acctggaaag caagaaaagc tatgttagca tatttagcaa attatcgttc    600
a                                                                           601

```

5 <210> 5
 <211> 317
 <212> PRT
 <213> homo sapiens

10 <400> 5

```

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

```

ES 2 449 152 T3

Leu Gln Gln Leu Asp Asn Val Ile Asp Val Ile Thr Cys Ser Ser Met
 115 120 125
 Leu Ser Ser Leu Cys Phe Leu Gly Ala Ile Ala Val Asp Arg Tyr Ile
 130 135 140
 Ser Ile Phe Tyr Ala Leu Arg Tyr His Ser Ile Val Thr Leu Pro Arg
 145 150 155 160
 Ala Arg Arg Ala Val Ala Ala Ile Trp Val Ala Ser Val Val Phe Ser
 165 170 175
 Thr Leu Phe Ile Ala Tyr Tyr Asp His Val Ala Val Leu Leu Cys Leu
 180 185 190
 Val Val Phe Phe Leu Ala Met Leu Val Leu Met Ala Val Leu Tyr Val
 195 200 205
 His Met Leu Ala Arg Ala Cys Gln His Ala Gln Gly Ile Ala Arg Leu
 210 215 220
 His Lys Arg Gln Arg Pro Val His Gln Gly Phe Gly Leu Lys Gly Ala
 225 230 235 240
 Val Thr Leu Thr Ile Leu Leu Gly Ile Phe Phe Leu Cys Trp Gly Pro
 245 250 255
 Phe Phe Leu His Leu Thr Leu Ile Val Leu Cys Pro Glu His Pro Thr
 260 265 270
 Cys Gly Cys Ile Phe Lys Asn Phe Asn Leu Phe Leu Ala Leu Ile Ile
 275 280 285
 Cys Asn Ala Ile Ile Asp Pro Leu Ile Tyr Ala Phe His Ser Gln Glu
 290 295 300
 Leu Arg Arg Thr Leu Lys Glu Val Leu Thr Cys Ser Trp
 305 310 315

<210> 6
 <211> 51
 5 <212> ADN
 <213> homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 10 <222> (26)..(26)
 <223> N = A o C

<400> 6

15 **tcacctcgtc cctggccttg tcgganctgc tggtagcgg gagcaacgtg c**

51

<210> 7
 <211> 601
 <212> ADN
 20 <213> homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (301)..(301)
 25 <223> N = T o G

ES 2 449 152 T3

<400> 7

```

gtgagcttgg tggagaacgc gctggtggtg gccaccatcg ccaagaaccg gaacctgcac      60
tcacccatgt actgcttcat ctgctgcctg gccttgtcgg acctgctggt gagcgggagc     120
aacgtgctgg agacggccgt catcctcctg ctggaggccg gtgcactggt ggcccgggct     180
gCGTgctgc agcagctgga caatgtcatt gacgtgatca cctgcagctc catgtgttcc     240
agcctctgct tcctgggcgc catcgccgtg gaccgctaca tctccatctt ctacgactg      300
ngctaccaca gcatcgtgac cctgccgcgg gcgcggcgag ccgttgcggc catctgggtg     360
gccagtgtcg tcttcagcac gctcttcatc gcctactacg accacgtggc cgtcctgctg     420
tgcctcgtgg tcttcttccct ggctatgctg gtgctcatgg ccgtgctgta cgtccacatg     480
ctggcccggg cctgccagca cgcccagggc atgccccggc tccacaagag gcagcggccc     540
gtccaccagg gctttggcct taaaggcgct gtcaccctca ccatcctgct gggcattttc     600
t                                                                                   601

```

5

<210> 8
 <211> 601
 <212> ADN
 <213> homo sapiens

10

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (301)..(301)
 <223> N = C o T

15

<400> 8

```

gtggccacca tcgccaagaa ccggaacctg cactcaccca tgtactgctt catctgctgc      60
ctggccttgt cggacctgct ggtgagcggg agcaacgtgc tggagacggc cgtcatcctc     120
ctgctggagg ccggtgcact ggtggcccgg gctgcggtgc tgcagcagct ggacaatgtc     180
attgacgtga tcacctgcag ctccatgctg tccagcctct gcttcttggg cgccatcgcc     240
gtggaccgct acatctccat cttctacgca ctgcgctacc acagcatcgt gaccctgccg     300
ngggcgcggc gagccgttgc ggccatctgg gtggccagtg tegtcttcag cacgctcttc     360
atgcctact acgaccacgt ggccgtcctg ctgtgcctcg tggctctctt cctggctatg     420
ctggtgctca tggccgtgct gtacgtccac atgctggccc gggcctgcca gcacgcccag     480
ggcatcgccc ggctccacaa gaggcagcgc ccggtccacc agggctttgg ccttaaaggc     540
gctgtcacc tcaccatcct gctgggcatt ttcttctct gctggggccc cttcttctg      600
c                                                                                   601

```

20

<210> 9
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> homo sapiens

25

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (26)..(26)
 <223> N = G o C

30

<400> 9

```

cctcatcctc tgcaatgcc a tcactnacc cctcatctac gccttcaca g                    51

```

ES 2 449 152 T3

<210> 10
 <211> 3115
 <212> ADN
 <213> homo sapiens

5

<400> 10

```

agacgcagtc ttcagcaagg aagtgcctgg aacgccctgg agtgaaccca ggaagatgcc      60
tgcagtgggt gccagggccc ctctccaccg tccttgetgg gettcggggc cacgcccgac      120
tgctgtgaac ggcctgcgga gcaccacgtg cgacggctgg aggcgagagg tctgcctttg      180
atgtggctgt tgggtgcaggg cctgtggtgc ctccgcagc ggaaatggcg cgccgcccgg      240
ggagggcggg agcagcgtcc cgggtgcccc tgtgaggatg agcgacgaga tgactggagg      300
gtccctgaag acctcactag ggtgccccca gccggctccg tcccaggaag cgacaccccc      360
acagccccag ggctgcagct gagggggctg cactctggc tgggcgaggc tgggcccctg      420
ggggcaggcg ccagagtggc ctcaggctct acaagatgcc tgaaaacacc aacctctcca      480
gggctcacta gcattggacg ctttcacgct ctgccctggc cggaagcccc ctcaccccg.      540
gcgatgtgca aactcctgca gggctcactc agtttccaga actttaatta ttggaaagtt      600
ctccctggtc cagcccccaa atctgccgtg aacgttgaca gctgagttgc tgctccatgc      660
gtgctttggc tgagagcaga ggggacccct gtcctccctg agctgctgac gaggggaggg      720
gtgaaggggt gggcctctgg agagggcagg tcccggggaa gctccggact cctagagggg      780
cggccaggtg ggggccctgg tgaccaggac agactgtggt gtttttaac gtaaaggaga      840
tccgcggtgt gagggacccc ctgggtcctg cacgccgctt ggtggcaggc cgggcatgg      900
tgggtgctca cgccccggc atgtggccgc cctcagtggg aggggctctg agaacgactt      960
tttaaacgc agagaaaagc tccattcttc ccaggacctc agcgcagccc tggcccagga      1020
aggcaggaga cagaggccag gacgggtccag aggtgtcgaa atgtcctggg gacctgagca      1080
gcagccacca ggaagaggc agggagggag ctgaggacca ggcttggttg tgagaatccc      1140
tgagcccagg cggtagatgc caggaggtgt ctggactggc tgggcatgc ctgggctgac      1200
ctgtccagcc agggagaggg tgtgagggca gatctggggg tgcccagatg gaaggaggca      1260
ggcatggggg acacccaagg ccccctggca gcacatgaa ctaagcagga cacctggagg      1320
ggaagaactg tggggacctg gaggcctcca acgactcctt cctgcttctt ggacaggact      1380
atggctgtgc agggatccca gagaagactt ctgggtccc tcaactccac ccccacagcc      1440
atccccagc tggggctggc tgccaaccag acaggagccc ggtgcctgga ggtgtccatc      1500
    
```

ES 2 449 152 T3

tctgacgggc	tcttcctcag	cctggggctg	gtgagcttgg	tggagaacgc	gctggtggtg	1560
gccaccatcg	ccaagaaccg	gaacctgcac	tcacctatgt	actgcttcat	ctgctgcctg	1620
gccttgtcgg	acctgctggt	gagcgggagc	aacgtgctgg	agacggccgt	catcctcctg	1680
ctggaggccg	gtgcaactggt	ggccccggct	gcggtgctgc	agcagctgga	caatgtcatt	1740
gacgtgatca	cctgcagctc	catgctgtcc	agcctctgct	tcctgggcgc	catcgccgtg	1800
gaccgctaca	tctccatctt	ctacgcaactg	cgctaccaca	gcatcgtgac	cctgccgcgg	1860
gcgcggcgag	ccgttgccgg	catctgggtg	gccagtgtcg	tcttcagcac	gctcttcatc	1920
gcctactacg	accacgtggc	cgtcctgctg	tgccctgtgg	tcttcttcct	ggctatgctg	1980
gtgctcatgg	ccgtgctgta	cgccacatg	ctggccccgg	cctgccagca	cgccccagggc	2040
atgccccggc	tcacaagag	gcagcggccg	gtccaccagg	gctttggcct	taaaggcgt	2100
gtcacctca	ccatcctgct	gggcatttct	ttcctctgct	ggggccccct	cttctgcat	2160
ctcacactca	tcgtcctctg	ccccgagcac	cccacgtgcg	gctgcatctt	caagaacttc	2220
aacctcttct	tcgccctcat	catctgcaat	gccatcatcg	acccccctcat	ctacgccttc	2280
cacagccagg	agctccgcag	gacgctcaag	gagggtgctga	catgctcctg	gtgagcgcgg	2340
tgcacgcggc	tttaagtgtg	ctgggcagag	ggagggtggtg	atattgtgtg	gtctggttcc	2400
tgtgtgacct	tgggcagttc	cttacctccc	tggccccgct	ttgtcaaaga	ggatggacta	2460
aatgatctct	gaaagtgttg	aagcgcggac	ccttctgggt	ccagggaggg	gtccctgcaa	2520
aactccaggc	aggacttctc	accagcagtc	gtggggaacg	gaggaggaca	tggggagggt	2580
gtggggcctc	aggctccggg	caccaggggc	caacctcagg	ctcctaaaga	gacattttcc	2640
gcccactcct	gggacaactcc	gtctgctcca	atgactgagc	agcatccacc	ccaccccatc	2700
tttgctgcca	gctctcagga	ccgtgccctc	gtcagctggg	atgtgaagtc	tctgggtgga	2760
agtgtgtgcc	aagagctact	cccacagcag	ccccaggaga	aggggctttg	tgaccagaaa	2820
gcttcatcca	cagccttgca	gcggctcctg	caaaaggagg	tgaaatccct	gcctcaggcc	2880
aagggaccag	gtttgacagga	gccccctag	tggatggggg	ctgagccctc	ctgagggccg	2940
gttctaaggc	tcagactggg	cactggggcc	tcagcctgct	ttcctgcagc	agtcgcccac	3000
gcagacagcc	ctggcaaatg	cctgactcag	tgaccagtgc	ctgtgagcat	ggggccagga	3060
aagtctggtg	ataaatgtga	ctcagcatca	cccaccttaa	aaaaaaaaaa	aaaaa	3115

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento *in vitro* destinado a identificar a un sujeto que padece o que presenta una predisposición al cáncer de piel, caracterizado porque comprende la etapa de análisis de una muestra biológica de dicho sujeto mediante:
- 5 a) la detección de un polimorfismo del gen *MATP/SLC45A2* de SEC ID n° 1, asociado a un solo nucleótido (SNP) se selecciona de entre el grupo que comprende la SNP rs16891982, que corresponde al nucleótido N en la posición 301 de la SEC ID n° 2, estando el nucleótido G asociado a un cáncer cutáneo y que conduce a la presencia de una fenilalanina en la posición 374 de la proteína *MATP/SLC45A2* de SEC ID n° 3 y el SNP
- 10 rs26722 que corresponde al nucleótido N en la posición 301 de la SEC ID n° 4, estando el nucleótido C asociado a un cáncer cutáneo y que conduce a la presencia de un residuo de glutamato en la posición 272 de la proteína *MATP/SLC45A2* de SEC ID n° 3.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, que comprende además la etapa b) de detección de un polimorfismo del
- 15 gen *MC1R* de SEC ID n° 10.
3. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado porque dicho sujeto es un mamífero, preferentemente un ser humano.
- 20 4. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque dicho cáncer de piel es un melanoma.
5. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque dicho polimorfismo del gen *MATP/SLC45A2* asociado a un solo nucleótido (SNP) corresponde al SNP rs16891982 que corresponde al nucleótido N en la posición 301 de la SEC ID n° 2, estando el nucleótido G asociado a un cáncer cutáneo, y que
- 25 conduce a la presencia de una fenilalanina en la posición 374 de la proteína *MATP/SLC45A2* de SEC ID n° 3.
6. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, caracterizado porque dicho polimorfismo del gen *MC1R* asociado a una predisposición al cáncer de piel corresponde a un polimorfismo asociado a un solo nucleótido (SNP) seleccionado de entre el grupo que comprende el SNP rs1805006 que corresponde al nucleótido N en la posición 26 de la SEC ID n° 6, estando el nucleótido A asociado a un cáncer cutáneo, y que conduce a la presencia de un glutamato en la posición 84 de la proteína *MC1R* de SEC ID n° 5, correspondiendo el SNP rs1805007 al nucleótido N en la posición 301 de la SEC ID n° 7, estando el nucleótido T asociado a un cáncer cutáneo y que
- 30 conduce a la presencia de una cisteína en la posición 151 de la proteína *MC1R* de SEC ID n° 5, correspondiendo el SNP rs1805008 al nucleótido N en la posición 301 de la SEC ID n° 8, estando el nucleótido T asociado a un cáncer cutáneo y que conduce a la presencia de un triptófano en la posición 160 de la proteína *MC1R* de SEC ID n° 5, correspondiendo el SNP rs1805009 al nucleótido N en la posición 26 de la SEC ID n° 9, estando el nucleótido C asociado a un cáncer cutáneo y que conduce a la presencia de una histidina en la posición 294 de la proteína *MC1R* de SEC ID n° 5.
- 35 7. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además una etapa de análisis de la expresión del gen *MATP/SLC45A2* en dicha muestra biológica.
- 40 8. Procedimiento según la reivindicación 7, caracterizado porque comprende además una etapa de comparación del nivel de expresión del gen *MATP/SLC45A2* en dicha muestra biológica con el nivel de expresión del gen *MATP/SLC45A2* en una muestra control.
- 45