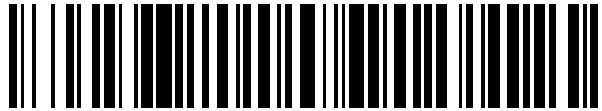


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 525 881**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.01.2006 E 06709454 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.09.2014 EP 1844159**

54 Título: **Procedimiento para el pronóstico de un síndrome séptico**

30 Prioridad:

31.01.2005 FR 0550267

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

30.12.2014

73 Titular/es:

**BIOMERIEUX (100.0%)
CHEMIN DE L'ORME
69280 MARCY-L'ETOILE, FR**

72 Inventor/es:

**PACHOT, ALEXANDRE;
MONNERET, GUILLAUME y
LEPAPE, ALAIN**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 525 881 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 para el pronóstico de un síndrome séptico

La presente invención se refiere a un procedimiento de pronóstico de un síndrome séptico.

5 El síndrome séptico, respuesta sistémica a la infección, representa una de las primeras causas de mortalidad en los servicios de reanimación. Puede ser el resultado de una infección bacteriana, vírica, micótica o parasitaria. Entre este síndrome séptico, se distingue por orden de gravedad creciente la sepsis, la sepsis grave y el choque séptico. De este modo, un grupo de expertos propuso en 1992 unos criterios de definiciones de estos tres síndromes clínicos (R. C. Bone *et al.*, The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine, Chest 101 (6): 1644-1655, 1992):

- 10
- la sepsis es así una respuesta sistémica inflamatoria vinculada a una infección,
 - la sepsis grave es una sepsis acompañada por el mal funcionamiento de al menos un órgano,
 - el choque séptico es una sepsis grave asociada a una hipotensión persistente y puede cualificarse mediante:
 - la presencia de un foco infeccioso identificado,
 - una respuesta inflamatoria generalizada que se manifiesta por al menos tres de los siguientes signos: a) temperatura superior a 38°C o inferior a 36°C; b) ritmo cardíaco superior a 90 latidos por minuto; c) ritmo respiratorio superior a 20 respiraciones por minuto; d) número de leucocitos superior a 12000/mm³ o inferior a 4000/mm³,
 - una hipotensión persistente a pesar de la adecuada expansión de la masa sanguínea circulante y de los tratamientos vasopresores.
- 15

20 De manera general, los síntomas de una sepsis, de una sepsis grave y de un choque séptico son similares y la diferencia entre estas 3 situaciones reside principalmente en la importancia de la perturbación de todas las funciones vitales. Durante un choque séptico, se observa principalmente una caída de la presión arterial, taquicardia, polipnea, moratones cutáneos, hipo- o hipertermia y escalofríos. Estos síntomas están acompañados también por un mal funcionamiento de los órganos "diana" con una alteración de la función de los órganos alejados del foco infeccioso (riñones, pulmones, sistema nervioso central, aparato digestivo y sistema hematológico afectados generalmente) que se traduce en una oliguria (<0,5 ml/kg/h), insuficiencia renal, hipoxemia, trombopenia, agitación, confusión.

25

La evolución de un síndrome séptico desde el estado de sepsis hacia un estado de sepsis grave y después de choque séptico no es sistemática, ya que aproximadamente el 64% de los pacientes sépticos desarrollan una sepsis grave, y el 23% de los pacientes con sepsis grave evolucionan hacia un choque séptico. Antes de esta etapa última de choque séptico, deben prescribirse tratamientos al paciente para interrumpir e invertir el proceso fisiopatológico. De este modo, es preciso restaurar un estado hemodinámico satisfactorio y asegurar una ventilación eficaz. También es preciso realizar simultáneamente el tratamiento sintomático del choque y un tratamiento antibiótico adaptado a los datos bacteriológicos tan pronto como sea posible

30

De este modo, parece que aunque algunos pacientes desarrollan un síndrome séptico y particularmente un choque séptico, pueden reanimarse mediante un tratamiento relativamente simple, tal como un tratamiento antibiótico de amplio espectro aplicado antes de los resultados de los análisis bacteriológicos que indican la fuente infecciosa, otros pacientes, que desarrollan un síndrome séptico mucho más grave, necesitan un tratamiento drástico y costoso, tal como una inyección de proteína C activada, cuyo coste de inyección es muy elevado. Tales tratamientos son no sólo costosos sino que exponen también a los pacientes a riesgos de efectos indeseables muy importantes (trastornos de la coagulación, etc.). Por lo tanto, este tratamiento debe ser propuesto sólo a los pacientes con mal pronóstico que necesitan sin falta este tratamiento.

35

40

Debido a esto, el diagnóstico precoz de un síndrome séptico es esencial y permite proponer un tratamiento adaptado al paciente. Además, el pronóstico del síndrome séptico, y particularmente de un choque séptico, es primordial para proponer a cada paciente un tratamiento adecuado y discriminar lo antes posible a los pacientes que presentan un síndrome séptico con mal pronóstico y que necesitan una terapia intensiva, de los pacientes con pronóstico bueno. Finalmente, es también muy interesante vigilar a pacientes con riesgos de desarrollar una sepsis, tales como pacientes que han sufrido una cirugía, un injerto, o pacientes inmunodepresivos, a fin de poder intervenir lo antes posible frente a cualquier síntoma clínico mayor.

45

Actualmente, el diagnóstico y el pronóstico de un síndrome séptico y particularmente de un choque séptico se basan esencialmente en el número de fallos viscerales, la respuesta al tratamiento sintomático, la accesibilidad a la terapéutica médica y/o quirúrgica en el foco infeccioso inicial y de posibles focos secundarios.

50

Esto presenta sin embargo el inconveniente de que solamente puede aplicarse a un estado avanzado del síndrome séptico y en particular del choque séptico, reduciendo las posibilidades de supervivencia del paciente.

El diagnóstico y el pronóstico de un síndrome séptico también pueden basarse en la detección de algunas proteínas o factores solubles implicados en este síndrome. Así, el ensayo de ciertas citoquinas, implicadas durante el desarrollo de un síndrome séptico puede ser un medio de diagnóstico y de pronóstico de un síndrome séptico.

5 Algunos autores han descrito así una correlación positiva entre el contenido plasmático de IL-1 (Interleucina-1) y un síndrome séptico de mal pronóstico (Thijs & Hack, *Intensive Care Med* 31: S258-263, 1995). Sin embargo, otros autores no encontraron ninguna correlación entre la IL-1 y un mal pronóstico del síndrome séptico, que sugiere una gran variabilidad de este factor. Además, dosis elevadas de TNF (Factor de Necrosis Tumoral) se asociaron también a un mal pronóstico (Casey *et al.*, *Ann Intern Med.* 1993. 119: 771-778). El TNF- α y después la IL-1 β son las dos primeras citoquinas pro-inflamatorias liberadas por los monocitos después del inicio de un estado séptico.

10 Otros autores han demostrado que el contenido de IL-10 (Interleucina-10) plasmática es más alto en los pacientes que desarrollan una sepsis de mal pronóstico, mientras que decrece significativamente en los pacientes que presentan una sepsis de buen pronóstico hasta que no es detectable en pacientes sanos (Van der Poll, *J. Infect. Dis.* 175: 118-122, 1997). La IL-10 es una citoquina anti-inflamatoria muy importante y que, por su capacidad de inhibir la producción de TNF- α y de IL-1 β , participa en el establecimiento del estado de inmuno-parálisis. Sin embargo, al ser detectable este aumento del contenido de IL-10 solamente en el 80% de los pacientes con choque séptico, la
15 detección única de este factor sigue siendo insuficiente para pronosticar la evolución del choque séptico.

También puede mencionarse la patente US-B-6.303.321 que describe un método de pronóstico de la gravedad de un síndrome séptico que comprende la medición de la concentración sérica de HMG1 (proteína del grupo de alta
20 movilidad 1) mediante una técnica de inmunotransferencia de tipo ELISA. La HMG1, al contrario que TNF- α e IL-1 β , se describe como un mediador pro-inflamatorio tardío de los síndromes sépticos. Una alta concentración de HMG1 se correlaciona con un mal pronóstico, no detectándose la concentración sérica de HMG1 en pacientes sanos. Por el contrario, se ha descrito en el ratón una regulación post-transcripcional del gen HMG1, que sugiere que la expresión de este gen solamente debe analizarse a nivel proteico (Wang *et al.*, *Science*, 1999, vol 285, p. 248-251).

25 La solicitud de patente WO 04/108957 presenta un método para el diagnóstico de un síndrome séptico según el cual se determina la expresión de al menos dos genes diana seleccionados entre: IL-10, TGF β , HMG1, T-bet, IL-1 β , TNF α , GATA-3. La utilización de tal panel permite clasificar los pacientes de buenos y malos pronósticos en más del 80%. Sin embargo, sería necesario aumentar aún más este porcentaje de clasificación, en particular en lo que se refiere a la clasificación de los pacientes de mal pronóstico, a fin de proponerles un tratamiento drástico lo antes posible.

30 La presente invención propone por lo tanto resolver los inconvenientes del estado de la técnica presentando una nueva herramienta fiable de pronóstico de un síndrome séptico, tal como particularmente un choque séptico.

De manera sorprendente, los inventores han puesto en evidencia que el análisis de la expresión de genes diana seleccionados entre 28 genes tal como se presenta en la tabla 1 siguiente, es muy pertinente para discriminar los
35 buenos pronósticos de pacientes de los malos pronósticos. La utilización de tal panel permite en particular clasificar al 100% los pacientes de mal pronóstico.

Tabla 1 - lista de los 28 genes dianas

SEC ID N°	Nombre del gen	N° GENBANK
1	chemokine (C-X3-C motif) receptor 1	NM_001337
2	T cell receptor delta diversity 3	X72501
3	KIAA0882 protein	NM_015130
4	T-cell lymphoma invasion and metastasis 1	NM_003253
5	Interleukin 1, beta	NM_000576
6	Carbonyl reductase 1	NM_001757
7	TIR domain containing molecule 1	NM_182919
8	FYN tyrosine kinase protooncogene	NM_002037
9	Heparanase	NM_006665
10	SRY (Sex determining region Y) box 4	NM_003107
11	Interleukin 2 receptor, beta	NM_000878

SEC ID N°	Nombre del gen	N° GENBANK
12	Raft-linking protein	NM_015150
13	CGI-40 protein Homo sapiens SID1 transmembrane family, member 2	NM_015996
14	glucose-6-phosphatase catalytic subunit 3	NM_138387
15	Mannosidase alpha, class 1A member 2	NM_006699
16	Myeloid differentiation primary response gene (88)	NM_002468
17	Ribosomal protein L6	NM_000970
18	Ribosomal protein L10a	NM_007104
19	sin3-associated polypeptide, 30kDa	NM_003864
20	Mitogen activated protein kinase-activated protein kinase 2	NM_004759
21	Presenlin enhancer 2	NM_172341
22	Hypothetical protein LOC55924	NM_019099
23	Solute carrier family 39 (zinc transporter member 7)	NM_006979
24	Glutathione peroxidase 3 (plasma)	NM_002084
25	Hemochromatosis	NM_000410
26	Transcriptional activator of the cfos promoter	NM_006365
27	peroxisomal biogenesis factor 6	NM_000287
28	Huntingtin interacting protein	NM_005338

A veces, existen varias variantes para un mismo gen diana. Todas estas variantes son pertinentes. Se entiende que si existen diferentes isoformas de estos genes, todas las isoformas son relevantes, y no únicamente las presentes en la tabla anterior. A este respecto, conviene en particular señalar que existen tres variantes para el gen diana de la SEC ID n° 8, sólo se presenta la primera variante en la tabla anterior, pero la segunda variante, que tiene como número de acceso Genbank NM_153047, y la tercera variante que tiene como número Genbank NM_153048 son también pertinentes.

Asimismo, existen dos variantes para el gen diana de la SEC ID n° 20, sólo la primera variante está presente en la tabla anterior, pero la segunda variante, que tiene como número de acceso Genbank NM_032960, es también pertinente.

Asimismo, existen dos variantes para el gen diana de la SEC ID n° 22, sólo la primera variante está presente en la tabla anterior, pero la segunda variante, que tiene como número de acceso Genbank NM_198926, es también pertinente. Finalmente, existen once variantes para el gen diana de la SEC ID n° 25, sólo la primera variante está presente en la tabla anterior, pero las otras variantes, que tienen como número de acceso Genbank NM_139002; NM_139003; NM_139004; NM_139005; NM_139006; NM_139007; NM_139008; NM_139009; NM_139010; NM_139011 son también todos pertinentes.

A este efecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para el pronóstico de un síndrome séptico a partir de una muestra biológica de un paciente, caracterizado por que comprende las etapas siguientes:

- a. se extrae material biológico de la muestra biológica,
- b. se pone en contacto el material biológico con al menos una sonda de hibridación específica de al menos un gen diana, presentando al menos dicho gen diana la secuencia nucleica SEC ID n° 1; y
- c. se determina la expresión de al menos dicho gen diana.

En el sentido de la presente invención, se entiende por muestra biológica, cualquier muestra extraída de un paciente, y susceptible de contener un material biológico tal como se define a continuación. Esta muestra biológica

puede ser en particular una muestra de sangre, de suero, de saliva, un tejido, células circulantes del paciente. Se dispone de esta muestra biológica mediante cualquier tipo de extracción conocida por el experto en la materia. Según un modo preferido de realización de la invención, la muestra biológica extraída en el paciente es una muestra sanguínea.

5 Durante la etapa a) del procedimiento según la invención, se extrae el material biológico de la muestra biológica mediante todos los protocolos de extracción y de purificación de ácidos nucleicos bien conocidos por el experto en la materia. En el sentido de la presente invención, se entiende por material biológico, cualquier material que permita detectar la expresión de un gen diana. El material biológico puede comprender en particular proteínas, o ácidos nucleicos tales como particularmente los ácidos desoxirribonucleicos (ADN) o los ácidos ribonucleicos (ARN). El
10 ácido nucleico puede ser en particular ARN (ácido ribonucleico). Según un modo preferido de realización de la invención, el material biológico extraído durante la etapa a) comprende ácidos nucleicos, preferiblemente ARN y aún más preferiblemente ARN totales. Los ARN totales comprenden los ARN de transferencia, los ARN mensajeros (ARNm), tal como los ARNm transcritos del gen diana, pero también transcritos de cualquier otro gen y los ARN ribosomales. Este material biológico comprende un material específico de un gen diana, tal como particularmente los
15 ARNm transcritos del gen diana o las proteínas procedentes de estos ARNm, pero puede también comprender un material no específico de un gen diana, tal como particularmente los ARNm transcritos de un gen diferente del gen diana, los ARNt, los ARNr procedentes de otros genes diferentes del gen diana.

A título indicativo, la extracción de ácidos nucleicos se puede realizar mediante:

20 - una etapa de lisis de las células presentes en la muestra biológica, a fin de liberar los ácidos nucleicos contenidos en las células del paciente. A título de ejemplo, se pueden utilizar los métodos de lisis tales como los descritos en las solicitudes de patente:

* WO 00/05338 sobre la lisis mixta magnética y mecánica,

* WO 99/53304 sobre la lisis eléctrica,

* WO 99/15321 sobre la lisis mecánica.

25 El experto en la materia podrá utilizar otros métodos de lisis bien conocidos, tales como los choques térmicos u osmóticos, o las lisis químicas por unos agentes caotrópicos tales como las sales de guanidio (US 5,234,809).

- una etapa de purificación, que permite la separación ente los ácidos nucleicos y los otros constituyentes celulares liberados en la etapa de lisis. Esta etapa permite generalmente concentrar los ácidos nucleicos, y puede ser adaptada a la purificación de ADN o de ARN. A título de ejemplo, se pueden utilizar unas partículas magnéticas eventualmente revestidas de oligonucleótidos, por adsorción o covalencia (véase a este respecto las patentes US
30 4,672,040 y US 5,750,338), y así purificar los ácidos nucleicos que se han fijado sobre estas partículas magnéticas, por una etapa de lavado. Esta etapa de purificación de los ácidos nucleicos es particularmente interesante si se desea amplificar ulteriormente dichos ácidos nucleicos. Un modo de realización particularmente interesante de estas partículas magnéticas se describe en las solicitudes de patente: WO-A-97/45202 y WO-A-99/35500. Otro ejemplo interesante de método de purificación de los ácidos nucleicos es la utilización de sílice bien en forma de columna, o
35 bien en forma de partículas inertes (Boom R. *et al.*, J. Clin. Microbiol., 1990, N° 28 (3), p. 495-503) o magnéticas (Merck: MagPrep® Silica, Promega: MagneSil™ Paramagnetic particles). Otros métodos muy extendidos se basan en las resinas de intercambio de iones en columna o en forma de partícula paramagnética (Whatman: DEAE-Magarose) (Levison PR *et al.*, J. Chromatography, 1998, p. 337-344). Otro método muy pertinente pero no exclusivo para la invención es el de la adsorción en soporte de óxido metálico (compañía Xtrana: matriz Xtra-Bind™).

40 Cuando se desea extraer específicamente el ADN de una muestra biológica, se puede realizar en particular una extracción por fenol, cloroformo y alcohol para eliminar las proteínas y precipitar el ADN con el etanol al 100%. El ADN puede entonces ser sedimentado por centrifugación, lavado y vuelto a poner en solución.

45 Cuando se desea extraer específicamente los ARN de una muestra biológica, se puede realizar en particular una extracción por fenol, cloroformo y alcohol para eliminar las proteínas y precipitar los ARN con etanol al 100%. Los ARN pueden entonces ser sedimentados por centrifugación, lavados y vueltos a poner en solución.

Durante la etapa b), se entiende por reactivo específico, un reactivo que, cuando se pone en contacto con un material biológico, tal como se ha definido anteriormente, se une con el material específico de dicho gen diana. A título indicativo, cuando el reactivo específico y el material biológico son de origen nucleico, la puesta en contacto del
50 reactivo específico y del material biológico permite la hibridación del reactivo específico con el material específico del gen diana. Por hibridación, se entiende el proceso durante el cual, en condiciones apropiadas, dos fragmentos nucleotídicos se unen con enlaces de hidrógeno estables y específicos para formar un complejo bicatenario. Estos enlaces de hidrógeno se forman entre las bases complementarias adenina (A) y timina (T) (o uracilo (U)) (se habla de enlace A-T) o entre las bases complementarias guanina (G) y citosina (C) (se habla de enlace G-C). La hibridación de dos fragmentos nucleotídicos puede ser total (se habla entonces de fragmentos nucleotídicos o de secuencias complementarias), es decir que el complejo bicatenario obtenido durante esta hibridación comprende únicamente unos enlaces A-T y unos enlaces C-G. Esta hibridación puede ser parcial (se habla entonces de
55

fragmentos nucleotídicos o de secuencias suficientemente complementarias), es decir que el complejo bicatenario obtenido comprende unos enlaces A-T y unos enlaces C-G que permitan formar el complejo bicatenario, pero también unas bases no unidas a una base complementaria. La hibridación entre dos fragmentos nucleotídicos depende de las condiciones de realización utilizadas, y en particular de la rigurosidad. La rigurosidad se define en particular en función de la composición en bases de los dos fragmentos nucleotídicos, así como por el grado de desajuste entre dos fragmentos nucleotídicos. La rigurosidad puede también estar en función de los parámetros de la reacción, tales como la concentración y el tipo de especies iónicas presentes en la solución de hibridación, la naturaleza y la concentración de agentes desnaturizantes y/o la temperatura de hibridación. Todos estos datos son bien conocidos y las condiciones apropiadas pueden ser determinadas por el experto en la materia. En general, según la longitud de los fragmentos nucleotídicos que se desea hibridar, la temperatura de hibridación está comprendida entre aproximadamente 20 y 70°C, en particular entre 35 y 65°C en una solución salina a una concentración de aproximadamente 0,5 a 1M. Una secuencia, o fragmento nucleotídico u oligonucleótido, o polinucleótido, es un encadenamiento de unidades nucleotídicas ensambladas entre sí por unos enlaces éster fosfórico, caracterizado por la secuencia informacional de los ácidos nucleicos naturales, susceptibles de hibridarse a un fragmento nucleotídico, pudiendo el encadenamiento contener unos monómeros de estructuras diferentes y ser obtenido a partir de una molécula de ácido nucleico natural y/o por recombinación genética y/o por síntesis química. Una unidad está derivada de un monómero que puede ser un nucleótido natural de ácido nucleico cuyos elementos constitutivos son un azúcar, un grupo fosfato y una base nitrogenada; en el ADN el azúcar es la desoxi-2-ribosa, en el ARN el azúcar es la ribosa; según se trate del ADN o del ARN, la base nitrogenada se selecciona entre la adenina, la guanina, el uracilo, la citosina, la timina; o bien el monómero es un nucleótido modificado con uno al menos de los tres elementos constitutivos; a título de ejemplo, la modificación puede intervenir bien a nivel de las bases, con unas bases modificadas tales como la inosina, la metil-5-desoxicitiidina, la desoxiuridina, la dimetilamino-5-desoxiuridina, la diamino-2,6-purina, la bromo-5-desoxiuridina o cualquier otra base modificada capaz de hibridación, o bien a nivel del azúcar, por ejemplo la sustitución de al menos una desoxirribosa por una poliamida (P.E. Nielsen *et al.*, Science, 254, 1497-1500 (1991), o bien también a nivel del grupo fosfato, por ejemplo su sustitución por unos ésteres seleccionados especialmente entre los difosfatos, alquil- y aril-fosfonatos y fosforotioatos.

El reactivo específico puede comprender al menos un cebador de amplificación. Por cebador de amplificación, se entiende un fragmento nucleotídico que comprende de 5 a 100 unidades nucleicas, preferiblemente de 15 a 30 unidades nucleicas, que permite el inicio de una polimerización enzimática, tal como por ejemplo una reacción de amplificación enzimática. Por reacción de amplificación enzimática, se entiende un proceso que genera múltiples copias de un fragmento nucleotídico mediante la acción de al menos una enzima. Tales reacciones de amplificación son bien conocidas por el experto en la materia y pueden mencionarse particularmente las siguientes técnicas:

- PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), tal como se describe en las patentes US 4.683.195, US 4.683.202 y US-A-4.800.159,
- LCR (Reacción en Cadena de la Ligasa), expuesta por ejemplo en la solicitud de patente EP 0 201 184,
- RCR (Reacción de Reparación en Cadena), descrita en la solicitud de patente WO 90/01069,
- 3SR (Replicación de Secuencia Auto Sostenida) con la solicitud de patente WO 90/06995,
- NASBA (Amplificación Basada en la Secuencia del Ácido Nucleico) con la solicitud de patente WO 91/02818, y
- TMA (Amplificación Mediada por Transcripción) con la patente US 5.399.491.

Cuando la amplificación enzimática es una PCR, el reactivo específico comprende al menos 2 cebadores de amplificación específicos de un gen diana, que permite la amplificación del material específico del gen diana. El material específico del gen diana comprende entonces preferiblemente un ADN complementario obtenido por transcripción inversa de ARN mensajero procedente del gen diana (se habla entonces de ADNc específico del gen diana) o un ARN complementario obtenido por transcripción de los ADNc específicos de un gen diana (se habla entonces de ARNc específico del gen diana). Cuando la amplificación enzimática es una PCR realizada después de una reacción de transcripción inversa, se habla de RT-PCR.

Según la invención, el reactivo específico de la etapa b) comprende al menos una sonda de hibridación.

Por sonda de hibridación, se entiende un fragmento nucleotídico que comprende al menos 5 unidades nucleotídicas, tal como de 5 a 100 unidades nucleicas, particularmente de 10 a 35 unidades nucleicas, que poseen una especificidad de hibridación en condiciones determinadas para formar un complejo de hibridación con el material específico de un gen diana. En la presente invención, el material específico del gen diana puede ser una secuencia nucleotídica comprendida en un ARN mensajero procedente del gen diana (se habla entonces de ARNm específico del gen diana), una secuencia nucleotídica comprendida en un ADN complementario obtenido mediante transcripción inversa de dicho ARN mensajero (se habla entonces de ADNc específico del gen diana), o también de una secuencia nucleotídica comprendida en un ARN complementario obtenido por transcripción de dicho ADNc tal como se ha descrito anteriormente (se habla entonces de ARNc específico del gen diana). La sonda de hibridación puede comprender un marcador que permite su detección. Por detección se entiende o bien una detección directa

mediante un método físico, o bien una detección indirecta mediante un método de detección con ayuda de un marcador. Existen muchos métodos de detección para la detección de ácidos nucleicos [véase por ejemplo Kricka *et al.*, *Clinical Chemistry*, 1999, N° 45(4), p. 453-458 o Keller G.H. *et al.*, *DNA Probes*, 2ª ed., Stockton Press, 1993, secciones 5 y 6, p. 173-249]. Por marcador, se entiende un trazador capaz de generar una señal que se puede detectar. Una lista no limitativa de estos trazadores comprende las enzimas que producen una señal detectable por ejemplo mediante colorimetría, fluorescencia o luminiscencia, como la peroxidasa de rábano picante, la fosfatasa alcalina, betagalactosidasa, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa; los cromóforos como los compuestos fluorescentes, luminiscentes o colorantes; los grupos con densidad electrónica detectables mediante microscopía electrónica o mediante sus propiedades eléctricas como la conductividad, mediante métodos de amperimetría o voltametría o mediante mediciones de impedancia; los grupos detectables mediante métodos ópticos como difracción, resonancia de plasmón de superficie, la variación del ángulo de contacto o mediante métodos físicos, como la espectroscopia de fuerza atómica, el efecto túnel, etc.; moléculas radiactivas como ³²P, ³⁵S o ¹²⁵I.

La sonda de hibridación puede ser una sonda denominada de detección. En este caso, la sonda denominada de detección está marcada por medio de un marcador tal como el definido anteriormente. La sonda de detección puede ser en particular una sonda de detección "molecular beacons", tal como la descrita por Tyagi & Kramer (*Nature biotech*, 1996, 14:303-308). Estos "molecular beacons" se vuelven fluorescentes durante la hibridación. Poseen una estructura de tipo varilla-bucle y contienen un fluoróforo y un grupo "quencher". La fijación de la secuencia de bucle específica con su secuencia complementaria de ácido nucleico diana provoca un desenrollado de la varilla y la emisión de una señal fluorescente durante la excitación a la longitud de onda que conviene.

Para la detección de la reacción de hibridación, se pueden utilizar unas secuencias diana marcadas, directamente (en particular por la incorporación de un marcador dentro de la secuencia diana) o indirectamente (en particular por la utilización de una sonda de detección, tal como se la definida anteriormente) la secuencia diana. Se puede realizar en particular antes de la etapa de hibridación una etapa de marcado y/o de escisión de la secuencia diana, por ejemplo utilizando un desoxirribonucleótido trifosfato marcado durante la reacción de amplificación enzimática. La escisión se puede realizar en particular por la acción del imidazol y del cloruro de manganeso. La secuencia diana puede también ser marcada después de la etapa de amplificación, por ejemplo hibridando una sonda de detección según la técnica de hibridación en sándwich descrita en el documento WO 91/19812. Otro modo particular preferente de marcado de ácidos nucleicos se describe en la solicitud FR-2 780 059.

La sonda de detección puede comprender un fluoróforo y un "quencher". Preferiblemente, la sonda de hibridación comprende un fluoróforo FAM (6-carboxi-fluoresceína) o ROX (6-carboxi-X-rodamina) en su extremo 5' y un "quencher" (Dabsyl) en su extremo 3'.

La sonda de hibridación puede también ser una sonda denominada de captura. En este caso, la sonda denominada de captura se inmoviliza o es inmovilizable sobre un soporte sólido mediante cualquier medio apropiado, es decir directa o indirectamente, por ejemplo por covalencia o adsorción. Como soporte sólido, se pueden utilizar unos materiales de síntesis o unos materiales naturales, eventualmente modificados químicamente, en particular los polisacáridos tales como los materiales a base de celulosa, por ejemplo papel, unos derivados de celulosa tales como el acetato de celulosa y la nitrocelulosa o el dextrano, unos polímeros, unos copolímeros, en particular a base de monómeros de tipo estireno, fibras naturales tales como algodón y fibras sintéticas tales como nylon; materiales minerales tales como la sílice, el cuarzo, vidrios, cerámicas; látex; partículas magnéticas; derivados metálicos, geles, etc. El soporte sólido puede estar en forma de una placa de microtitulación, de una membrana como se describe en la solicitud WO-A-94/12670, de una partícula. Se pueden asimismo inmovilizar sobre el soporte varias sondas de captura diferentes, siendo cada una específica de un gen diana. En particular, se puede utilizar como soporte un biochip sobre el cual pueden ser inmovilizadas un gran número de sondas. Por biochip, se entiende un soporte sólido de dimensión reducida donde se fijan una multitud de sondas de captura en posiciones predeterminadas. El concepto de biochip, o de chip de ADN, data de principios de los años 90. Se basa en una tecnología multidisciplinar que integra micro-electrónica, la química de los ácidos nucleicos, el análisis de imágenes y la informática. El principio de funcionamiento se basa en un fundamento de biología molecular: el fenómeno de hibridación, es decir el emparejamiento por complementariedad de las bases de dos secuencias de ADN y/o de ARN. El método de los biochips se basa en el empleo de sondas de captura fijadas en un soporte sólido sobre las que se hace actuar una muestra de fragmentos nucleotídicos diana marcados directa o indirectamente con fluoró cromos. Las sondas de captura se colocan de manera específica en el soporte o chip, y cada hibridación da una información particular, en relación con el fragmento nucleotídico diana. Las informaciones obtenidas son acumulativas y permiten por ejemplo cuantificar el nivel de expresión de un gen o de varios genes diana. Para analizar la expresión de un gen diana, puede realizarse entonces un soporte que tiene una multitud de sondas que corresponden a todo o parte del gen diana, que se transcribe en ARNm. Se entiende por soporte de baja densidad, un soporte que comprende menos de 50 sondas. Se entiende por soporte de media densidad, un soporte que comprende de 50 sondas a 10.000 sondas. Se entiende por soporte de alta densidad, un soporte que comprende más de 10.000 sondas.

Se hibridan entonces, por ejemplo, los ADNc o los ARNc específicos de un gen diana que se desea analizar sobre unas sondas de captura específica. Después de la hibridación, el soporte o chip se lava, y los complejos ADNc o ARNc marcados/sondas de captura son revelados por un ligando de alta afinidad unido por ejemplo a un marcador de tipo fluoró cromos. La fluorescencia se lee por ejemplo por un escáner y el análisis de la fluorescencia se trata mediante informática. Pueden mencionarse a título indicativo, los chips de ADN desarrollados por la compañía

Affymetrix ("Accessing Genetic Information with High-Density DNA arrays", M. Chee *et al.*, Science, 1996, 274, 610-614. "Light-generated oligonucleotide arrays for rapide DNA sequence analysis" A. Caviani Pease *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1994, 91, 5022-5026), para los diagnósticos moleculares. En esta tecnología, las sondas de captura son generalmente de tamaños reducidos, alrededor de 25 nucleótidos. Otros ejemplos de biochips se dan en las publicaciones de G. Ramsay, Nature Biotechnology, 1998, N° 16, p. 40-44; F. Ginot, Human Mutation, 1997, N° 10, p. 1-10; J. Cheng *et al.*, Molecular diagnosis, 1996, N° 1(3), p. 183-200; T. Livache *et al.*, Nucleic Acid Research, 1994, N° 22 (15), p. 2915-2921; J. Cheng *et al.*, Nature Biotechnology, 1998, N° 16, p. 541-546 o en las patentes US-A-4.981.783, US-A-5.700.637, US-A-5.445.934, US-A-5.744.305 y US-A-5.807.522. La característica principal del soporte sólido debe ser conservar las características de hibridación de las sondas de captura en los fragmentos nucleotídicos diana, generando al mismo tiempo un ruido de fondo mínimo para el método de detección.

Para la inmovilización de las sondas sobre el soporte, se distinguen tres grandes tipos de fabricación.

En primer lugar, hay una primera técnica que consiste en un depósito de sondas pre-sintetizadas. La fijación de las sondas se realiza por transferencia directa, por medio de micropipetas, micropuntas o por un dispositivo de tipo chorro de tinta. Esta técnica permite la fijación de sondas de tamaño que van desde algunas bases (de 5 a 10) hasta tamaños relativamente importantes de 60 bases (impresión) a algunos centenares de bases (micro-deposición).

La impresión es una adaptación del procedimiento utilizado por las impresoras de chorro de tinta. Se basa en la propulsión de esferas muy pequeñas de fluido (volumen <1 nl) y a un ritmo que puede alcanzar 4000 gotas/segundos. La impresión no implica ningún contacto entre el sistema que libera el fluido y la superficie sobre la que se deposita.

La micro-deposición consiste en fijar unas sondas de longitud de algunas decenas hasta varios centenares de bases a la superficie de una lámina de vidrio. Estas sondas son generalmente extraídas de bases de datos y se presentan en forma de productos amplificados y purificados. Esta técnica permite realizar unos chips denominados microarrays que tienen aproximadamente diez mil puntos, denominados zonas de reconocimiento, de ADN sobre una superficie de poco menos de 4 cm². Sin embargo, no debe olvidarse el empleo de membranas de Nylon, denominadas "macroarrays", que tienen unos productos amplificados, generalmente por PCR, con un diámetro de 0,5 a 1 mm y cuya densidad máxima es de 25 puntos/cm². Esta técnica, muy flexible, se utiliza por numerosos laboratorios. En la presente divulgación, esta última técnica se considera como perteneciente a los biochips. Sin embargo, se puede depositar en el fondo de la placa de microtitulación un cierto volumen de muestra en cada pocillo, como es el caso en las solicitudes de patente WO-A-00/71750 y FR 00/14896, o depositar en el fondo de una misma caja de Petri un cierto número de gotas separadas las unas de las otras, según otra solicitud de patente FR 00/14691.

La segunda técnica de fijación de las sondas sobre el soporte o chip se denomina la síntesis *in situ*. Esta técnica lleva a la elaboración de sondas cortas directamente a la superficie del chip. Se basa en la síntesis de oligonucleótidos *in situ* (véanse en particular las solicitudes de patente WO 89/10977 y WO 90/03382), y está basada en el procedimiento de los sintetizadores de oligonucleótidos. Consiste en desplazar una cámara de reacciones, en la que se desarrolla la reacción de extensión de oligonucleótidos, a lo largo de la superficie de vidrio.

Finalmente, la tercera técnica se denomina fotolitografía, que es un procedimiento para el origen de los biochips desarrollados por Affymetrix. Se trata también de una síntesis *in situ*. La fotolitografía deriva de las técnicas de los microprocesadores. La superficie del chip está modificada por la fijación de grupos químicos fotolábiles que pueden ser activados por la luz. Una vez iluminados, estos grupos son susceptibles de reaccionar con el extremo 3' de un oligonucleótido. Protegiendo esta superficie por unas máscaras de formas definidas, se pueden iluminar y por lo tanto activar selectivamente unas zonas del chip en las que se desea fijar uno u otro de los cuatro nucleótidos. La utilización sucesiva de máscaras diferentes permite alternar unos ciclos de protección/reacción y por lo tanto realizar las sondas de oligonucleótidos sobre unos puntos de aproximadamente algunas decenas de micrómetro cuadrado (µm²). Esta resolución permite crear hasta varias decenas de millones de puntos sobre una superficie de algunos centímetros cuadrados (cm²). La fotolitografía presenta unas ventajas: masivamente paralela, permite crear un chip de N-meros en sólo 4 x N ciclos. Todas estas técnicas son utilizables con la presente divulgación. Según un modo preferido, en al menos un reactivo específico de la etapa b) definido anteriormente comprende al menos una sonda de hibridación, que es preferiblemente inmovilizada sobre un soporte. Este soporte es preferiblemente un soporte de baja, alta o media densidad, tal como se ha definido anteriormente.

Estas etapas de hibridación sobre soporte que comprende una multitud de sondas pueden ser precedidas por una etapa de reacción de amplificación enzimática, tal como se ha definido anteriormente, para aumentar la cantidad de material genético diana.

Durante la etapa c), la determinación de la expresión de un gen diana se puede realizar mediante todos los protocolos conocidos por el experto en la materia.

De manera general, la expresión de un gen diana se puede analizar mediante la detección de los ARNm (ARN mensajeros) que son transcritos del gen diana en un instante dado o por la detección de las proteínas procedentes de estos ARNm.

La invención se refiere a la determinación de la expresión de un gen diana por la detección de los ARNm procedentes de este gen diana según todos los protocolos bien conocidos por el experto en la materia. Según un modo particular de realización de la invención, se determina simultáneamente la expresión de varios genes diana, mediante la detección de varios ARNm diferentes, procediendo cada ARNm de un gen diana.

5 Cuando el reactivo específico comprende al menos un cebador de amplificación, se puede, durante la etapa c) del procedimiento según la invención, determinar la expresión de un gen diana de la siguiente manera:

1) después de extraer como material biológico, los ARN totales (que comprenden los ARN de transferencia (ARNt), los ARN ribosomales (ARNr) y los ARN mensajeros (ARNm)) de una muestra biológica tal como se ha presentado anteriormente, se realiza una etapa de transcripción inversa a fin de obtener los ADN complementarios (o ADNc) de dichos ARNm. A título indicativo, esta reacción de transcripción inversa puede realizarse con la ayuda de una enzima transcriptasa inversa, que permite obtener, a partir de un fragmento de ARN, un fragmento de ADN complementario. Se puede utilizar en particular la enzima transcriptasa inversa que proviene de AMV (Avian Myoblastosis Virus) o de MMLV (Molonnay Murine Leukeamia Virus). Cuando se desea más particularmente obtener únicamente los ADNc de los ARNm, se realiza esta etapa de transcripción inversa en presencia de fragmentos nucleotídicos que comprenden únicamente unas bases timina (poliT), que se hibridan por complementariedad sobre la secuencia poliA de los ARNm a fin de formar un complejo poliT-poliA que sirve entonces de punto de partida de la reacción de transcripción inversa realizada por la enzima transcriptasa inversa. Se obtienen entonces unos ADNc complementarios de los ARNm procedentes de un gen diana (ADNc específico del gen diana) y unos ADNc complementarios de los ARNm procedentes de otros genes diferentes del gen diana (ADNc no específico del gen diana).

2) se ponen en contacto el o los cebadores de amplificación específicos de un gen diana con los ADNc específicos del gen diana y los ADNc no específicos del gen diana. El o los cebadores de amplificación específicos de un gen diana se hibridan con los ADNc específicos del gen diana y se amplifica específicamente una región predeterminada, de longitud conocida, de los ADNc que provienen de los ARNm procedentes del gen diana. Los ADNc no específicos del gen diana no son amplificados, mientras que se obtiene entonces una gran cantidad de ADNc específicos del gen diana. En el sentido de la presente invención, se habla indistintamente de "ADNc específicos del gen diana" o de "ADNc que provienen de los ARNm procedentes del gen diana". Esta etapa se puede realizar en particular por una reacción de amplificación de tipo PCR o mediante cualquier otra técnica de amplificación, tal como las definidas anteriormente. En PCR, se puede también amplificar simultáneamente varios ADNc diferentes, siendo cada uno específico de diferentes genes diana por la utilización de varios pares de cebadores de amplificación diferentes, siendo cada uno específico de un gen diana: se habla entonces de amplificación en multiplex.

3) se determina la expresión del gen diana detectando y cuantificando los ADNc específicos del gen diana obtenidos durante la etapa 2) anterior. Esta detección se puede realizar después de la migración por electroforesis de los ADNc específicos del gen diana en función de su tamaño. El gel y el medio de migración pueden comprender bromuro de etidio a fin de permitir la detección directa de los ADNc específicos del gen diana cuando el gel es colocado, después de un tiempo de migración dado, sobre una mesa luminosa de rayos UV (ultravioleta) por la emisión de una señal luminosa. Esta señal es tanto más luminosa cuanto más importante es la cantidad de los ADNc específicos del gen diana. Estas técnicas de electroforesis son bien conocidas por el experto en la materia. Los ADNc específicos del gen diana pueden también ser detectados y cuantificados por la utilización de una gama de cuantificación obtenida por una reacción de amplificación conducida hasta la saturación. A fin de tener en cuenta la variabilidad de la eficacia enzimática que puede ser observada durante diferentes etapas (transcripción inversa, PCR, etc.) se puede normalizar la expresión de un gen diana de diferentes grupos de pacientes, por la determinación simultánea de la expresión de un gen denominado constitutivo, cuya expresión es similar en los diferentes grupos de pacientes. Realizando una relación entre la expresión del gen diana y la expresión del gen constitutivo, es decir realizando una relación entre la cantidad de ADNc específicos del gen diana, y la cantidad de ADNc específicos del gen constitutivo, se corrige así cualquier variabilidad entre los diferentes experimentos. El experto en la materia podrá referirse en particular a las publicaciones siguientes: Bustin SA, *J Mol Endocrinol*, 2002, 29: 23-39; Giulietti A *Methods*, 2001, 25: 386-401.

50 Cuando el reactivo específico comprende al menos una sonda de hibridación, se puede determinar la expresión de un gen diana de la siguiente manera:

1) después de extraer, como material biológico, los ARN totales de una muestra biológica tal como se ha presentado anteriormente, se realiza una etapa de transcripción inversa, tal como se ha descrito anteriormente a fin de obtener unos ADNc complementarios de los ARNm procedentes de un gen diana (ADNc específico del gen diana) y los ADNc complementarios de los ARNm procedentes de otros genes distintos del gen diana (ADNc no específico del gen diana).

2) se ponen en contacto todos los ADNc con un soporte, en el que se inmovilizan unas sondas de captura específicas del gen diana del cual se desea analizar la expresión, a fin de realizar una reacción de hibridación entre los ADNc específicos del gen diana y las sondas de captura, los ADNc no específicos del gen diana no se hibridan en las sondas de captura. La reacción de hibridación se puede realizar sobre un soporte sólido que

incluye todos los materiales, tales como los indicados anteriormente. Según un modo de realización preferido, la sonda de hibridación se inmoviliza sobre un soporte. Preferiblemente, el soporte es un soporte de baja, alta o media densidad, tal como se ha definido anteriormente. La reacción de hibridación puede estar precedida de una etapa de amplificación enzimática de los ADNc específicos del gen diana, tal como se ha descrito anteriormente, para obtener una gran cantidad de ADNc específicos del gen diana y aumentar la probabilidad de que un ADNc específico de un gen diana se hibride sobre una sonda de captura específico del gen diana. La reacción de hibridación puede también estar precedida de una etapa de marcado y/o de escisión de los ADNc específicos del gen diana, tal como se ha descrito antes, por ejemplo utilizando un desoxirribonucleótido trifosfato marcado para la reacción de amplificación. La escisión puede ser realizada en particular por la acción del imidazol y del cloruro de manganeso. El ADNc específico del gen diana puede también ser marcado después de la etapa de amplificación, por ejemplo hibridando una sonda marcada según la técnica de hibridación en sándwich descrita en el documento WO-A-91/19812. Otros modos particulares preferidos de marcado y/o escisión de ácidos nucleicos están descritos en las solicitudes WO 99/65926, WO 01/44507, WO 01/44506, WO 02/090584, WO 02/090319.

3) se realiza después una etapa de detección de la reacción de hibridación. La detección se puede realizar mediante la puesta en contacto del soporte sobre el cual se hibridan las sondas de captura específicas del gen diana con los ADNc específicos del gen diana con una sonda denominada de detección, marcada por un marcador, y se detecta la señal emitida por el marcador. Cuando el ADNc específico del gen diana ha sido previamente marcado por un marcador, se detecta directamente la señal emitida por el marcador.

Cuando al menos un reactivo específico puesto en contacto en la etapa b) del procedimiento según la invención comprende al menos una sonda de hibridación, se puede determinar también la expresión de un gen diana de la siguiente manera:

1) después de extraer, como material biológico, los ARN totales de una muestra biológica, tal como se ha presentado anteriormente, se realiza una etapa de transcripción inversa, tal como se ha descrito anteriormente, a fin de obtener los ADNc de los ARNm del material biológico. Se realiza después la polimerización del ARN complementario del ADNc por la utilización de una enzima polimerasa de tipo T7 polimerasa, que funciona bajo la dependencia de un promotor y que permite obtener, a partir de una matriz de ADN, el ARN complementario. Se obtienen entonces los ARNc de los ADNc de los ARNm específicos del gen diana (se habla entonces de ARNc específico del gen diana), y los ARNc de los ADNc de los ARNm no específicos del gen diana.

2) se ponen en contacto todos los ARNc con un soporte en el que se inmovilizan unas sondas de captura específicas del gen diana, de las cuales se desea analizar la expresión, a fin de realizar una reacción de hibridación entre los ARNc específicos del gen diana y las sondas de captura, no hibridándose los ARNc no específicos del gen diana sobre las sondas de captura. Cuando se desea analizar simultáneamente la expresión de varios genes diana, se pueden inmovilizar sobre el soporte varias sondas de captura diferentes, siendo cada una específica de un gen diana. La reacción de hibridación puede también estar precedida de una etapa de marcado y/o de escisión de los ARNc específicos del gen diana, tal como se ha descrito anteriormente.

3) se realiza después una etapa de detección de la reacción de hibridación. La detección se puede realizar mediante la puesta en contacto del soporte sobre el cual están hibridadas las sondas de captura específicas del gen diana con ARNc específico del gen diana con una sonda denominada de detección, marcada por un marcador, y se detecta la señal emitida por el marcador. Cuando el ARNc específico del gen diana ha sido previamente marcado por un marcador, se detecta directamente la señal emitida por el marcador. La utilización de ARNc es particularmente ventajosa cuando se utiliza un soporte de tipo biochip sobre el cual se hibrida un gran número de sondas.

Las etapas B y C pueden ser efectuadas al mismo tiempo. Este modo preferido puede ser en particular realizado por "NASBA en tiempo real", que agrupa en una etapa única la técnica de amplificación NASBA y la detección en tiempo real que utilizan "molecular beacons". La reacción NASBA interviene en el tubo, produciendo el ARN monocatenario con el cual los "molecular beacons" específicos pueden hibridarse simultáneamente para dar una señal fluorescente. La formación de las nuevas moléculas de ARN se mide en tiempo real por control continuo de la señal en un lector fluorescente. Contrariamente a una amplificación por RT-PCR, la amplificación en NASBA puede hacerse en presencia de ADN en la muestra. Por lo tanto, no es necesario verificar que el ADN ha sido completamente eliminado durante la extracción de los ARN.

El análisis de la expresión de un gen diana seleccionado entre una cualquiera de las SEC ID nº 1 a 28, permite entonces disponer de una herramienta para el diagnóstico/pronóstico de un síndrome séptico. Preferiblemente, los genes dianas de las SEC ID nº 1, 2, 4-8, 11 y 16 permiten discriminar los dos grupos de pacientes.

Se puede analizar por ejemplo la expresión de un gen diana en un paciente del cual no se conoce el pronóstico, y comparar con valores de expresión media conocidos del gen diana de pacientes de buen pronóstico (BP) y unos valores de expresión media conocidos del gen diana de pacientes de mal pronóstico (MP), a fin de proponer al paciente un tratamiento adecuado.

Según otro modo preferido de realización, durante la etapa b), se pone en contacto el material biológico con al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20, al menos 21, al menos 22, al menos 23, al menos 24, al menos 25, al menos 26, al menos 27 reactivos específicos seleccionados entre los reactivos específicos de los genes diana que presentan una secuencia nucleica que tiene una cualquiera de las SEC ID n° 1 a 28, y se determina, durante la etapa c) la expresión de al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20, al menos 21, al menos 22, al menos 23, al menos 24, al menos 25, al menos 26, al menos 27 de dichos genes diana.

Más particularmente, los inventores han puesto en evidencia que el análisis simultáneo de la expresión de un panel de 28 genes, tales como los definidos anteriormente, era muy pertinente para discriminar unos pacientes BP y unos pacientes MP. A este respecto, la invención se refiere también a un procedimiento tal como el definido anteriormente, caracterizado por que comprende las etapas siguientes:

- 15 a. se extrae material biológico de la muestra biológica,
- b. se pone en contacto el material biológico con al menos 28 sondas de hibridación específicas de genes diana, presentando dichos genes diana una secuencia nucleica que tiene una cualquiera de las secuencias SEC ID n° 1 a 28; y
- c. se determina la expresión de al menos dichos 28 de dichos genes diana.

20 La expresión de un panel de 22 genes particulares, que comprende los genes de las SEC ID n° 1, 3, 7, 9-15, 17-28 permite a este respecto obtener excelentes resultados, ya que permite clasificar bien el 92% de los pacientes de buen pronóstico y el 100% de los pacientes de mal pronóstico. A este respecto, la invención se refiere a un procedimiento para el diagnóstico/pronóstico de un síndrome séptico a partir de una muestra biológica de un paciente, caracterizado por que comprende las etapas siguientes:

- 25 a. se extrae material biológico de la muestra biológica,
- b. se pone en contacto el material biológico con al menos 22 sondas de hibridación específicas de genes diana, presentando dichos genes diana una secuencia nucleica que tiene una cualquiera de las SEC ID n° 1, 3, 7, 9-15, 17-28; y
- c. se determina la expresión de al menos dichos 22 de dichos genes diana.

30 La utilización de un panel de genes restringido es particularmente adecuada para obtener una herramienta de pronóstico. En efecto, el análisis de la expresión de una veintena de genes no necesita la fabricación en forma de chip de ADN, y puede ser llevado a cabo directamente por unas técnicas de PCR o de NASBA, o también de chip de baja densidad, lo que presenta una ventaja económica importante y una realización simplificada.

35 Un soporte es divulgado, tal como se ha definido anteriormente que comprende al menos 28 sondas de hibridación seleccionadas entre las sondas específicas de los genes diana que presentan una secuencia nucleica que tiene una cualquiera de las SEC ID n° 1 a 28. Otro soporte divulgado aquí comprende al menos 22 sondas de hibridación seleccionadas entre las sondas específicas de los genes diana que presentan una secuencia nucleica que tiene una cualquiera de las SEC ID n° 1, 3, 7, 9-15, 17-28. Otro soporte divulgado aquí comprende al menos una sonda de hibridación específica de al menos un gen diana que presenta una secuencia nucleica que tiene una cualquiera de las SEC ID n° 1 a 28, preferiblemente al menos una sonda de hibridación específica de al menos un gen diana que presenta una secuencia nucleica que tiene una cualquiera de las SEC ID n° 1, 2, 4-8, 11 y 16.

Finalmente, también se divulga la utilización de un soporte tal como se ha definido anteriormente para el diagnóstico/pronóstico de un síndrome séptico.

45 Se divulga también la utilización de al menos 28 reactivos específicos de los genes diana que presentan una secuencia nucleica que tiene una cualquiera de las SEC ID n° 1 a 28, tal como se ha definido anteriormente, para el diagnóstico/pronóstico de un síndrome séptico. Preferiblemente, al menos 22 reactivos específicos de los genes diana que presentan una secuencia nucleica que tiene una cualquiera de las SEC ID n° 1, 3, 7, 9-15, 17-28, tal como se ha definido anteriormente, son utilizados para el diagnóstico/pronóstico de un síndrome séptico.

50 Se divulga la utilización de al menos un reactivo específico de los genes diana que presentan una secuencia nucleica que tiene una cualquiera de las SEC ID n° 1, 2, 4-8, 11 y 16, tal como se ha definido anteriormente, para el diagnóstico/pronóstico de un síndrome séptico.

Se divulga igualmente un kit de diagnóstico/pronóstico de un síndrome séptico que comprende un soporte tal como el definido anteriormente. La presente divulgación se refiere también a un kit de diagnóstico/pronóstico de un síndrome séptico que comprende al menos 28 reactivos específicos de los genes diana que presentan una

5 secuencia nucleica que tiene una cualquiera de las SEC ID nº 1 a 28, tal como se ha definido anteriormente para el diagnóstico/pronóstico de un síndrome séptico. Preferiblemente, un kit de diagnóstico/pronóstico de un síndrome séptico comprende al menos 22 reactivos específicos de los genes diana que presentan una secuencia nucleica que tiene una cualquiera de las SEC ID nº 1, 3, 7, 9-15, 17-28, tal como se ha definido anteriormente para el diagnóstico/pronóstico de un síndrome séptico.

La presente divulgación se refiere también a un kit de diagnóstico/pronóstico de un síndrome séptico que comprende al menos un reactivo específico de los genes diana que presentan una secuencia nucleica que tiene una cualquiera de las SEC ID nº 1, 2, 4-8, 11 y 16, tal como se ha definido anteriormente para el diagnóstico/pronóstico de un síndrome séptico.

10 Por supuesto, todas las definiciones indicadas anteriormente en la descripción se aplican para todos los modos preferidos de realización de la invención.

La figura anexa se da a título de ejemplo explicativo y no tiene ningún carácter limitativo. Permitirá comprender mejor la invención.

15 La figura 1 representa un análisis de clustering jerárquico de 38 muestras de sangre obtenido a partir de 13 pacientes MP (denominado también NS) y 26 pacientes BP (denominado también S) utilizando la expresión de 28 genes según la invención, medida por 29 "probe sets" sobre el biochip Affymetrix. La función de clustering jerárquico del programa Spofire organiza a los pacientes MP y BP en columnas, y los genes en líneas a fin de obtener en posición adyacente a los pacientes o a los genes que presentan unos perfiles de expresión comparables. Se ha utilizado el coeficiente de correlación de Pearson como índice de similitud para los genes y los pacientes. A 20 continuación, el método de clustering de las medias no ponderadas UPGMA por un lado y, el valor medio de todas las muestras por otra, han permitido organizar respectivamente a los pacientes y a los genes. Los resultados corresponden al nivel de fluorescencia Affymetrix normalizado por el programa "Affy". A fin de tener en cuenta las diferencias constitutivas de expresión entre los genes, los niveles de expresión de cada gen se han normalizado aplicando una ley normal centrada reducida. El blanco representa los niveles bajos de expresión, el gris los niveles intermedios y el negro los niveles altos. La altura de las ramas del dendograma indica el índice de similitud entre los perfiles de expresión.

25 La figura 2 presenta la cuantificación de ARNm CX3CR1 en la sangre de pacientes en choque séptico. El nivel de expresión génico se midió por RT-PCR cuantitativa en 50 pacientes en choque séptico (19 MP y 21 BP) y 21 voluntarios sanos. Los resultados se han normalizado a nivel de expresión del gen constitutivo PPIB. Los resultados se presentan con la media, el percentil 25º y el 75º. La comparación estadística entre los PM y MP se efectuó gracias al ensayo no paramétrico de Mann Withney.

30 La figura 3 presenta la cuantificación de ARNm CX3CR1 cuantificado en la sangre de pacientes en choque séptico. El nivel de expresión génico se midió por RT-PCR cuantitativa en 37 pacientes en choque séptico (12 MP y 21 BP). Para cada paciente, se obtuvo una extracción PAXgen entre D1-D3 y otra entre D4-D10. Los resultados se normalizaron a nivel de expresión del gen constitutivo PPIB. La evolución del nivel de expresión génico de CX3CR1 entre D1-D3 y D4-D10 en los MP y BP se efectuó gracias al ensayo no paramétrico de Wilcoxon.

35 Los ejemplos siguientes son dados a título ilustrativo y no tienen ningún carácter limitativo. Permitirán comprender mejor la invención.

Ejemplo 1: búsqueda de un perfil de expresión para el diagnóstico/pronóstico de un síndrome séptico

40 Características de las muestras biológicas: El estudio se realizó sobre pacientes que han desarrollado un síndrome séptico, y admitidos en el servicio de reanimación quirúrgica o médica del centro hospitalario de Lyon-Sud. Para ser incluidos en el estudio, los pacientes debían presentar los criterios siguientes: edad superior a 18 años; presencia de un choque séptico según la conferencia de consenso descrita antes; ausencia de co-morbidez (cáncer metastásico, hemopatía maligna, diabetes de tipo I, patología hepática crónica, insuficiencia renal crónica, SIDA). Al ser el 45 objetivo del estudio estudiar la mortalidad tardía inducida por un choque séptico, los pacientes fallecidos en el transcurso de las primeras 48 horas fueron excluidos del estudio. El tratamiento de todos los pacientes incluidos fue similar.

50 Considerando el día de la primera administración de catecolamina como el D1 del choque séptico, cada paciente se ha vigilado durante un periodo máximo de 28 días. En base a la mortalidad observada durante este periodo, se han estudiado un grupo de 10 pacientes (MP), y un grupo de 21 pacientes (BP). A continuación, el panel del gen según la invención se validó a ciegas con la ayuda de dos grupos de pacientes reclutados en base a los mismos criterios: un grupo de 3 pacientes MP y un grupo de 4 pacientes BP. Los análisis de la genómica se efectuaron a partir de extracciones obtenidas entre el D2 y el D4. Las características demográficas del conjunto de la cohorte se presentan en la tabla siguiente

55

		BP		MP		Total n=38 (%)	P ^a
		Train n=21 (%)	Ensayo n=4 (%)	Train n=10 (%)	Ensayo n=3 (%)		
Hombre		13 (62)	2 (50)	7 (70)	1 (33)	23 (61)	0,930
Mujer		8 (38)	2 (50)	3 (30)	2 (67)	15 (39)	
Edad (años) ^b		67 (49-71)	71 (66-75)	68 (57-79)	78 (63-80)	67 (54-78)	0,371
SAPS II para la admisión ^b		48 (40-55)	45 (37-52)	61 (59-73)	61 (60-72)	55 (42-61)	<0,001
Duración de la hospitalización en rea. ^b		12 (10-26)	32 (28-34)	9 (8-14)	4 (4-10)	12 (9-25)	0,013
BPCO		1 (5)	2 (50)	3 (30)	1 (33)	7 (18)	0,203
Criterios de Mac Cabe y Jackson	0	7 (33)	1 (25)	0	0	8 (21)	0,045
	1	9 (43)	2 (50)	9 (90)	1 (33)	21 (55)	
	2	5 (24)	1 (25)	0	2 (67)	8 (21)	
	3	0	0	1 (10)	0	1 (3)	
Diagnóstico microbiológicamente documentado		15 (71)	4 (100)	7 (70)	3 (100)	29 (76)	>0,999
	Bacilo Gram (-)	8 (38)	1 (25)	3 (30)	3 (100)	15 (39)	0,950
	Cocci Gram (+)	7 (33)	1 (25)	5 (50)	1 (33)	14 (37)	
	Fúngico	6 (29)	1 (25)	3 (30)	1 (33)	11 (29)	
Tipo de infección	Comunitario	7 (33)	4 (100)	5 (50)	1 (33)	17 (45)	0,900
	Nosocomial	14 (67)	0 (0)	5 (50)	2 (67)	21 (55)	
Foco de la infección	Pulmonar	6 (29)	2 (50)	8 (80)	1 (33)	17 (45)	0,061
	Abdominal	12 (57)	1 (25)	2 (20)	2 (67)	17 (45)	
	Otros	3 (14)	1 (25)	0 (0)	0 (0)	4 (11)	

^a: comparación entre la población total de superviviente (n = 25) y no superviviente (n = 13)

^b: Media (Q1-Q3)

BPCO : bronco-neumopatía crónica obstructiva

Extracción del material biológico (ARN totales) de la muestra biológica:

5 Las extracciones se han recogido directamente en unos tubos PAXgene™ Blod RNA (PreAnalytix, Franklin Lakes, USA). Después de la etapa de extracción de la muestra sanguínea y a fin de obtener una lisis total de las células, los tubos se han dejado a temperatura ambiente durante 4h y después se han conservado a -20°C hasta la extracción del material biológico. Más precisamente, en este protocolo, los ARN totales se han extraído con la ayuda de los kits PAXGene Blood RNA® (PreAnalytix), respetando las recomendaciones del fabricante. Brevemente, los tubos se han centrifugado (10 min, 3000 g) a fin de obtener un residuo de ácidos nucleicos. Este residuo se ha lavado y recogido en un tampón que contiene proteinasa K necesaria para la digestión de las proteínas (10 min a 55°C). Se ha efectuado una nueva centrifugación (5 min, 19000 g) para eliminar los restos celulares, y se ha añadido etanol a fin de optimizar las condiciones de fijación de los ácidos nucleicos. Los ARN totales se han fijado específicamente sobre las columnas PAXgene RNA spin column y, antes de la elución de estos, se ha efectuado una digestión del ADN contaminante con la ayuda de la RNase free DNase set (Quagen Ltd, Crawley, UK). Se ha analizado la calidad de los ARN totales por el bio analizador AGILENT 2100 (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany). Los ARN totales comprenden los ARN de transferencia, los ARN mensajeros (ARNm) y los ARN ribosomales.

10

15

Síntesis de ADNc, obtención de los ARNc, marcado de los ARNc y cuantificación: A fin de analizar la expresión de los genes diana según la invención, los ADN complementarios (ADNc) de los ARNm contenidos en los ARN totales tales como se han purificado anteriormente, se obtuvieron a partir de 5 µg de ARN totales por la utilización de 400 unidades de la enzima de transcripción inversa SuperScriptII (Invitrogen) y 100 pmol de cebador poli-T que contiene el promotor de la T7 promotor (T7-oligo(dT)24-primer, Prologo, Paris, Francia). Los ADNc así obtenidos se han extraído después con fenol/cloroformo, y precipitados por acetato de amonio y etanol, y vuelto a poner en solución en 24 µl de agua DEPC. Un volumen de 20 µl de esta solución purificada de ADNc ha sido objeto después de una transcripción *in vitro* por la utilización de una ARN polimerasa T7 que reconoce específicamente el promotor de la T7 polimerasa, tal como se ha mencionado anteriormente. Esta transcripción permite obtener el ARNc del ADNc. Esta transcripción se ha realizado por la utilización de un kit Bioarray High Yield RNA Transcript Labeling Kit (Enzo Diagnostics, Farmingdale, NY), que permite no sólo obtener el ARNc, sino también la incorporación de bases citidina y uridina biotiniladas durante la síntesis del ARNc.

Los ARNc purificados se cuantificaron después por espectrofotometría, y la solución de ARNc se ajustó a una concentración de 1 µg/µl de ARNc. La etapa de escisión de estos ARNc se realizó después a 94°C durante 35 minutos, mediante la utilización de un tampón de fragmentación (40 mM de Tris acetato, pH 8,1, 100 mM de acetato de potasio, 30 mM de acetato de magnesio) a fin de provocar la hidrólisis de los ARNc y obtener unos fragmentos de 35 a 200 bp. El éxito de tal fragmentación se verificó mediante una electroforesis sobre gel de agarosa al 1,5%.

Puesta en evidencia de un perfil de expresión diferencial entre los pacientes MP y BP: Para eso, 20 µg de ARNc fragmentados procedentes de cada muestra han sido añadidos a un tampón de hibridación (Affymetrix) y se pusieron 200 µl de esta solución en contacto durante 16h a 45°C sobre un chip de expresión ((Human Genome U133A GeneChip® (Affymetrix), que comprende 22283 grupos de sondas que representan aproximadamente 14500 genes según el protocolo de Affymetrix, tal como se describe en el sitio Internet de Affymetrix. A fin de registrar los mejores rendimientos de hibridación y de lavado, se han incluido asimismo unos ARN cualificados de "control" biotinilados (bioB, bioC, bioD y cre) y unos oligonucleótidos (oligo B2) en el tampón de hibridación. Después de la etapa de hibridación, la solución de ARNc biotinilada e hibridada sobre el chip, ha sido revelada por la utilización de una solución de estreptavidina-ficoeritrina y la señal ha sido amplificada mediante la utilización de anticuerpos anti-estreptavidina. La hibridación se realizó en una estufa de hibridación "GeneChip Hybridisation oven" (Affymetrix), y se ha seguido el protocolo Euk GE-WS2V4 del protocolo de Affymetrix. Las etapas de lavado y de revelación se realizaron sobre una estación "Fluidics Station 450" (Affymetrix). Después, cada chip U133A se analizó sobre un escáner Agilent G2500A GeneArray Scanner a una resolución de 3 micrones a fin de marcar las zonas hibridadas sobre el chip. Este escáner permite la detección de la señal emitida por las moléculas fluorescentes después de la excitación por un láser argón utilizando la técnica del microscopio de epifluorescencia. Se obtiene así para cada posición una señal proporcional a la cantidad de ARNc fijados. La señal se analizó después mediante el programa Microarray Suite 5.0 software (MAS5.0, Affymetrix). A fin de prevenir las variaciones obtenidas por la utilización de los diferentes chips, se realizó un enfoque de normalización global utilizando el programa MAS5.0 (Affymetrix), que, gracias a un algoritmo estadístico, permite definir si un gen era expresado o no. A fin de poder comparar los chips entre sí, los datos en bruto (documento «CELL») se trataron mediante una etapa de normalización cuantil con la ayuda de la implementación «Affy» del programa «R» (Gautier, L. *et al.*, Bioinformatics (2004), p.307-315). Cada gen representado sobre el chip U133A estaba cubierto por 11 pares de sondas de 25 oligonucleótidos. Por par de sondas, se entiende una primera sonda que se hibridaba perfectamente (se habla entonces de sondas PM o perfect match) con uno de los ARNc procedentes de un gen diana, y una segunda sonda, idéntica a la primera sonda con la excepción de un desajuste (se habla entonces de sonda MM o mismatched) en el centro de la sonda. Cada sonda MM servía para estimar el ruido de fondo correspondiente a una hibridación entre dos fragmentos nucleotídicos de secuencias no complementarias (Affymetrix technical note "Statistical Algorithms Référence Guide"; Lipshutz, *et al* (1999) Nat. Genet. 1 Supl., 20-24). Las 38 muestras del estudio mostraban una media de 38,1 ± 4,2% de genes expresados.

El análisis de los datos de expresión se realizó mediante el programa Microsoft Excel, el programa Spotfire Décision Site for Functionnal Genomics V7.1 (Spotfire AB, Gothenburg, Sweden), así como un algoritmo estadístico: el algoritmo genético (Gautier, L. *et al.*, Bioinformatics (2004), p. 307-315; Ooi, C. H. y Tan, P. Bioinformatics (2003), p.37-44). A partir de los 22283 grupos de sondas, que representan aproximadamente 14500 genes, del chip, los inventores han seleccionado debidamente los genes pertinentes que permitían diferenciar los pacientes MP de los pacientes BP.

Para ello, una primera etapa consistió en excluir los genes que presentan un nivel de expresión comparable entre todos los grupos de pacientes. Se han efectuado cuatro etapas:

- se excluyeron los genes no expresados en el conjunto de los pacientes (programa MAS5.0).
- se excluyeron los genes cuya media de fluorescencia era inferior a 30 en los dos grupos.
- se excluyeron los genes que no estaban expresados en al menos el 30% de los pacientes en uno de los dos grupos.

- se excluyeron los genes para los cuales la relación de las medias de expresión entre los pacientes BP y MP estaban comprendidas entre 0,77 y 1,3.

Tras la aplicación de estos filtros, se ha seleccionado un grupo de 2216 grupos de sonda y sirvió de base de trabajo para un análisis multi-paramétrico con el algoritmo genético.

- 5 Resultados obtenidos: se identificó una lista de 28 genes. El aumento o la disminución de expresión de cada uno de estos genes, observada en los pacientes AIA con respecto a los pacientes ATA se indica en la tabla 2.

Tabla 2 - Lista de 28 genes expresados diferencialmente en los pacientes MP y BP

SEC ID N°	Nombre del gen	Nombre abreviado	Expresión en AIA frente a ATA
1	chemokine (C-X3-C motif) receptor 1	CX3CR1	Aumentada*
2	T cell receptor delta diversity 3	TRDD3	Aumentada ^ε
3	KIAA0882 protein	KIAA0882	Aumentada
4	T-cell lymphoma invasion and metastasis 1	TIAM1	Aumentada ^ε
5	Interleukin 1, beta	IL1B	Aumentada*
6	Carbonyl reductase 1	CBR1	Aumentada ^ε
7	TIR domain containing molecule 1	TRIF	Aumentada*
8	FYN tyrosine kinase protooncogene	FYN	Aumentada ^ε
9	Heparanase	HPSE	Aumentada
10	SRY (Sex determining region Y) box 4	SOX4	Aumentada ^ε
11	Interleukin 2 receptor, beta	IL2RB	Aumentada*
12	Rafr-linking protein	RAFTLIN	Aumentada
13	CGI-40 protein Homo sapiens SID1 transmembrane family, member 2	CGI-40 SIDT2	Aumentada
14	glucose-6-phosphatase catalytic subunit 3	G6PC3	Aumentada
15	Mannosidase alpha, class 1A member 2	MAN1A2	Aumentada
16	Myeloid differentiation primary response gene (88)	MYD88	Aumentada*
17	Ribosomal protein L6	RPL6	Aumentada
18	Ribosomal protein L10a	RPL10a	Aumentada
19	sin3-associated polypeptide, 30kDa	SAP30	Disminuida
20	Mitogen activated protein kinase-activated protein kinase 2	MAPKAPK 2	Disminuida
21	Presenilin enhancer 2	PEN2	Disminuida
22	Hypothetical protein LOC55924	LOC55924	Disminuida
23	Solute carrier family 39 (zinc transporter member 7)	SLC39A7	Disminuida ^ε
24	Glutathione peroxidase 3 (plasma)	GPX3	Disminuida ^ε
25	Hemochromatosis	HFE	Disminuida
26	Transcriptional activator of the cfos promoter	CROC4	Disminuida
27	peroxisomal biogenesis factor 6	PEX6	Disminuida
28	Huntingtin interacting protein		Disminuida

La indicación de una * y [£] indica respectivamente una diferencia estadísticamente diferente entre los dos grupos según un ensayo T con una corrección de Bonferroni o de Benjamini y Hochberg, respectivamente. Esto indica que estos genes tomados aisladamente son muy pertinentes en el diagnóstico/pronóstico de un síndrome séptico.

Validación por RT-PCR cuantitativa

5 A fin de confirmar estos resultados con la ayuda de otra técnica de biología molecular, se han ensayado algunos genes por RT-PCR cuantitativa. Brevemente, se ha realizado una reacción de transcripción inversa (RT) en un volumen final de 20 µl. El ARN total (1 µg) se ha mezclado con 1 µl de polyT a 50 µM y 1 µl de dNTP mix (ThermoScript™ RT-PCR system, Invitrogen), y después se ha incubado durante 5 min. a 65°C. Después del enfriamiento en hielo, la solución se mezcló con 4 µl de 5x cDNA synthesis buffer, 1 µl de RNase out (40 U/µl), 1 µl de agua tratada con DEPC y 1 µl de ThermoScript RT (15 U/µl), procediendo todos estos productos del ThermoScript™ RT-PCR system (Invitrogen). La transcripción inversa se efectuó durante 1h a 50°C y después se paró mediante una incubación de 5 min. a 85°C. Para terminar, cada solución de ADNc se diluyó en 1/10 de agua DEPC.

15 Para cada uno de los genes de interés, se preparó un estándar mediante una amplificación PCR (polymerase chain reaction) llevada hasta saturación. Los amplicones obtenidos se purificaron (PCR purification kit, Qiagen Ltd) y la presencia de un único amplicón se verificó mediante electroforesis sobre gel de agarosa y marcada con bromuro de etidio.

El estándar del gen constitutivo Peptidilpropil isomerasa B (PPIB) que codifica la ciclofilina B se obtuvo en Search-LC (Heidelberg, Alemania).

20 Análisis de la expresión de los ARNm por PCR en tiempo real

Los ARNm de los genes diana de las SEC ID n° 1, 5, 11, 16 se cuantificaron por PCR cuantitativa en tiempo real utilizando LightCycler™ (Roche). Las reacciones PCR se efectuaron con la ayuda del kit Fast-Start™ DNA Master SYBR Green I real-time PCR (Roche Molecular Biochemicals). Cada PCR se efectuó en un volumen final de 20 µl que contiene 1 µl de LC-Fast Start Reaction Mix SYBR Green I, 1 µl de LC-Fast Start DNA Master SYBR Green I/Enzyme (incluyendo la Taq ADN polimerasa, el tampón de reacción y una mezcla de desoxinucleótidos trifosfato), el MgCl₂ (3 mM de concentración final), los cebadores sentido y antisentido (0,5 µM de concentración final), y 10 µl de solución de ADNc. Después de una etapa de desnaturalización de 10 minutos a 95°C, la amplificación se efectuó con la ayuda de 40 ciclos de un protocolo de "touch-down" PCR (10 s a 95°C, 10 s de hibridación a 68-58°C, seguida de una extensión de 16 s a 72°C). Al final de cada ciclo, se midió la fluorescencia emitida por el SYBR Green.

Para confirmar la especificidad de la amplificación, los productos PCR fueron sistemáticamente objeto de un análisis de curva de fusión (LightCycler™ - Roche). Para ello, los productos PCR se trataron mediante una temperatura creciente de 58 a 98°C con un aumento de 0,1°C/s. Para cada producto PCR, se obtuvo un solo pico durante el análisis de la curva, caracterizado por una temperatura de fusión específica.

35 Las combinaciones de cebadores necesarios a la cuantificación del gen constitutivo PPIB e IL-1β (SEC ID n° 5) se obtuvieron de Search LC (Heidelberg, Alemania). Para PPIB, el n° de acceso Genbank es M60857 y se amplifica la región 105-338. Para IL-1β, el n° de acceso Genbank es M15330 y se amplifica la región 438-642. Los pares de cebadores utilizados para determinar los genes diana de las SEC ID n° 1, 11, 16, la secuencia Genbank utilizada como referencia y la posición de los amplicones se describen en la tabla siguiente.

GEN DIANA DE SEC ID N°			amplicón
1	Primer sens 5'-->3'	SEC ID n° 29 TGACTGGCAGATCCAGAGGTT	164 bases
	Primer anti-sens 5'-->3'	SEC ID n° 30 GTAGAATATGGACAGGAACAC	
11	Primer sens 5'-->3'	SEC ID n° 31 CCTGAAGTGTAACACCCCAGA	162 bases
	Primer anti-sens 5'-->3'	SEC ID n° 32 TCCCTCTCCAGCACTTCTAGT	
16	Primer sens 5'-->3'	SEC ID n° 33 TGCTGGAGCTGGGACCCAGCATTGAGGAGGA	280 bases
	Primer anti-sens 5'-->3'	SEC ID n° 34 TCAGACACACACAACCTTCAGTCGATAG	

40 La cantidad de ARNm diana relativa a la cantidad de ARNm del gen constitutivo PPIB se analizó mediante la técnica de cuantificación relativa con el LightCycler Relative Quantification Software (Roche Molecular Biochemicals). La "Second Derivative Maximum Method" del programa LightCycler™ (Roche) se utilizó para determinar

automáticamente el "Crossing Point" (Cp) para cada muestra. El valor del Cp se definió como el número de ciclos para el cual la fluorescencia era significativamente diferente del ruido de fondo.

5 Se realizaron cinco diluciones en series al 1/10 en cuadruplicado con cada estándar a fin de generar una curva de calibrado, que expresa el Cp en función del logaritmo del número de copias. Las diluciones de estándar se optimizaron a fin de que la curva de calibrado cubra el nivel de expresión esperado para el gen diana y el gen constitutivo. Las curvas estándares relativas que describen la eficacia de PCR para el gen diana y el gen constitutivo se generaron y utilizaron para realizar una cuantificación con LightCycler Relative Quantification Software (Roche Molecular Biochemicals).

10 Los resultados obtenidos para la determinación de los ARNm de los genes diana de las SEC ID nº 1, 5, 11, y 16 en RT-PCR cuantitativa se presentan en la tabla 5 siguiente. Los resultados corresponden a 25 muestras (8 MP y 17 BP). La correlación de los resultados obtenidos por un lado con el biochip y por otro lado con la técnica en RT-PCR cuantitativa se estableció gracias al ensayo de correlación de Spearman.

Tabla 2 - Comparación de los niveles de expresión de 4 genes entre Affymetrix y RT-PCR cuantitativa.

Nombre del gen abreviado	Media de Affymetrix BP	Media de Affymetrix MP	Media RT-PCR BP	Media RT-PCR MP	Coefficiente de Spearman correlación: r	Ensayo de Spearman significatividad: p
CX3CR1	582,965	92,995	0,04295	0,00663	0,94	< 0,001
IL-1β	227,64	113,4	0,329	0,18	0,83	< 0,001
IL-2Rβ	204,86	131,965	0,00075	0,00024	0,76	< 0,001
MvD88	2644,03	1986,315	0,0351	0,0294	0,56	< 0,01

15 Para los 4 genes analizados, se observó una correlación significativa entre los resultados Affymetrix y los de RT-PCR cuantitativa, lo que confirma la pertinencia de los genes según la invención.

20 Siguiendo el mismo protocolo que el descrito en los párrafos anteriores, se cuantificaron los ARNm CX3CR1 a partir de muestras de sangre extraídas en 50 pacientes en choque séptico (19 MP y 21 BP). Una muestra de sangre se obtuvo durante las primeras 72 horas tras el principio del choque, después, más tarde se extrajo una segunda muestra durante el síndrome. El nivel de expresión de CX3CR1 se normalizó al del gen constitutivo PPIB. Los resultados se presentan en la figura 2. La comparación entre BP y MP se efectuó gracias al ensayo no paramétrico de Mann Whitney. Por lo tanto es particularmente interesante analizar la expresión del ARNm CX3CR1 como factor de mal pronóstico.

25 El nivel de expresión del ARNm CX3CR1 mostraba una disminución significativa a lo largo del tiempo en los pacientes MP. Los resultados se presentan en la figura 3. La evolución de la expresión a lo largo del tiempo se ensayó gracias al ensayo de Wilcoxon.

Por lo tanto, es particularmente interesante seguir la expresión del ARNm CX3CR1 a lo largo del tiempo para confirmar este mal pronóstico.

Análisis de la expresión de panel de genes

30 Los inventores han puesto en evidencia igualmente que el análisis simultáneo de la expresión de varios genes era muy pertinente para discriminar unos pacientes BP y MP.

Los inventores han puesto así en evidencia que el análisis simultáneo de la expresión de los 28 genes descritos anteriormente era muy pertinente para discriminar los dos grupos de BP y MP.

35 Los resultados se presentan en la figura 1. Esta lista permite clusterizar el 88% de las muestras de pacientes BP en un grupo y el 100% en las muestras de pacientes MP en otro grupo.

40 Además, los inventores han puesto en evidencia que el análisis simultáneo de la expresión de los genes de las SEC ID nº 1, 3, 7, 9-15, 17-28 entre los 28 descritos anteriormente era también particularmente pertinente para discriminar los dos grupos de BP y MP. Los resultados se presentan en la figura 2. Esta lista permite clusterizar el 92% de las muestras de pacientes BP en un grupo y el 100% de las muestras de pacientes MP en otro grupo. Entre los 28 genes descritos anteriormente, cada uno de los 9 genes de las SEC ID nº 1, 2, 4-8, 11 y 16 permite discriminar los dos grupos de pacientes. La tabla 3 representa el valor p calculado con la ayuda del ensayo T con la corrección

de Bonferroni o de Benjamini y Hochberg. Todos estos genes estaban sobreexpresados en los BP con respecto a los MP.

Tabla 3. Genes que permiten discriminar los dos grupos de pacientes

Nombre del gen	Símbolo del Gen	Corrección de Bonferroni	Corrección de BHFDR	Fold change
Chemokine (C-X3-C motif) receptor 1	CX3CR1	6,3E-05	6,3E-05	8,33
T cell receptor delta diversity 3	TRDD3	> 0,05	4,4E-02	4,00
T-cell lymphoma invasion and metastasis 1	TIAM1	> 0,05	2,7E-02	2,08
Interleukin 1, beta	IL1B	4,9E-02	9,7E-03	2,08
Carbonyl reductase 1	CBR1	> 0,05	2,8E-02	1,89
TIR domain containing adaptor inducing interferon-beta	TRIF	5,3E-04	2,6E-04	1,72
FYN tyrosine kinase protooncogene	FYN	> 0,05	2,7E-02	1,67
Interleukin 2 receptor, beta	IL2RB	4,3E-02	9,7E-03	1,52
Myeloid differentiation primary response gene (88)	MYD88	3,5E-02	9,7E-03	1,37

5 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> bioMerieux SA

<120> Procedimiento para el diagnóstico/pronóstico de un síndrome séptico

<130> Desconocido

<160> 34

10 <170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

<211> 3100

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15 <400> 1

ES 2 525 881 T3

actcgtctct ggtaaagtct gagcaggaca gggtggtga ctggcagatc cagaggttcc 60
 cttggcagtc cacgccaggc cttcaccatg gatcagttcc ctgaatcagt gacagaaaac 120
 tttgagtacg atgatttggc tgaggcctgt tatattgggg acatcgtggt ctttgggact 180
 gtgttcctgt ccatattcta ctccgtcatc tttgccattg gcctggtggg aaatttggtg 240
 gtagtgtttg ccctcaccaa cagcaagaag cccaagagtg tcaccgacat ttacctcctg 300
 aacctggcct tgtctgatct gctgtttga gccactttgc ctttctggac tcaactattg 360
 ataaatgaaa agggcctcca caatgccatg tgcaaattca ctaccgcctt cttcttcac 420
 ggcttttttg gaagcatatt cttcatcacc gtcacagca ttgataggta cctggccatc 480
 gtcctggccg ccaactccat gaacaaccgg accgtgcagc atggcgtcac catcagccta 540
 ggcgtctggg cagcagccat tttggtggca gcacccagc tcatgttcac aaagcagaaa 600
 gaaaatgaat gccttgggta ctaccccgag gtcctccagg aaatctggcc cgtgctccgc 660
 aatgtggaaa caaattttct tggcttccta ctccccctgc tcattatgag ttattgctac 720
 ttcagaatca tccagacgct gttttcctgc aagaaccaca agaaagccaa agcattaaa 780
 ctgatccttc tgggtggtcat cgtgtttttc ctcttctgga caccctacaa cgttatgatt 840
 ttcctggaga cgcttaagct ctatgacttc tttcccagtt gtgacatgag gaaggatctg 900
 aggctggccc tcagtgtgac tgagacgggt gcatttagcc attggtgctt gaatcctctc 960
 atctatgcat ttgctgggga gaagttcaga agataccttt accacctgta tgggaaatgc 1020
 ctggctgtcc tgtgtgggag ctcagtccac gttgatttct cctcatctga atcacaagg 1080
 agcaggcatg gaagtgttct gagcagcaat tttacttacc acacgagtg tggagatgca 1140
 ttgctccttc tctgaagggg atcccaaagc cttgtgtcta cagagaacct ggagttcctg 1200
 aacctgatgc tgactagtga ggaaagattt ttgttttat ttcttacagg cacaaaatga 1260
 tggaccaaat gcacacaaaa caaccctaga gtgtttgtga gaattgtgct caaaatttga 1320
 agaatgaaca aattgaactc tttgaatgac aaagagtaga catttctctt actgcaaatg 1380
 tcatcagaac tttttggttt gcagatgaca aaaattcaac tcagactagt ttagttaaat 1440
 gaggtggtg aatattgttc atattgtggc acaagcaaaa ggggtgtctga gccctcaaag 1500
 tgaggggaaa ccagggcctg agccaagcta gaattccctc tctctgactc tcaaatcttt 1560

ES 2 525 881 T3

tagtcattat agatccccc gactttacat gacacagctt tatcaccaga gagggactga 1620
cacccatggt tctctggccc caagggaaaa ttcccagga agtgctctga taggccaagt 1680
ttgtatcagg tgcccatccc tggaagggtc tgttatccat ggggaagga tatataagat 1740
ggaagcttcc agtccaatct catggagaag cagaaataca tatttccaag aagttggatg 1800
ggtgggtact attctgatta cacaaaacaa atgccacaca tcacccttac catgtgcctg 1860
atccagcctc tcccctgatt acaccagcct cgtcttcatt aagccctctt ccatcatgtc 1920
cccaaacctg caagggctcc ccactgccta ctgcatcgag tcaaaactca aatgcttggc 1980
ttctcatag tccacatgg ggtcctacca atagattccc cattgcctcc tccttcccaa 2040
aggactccac ccatcctatc agcctgtctc ttccatatga cctcatgcat ctccacctgc 2100
tcccaggcca gtaagggaaa tagaaaaacc ctgccccaa ataagaaggg atggattcca 2160
acccaactc cagtagcttg ggacaaatca agcttcagtt tcctggctg tagaagaggg 2220
ataaggtacc tttcacatag agatcatcct ttccagcatg aggaactagc caccaactct 2280
tgcaggtctc aaccttttg tctgcctctt agacttctgc tttccacacc tgactgctg 2340
tgctgtgccc aagttgtggt gctgacaaag cttggaagag cctgcagggt ccttggccgc 2400
gtgcatagcc cagacacaga agaggctggt tcttacgatg gcaccagtg agcactccca 2460
agtctacaga gtgatagcct tccgtaacct aactctcctg gactgccttg aatatccct 2520
cccagtcacc ttgtgcaagc ccctgccc atgggaaaat accccatcat tcatgctact 2580
gccaacctgg ggagccaggg ctatgggagc agctttttt tccccctag aaacgtttg 2640
aacaatgtaa aactttaag ctcgaaaaca attgtaataa tgctaaagaa aaagtcattc 2700
aatctaacca catcaatatt gtcattcctg tattcaccg tccagacctt gttcacactc 2760
tcacatgttt agagttgcaa tcgtaatgta cagatggttt tataatctga tttgttttcc 2820
tcttaacggt agaccacaaa tagtgctcgc tttctatgta gtttgtaat tatcatttta 2880
gaagactcta ccagactgtg tattcattga agtcagatgt ggtaactggt aaattgctgt 2940
gtatctgata gctctttggc agtctatatg tttgtataat gaatgagaga ataagtcatg 3000
ttccttcaag atcatgtacc ccaatttact tgccattact caattgataa acatttaact 3060
tgtttccaat gtttagcaaa tacatatttt atagaacttc 3100

<210> 2

<211> 783

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 2

atgcagagga tctcctcct catccatctc tctctcttct gggcaggagt catgtcagcc 60
attgagttgg tgcctgaaca ccaaacagtg cctgtgtcaa taggggtccc tgccaccctc 120
agggtctcca tgaaggaga agcgatcggg aactactata tcaactggtg caggaagacc 180
caagtaaca caatgacttt catataccga gaaaaggaca tctatggccc tggtttcaaa 240
gacaatttcc aagggtgacat tgatattgca aagaacctgg ctgtacttaa gatacttgca 300
ccatcagaga gagatgaagg gtcttactac tgtgcctgtg acacctggg gatggggggg 360

ES 2 525 881 T3

gaatacaccg ataaactcat ctttgaaaa ggaacccgtg tgactgtgga accaagaagt 420
 cagcctcata ccaaaccatc cgtttttgtc atgaaaaatg gaacaaatgt cgcttgtctg 480
 gtgaaggaat tctaccccaa ggatataaga ataaatctcg tgtcatccaa gaagataaca 540
 gagtttgatc ctgctattgt catctctccc agtgggaagt acaatgctgt caagcttggt 600
 aaatatgaag attcaaattc agtgacatgt tcagttcaac acgacaataa aactgtgcac 660
 tccactgact ttgaagtgaa gacagattct acagatcacg taaaacccaaa ggaaactgaa 720
 aacacaaagc aaccttcaaa gagctgccat aaacccaaag ccatagtcca taccgagaag 780
 taa 783

<210> 3

<211> 5191

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 3

gcggccgcgg gctctcgcgg ggcgggcagc ccgcggggag gatgctgctt gccgcgcccc 60
 cgtcctcacc gtcctcccgg gccgcctgct ggggctttgt tgtggcccgg acgccgcggg 120
 ccaccccctg aagtcgcctg ccgcccgcgc cgccgcacct agcggacggg cgggcggggc 180
 cgcgtgtgcc caggagtgcg cgctgtcgc ggtggtgggt gcaggactgg acccacgggc 240
 ccattgtgcg cccgcccgcg gcagccagga ccatgtgggt gaacccggag gaggtgttgc 300
 tggccaacgc gctgtggatc accgagaggg ccaaccata cttcatctg cagcggagga 360
 agggccacgc cggcgatgga ggcggcggcg gcggactggc gggcctgctg gtgggtacct 420
 ttgatgttgt gttggactcc agcgcggggc tcgctcctta ccgaatctg taccagactc 480
 cagactccct ggtctactgg accatcgcct gtggtggttc caggaaagaa atcactgaac 540
 actgggaatg gcttgagcaa aatctcttgc agacactctc catctttgaa aatgagaatg 600
 atatcaccac atttgtgaga ggaaaaatac agggcatcat tgcagaatac acaaaaatca 660
 atgatgtaaa ggaagatgat gacacggaga agtttaaaga agccattgtg aaatttcata 720
 ggctgtttgg gatgccagag gaagagaaac tcgtcaacta ttactcttgc agctattgga 780
 aggggaaggc cccccgtagc ggttgatgt acctcagcat taaccacctt tgcttttatt 840
 cttttcttat gggaaaggaa gcgaaactgg tcatccggtg ggtagacatc actcagctcg 900
 agaagaatgc caccctgctt ctgcctgatg tgatcaaagt gagcacacgg tccagtgagc 960
 atttcttctc tgtattcctc aacatcaacg agacctcaa gttaatggag cagcttgcca 1020
 acatagccat gaggcaactc ttagacaatg agggatttga acaagatcga tccctgccca 1080
 aactcaaaag gaaatctcct aaaaaagtgt ctgctctaaa acgtgatctt gatgccaggg 1140
 caaagagtga gagataaccgt gcacttttcc ggctgcccga agatgaaaaa ttagatggcc 1200
 acacagactg cactctctgg actccattta acaaaatgca cattttgggg cagatgtttg 1260
 tgtccacaaa ttacatctgt ttaaccagca aggaggagaa cttatgtagc ctattatcc 1320
 cgctccgtga ggtgacaatt gtggaaaagg cagacagctc cagtgtgctc cccagtcctc 1380

ES 2 525 881 T3

tatccatcag	cacccgaaac	aggatgacct	tcctatattgc	caacttgaaa	gatagagact	1440
ttctagtgca	gaggatctca	gatttcctgc	aacagactac	ttccaaaata	tattctgaca	1500
aggagtttgc	aggaagttac	aacagttcag	atgatgaggt	gtactctcga	cccagcagcc	1560
tcgtctcctc	cagccccag	agaagcacga	gctctgatgc	tgatggagag	cgccagttta	1620
acctaaatgg	caacagcgtc	cccacagcca	cacagaccct	gatgaccatg	tatcggcggc	1680
ggtctcccga	ggagttcaac	ccgaaattgg	caaagagtt	tctgaaagag	caagcctgga	1740
agattcactt	tgctgagtat	gggcaaggga	tctgcatgta	ccgcacagag	aaaacgcggg	1800
agctgggtgt	gaagggcatc	ccggagagca	tcgtggggga	gctctggctg	ctgctgtcag	1860
gtgccatcaa	tgagaaggcc	acacatcctg	ggtactatga	agacctagtg	gagaagtcca	1920
tggggaagta	taatctcgcc	acggaggaga	ttgagagggga	tttacaccgc	tcccttccag	1980
aacaccagc	ttttcagaat	gaaatgggca	ttgctgcact	aaggagagtc	ttaacagctt	2040
atgcttttcg	aaatcccaac	atagggatt	gccaggccat	gaatattgtc	acttcagtgc	2100
tgctgcttta	tgccaaagag	gaggaagctt	tctggctgct	tgtggctttg	tgtgagcgca	2160
tgctcccaga	ttactacaac	accagagttg	tgggtgcact	ggtggaccaa	ggtgtctttg	2220
aggagctagc	acgagactac	gtcccacagc	tgtacgactg	catgcaagac	ctgggcgtga	2280
tttccaccat	ctccctgtct	tggttcctca	cactatttct	cagtgtgatg	ccttttgaga	2340
gtgcagttgt	ggttgttgac	tgtttcttct	atgaaggaat	taaagtgata	ttccagttgg	2400
ccctagctgt	gctggatgca	aatgtggaca	aactgttgaa	ctgcaaggat	gatggggagg	2460
ccatgaccgt	tttgggaagg	tatttagaca	gtgtgaccaa	taaagacagc	acactgcctc	2520
ccattcctca	cctccactcc	ttgctcagcg	atgatgtgga	accttaccct	gaggtagaca	2580
tctttagact	catcagaact	tcctacgaga	aattcggaac	tatccgggca	gatttgattg	2640
aacagatgag	attcaaacag	agactgaaag	tgatccagac	gctggaggat	actacgaaac	2700
gcaacgtggt	acgaaccatt	gtgacagaaa	cttcctttac	cattgatgag	ctggaagaac	2760
tttatgctct	tttcaaggca	gaacatctca	ccagctgcta	ctggggcggg	agcagcaacg	2820
cgctggaccg	gcatgacccc	agcctgcctt	acctggaaca	gtatcgatt	gacttcgagc	2880
agttcaaggg	aatgtttgct	cttctcttct	cttgggcatg	tggaactcac	tctgacgttc	2940
tggcctcccg	cttgttccag	ttattagatg	aaaatggaga	ctctttgatt	aacttccggg	3000
agtttgtctc	tgggctaagt	gctgcatgcc	atggggacct	cacagagaag	ctcaaaactcc	3060
tgtacaaaat	gcacgtcttg	cctgagccat	cctctgatca	agatgaacca	gattctgctt	3120
ttgaagcaac	tcagtacttc	tttgaagata	ttaccccaga	atgtacacat	gttgttggat	3180
tggatagcag	aagcaaacag	ggtgcagatg	atggctttgt	tacgggtgagc	ctaaagccag	3240
acaaagggaa	gagagcaaat	tcccaagaaa	atcgtaatta	tttgagactg	tggactccag	3300
aaaataaatc	taagtcaaag	aatgcaaagg	atttacccaa	attaaatcag	gggcagtcca	3360
ttgaactgtg	taagacaatg	tataacatgt	tcagcgaaga	ccccaatgag	caggagctgt	3420
accatgccac	ggcagcagtg	accagcctcc	tgctggagat	tggggaggtc	ggcaagttgt	3480

ES 2 525 881 T3

tcgtggccca gcctgcaaag gaggacaagc tgcactgcga ggacatcgga gaggacacgg 3540
 tcctgggtgcg gagcggccag ggcacggcgg cactgccccg gagcaccggc ctggaccggg 3600
 actgggccat caccttcgag cagttcctgg cctccctctt aactgagcct gccctggtca 3660
 agtactttga caagcccgtg tgcattgatg ccaggattac cagtgcaaaa aacatccgga 3720
 tgatgggcaa gccctcacc tcggccagtg actatgaaat ctcggccatg tccggctgac 3780
 acgggcccct tcccggggga gtgggaggaa agggagggga gggatttttt atgttcttct 3840
 gtgttgagtt ttttcttctt ttcttttaaa ttaaataatt attagtacct ggcttgaagc 3900
 ctagtgtttt cataatgtaa ttcaatgaaa actgttggag aaatatttaa acacctcaat 3960
 gtaggtacat tacactcttg ttgcggggag gggatttacc agaatacagt ttatttcgtg 4020
 aattctaaaa aacaaaaaga tgaatctgtc agtgatatgt gtgtattata acttattaat 4080
 cttgctgttg agctgtatac atggtttaaa aaatagtact gtttaatgct aagtaaggca 4140
 gcagtcattt gtgtattcag gctttttaaa taaaattaga gctgtaagga aaatgaaaag 4200
 ccacaaatgc aagactgttc ttaaattgaa ggcatagtca gcgagggtaa atcctatacc 4260
 actttaggaa gtattaaaaa tatttttaag atttgaaata tatttcatag aagtcctcta 4320
 ttcaaaatca tattccacag atgttcccct tcaaagggaa aacatttggg gttctaaaca 4380
 gttatgaaag taagtgattt ttacatgatt ccagaataac acttgtattg accaatttaa 4440
 acagatacca gaccaatttt gcatttaaga aattgttctg attatttacg tcaactcatt 4500
 agaattcagt gaaaagtaac agtcttttgt cacagagaat ctgaaagtag cagcaaagac 4560
 agagggtca tgacaggttt ttgcttttgc tttgcttttg tttttgaaag agtaaaagta 4620
 ctgatgcttc tgatactgga tgttttagctt cttactgcaa aaacataagt aaaacagtca 4680
 actttaccat ttccgtattc tccatagatt gaagaaattt ataccacata tcgcatatga 4740
 ccatctttcc atcaaatcaa tgtagagata atgtaactg aaaaaaatc tgcaagataa 4800
 tgtaactgaa tgttttaaaa acagaacttg tcactttata taaaagaata gtatgctcta 4860
 tttcctgaat ggatgtggaa atgaaagcta gcgcacctgc actttgaatt cttgcttctt 4920
 ttttattact gttatgattt tgctttttac agatgttggg cgattttttc ttctgattgt 4980
 tgaattcata atcatggtct catttccttt gcttctttgg aatatttctt tcaacacatt 5040
 cctttatttt attatacatt gtgtcctttt tttagctatt gctgctgttg tttttattc 5100
 tatttacagg atgattttta aactgtcaaa tgaagtagtg ttaacctcaa ataggctaaa 5160
 tgtgaacaaa taaaatacag caaatactca g 5191

<210> 4

<211> 5521

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 4

cgccccgcat cgtgcccggc cccgtcgcgg agatcccgga cgaccgtcgc gggttgatgg 60
 tcgattcca gatgtaaaca gcttcagaag cctgacggtc atatggtaga atcactgtgg 120
 actgagaccc acctttctag acctgaagcc caggaggagg aagaggaggc tggttggtac 180

ES 2 525 881 T3

catgggcata atgctctgaa tcctagtctc tcacctagta tgtgagcagt ccctgcagat	240
ggcccatctg gagatcttga caaagcctct tctgtttcca atggggtttt tggcgcatcc	300
tcacagactt agatgaaact gtgatggcca ccgaggggg cagggtgctga catcgtcccc	360
agccctgtgg ctgttcatcc ggacatcatt tccaacctca atatctaaat gccacagtgc	420
tcttggagca agttgggctg gggaccactg ttgcctttta agaccataaa accatgggaa	480
acgcagaaag tcaacatgta gagcacgagt tttatggaga aaagcatgcc agcctggggc	540
gcaacgacac tccccgtcc ctgcgctct cgacaagac gcggaggacc aggcacgctt	600
cctcggggaa ggtgatccac aggaactccg aagtgagcac ccgatccagc agcaccccca	660
gcatccccc gtccttggct gaaaatggcc tggagccctt ctccaagat ggtaccctag	720
aagacttcgg gagccccatc tgggtggacc gagtggacat gggcttgaga cctgtgtctt	780
acactgactc tctgtcact cccagcgtag acagcagcat cgtcctcaca gcagcctctg	840
tgcagagcat gccagacact gaggagagca ggctttacgg ggatgacgct acatatttgg	900
ctgagggagg caggaggcag cattcctata catccaatgg gccactttc atggagacgg	960
cgagctttaa gaagaaacgc tccaaatctg cagacatctg gcgggaggac agcctggaat	1020
tctcactctc tgatctgagc caagaacatt taacaagcaa cgaagaaatc ttgggttccg	1080
ccgaagagaa ggactgcgag gaggctcggg ggatggaaac gcgggagcagc ccgcggcagc	1140
tcagcacctg tcagagagcc aattccttgg gtgacttgta tgctcagaaa aactctggag	1200
tgacagcaaa catggggccg gggagcaaat ttgaggcta ctgtcggaat ttggtgtctg	1260
atattcccaa tcttgcaaac cataagatgc caccagctgc tgctgaagag actcctccgt	1320
acagtaatta taacacactt ccctgtagga aatctcactg tctctctgaa ggtgccacca	1380
accacaaat tagccatagc aacagcatgc aaggcagaag agctaaaaca actcaggatg	1440
ttaatgcagg cgagggcagc gagtttgag acagtgggat tgaaggggccc actaccgaca	1500
cggacctcct gtccaggcga tctaagcca ccaactccag ctactcacc accacaggcc	1560
gggcctttgt gggcagcgac agggcagca gctccaccgg ggatgaggct cgtcaggggg	1620
tgtacgagaa cttccggcgg gagctggaga tgagaccac caacagcgag agcctggagg	1680
aggccggctc tgcgcacagc gatgagcaga gcagcggcac cctgagctct ccgggcccagt	1740
cggacatcct gctgaccgcc gcacagggca cggcgcgcaa ggccggcgcc ctggccgtca	1800
agaacttctt ggtgcacaag aagaacaaga aggtggagtc agccaccgg aggaagtgga	1860
agcactactg ggtgtccctg aaaggatgca cgctatcttt ctacgagagc gacggcaggt	1920
ctgggataga ccacaacagc atccccaaac acgcccgtctg ggtggagaac agcattgtgc	1980
aggctgtgcc tgagcaccac aagaaggact ttgtcttctg cctcagcaat tccctgggtg	2040
atgccttctt tttcagacc actagccaga cggagcttga aaactggatc accgccatcc	2100
actctgcctg cgccactgcy gtcgagggc accaccacaa ggaagacacg ctccgactcc	2160
tgaaatcaga gatcaaaaaa ctggaacaga agattgacat ggatgaaaag atgaagaaaa	2220
tgggtgaaat gcagctgtct tcagtcactg actcaagaa aaagaaaaca atattagatc	2280

ES 2 525 881 T3

agatctttgt ctgggagcaa aatctcgagc agttccaaat ggacctgttt cgtttccgct 2340
 gttatttagc cagccttcag ggtggggagc tgccaaaccc caaaaggctt ctcgcttttg 2400
 caagtcgacc aacgaaagt gccatgggcc gccttgaat cttttcggtc tcatcgtttc 2460
 atgccctggt ggagcagcgc actggtgaaa ctggagtgag aagacgtact caggccatgt 2520
 ccagatccgc gagcaagcga aggagcaggt tttcttctct gtggggtctg gatactacct 2580
 ccaaaaagaa gcagggacgg ccaagcatca atcaggtgtt tggagagggg accgaagctg 2640
 taaagaaatc tttagagggg atatttgatg acattgttcc agatggcaag agggagaaag 2700
 aagtggctct acctaactgt caccagcaca accctgactg cgacatttgg gtccacgagt 2760
 atttcactcc atcctggttc tgtctgccc ataatcagcc tgccctgacg gtcgtccggc 2820
 caggcgacac tgcacgggac accctggagc tgatttgcaa gacacatcaa ctggatcatt 2880
 ctgctcatta cctgcgctg aaatttctaa tagaaaacaa aatgcagctc tatgttccac 2940
 agcccagagg agacatctat gagctgctgt acaagaaat tgaaatctgt ccaaaagtca 3000
 ctcacagcat ccacattgag aagtcagata cagctgctga tacttacggg ttttcacttt 3060
 cttctgtgga agaagatggt attcgaaggc tgtacgtgaa tagtgtgaag gaaaccggtt 3120
 tagcttcaa gaaaggcctg aaagcaggag atgagattct tgagatcaat aatcgtgctg 3180
 ctgacgccct gaactcttct atgctcaaag atttcctctc acaaccctcg ctgggcctcc 3240
 tggtgaggac ctaccccag ctggaggaag gagtggagct gctggaaagc ccgccccacc 3300
 gagtggacgg ccctgccgac cttgacgaga gccccctgc ctttctcacc agcaaccag 3360
 ggcacagcct ttgcagcgag cagggcagca gtgctgagac cgctccagag gagaccgagg 3420
 ggccagactt ggaatcctca gatgagactg atcacagcag caagagtaca gaacaggtgg 3480
 ccgcattttg ccgcagtttg catgagatga acccctctga ccagaacca tctcctcagg 3540
 actccacggg gcctcagctg gcgacatga gacaactctc ggatgcagat aacgtgcgca 3600
 aggtgatctg cgagctcctg gagacggagc gcacctacgt gaaggattta aactgtctta 3660
 tggagagata cctaaagcct cttcaaaaag aaacttttct caccaggat gagcttgacg 3720
 tgctttttg aaatttaacg gaaatgtag agtttcaagt agaattcctt aaaactctag 3780
 aagatggagt gagactgga cctgatttgg aaaagcttga gaaggttgat caatttaaga 3840
 aagtgctgtt ctctctggg ggatcattcc tgtattatgc tgaccgcttc aagctctaca 3900
 gtgccttctg cgcatccac acaaaagtcc ccaaggtcct ggtgaaagcc aagacagaca 3960
 cggctttcaa ggcattcttg gatgccaga acccgaagca gcagcactca tccacgctgg 4020
 agtcgtacct catcaagccc atccagagga tcctcaagta cccacttctg ctcagggagc 4080
 tgttcgccct gaccgatgcg gagagcgagg agcactacca cctggacgtg gccatcaaga 4140
 ccatgaacaa ggttgccagt cacatcaatg agatgcagaa aatccatgaa gagtttgggg 4200
 ctgtgtttga ccagctgatt gctgaacaga ctggtgagaa aaaagaggtt gcagatctga 4260
 gcatgggaga cctgcttttg cacactaccg tgatctggct gaaccgccc gcctcgctgg 4320
 gcaagtggaa aaaggaacca gagttggcag cattcgtctt caaaactgct gtggtccttg 4380

ES 2 525 881 T3

tgtataaaga tggttccaaa cagaagaaga aacttgtagg atctcacagg ctttccattt 4440
atgaggactg ggaccccttc agatttcgac acatgatccc cacggaagcg ctgcaggttc 4500
gagctttggc gagtgcagat gcagaggcaa atgccgtgtg tgaaattgtc catgtaaaat 4560
ccgagtctga agggaggccg gagagggctt ttcacttgtg ctgcagctcc ccagagagcc 4620
gaaaggattt cctaaaggct gtgcattcaa tcctgcgtga taagcacaga agacagctcc 4680
tcaaaaccga gagccttccc tcatcccagc aatatgtccc ttttggaggc aaaagattgt 4740
gtgcaactgaa gggggccagg ccggccatga gcagggcagt gtctgccccca agcaagtctc 4800
ttgggaggag gaggcggcgg ctggctcgaa acaggtttac cattgattct gatgccgtct 4860
ccgcaagcag cccggagaaa gaggcccagc agccccccg tggtggggac actgaccgat 4920
gggtagagga gcagtttgat cttgctcagt atgaggagca agatgacatc aaggagacag 4980
acatcctcag tgacgatgat gagttctgtg agtccgtgaa ggggtgcctca gtggacagag 5040
acctgcagga gcggcttcag gccacctcca tcagtcagcg ggaaagaggc cggaaaaccc 5100
tggatagtca cgcgtcccgc atggcacagc tcaagaagca agctgccttg tcggggatca 5160
atggaggcct ggagagcgca agcgaggaag tcatttgggt taggcgtgaa gactttgccc 5220
cctccaggaa actgaacact gagatctgac tgcgtcacct gccccgtaga gaatgtgtgt 5280
agatacttcc tgccctaact ctgcccaccc tcctgtaccg tcgacaagaa tgtcccctta 5340
ggtcgcgctc ttgcacacac ggttttggca gctgacttgg ttctgaagcc atgtagccac 5400
ccaactttgt cattttcaac aacatcagaa agaattgatc agaatcccaa ataaaacca 5460
aaagtgtcta atgtattcat tcattagcta actaaaagcc caaaaaagac aagacacca 5520
g 5521

<210> 5

<211> 1498

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 5

accaaacctc ttcgaggcac aaggcacaac aggctgctct gggattctct tcagccaatc 60
ttcattgctc aagtgtctga agcagccatg gcagaagtac ctgagctcgc cagtgaaatg 120
atggcttatt acagtggcaa tgaggatgac ttgttctttg aagctgatgg ccctaaacag 180
atgaagtgct ccttccagga cctggacctc tgccctctgg atggcggcat ccagctacga 240
atctccgacc accactacag caagggcttc aggcaggccg cgtcagttgt tgtggccatg 300
gacaagctga ggaagatgct ggttcctcgc ccacagacct tccaggagaa tgacctgagc 360
accttctttc ccttcatctt tgaagaagaa cctatcttct tcgacacatg ggataacgag 420
gcttatgtgc acgatgcacc tgtacgatca ctgaaactgca cgctccggga ctcacagcaa 480
aaaagcttgg tgatgtctgg tccatatgaa ctgaaagctc tccacctcca gggacaggat 540
atggagcaac aagtgggtgt ctccatgtcc tttgtacaag gagaagaaag taatgacaaa 600
atacctgtgg ccttgggcct caaggaaaag aatctgtacc tgtcctgcgt gttgaaagat 660

ES 2 525 881 T3

gataagccca ctctacagct ggagagtgta gatcccaaaa attacccaaa gaagaagatg 720
 gaaaagcgat ttgtcttcaa caagatagaa atcaataaca agctggaatt tgagtctgcc 780
 cagttcccca actggtacat cagcacctct caagcagaaa acatgcccggt cttcctggga 840
 gggaccaaag gcggccagga tataactgac ttcacatgc aatttggtgc ttcctaaaga 900
 gagctgtacc cagagagtcc tgtgctgaat gtggactcaa tccctagggc tggcagaaag 960
 ggaacagaaa ggtttttgag tacggctata gcctggactt tcctgttgc tacaccaatg 1020
 cccaactgcc tgccttaggg tagtgctaag aggatctcct gtccatcagc caggacagtc 1080
 agctctctcc tttcagggcc aatccccagc cttttgttg agccaggcct ctctcacctc 1140
 tcctactcac ttaaagcccg cctgacagaa accacggcca catttggttc taagaaacc 1200
 tctgtcattc gctccacat tctgatgagc aaccgcttcc ctatttattt atttatttgt 1260
 ttgtttgttt tattcattgg tctaatttat tcaaaggggg caagaagtag cagtgtctgt 1320
 aaaagagcct agtttttaat agctatggaa tcaattcaat ttggactggg gtgctctctt 1380
 taaatcaagt ctttaatta agactgaaaa tatataagct cagattattt aaatgggaat 1440
 atttataaat gagcaaatat catactgttc aatggttctg aaataaactt cactgaag 1498

<210> 6

<211> 1245

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 6

cgggcgtgta acccacgggt gcgcgcccac gaccgccaga ctcgagcagt ctctggaaca 60
 cgctgcgggg ctcccgggcc tgagccaggt ctgttctcca cgcaggtggt ccgcgcgccc 120
 cgttcagcca tgtcgtccgg catccatgta gcgctggtga ctggaggcaa caagggcatc 180
 ggcttgcca tcgtgcgca cctgtgccgg ctgttctcgg gggacgtggg gctcacggcg 240
 cgggacgtga cgcggggcca ggcggccgta cagcagctgc aggcggaggg cctgagcccg 300
 cgcttcacc agctggacat cgacgatctg cagagcatcc gcgccctgcg cgacttctctg 360
 cgcaaggagt acgggggacct ggacgtgctg gtcaacaacg cgggcatcgc cttcaagggt 420
 gctgatccca caccctttca tattcaagct gaagtacga tgaaaacaaa tttctttggt 480
 acccgagatg tgtcacaga attactccct ctaataaac cccaaggag agtgggtaac 540
 gtatctagca tcatgagcgt cagagccctt aaaagctgca gccagagct gcagcagaag 600
 ttccgcagtg agaccatcac tgaggaggag ctggtggggc tcatgaacaa gtttgaggag 660
 gatacaaaga agggagtgca ccagaaggag ggctggccca gcagcgata cggggtgacg 720
 aagattggcg tcaccgttct gtccaggatc cacgccagga aactgagtga gcagaggaaa 780
 ggggacaaga tcctcctgaa tgctgtgctc ccagggtggg tgagaactga catggcggga 840
 cccaaggcca ccaagagccc agaagaaggt gcagagacct ctgtgtactt ggcccttttg 900
 cccccagatg ctgaggttcc ccatggacaa tttgtttcag agaagagagt tgaacagtgg 960
 tgagctgggc tcacagctcc atccatgggc cccattttgt accttgcct gagttggtcc 1020
 aaagggcatt tacaatgtca taaatattct tatataagaa aaaaaatgat ctcttatcaa 1080
 ttagactca ctaatgtact actaattgag caacctacgc actcagttga ctacgtaaat 1140
 ctgtcaggtc tttgtgatt tcctctgatg caggagagga aaaattgtaa ttgatgaaaa 1200
 taatgaatga aaatcaacag atgaataaat ggttctttat aagtg 1245

ES 2 525 881 T3

<210> 7

<211> 2460

<212> ADN

<213> Homo sapiens

5 <400> 7

```

gtgtggaaca tgccttcacc acctccagct tctgctgccg gaggctgcac ccacctgtgc      60
ccatggcctg cacaggccca tcacttccta gcgccttcga cattctaggt gcagcaggcc     120
aggacaagct cttgtatctg aagcacaaac tgaagacccc acgcccaggc tgccaggggc     180
aggacctcct gcatgccatg gttctcctga agctgggcca ggaaactgag gccaggatct     240
ctctagaggc attgaaggcc gatgcggtgg cccggctggt ggcccgccag tgggctggcg     300
tggacagcac cgaggaccca gaggagcccc cagatgtgtc ctgggctgtg gcccgcttgt     360
accacctgct ggctgaggag aagctgtgcc ccgcctcgct gcgggacgtg gcctaccagg     420
aagccgtccg caccctcagc tccagggacg accaccggct gggggaactt caggatgagg     480
cccgaaaccg gtgtgggtgg gacattgctg gggatccagg gagcatccgg acgctccagt     540
ccaatctggg ctgcctccca ccatcctcgg ctttgccctc tgggaccagg agcctccac     600
gccccattga cggtgtttcg gactggagcc aaggggtgct cctgcgatcc actggcagcc     660
ctgcctccct ggccagcaac ttggaaatca gccagtcccc taccatgccc ttcctcagcc     720
tgcaccgcag cccacatggg cccagcaagc tctgtgacga cccccaggcc agcttgggtgc     780
ccgagcctgt ccccggtggc tgccaggagc ctgaggagat gagctggccg ccatcggggg     840
agattgccag cccaccagag ctgccaagca gcccacctcc tgggcttccc gaagtggccc     900
cagatgcaac ctccactggc ctccctgata cccccgcagc tccagaaacc agcaccaact     960
accagtgga gtgcaccgag gggctctgca gccccagtc tctccccttg cctattctgg    1020
agccggtcaa aaaccctgc tctgtcaaag accagacgcc actccaactt tctgtagaag    1080
ataccacctc tccaaatacc aagccgtgcc cacctactcc caccaccca gaaacatccc    1140
ctcctcctcc tcctcctcct cttcatcta ctcttgttc agctcacctg accccctcct    1200
ccctgttccc ttcctccctg gaatcatcat cggaacagaa attctataac tttgtgatcc    1260
tccacgccag ggcagacgaa cacatgccc tgcggttcg ggagaagctg gaggcccttg    1320
gcgtgcccga cggggccacc ttctgcgagg atttccaggt gccggggcgc ggggagctga    1380
gctgcctgca ggacgccata gaccactcag ctttcatcat cctacttctc acctccaact    1440
tcgactgtcg cctgagcctg caccaggtga accaagccat gatgagcaac ctcacgcgac    1500
aggggtcgcc agactgtgtc atccccttcc tgccccctgga gagctccccg gccagctca    1560
gctccgacac ggccagcctg ctctccgggc tgggtgcggct ggacgaacac tcccagatct    1620
tcgccaggaa ggtggccaac accttcaagc cccacaggct tcaggcccga aaggccatgt    1680

```

ES 2 525 881 T3

ggaggaagga acaggacacc cgagccctgc gggaacagag ccaacacctg gacggtgagc 1740
 ggatgcaggc ggcggcactg aacgcagcct actcagccta cctccagagc tacttgtcct 1800
 accaggcaca gatggagcag ctccaggctg cttttgggag ccacatgtca tttgggactg 1860
 gggcgccta tggggctcga atgccctttg ggggccaggt gccctggga gcccgcacc 1920
 cttttccac ttggccgggg tgcccgcagc cgccaccct gcacgcatgg caggctggca 1980
 cccccacc gccctccca cagccagcag cttttccaca gtcactgcc ttcccagct 2040
 cccagcctt ccctacggcc tcaccgcac ccctcagag cccagggctg caaccctca 2100
 ttatccacca cgacagatg gtacagctgg ggctgaacaa ccacatgtgg aaccagagag 2160
 ggtcccaggc gcccgaggac aagacgcagg aggcagaatg accgcgtgc cttgcctgac 2220
 cacctgggga acaaccctgg acccaggcat cggccaggac cccatagagc accccggtct 2280
 gccctgtgcc ctgtggacag tggaaatga ggtcatctgc cactttcagg acattgtccg 2340
 ggagcccttc attaggaca aaacgggagc gatgatgcc tggctttcag ggtggtcaga 2400
 actggatagc gtgtttaca ttccaatctc tctatttctg ggtgaagggt cttggtggtg 2460

<210> 8

<211> 2650

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 8

gccgcgctgg tggcggcggc gcgtcgttgc agttgcgcca tctgtcagga gcggagccgg 60
 cgaggagggg gctgccgagg gcgaggagga ggggtcgccg cgagccgaag gccttcgaga 120
 cccgcccggc gccggcggc gagagtagag gcgaggttgt tgtgcgagcg gcgcgtcctc 180
 tcccgccggg gcgcgccgag cttctcccag cgcaccgagg accgcccggg cgacacaaa 240
 gccgcccggc gcgcccagc gccggcggc cgccgcccgc gccagggagg gattcgcccg 300
 ccgggcccgg gacaccccgg cgccgcccc tcggtgctct cggaaggccc accggctccc 360
 gggcccggc gggaccccc ggagccgcct cggccgcgcc ggaggagggc ggggagagga 420
 ccatgtgagt gggctccgga gcctcagcgc cgcgcagttt ttttgaagaa gcaggatgct 480
 gatctaaacg tggaaaaaga ccagtcctgc ctctgttgta gaagacatgt ggtgtatata 540
 aagtttgtga tcgttggcgg acattttggg attagataa tgggctgtgt gcaatgtaag 600
 gataaagaag caacaaaact gacggaggag agggacggca gcctgaacca gagctctggg 660
 taccgctatg gcacagacc caccctcag cactaccca gcttcggtgt gacctccatc 720
 cccaactaca acaacttcca cgcagccggg ggccaaggac tcaccgtctt tggagggtgt 780
 aactcttcgt ctcatcggg gaccttgcgt acgagaggag gaacaggagt gacctcttt 840
 gtggcccttt atgactatga agcacggaca gaagatgacc tgagttttca caaaggagaa 900
 aaatttcaaa tattgaacag ctcggaagga gattggtggg aagcccgtc cttgacaact 960
 ggagagacag gttacattcc cagcaattat gtggctccag ttgactctat ccaggcagaa 1020
 gagtggact ttggaaaact tggccgaaa gatgctgagc gacagctatt gtcctttgga 1080
 aaccaagag gtacctttct tatccgcgag agtgaaacca ccaaagggtc ctattcactt 1140

ES 2 525 881 T3

tctatccgtg attgggatga tatgaaagga gaccatgtca aacattataa aattcgcaaa 1200
 cttgacaatg gtggatacta cattaccacc cgggcccagt ttgaaacact tcagcagctt 1260
 gtacaacatt actcagagag agctgcaggt ctctgctgcc gcctagtagt tccctgtcac 1320
 aaagggatgc caaggcttac cgatctgtct gtcaaaacca aagatgtctg ggaaatccct 1380
 cgagaatccc tgcagttgat caagagactg ggaaatgggc agtttgggga agtatggatg 1440
 ggtacctgga atggaaacac aaaagtagcc ataaagactc ttaaaccagg cacaatgtcc 1500
 cccgaatcat tccttgagga agcgcagatc atgaagaagc tgaagcacga caagctggtc 1560
 cagctctatg cagtgggtgtc tgaggagccc atctacatcg tcaccgagta tatgaacaaa 1620
 ggaagtttac tggatttctt aaaagatgga gaaggaagag ctctgaaatt accaaatctt 1680
 gtggacatgg cagcacaggt ggctgcagga atggcttaca tcgagcgcag gaattatatac 1740
 catagagatc tgcgatcagc aaacattcta gtggggaatg gactcatatg caagattgct 1800
 gacttcggat tggcccgatt gatagaagac aatgagtaca cagcaagaca aggtgcaaag 1860
 ttccccatca agtggacggc ccccgaggca gccctgtacg ggaggttcac aatcaagtct 1920
 gacgtgtggt cttttggaat ctactcaca gagctggtca ccaaaggaag agtgccatac 1980
 ccaggcatga acaaccggga ggtgctggag caggtggagc gaggctacag gatgccctgc 2040
 ccgcaggact gccccatctc tctgcatgag ctcatgatcc actgctggaa aaaggaccct 2100
 gaagaacgcc ccacttttga gtacttgcat agcttcctgg aagactactt taccgcgaca 2160
 gagccccagt accaacctgg tgaaaacctg taaggcccgg gtctgcggag agaggccttg 2220
 tcccagaggc tgccccacc ctccccatta gctttcaatt ccgtagccag ctgctcccca 2280
 gcagcggaac cggccaggat cagattgcat gtgactctga agctgacgaa cttccatggc 2340
 cctcattaat gacacttgct cccaaatccg aacctcctct gtgaagcatt cgagacagaa 2400
 ccttgttatt tctcagactt tggaaaatgc attgtatcga tgttatgtaa aaggccaaac 2460
 ctctgttcag tgtaaatagt tactccagtg ccaacaatcc tagtgctttc cttttttaa 2520
 aatgcaaatac ctatgtgatt ttaactctgt cttcacctga ttcaactaaa aaaaaaaaaag 2580
 tattattttc caaaagtggc ctctttgtct aaaacaataa aatttttttt catgttttaa 2640
 caaaaaccaa 2650

<210> 9

<211> 3726

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 9

cagcgtgct ccccgggagc tcctccccgg gcgctcctcc ccaggcctcc cgggcgcttg 60
 gatcccggcc atctccgcac ctttcaagtg ggtgtgggtg atttcctggc ggggggagca 120
 gccaggtgag cccaagatgc tgctgcgctc gaagcctgcg ctgccgccgc cgctgatgct 180
 gctgctcctg gggccgctgg gtcccctctc ccctggcgcc ctgccccgac ctgcaagc 240
 acaggacgctc gtggacctgg acttcttcac ccaggagccg ctgcacctgg tgagcccctc 300

ES 2 525 881 T3

gttcctgtcc gtcaccattg acgccaacct ggccacggac ccgcggttcc tcacctcct 360
 gggttctcca aagcttcgta ccttggccag aggcttgtct cctgcgtaacc tgaggtttgg 420
 tggcaccaag acagacttcc taattttcga tcccaagaag gaatcaacct ttgaagagag 480
 aagttactgg caatctcaag tcaaccagga tatttgcaaa tatggatcca tccctcctga 540
 tgtggaggag aagttacggt tggaatggcc ctaccaggag caattgctac tccgagaaca 600
 ctaccagaaa aagttcaaga acagcaccta ctcaagaagc tctgtagatg tgctatacac 660
 ttttgcaaac tgctcaggac tggacttgat ctttggccta aatgcgttat taagaacagc 720
 agatttgtag tggaaacagtt ctaatgctca gttgctcctg gactactgct cttccaaggg 780
 gtataacatt tcttgggaac taggcaatga acctaacagt ttccttaaga aggctgatata 840
 tttcatcaat gggtcgcagt taggagaaga ttttattcaa ttgcataaac ttctaagaaa 900
 gtccaccttc aaaaatgcaa aactctatgg tcctgatggt ggtcagcctc gaagaaaagac 960
 ggctaagatg ctgaagagct tcctgaaggc tgggtggagaa gtgattgatt cagttacatg 1020
 gcatcactac tatttgaatg gacggactgc taccagggaa gatttttctaa accctgatgt 1080
 attggacatt tttatttcat ctgtgcaaaa agttttccag gtggttgaga gcaccaggcc 1140
 tggcaagaag gtctggttag gagaaacaag ctctgcatat ggaggcggag cgcccttgct 1200
 atccgacacc tttgcagctg gctttatgtg gctggataaa ttgggcctgt cagcccgaat 1260
 gggaaataga gtggtgatga ggcaagtatt ctttggagca ggaaactacc atttagtgga 1320
 tgaaaacttc gatcctttac ctgattattg gctatctctt ctgttcaaga aattggtggg 1380
 caccaaggtg ttaatggcaa gcgtgcaagg ttcaaaagaga aggaagcttc gagtatacct 1440
 tcattgcaca aacctgaca atccaaggta taaagaagga gatttaactc tgtatgccat 1500
 aaacctccat aatgtcacca agtacttgcg gttaccctat ctttttctta acaagcaagt 1560
 ggataaatac cttctaagac ctttgggacc tcatggatta ctttccaaat ctgtccaact 1620
 caatggtcta actctaaaga tgggtggatga tcaaaccttg ccacctttaa tggaaaaacc 1680
 tctccggcca ggaagttcac tgggcttgcc agctttctca tatagttttt ttgtgataag 1740
 aaatgcaaaa gttgctgctt gcatctgaaa ataaaatata ctagtcttga cactgaattt 1800
 ttcaagtata ctaagagtaa agcaactcaa gttataggaa aggaagcaga taccttgcaa 1860
 agcaactagt gggtgcttga gagacactgg gacactgtca gtgctagatt tagcacagta 1920
 ttttgatctc gctaggtaga acactgctaa taataatagc taataatacc ttgttccaaa 1980
 tactgcttag cttttgcat gttttacttt tatctaaagt tttgttttgt tttattattt 2040
 atttatttat ttattttgtg acggagagag attccatctc aaaaaaaca gttattaaaa 2100
 atgtatatga atgctcctaa tatggtcagg aagcaaggaa gcgaaggata tattatgagt 2160
 ttaagaagg tgcttagctg tatatttatc tttcaaatg tattagaaga ttttagaatt 2220
 ctttccttca tgtgccatct ctacaggcac ccatcagaaa aagcactacty ccgttaccgt 2280
 gaaactgggt gtaaaagaga aactatctat ttgcacctta aaagacagct agattttgct 2340
 gattttcttc tttcggtttt ctttgtcagc aataatatgt gagaggacag attgttagat 2400

ES 2 525 881 T3

atgatagtat aaaaaatggt taatgacaat tcagaggcga ggagattctg taaacttaaa 2460
 attactataa atgaaattga tttgtcaaga ggataaattt tagaaaacac ccaatacctt 2520
 ataactgtct gttaatgctt gctttttctc tacctttctt ccttgtttca gttggaagc 2580
 ttttgctgc aagtaacaga aactcctaata tcaaatggct taagcaataa ggaaatgtat 2640
 attccacat aactagacgt tcaaacaggc caggctccag cacttcagta cgtcaccagg 2700
 ggatctgggt tcttcccagc tctctgctct gccatcttta gcgctggctt cattctcaga 2760
 ctctggtagc atgatggctg tagctgtttc atgggccctt tcaaacctca tagcaaccag 2820
 aggaagaaaa tgagccattt tttgagtctc cttcatagac ttgaataact ctttttcaga 2880
 gcttctcaca gcaaacctct cctcatgtct cctcatgtct tattgttcag aaatgggtaa 2940
 tgtggccatt tcaccagtca ctgccaacaa caacgagggt cctataattg tctctgagta 3000
 accctttgga atggagaggg tgttggtcag tctacaaact gaacactgca gttctgcgct 3060
 ttttaccagt gaaaaaatgt aattattttc ccctcttaag gattaatatt cttcaaagt 3120
 atgcctgtta tggatatagt atctttaaaa ttttttattt taatagcttt aggggtacac 3180
 actttttgct tacaggggtg aattgtgtag tgggtgaagc tcggctttta atgtacttgt 3240
 cacctgagtg atgtacattg tacccaatag gtaattttc atccattacc ctcttccgc 3300
 cctcttccct tctgagtctc caacatccct tataccactg tgtatgttct tgtgtacct 3360
 cagctaagct tccacttata agtgagaaca tgcagtattt ggttttccat tcctgagtta 3420
 ctcccttag gataacagcc cccagttccg tccaagttgc tgcaaaatac attattcttc 3480
 tttatggctg agtaatagtc catggtacat atataccaca ttttctttat ccacttatca 3540
 gttgatggac acttaggtta attccattca atttcattca atttaagtat atttgaagg 3600
 agctaaagct gaaaattaaa ttttagatct ttcaatactc ttaaatttta tatgtaagt 3660
 gtttttata tttcacattt gaaataaagt aatttttata accttgaaaa aaaaaaaaaa 3720
 aaaaaa 3726

<210> 10

<211> 4912

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 10

attggggctt gctctaagct gcagcaagag aaactgtgtg tgaggggaag aggcctgttt 60
 cgctgtcggg tctctagttc ttgcacgctc tttaagagtc tgactggag gaactcctgc 120
 cattaccagc tcccttcttg cagaaggag ggggaaacat acatttattc atgccagtct 180
 gttgcatgca ggctttttgg cttcctacct tgcaacaaaa taattgcacc aactccttag 240
 tgccgattcc gccacagag agtcctggag ccacagtctt ttttgccttg cattgtagga 300
 gagggactaa gtgctagaga ctatgtcgtc ttcctgagct accgagagcg ctcgtgaact 360
 ggaatcaact gcttcagga aaaagaaaa aaaaaaaaaa agacttgctt gggaggccgc 420
 gagaaacttg cattggaagc ttcagcaacc agcattcgag aaactcctct ctactttagc 480
 acggtctcca gactcagccg agagacagca aactgcagcg cggtgagaga gcgagagaga 540

ES 2 525 881 T3

gggagagaga gactctccag cctgggaact ataactcctc tgcgagaggc ggagaactcc 600
 ttccccaaat cttttgggga cttttctctc tttaccacc tccgcccctg cgaggagtgtg 660
 aggggCCagt tcggccgccg cgcgcgtctt cccgttcggc gtgtgcttgg cccggggaac 720
 cgggagggcc cggcgatcgc gcggcgccg ccgcgagggt gtgagcgcgc gtggcgccc 780
 gccgagccga ggccatggtg cagcaaacca acaatgccga gaacacggaa gcgctgctgg 840
 ccggcgagag ctcggactcg ggcgccggcc tcgagctggg aatcgcctcc tccccacgc 900
 ccggctccac cgctccacg ggcggcaagg ccgacgacc gagctggtgc aagaccccga 960
 gtgggcacat caagcgacc atgaacgcct tcatggtgtg gtcgagatc gagcggcgca 1020
 agatcatgga gcagtcgccc gacatgcaca acgccgagat ctccaagcgg ctgggcaaac 1080
 gctggaagct gctcaaagac agcgacaaga tcccttcat tcgagaggcg gagcggctgc 1140
 gcctcaagca catggctgac taccgact acaagtaccg gccaggaag aaggtgaagt 1200
 ccggcaacgc caactccagc tcctcggccg ccgcctcctc caagccggg gagaaggag 1260
 acaaggtcgg tggcagtggc gggggcgcc atggggcg cggcggcg gggagcagca 1320
 acgccccggg aggaggcggc ggtgcgagt gcggcgcc caactcaaa ccggcgcaga 1380
 aaaagagctg cggctcaaa gtggcgggcg gcgcggcg tggggttagc aaaccgcacg 1440
 ccaagctcat cctggcaggc ggcggcgcg gcggaaagc agcggctgcc gccgccct 1500
 ccttcgccgc cgaacaggcg gggcccgcc cctgctgcc cctgggcgcc gccgccgacc 1560
 accactcgt gtacaaggcg cggactcca gcgcctcggc ctccgcctcc tcggcagcct 1620
 cggctccgc agcgtcgcgc gccccggca agcacctggc ggagaagaag gtgaagcgcg 1680
 tctacctgt cggcgccctg ggcacgtcgt cgtcgccgt gggcgcgctg ggcgcgggag 1740
 ccgacccag cgaccccctg ggctgtacg aggaggagg cgcgggctgc tcgcccagc 1800
 cgcccagcct gagcggccgc agcagcgcg cctcgtcccc cgcccgccgc cgctcgccc 1860
 ccgaccacc cggctacgcc agcctgcgc ccgcctcgc cgccccgtcc agcgcgccct 1920
 cgcacgcgtc ctctcggcc tcgtcccact cctcctctc ctctcctcg ggctcctcgt 1980
 cctccgacga cgagttcga gacgacctgc tcgacctgaa cccagctca aactttgaga 2040
 gcatgtccct gggcagcttc agttcgtcgt cggcgtcga ccgggacctg gattttaact 2100
 tcgagcccgg ctccggctcg cacttcgagt tcccggacta ctgcacgccc gaggtgagcg 2160
 agatgatctc gggagactgg ctcgagtcca gcatctcaa cctggttttc acctactgaa 2220
 gggcgcgag gcagggagaa gggccgggg gggtaggaga ggagaaaaa aaagtgaaa 2280
 aaagaaacga aaaggacaga cgaagagttt aaagagaaaa gggaaaaaag aaagaaaaag 2340
 taagcagggc tggcttcgcc cgcgttctcg tcgtcggatc aaggagcgc gcggcgttt 2400
 ggaccgcgc tccatcccc caccttccc ggcggggac cactctgcc cagccggagg 2460
 gacgcggagg aggaagagg tagacaggcg gcacctgta ttgttattat tgatgtgtt 2520
 gttgatggca aaaaaaaaa agcgacttcg agtttgctc ccttgcttg aagagacccc 2580
 ctccccctc caacgagctt ccggacttgt ctgcacccc agcaagaagg cgagttagtt 2640

ES 2 525 881 T3

ttctagagac ttgaaggagt ctcccccttc ctgcatcacc accttggttt tgttttattt 2700
 tgcttcttgg tcaagaaagg aggggagaac ccagcgcacc cctcccccc tttttttaa 2760
 cgcgatgaga agacagaagg ctccgggggtg acgaatttgg ccgatggcag atgttttggg 2820
 ggaacgccgg gactgagaga ctccacgcag gcgaattccc gtttggggct ttttttccct 2880
 ccctcttttc cccttgcccc ctctgcagcc ggaggaggag atgttgaggg gaggaggcca 2940
 gccagtgtga ccggcgctag gaaatgacct gagaacccc ttggaagcgc agcagcggga 3000
 gctagggggc ggggcggagg aggacacgaa ctggaagggg gttcacggtc aaactgaaat 3060
 ggatttgcac gttggggagc tggcggcggc ggctgctggg cctccgcctt cttttctacg 3120
 tgaatcagtg gaggtgagac ttcccagacc ccggaggcgt ggaggagagg agactgtttg 3180
 atgtgttaca ggggcagtca gtggagggcg agtggtttcg gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3240
 gaaaaaaaaa gaaaaaaaaa agatTTTTTT cttctcttaa tcggaatcgt gatggtgttg 3300
 gattatttca atggtggggg taatatagca tgttatcctg tctatctttt aaagatttct 3360
 gtataagact gttgagcagt ttttaaaata gtgtaggata atataaaaag cagatagatg 3420
 gcgctatggt tgattcctac aacgaaatta tcaccagctt tttttcattc ttaactcttt 3480
 aaaggattca aacgcaactc aaatctgtgc tggactttaa aaaaacaatt caggaccaa 3540
 ttttttctca gtgtgtgtgt ttattcctta taggtgtaa tgagaagacg tgtttttttc 3600
 cttcaccgat gctccatcct cgtatttctt tttccttgta aatgtaatca gatgccattt 3660
 tatatgtgga cgtatttata ctggccaaac atattttttc ttttgtccct ttttttcttt 3720
 cttttctttt tacttctttt atttctttat tccttctttt tccttttttt cttttttttt 3780
 tctttttttt tttttttttt tggtagttgt tgttaccac gccattttac gtctccttca 3840
 ctgaagggct agagttttta cttttaattt tttatattta aatgtagact tttgacactt 3900
 ttaaaaaaca aaaaaagaca agagagatga aaacgttga ttattttctc agtgtatttt 3960
 tgtaaaaaat atataaagg ggtgttaatc ggtgtaaatc gctgtttgga tttcctgatt 4020
 ttataacagg gcggtggtt aatatctcac acagtttaa aatcagccc ctaatttctc 4080
 catgtttaca cttcaatctg caggcttctt aaagtgcag tatcccttaa cctgccacca 4140
 gtgtccacc tccggcccc gtcttgtaaa aaggggagga gaattagcca aacctgtaa 4200
 gcttttaaga aaaacaaagt tttaaacgaa atactgctt gtccagaggc tttaaaactg 4260
 gtgcaattac agcaaaaagg gattctgtag ctttaacttg taaaccacat cttttttgca 4320
 ctttttttat aagcaaaaac gtgccgttta aaccactgga tctatctaaa tgccgatttg 4380
 agttcgcgac actatgtact gcgtttttca ttcttgatt tgactattta atcctttcta 4440
 cttgtcgcta aatataattg ttttagtctt atggcatgat gatagcatat gtgttcaggt 4500
 ttatagctgt tgtgtttaa aattgaaaa agtggaaac atctttgtac atttaagtct 4560
 gtattataat aagcaaaaag attgtgtgta tgatgttta atataacatg acaggcacta 4620
 ggacgtctgc ctttttaagg cagttccgtt aagggttttt gtttttaaac tttttttgca 4680
 catccatcct gtgcaatatg ccgtgtagaa ttttgtctt aaaattcaag gccacaaaa 4740
 caatgtttgg gggaaaaaaa agaaaaaatc atgccagcta atcatgtcaa gttcactgcc 4800
 tgtcagattg ttgatataa ctttctgtaa ataactttt ttgagaagga aataaaatca 4860
 gctggaactg aaccctaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 4912

<210> 11

<211> 4045

5 <212> ADN

ES 2 525 881 T3

<213> Homo sapiens

<400> 11

gcagccagag	ctcagcaggg	ccctggagag	atggccacgg	tcccagcacc	ggggaggact	60
ggagagcgcg	cgctgccacc	gccccatgtc	tcagccaggg	cttccttcct	cggtccacc	120
ctgtggatgt	aatggcggcc	cctgctctgt	cctggcgtct	gccccctctc	atcctcctcc	180
tgcccctggc	tacctcttgg	gcatctgcag	cggtgaatgg	cacttcccag	ttcacatgct	240
tctacaactc	gagagccaac	atctcctgtg	tctggagcca	agatggggct	ctgcaggaca	300
cttcctgcca	agtccatgcc	tggccggaca	gacggcggtg	gaaccaaacc	tgtgagctgc	360
tccccgtgag	tcaagcatcc	tgggcctgca	acctgatcct	cggagcccca	gattctcaga	420
aactgaccac	agttgacatc	gtcaccctga	gggtgctgtg	ccgtgagggg	gtgcatgga	480
gggtgatggc	catccaggac	ttcaagccct	ttgagaacct	tcgcctgatg	gccccatct	540
ccctccaagt	tgtccacgtg	gagaccaca	gatgcaacat	aagctgggaa	atctccaag	600
cctcccacta	ctttgaaaga	cacctggagt	tcgaggcccg	gacgctgtcc	ccaggccaca	660
cctgggagga	ggccccctg	ctgactctca	agcagaagca	ggaatggatc	tgcctggaga	720
cgctcacccc	agacaccag	tatgagtttc	aggtgcgggt	caagcctctg	caaggcgagt	780
tcacgacctg	gagcccctgg	agccagcccc	tggccttcag	gacaaaacct	gcagcccttg	840
ggaaggacac	cattccgtgg	ctcggccacc	tcctcgtggg	cctcagcggg	gcttttggct	900
tcatcatctt	agtgtacttg	ctgatcaact	gcaggaacac	cgggccatgg	ctgaagaagg	960
tcctgaagtg	taacaccca	gaccctcga	agttcttttc	ccagctgagc	tcagagcatg	1020
gaggagacgt	ccagaagtgg	ctctcttcgc	ccttcccctc	atcgtccttc	agccctggcg	1080
gcctggcacc	tgagatctcg	ccactagaag	tgctggagag	ggacaagggtg	acgcagctgc	1140
tcctgcagca	ggacaagggtg	cctgagcccc	catccttaag	cagcaaccac	tcgctgacca	1200
gctgcttcac	caaccaggg	tactttctct	tccacctccc	ggatgccttg	gagatagagg	1260
cctgccaggt	gtactttact	tacgaccctc	actcagagga	agaccctgat	gaggggtgtg	1320
ccggggcacc	cacagggctc	tcccccaac	ccctgcagcc	tctgtcaggg	gaggacgacg	1380
cctactgcac	cttccccctc	agggatgacc	tgctgctctt	ctccccagt	ctcctcggtg	1440
gccccagccc	cccaagcact	gccccctggg	gcagtggggc	cggtgaagag	aggatgcccc	1500
cttctttgca	agaaagagtc	cccagagact	gggaccccca	gccccctggg	cctcccaccc	1560
caggagtccc	agacctggtg	gattttcagc	caccccctga	gctggtgctg	cgagaggctg	1620
gggaggagggt	ccctgacgct	ggccccaggg	agggagtcag	tttcccctgg	tccaggcctc	1680

ES 2 525 881 T3

ctgggCaggg ggagttcagg gcccttaatg ctcgctgcc cctgaacact gatgcctact 1740
tgtccctcca agaactccag ggtcaggacc caactcactt ggtgtagaca gatggccagg 1800
gtgggaggca ggcagctgcc tgctctgcgc cgagcctcag aaggaccctg ttgagggctc 1860
tcagtccact gctgaggaca ctcagtgctc agttgcagct ggacttctcc acccggatgg 1920
ccccaccca gtccctgcaca cttgggccat ccatttccaa acctccactg ctgctcccgg 1980
gtcctgctgc ccgagccagg aactgtgtgt gttgcagggg ggcagtaact ccccaactcc 2040
ctcgttaatc acaggatccc acgaatttag gctcagaagc atcgctcctc tccagccctg 2100
cagctattca ccaatatcag tcctcgcggc tctccagggc tccctgccct gacctcttc 2160
ctgggttttc tgccccagcc tcctccttcc ctccccctcc cgtccacagg gcagcctgag 2220
cgtgctttcc aaaacccaaa tatggccacg ctccccctcg gttcaaaacc ttgcacaggt 2280
cccactgccc tcagccccac ttctcagcct ggtacttgta cctccggtgt cgtgtgggga 2340
catccccctc tgcaatcctc cctaccgtcc tcctgagcca ctcagagctc cctcacacc 2400
cctctgttgc acatgctatt ccctggggct gctgtgcgct cccccctc tc taggtgacaa 2460
acttccctga ctctcaagt gccggttttg cttctcctgg agggaagcac tgctccctt 2520
aatctgccag aaacttctag cgtcagtgct ggaggagaa gctgtcaggg acccagggcg 2580
cctggagaaa gaggccctgt tactattcct ttgggatctc tgaggcctca gagtgcttgg 2640
ctgctgtatc tttaatgctg gggcccaagt aaggccacag atccccccac aaagtggatg 2700
cctgctgcat cttcccacag tggcttcaca gaccacaag agaagctgat ggggagtaaa 2760
ccctggagtc cgaggcccag gcagcagccc cgcctagtgg tgggcccctga tgctgccagg 2820
cctgggacct cccactgccc cctccactgg aggggtctcc tctgcagctc agggactggc 2880
aactggcct ccagaagggc agctccacag ggcagggcct cattatthtt cactgcccc 2940
gacacagtgc ccaacacccc gtcgtatacc ctggatgaac gaattaatta cctggcacca 3000
cctcgtctgg gctccctgcg cctgacattc acacagagag gcagagtccc gtgcccatta 3060
ggctctggcat gccccctct gcaaggggct caaccccc ta ccccgacccc tccacgtatc 3120
tttctaggc agatcacgtt gcaatggctc aaacaacatt ccacccagc aggacagtga 3180
ccccagtccc agctaactct gacctgggag ccctcaggca cctgcactta caggccttgc 3240
tcacagctga ttgggcacct gaccacacgc cccacagggc tctgaccagc agcctatgag 3300
ggggtttggc accaagctct gtccaatcag gtaggctggg cctgaactag ccaatcagat 3360
caactctgtc ttgggcgttt gaactcaggg agggaggccc ttgggagcag gtgcttgtgg 3420
acaaggtccc acaagcgttg agccttgga aggtagacaa gcgttgagcc actaagcaga 3480
ggaccttggg ttcccaatac aaaaatacct actgctgaga gggctgctga ccatttggtc 3540
aggattcctg ttgcctttat atccaaaata aactccccct tcttgagggt gtctgagtct 3600
tgggtctatg cctgaaaaa agctgaatta ttgacagtc tcacctctg ccatagggct 3660
ctgaatgttt cagaccacaa ggggctccac accttctgctg tgtgttctgg ggcaacctac 3720
taatcctctc tgcaagtcgg tctccttctc cccccaaatg gaaattgtat ttgccttctc 3780
cactttggga ggctcccact tcttgggagg gttacattht ttaagtctta atcatttgtg 3840
acatatgtat ctatacatcc gtatctthta atgatccgtg tgtaccatct ttgtgattat 3900
ttccttaata thttttcttt aagtcagttc atthtctgtg aaatacattt atttaaagaa 3960
aaatctttgt tactctgtaa atgaaaaaac ccattttcgc tataaataaa aggtaactgt 4020
acaaaataag tacaatgcaa caaaa 4045

ES 2 525 881 T3

<211> 3033

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 12

gcggggg	gctcggg	gagccgg	gcgccgg	ctggg	cgagcgag	60
cgcggg	gctccg	gagggaca	gacgcacc	tcgccc	gacagacaca	120
cgaccac	gcccacc	ccacgcct	accaccgg	gcccagt	tccccg	180
gcctcct	tatggcaca	actttcct	cgggacgg	cacgctgc	cagggagccc	240
gcgaccg	cttctcct	gccggtccc	tacgctg	aatgggt	cggattgaac	300
aagttaga	aacgtgat	aaaacggc	gggaatatt	attcaact	gaagaggcct	360
caggtgaaa	ccaagatag	tgtgtcct	gaataccg	tcctggag	cacgactctg	420
agtgtgc	agctccct	gtcctcag	gtgaggct	cctccctg	tgacctgccc	480
gcccagct	tggagctg	ccagcaggg	ttctcgtg	cgcccctg	ccccttcgtg	540
cagcccacc	atgagcggg	gaagacgcc	ctggagcaca	tctttagag	catcctgatc	600
aagaaaacc	acagatctc	gaaaactg	cttcacaat	aaggctac	cttggaaatta	660
gattgctg	cctccttag	ccacccg	gaccagaa	tcatcccag	gttcattaag	720
aagatccag	aggctgca	ccagggcct	aaattcgt	gtgttata	tcagtaccat	780
tcctctg	actcggc	cagcagtg	ccggtgtc	ctgccaac	caccgaggat	840
gccagagat	caaaaaac	acgtgggg	cacgcgtc	tggagaat	gaaaccggg	900
actggggat	tgtgcagt	tccggctg	agaaaccaa	gcccagag	cagctcaggc	960
cccagaggg	aggtgccc	cgccaagc	cccagctc	cctccggag	gggagatggt	1020
ggagaact	caccacagg	ggtgagca	acactggat	gaccggag	caacccttg	1080
gagggtcat	aagagccac	ctcagggaa	atggagat	tcacccttt	caacaaacc	1140
aagagccat	agaagtgcc	gcaatact	cctgtcac	ttcctctca	tgtctccaag	1200
aatggccag	cagtgcagg	tttggacgc	aactggtag	agcacatg	cgaccacttc	1260
cggaaagg	gcatgctg	gaacgcagt	ttctacct	gaatagtga	tgattcctta	1320
catggctg	cagatggag	attcatctt	gaagctgtt	ccacagaag	tagcaaaacc	1380
atacaggg	atgatgct	tgtggttga	caatggac	tcctggaag	tgtcgaagtg	1440
cagacagac	acgtgccc	gctgaact	ctggcggc	atggctgg	gctcacctgt	1500
gtgctacca	ctcccgtc	caagactac	agcgaggg	gtgtatcc	caagcagatt	1560
5 gtctttctt	agagacct	tctacctc	aaaatcaag	agaaggaat	gaagtttcag	1620

ES 2 525 881 T3

tggcgattct ccagagaaga aatgcacaac aggcagatga ggaaatcaaa aggtaaactc 1680
 agtgccagag acaaacaaca agcagaagaa aatgagaaga acttagaaga ccagtcttcc 1740
 aaagctggag acatgggaaa ctgtgtttca ggacagcagc aggagggtgg agtctccgag 1800
 gagatgaagg gccctgtcca agaggacaag ggagaacagc tgtcccctgg tggcctgctg 1860
 tgtgggggtg gtgtggaggg tgaggctgtg cagaatggtc ctgccagcca cagcagggcc 1920
 ctggtgggga tttgacttg gcactccaat cctggagagg atgccagga cggggatgct 1980
 gaggaagtca gagagcttgg tacggttgaa gaaaactgag tcttgggcaa tttgtgctaa 2040
 aactagtgga gttgccaaac ccaaggcatc ttaccaacag ctggtttggg ggctggtttc 2100
 cctggtgttg tgtgttacct accctttggc ttggcttgac ctctccttgt gagctcacct 2160
 gagccctccc agggccagg tcttgacagt gttggtttt gcacatccac tggaaagggtg 2220
 tcattaatga cccagtgtta gaatgcaaga ggtcaggtta ttctagccct catggctgaa 2280
 ggcccagtcc tggctccacc actcctccag ccagagggtc tggaccatcc agtgcctgtc 2340
 ctcgccacag ggcctccagg gagcattcgg gtcaaatcca tggacaccct gggctacaaa 2400
 ccaaggctgc tgttcatccc acatcgtgtg gggcagtgct catcccctgc agctacttgg 2460
 tgacttaaca actccaggag ccctgtcagc tgccctcctc cacctaaacc ccttcgactc 2520
 ttctgctttg acaaagaaaa tgacattggg gaggggaggt gctccgcctc ccagcttttc 2580
 tcaaatagt cctatagata ctggtaatct ggaaatgaag aagtaattct gtctctgcac 2640
 ctacttttgc agaatgttca aggaagtatt ctgtgttagt attaatgcca aaaagttggt 2700
 tttaaagggt ttgtactcag cacatcatac aaaccacatt acttctgtca cttcagggca 2760
 tcgggactgg ctggcgcctt tgttatgtgc tattttaatc agtgtaacat tggcaagtt 2820
 gttaccatg tatgtgtgtt ttatcatgtg tatatcgtcc agaaagtatt aaggctttag 2880
 gtagatgcaa ctggcgaacc ttggagaggg aatgctgatt gtcttgacca aaccacagc 2940
 ctgtctcttc tcttgtttag ttacttacgg caataaatca tctatgagtt agtgcaccgt 3000
 gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 3033

<210> 13

<211> 3146

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 13

gccgcaaccc gtcccggagg tgtcctgtct cctgtcgcgg ccgcccgcgc caccaccgct 60
 gccactgccg ccctgccggg gccatgttcg ctctgggctt gcccttcttg gtgctcttgg 120
 tggcctcggg cgagagccat ctgggggttc tggggcccaa gaacgtctcg cagaaagacg 180
 ccgagtttga gcgcacctac gtggacgagg tcaacagcga gctggtcaac atctacacct 240
 tcaaccatac tgtgacccgc aacaggacag agggcgtgcg tgtgtctgtg aacgtcctga 300
 acaagcagaa gggggcgcgg ttgctgtttg tggccgcca gaaggaggct gtggtgtcct 360
 tccaggtgcc cctaactctg cgagggatgt ttcagcga gtagcctctac caaaaagtgg 420

ES 2 525 881 T3

aacgaaccct gtgtcagccc cccaccaaga atgagtcgga gattcagttc ttctacgtgg 480
 atgtgtccac cctgtcacca gtcaacacca cataccagct ccgggtcagc cgcattggacg 540
 attttgtgct caggactggg gagcagttca gcttcaatac cacagcagca cagccccagt 600
 acttcaagta tgagttccct gaaggcgtgg actcggtaat tgtcaaggtg acctccaaca 660
 aggccttccc ctgctcagtc atctccattc aggatgtgct gtgtcctgtc tatgacctgg 720
 acaacaacgt agccttcacg ggcattgtacc agacgatgac caagaaggcg gccatcaccg 780
 tacagcgaag agacttcccc agcaacagct tttatgtggt ggtggtggtg aagaccgaag 840
 accaagcctg cgggggctcc ctgcctttct accccttcgc agaagatgaa ccggctcagc 900
 aagggcaccg ccgaaaaacc ctgtcagtcg tgggtgtctca agcagtcacg tctgaggcat 960
 acgtcagtggt gatgctcttt tgcctgggta tatttctctc cttttacctg ctgacctgcc 1020
 tcctggcctg ctgggagaac tggaggcaga agaagaagac cctgctggtg gccattgacc 1080
 gagcctgccc agaaagcggg caccctcgag tcctggctga ttcttttctt ggcatgtccc 1140
 cttatgaggg ttacaactat ggctcctttg agaatgtttc tggatctacc gatggtctgg 1200
 ttgacagcgc tggcactggg gacctctctt acggttacca ggggcacgac cagttcaagc 1260
 ggcgcctccc ctctggccag atgcggcagc tgtgcattgc catgggcccgc tcctttgaac 1320
 ctgtaggtac tcggccccga gtggactcca tgagctctgt ggaggaggat gactacgaca 1380
 cattgaccga catcgattcc gacaagaatg tcattcgac caagcaatac ctctatgtgg 1440
 ctgacctggc acggaaggac aagcgtgttc tgcggaaaaa gtaccagatc tacttctgga 1500
 acattgccac cattgctgtc ttctatgccc ttctgtggt gcagctggtg atcacctacc 1560
 agacggtggt gaatgtcaca gggaatcagg acatctgcta ctacaacttc ctctgcgccc 1620
 acccactggg caatctcagc gccttcaaca acatcctcag caacctgggg tacatcctgc 1680
 tggggctgct tttcctgctc atcatcctgc aacgggagat caaccacaac cgggcccctgc 1740
 tgcgcaatga cctctgtgcc ctggaatgtg ggatcccaa acactttggg cttttctacg 1800
 ccatgggcac agccctgatg atggaggggc tgctcagtc ttgctatcat gtgtgcccc 1860
 actataccaa tttccagttt gacacatcgt tcattgtacat gatcgccgga ctctgcatgc 1920
 tgaagctcta ccagaagcgg caccgggaca tcaacgccag cgcctacagt gcctacgccc 1980
 gcctggccat tgtcatcttc ttctctgtgc tgggcgtggt ctttggcaa gggaacacgg 2040
 cgttctggat cgtcttctcc atcattcaca tcattgccac cctgctcctc agcacgcagc 2100
 tctattacat gggccggtgg aaactggact cggggatctt ccgccgcatc ctccacgtgc 2160
 tctacacaga ctgcatccgg cagtcagcgc ggccgctcta cgtggaccgc atggtgctgc 2220
 tggctcatgg caacgtcacc aactggctgc tggctgcta tgggcttacc atgcgcccc 2280
 atgatttcgc ttctacttg ttggccattg gcatctgcaa cctgctcctt tacttgcct 2340
 tctacatcat catgaagtc cggagtgagg agaggatcaa gctcatcccc ctgctctgca 2400
 tcggttgac ctccgtggtc tggggcttcg cgctcttctt cttcttccag ggactcagca 2460
 cctggcagaa aaccctgca gagtcgaggg agcacaaccg ggactgcatc ctctcagact 2520

ES 2 525 881 T3

tctttgacga ccacgacatc tggcacttcc tctcctccat cgccatgttc gggtccttcc 2580
 tggtaagcgg gcctcccggc gcagcgttga ggataacgtg aaaggtagca gctgcctcct 2640
 tctctgtgag ctgatctggc gtccacaccc caggtgttag ctgacactgg atgacgacct 2700
 ggatacttag aaaggggctt caggaagga tgtgctgttt ccctctacgt gccagtcct 2760
 agcctcgctc taggaccag ggctggcttc taagtttccg tccagtcttc aggcaagttc 2820
 tgtgttagtc atgcacacac atacctatga aaccttgaag tttacaaaga attgccccag 2880
 ctctgggcac cctggccacc ctggctcttg gatccccctc gtcccacctg gtccacccca 2940
 gatgctgagg atgggggagc tcaggcgggg cctctgcttt ggggatggga atgtgttttt 3000
 ctccaaact tgtttttata gctctgcttg aagggtctgg agatgaggtg ggtctggatc 3060
 ttttctcaga gcgtctccat gctatggttg catttccgtt ttctatgaat gaatttgcac 3120
 acaataacca accagactca gtaaaa 3146

<210> 14

<211> 1558

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 14

cggaggagag cgaggagga aacagtaccg gctggaggcc ggtcttgacg gagcggggga 60
 ctgctggggg cggggcttgg tggtgaccgc tggcggggcg gggcctgggg ctcagagggg 120
 tgggctttgg agatcagagg gtcgacgctg cttcgttgcc tggactctgg tttccgcct 180
 ggagcaagcc ggggcctggt cggcagctgg gccgccatgg agtccacgct gggcgcgggc 240
 atcgtgatag ccgaggcgct acagaaccag ctagcctggc tggagaacgt gtggctctgg 300
 atcaccttc tggcgatcc caagatcctc tttctgttct acttccccgc ggcctactac 360
 gcctcccgcc gtgtgggcat cgcggtgctc tggatcagcc tcatcaccga gtggctcaac 420
 ctcatcttca agtggtttct ttttggagac aggccctttt ggtgggtcca tgagtctggt 480
 tactacagcc aggtccagc ccaggttcac cagttcccct cttcttgta gactggtcca 540
 ggcagccctt ctggacactg catgatcaca ggagcagccc tctggcccat aatgacggcc 600
 ctgtcttcgc aggtggccac tcgggcccgc agccgctggg taagggtgat gcctagcctg 660
 gcttattgca ccttcctttt ggcggttggc ttgtcgcgaa tcttcatctt agcacatttc 720
 cctcaccagg tgctggctgg cctaataact ggcgctgtcc tgggctggct gatgactccc 780
 cgagtgccta tggagcggga gctaagcttc tatgggttga ctgactggc cctcatgcta 840
 ggcaccagcc tcatctattg gaccctcttt acactgggcc tggatctttc ttggtccatc 900
 agcctagcct tcaagtgggt tgagcggcct gagtgatac acgtggatag ccggcccttt 960
 gcctccctga gccgtgactc aggggctgcc ctgggcctgg gcattgcctt gactctccc 1020
 tgctatgcc aggtgcgtcg ggcacagctg ggaaatggcc agaagatagc ctgccttgtg 1080
 ctggccatgg ggctgctggg cccctggac tggctgggcc acccccctca gatcagcctc 1140
 ttctacattt tcaatttctt caagtacacc ctctggccat gcctagtcct ggccctcgtg 1200
 ccctgggcag tgcacatggt cagtgccag gaagcaccgc ccatccactc ttcctgactt 1260

ES 2 525 881 T3

cttgtgtgcc tccctttcct ttccctccca caaagccaac actctgtgac caccacactc 1320
 caggaggcag ccccatcccc ttccagcccc taagtaggcc ctccccctcc taaatctgct 1380
 tccgcaccac ctggtcttag ccccaaagat gggccttctc tctcccagat aagtgggtcc 1440
 tccctctgcc tttcctctca agccccaaa gagcaaaggc aacagcaaga ccagcgggtt 1500
 cttgcaacac tgtgaggggc agccaggggc gccccaataa agcccttgaa tactttga 1558

<210> 15

<211> 5388

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 15

gcaacagcgg cggcggccgc ggcggctggc cggactcagg tgtttcggac gctattgccc 60
 ttcgcgccag ccgtcgagtg ggcagcagcg ggactcagcc gggcgccagg ttctgccag 120
 gcagcggcgg gaagcggggg cggccgagaa ctcttctctg ctacttcgcc cagcggcgt 180
 gcttcggctt cccagcgaag tgggagacct tcctccctgt ttgcagacgt ccgtgggaga 240
 cccttatttt ttccaccgct aagggttaaga gattctggaa tagaagcgtc gaaggagatc 300
 aagtgaacct tctacaactc ctccgatgtc gccagctctc ctttcggggc ggaagactac 360
 gtttgagcat ctactgagg tgcaggaatg gaagaacca ccttgacgtc tttctgcagt 420
 gtggcttgcc tgatctaccc ctaggaatga agaggaggct tgtaataatc cgatgaagta 480
 cagatgttga agaggatata gcaggaccta aacttgtgat cgtttggggg aggtcacaca 540
 cgtttctgag tgggaatgga tgggcgtgaa tgacgtgccc tcttaaaaag cacaacagtc 600
 cttaagagg agcaaaattg agttttccca ttttgccaa gattttgaag acagttcaat 660
 gtattctaca tttgacataa gatgagaact ttctaaagta ttctctcaa gagcgtaaac 720
 gatgactacc ccagccctgc tggccctctc tggacgtagg ataccacctc tgaacctggg 780
 gccgccttc tccccacatc acagggttac cttgagactt tctgagaagt ttattcttct 840
 ccttattctt agtgccttca tcaactctgtg ttttggggca ttcttttcc ttccagactc 900
 ttcaaacac aaacgctttg atttgggttt agaagatgtg ttaattccac atgtagatgc 960
 cggtaaagg gctaaaaacc ccggagtctt cctgatccat ggaccgatg aacatagaca 1020
 cagggagag gaagaacgtc tgagaaataa aattcgagct gatcatgaga aggccttggg 1080
 agaagcaaaa gaaaaattaa gaaagtcaag agaggaaatt cgagcagaaa ttcagacaga 1140
 gaaaaataag gtagtccaag aatgaagat aaaagagaac aagccactgc caccagtccc 1200
 tattccaac cttgtaggaa tacgtggtgg agaccagaa gataatgaca taagagagaa 1260
 aagggaaaaa attaaagaga tgatgaaaca tgcttgggat aactatagga catatgggtg 1320
 gggacataat gaactcagac ctattgcaag gaaaggacac tcccctaaca tatttgggag 1380
 ttcacaaatg ggtgctacca tagtagatgc tttggatacc ctttatatca tgggacttca 1440
 tgatgaattc ctagatgggc aaagatggat tgaagacaac cttgatttca gtgtgaattc 1500
 agaggtgtct gtgtttgaag tcaacattcg atttattgga ggcctacttg cagcatatta 1560

ES 2 525 881 T3

cctatcagga gaggagatat tcaagattaa agcagtgcaa ttggctgaga aactccttcc 1620
tgcctttaac acacctactg ggattccttg ggcaatggtg aatttgaaaa gtggagtagg 1680
gcgaaactgg ggctgggcat ctgcaggtag cagcattctg gctgaatttg gtacactaca 1740
tatggagttc atccacctca gctacttgac aggggacctg acttactaca aaaaggttat 1800
gcacattcgg aaactacttc agaaaatgga tcgtccaaat ggtctttatc caaattattt 1860
gaaccccaga acagggcgct ggggtcagta tcatacatct gtcggtggcc tgggagacag 1920
tttttatgaa tacttactga aagcatggtt gatgtcagat aaaacagacc atgaggcaag 1980
aaagatgtat gatgatgcta ttgaggctat agaaaaacat cttattaaga agtctcgtgg 2040
aggctctacc ttatttgag aatggaagaa tgggcacttg gaaaaaaga tggggcattt 2100
ggcctgcttt gctgggggaa tgtttgact aggagcagat ggtccagag cagataaagc 2160
tggtcattat ttgagactag gggcagaaat tgcacgtact tgtcatgagt catatgacag 2220
aactgcatta aagctaggtc ctgaatcatt caagttgat ggtgcagtgg aggctgtggc 2280
tgtccggcag gctgaaaagt attatatcct ccgtccagaa gtaattgaaa cctattggta 2340
cctatggcga ttcactcac atccaagata caggcagtgg ggctgggaag cagcactggc 2400
cattgaaaag tattgccgag ttaatggtgg gttttctgga gtcaaagatg tatattcctc 2460
tactcctaca catgatgatg tacagcagag ctttttctt gctgaaacat taaaatattt 2520
gtatctgctg ttctccggtg atgacctttt accttagac cactgggtgt ttaatacaga 2580
ggctaccct ctgctgtgt tacatttagc caacaccaca ctttcaggta atcctgctgt 2640
tcgatgaaag cagttccaga aggaccattc tcacctgtgt ttgtttaca tggaccacta 2700
cagaaattag ttgaaaggg cggcttttga aaacctggac ctctatgtca acatgacagg 2760
gtgaaactat tccccctaag actgttcaac ttgtagatac atcaactttg aaattattcc 2820
atttataacc tgacaaaac atgttctgat atgtgtagga cagagacctg gatgtgcttt 2880
gatcgttaat gaggtggtca catgagaaat gatactgtt actactgtat gttttttaga 2940
gtcctgaagt ctggaggcta gacttctga aagcaagtca agaatataga gcacctgca 3000
ggagtcaag atggcctttg gaaccaatta tgtatttgtt tcctcctaca gtggagcagc 3060
attcaaatca aatatttaca tattgcttat cacttttct ccattttaat aatggaatga 3120
actaaaataa acaagaacaa aagaatagta taattatc agtaacaaga agactcaaaa 3180
aagaaacagg agtacctatc cctatctgaa ttttcaagtt cccattgga tgaccagact 3240
ggcaaccatt tcaaatccca gtctatttca ttgaaattc ttggttaagt ttaatttct 3300
ctgggggcat gatctcaca agaatactca agtcttttc ttcttatgga atcatcgaaa 3360
ctgctattta tcataatcac cacttatgag cctgggtttg ggattttgtg catgtagttc 3420
agtctagtgt tggtagcatg acagaaagtg gggaaaatgc cgcagtttgt tgccttgaaa 3480
cctaagagca atccttggtt ttgttgctac attattttc cagaccaaca catctaccaa 3540
gtaaatttta ttcactttaa tttcataata aagttagtag agtcaactca cttacaactt 3600
tatttatgtg gcttgcaaa aatcactata aggcagctct aaatttgcct tgataagcta 3660

ES 2 525 881 T3

aataaattac ttttataact tactaaagca gaacaaacag tgaaactttc taaaatattc 3720
 tatctggaat agggacaggg gatcttttat ttataatctc atcagatgag tgagttgttc 3780
 acagatattt tatgtttttt taattttctc caagaatatt tatagaattc caaagaatca 3840
 gaatagtttc aaaataattt tcagtgataa aagagtgttg taattaatca tattacacta 3900
 aaattgggat acatctaagg aactttatct tactatcagt aggttttgca ttgatatttc 3960
 tttttaaata aactactagt tctttatatt ttgacaaaaa gaacttaaat tttatcagga 4020
 actgtaagat aaatatctag tgcttataaa ttttctgtcc ttaaatttat gtgacagtg 4080
 aagatacttt tgctcttttc atttaatata ggcaccttcc attgacatta ataaaactta 4140
 gaaacagtat aattagtata acatttactc tgaatttgaa gatttcctga aacaaagttt 4200
 gtacaagaag cccaccttgg aattctgaag gcttattttc ttgtttgata agcttttctt 4260
 ttaaacttag gttttaagtt ggggaaagac ttaattaact aatatagtat tttctaaggt 4320
 tgatcatctt ataccacgaa tcgttaattt tgacagttct actgatccgt aaatgataac 4380
 cactgcaaat tttttcagta taaaattttt cactgcaaaa aaatttcagt agaaaataag 4440
 gatgcagggc cagttacaat agtccttaag agagttaaat tatagcacat gttttgacat 4500
 tgtaatatct tttactactt gaacatttaa atttctaaat gagaaaggta tatatattac 4560
 tgtaactgta gaagggaaaa gggaaagtat ttggttctaa aaaatgtag ccttcctcgt 4620
 aaaagtagca caagcccact tatgaatcac tgagaaaaag tgaaaaactt gagttggcaa 4680
 agatgcagag cagcagtgca gatggcaatg aactctctga attctctttt accttattta 4740
 gaagaatgca gagtaaaggg accttcttgg ttctgcagga acttctcaag ggatgaggag 4800
 acagaacccc tacttccaag tgctctatct gtattacca gatgactgaa gcttaagaga 4860
 aggcagggaa gtatacaagc agagccagtt ctggtacaaa caaagaattt gacagggaca 4920
 atggaagggg cttcttcacc actccttacc ttctatgtga tggaaagact agagcttata 4980
 aaagtacttc cattttttta ttctcctgaa taccaaaggc aattaaagtc agctacaaat 5040
 gacttgccag tgtcatgttt tatttttggt atagattttt aaattatttc cttcaagatc 5100
 aattcttata ccatataatg cttagcttcc aagaatattc tttactttct tctgtctttt 5160
 acagctcttt gcattttgta gaccttaata ctcaggttaa atattcattg catttataag 5220
 atcttctgca aaaagcccag aaatggctct tttcaggtgc ctcttcaaag agctgacacc 5280
 ttaccttggt cctttggcac aaatgtgcag aatagataca tcagttgggt cataatcgaa 5340
 aaaaatagga attttgaaca ctgttcttcc ttctacattt atttctct 5388

<210> 16

<211> 2678

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 16

atgcgacccg accgcgctga ggctccagga ccgcccgcca tggctgcagg aggtcccggc 60
 gcggggctctg cggccccggt ctctccaca tcctcccttc ccctggctgc tctcaacatg 120
 cgagtgccggc gccgcctgtc tctgttcttg aacgtgcgga cacaggtggc ggccgactgg 180

ES 2 525 881 T3

accgcgctgg cggaggagat ggactttgag tacttggaga tccggcaact ggagacacaa 240
 ggggacccca ctggcaggct gctggacgcc tggcagggac gccctggcgc ctctgtaggc 300
 cgactgctcg agctgcttac caagctgggc cgcgacgacg tgctgctgga gctgggaccc 360
 agcattgagg aggattgcca aaagtatatc ttgaagcagc agcaggagga ggctgagaag 420
 cctttacagg tggccgctgt agacagcagt gtcccacgga cagcagagct ggcgggcatc 480
 accacacttg atgaccccct ggggcatatg cctgagcgtt tcgatgcctt catctgctat 540
 tgccccagcg acatccagtt tgtgcaggag atgatccggc aactggaaca gacaaactat 600
 cgactgaagt tgtgtgtgtc tgaccgcgat gtcctgcctg gcacctgtgt ctggtctatt 660
 gctagtgagc tcatcgaaaa gaggtgccgc cggatgggtg tggttgtctc tgatgattac 720
 ctgcagagca aggaatgtga cttccagacc aaatttgac tcagcctctc tccaggtgcc 780
 catcagaagc gactgatccc catcaagtac aaggcaatga agaaagagtt cccagcatc 840
 ctgaggttca tcaactgtct cgactacacc aaccctgca ccaaactctg gttctggact 900
 cgccttgcca aggccttgct cctgccctga agactgttct gaggccttg gtgtgtgtgt 960
 atctgtctgc ctgtccatgt acttctgccc tgcctcctcc tttcgttgta ggaggaatct 1020
 gtgctctact tacctctcaa ttcctggaga tgccaacttc acagacacgt ctgcagcagc 1080
 tggacatcac atttcatgtc ctgcatggaa ccagtggctg tgagtggcat gtccacttgc 1140
 tggattatca gccaggacac tatagaacag gaccagctga gactaagaag gaccagcaga 1200
 gccagctcag ctctgagcca ttcacacatc ttcaccctca gtttcctcac ttgaggagtg 1260
 ggatggggag aacagagagt agctgtgttt gaatccctgt aggaaatggt gaagcatagc 1320
 tctgggtctc ctgggggaga ccaggccttg ctgcgggaga gctggctgtt gctggactac 1380
 atgctggcca ctgctgtgac cacgacactg ctggggcagc ttcttcaca gtgatgccta 1440
 ctgatgcttc agtgccctct cacaccgcc attccacttc ctcttccc acagggcagg 1500
 tggggaagca gtttggccca gcccaaggag accccatctt gagccttatt tcctaaggg 1560
 tccacctctc atctgcatct ttcacacctc ccagcttctg cccaaccttc agcagtgaca 1620
 agtccccaag agactcgcct gagcagcttg ggctgctttt catttccacc tgtcaggatg 1680
 cctgtggta tgctctcagc tccacctggc atgagaaggg atcctggcct ctggcatatt 1740
 catcaagtat gatttctggg gatgagtcac tgtaatgatg tgagcagggg gccttctctc 1800
 ctgggcccacc tgcagagagc tttcccacca actttgtacc ttgattgcct taaaaagtta 1860
 tttgtttaca aacagcgacc atataaaagc ctctgcccc aaagcttgtg ggcacatggg 1920
 cacatacaga ctacataca gacacacaca tatatgtaca gacatgtact ctcacacaca 1980
 caggcaccag catacacagc tttttctagg tacagctccc aggaacagct aggtgggaaa 2040
 gtcccatcac tgaggagacc taacctgtc cctgaacaaa aattgggcac tcatctattc 2100
 cttttctctt gtgtccctac tcattgaaac caactctgg aaaggacca atgtaccagt 2160
 atttatacct ctaatgaagc acagagagag gaagagagct gcttaaactc acacaacaat 2220
 gaactgcaga cacagctgtt ctctccctct ctcttccca gagcaattta tactttacc 2280

ES 2 525 881 T3

tcaggctgtc ctctggggag aagggtccat ggtccttagt gtctgtgccc caggacagac 2340
 cctaggacc ctaaatacaat agaaaatgca tatccttgct ccactttcag ccaggctgga 2400
 gcaaggtagc ttttcttagg atcctgggag ggaatggatg cccctctctg catgatcttg 2460
 ttgaggcatt tagctgcat gcacctgtcc ccctttaata ctgggcattt taaagccatc 2520
 tcaagaggca tctctacat gttttgtacg cattaataata atttcaaaga tatctgagaa 2580
 aagccgatat ttgccattct tcctatatcc tggaatata cttgcatcct gagtttataa 2640
 taataataa tattctacct tggaaaaaaa aaaaaaaa 2678

<210> 17

<211> 950

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 17

gggaccttaa ttctctttcc catcttgcaa gatggcgggt gaaaaagttg agaagccaga 60
 tactaaagag aagaaacccg aagccaagaa ggttgatgct ggtggcaagg tgaaaaagg 120
 taacctcaaa gctaaaaagc ccaagaaggg gaagcccatc tgcagccgca accctgtcct 180
 tgtcagagga attggcaggt attcccgatc tgccatgtat tccagaaagg ccatgtacaa 240
 gaggaagtac tcagccgcta aatccaaggt tgaaaagaaa aagaaggaga aggttctcgc 300
 aactgttaca aaaccagttg gtggtgacaa gaacggcgggt acccgggtgg ttaaacttcg 360
 caaatgcct agatattatc ctactgaaga tgtgcctcga aagctgttga gccacggcaa 420
 aaaacccctc agtcagcacg tgagaaaact gcgagccagc attacccccg ggaccattct 480
 gatcatcctc actggacgcc acaggggcaa gaggggtggt ttcctgaagc agctggctag 540
 tggcttatta cttgtgactg gacctctggt cctcaatcga gttcctctac gaagaacaca 600
 ccagaaattt gtcattgcca cttcaaccaa aatcgatc agcaatgtaa aatcccaaaa 660
 acatcttact gatgcttact tcaagaagaa gaagctgcgg aagcccagac accaggaagg 720
 tgagatcttc gacacagaaa aagagaaata tgagattacg gagcagcgca agattgatca 780
 gaaagctgtg gactcacaaa ttttaccaaa aatcaaagct attcctcagc tccagggcta 840
 cctgcgatct gtgtttgctc tgacgaatgg aatttatcct cacaattgg tgttctaaat 900
 gtcttaagaa cctaattaaa tagctgacta caaaaaaaaa aaaaaaaaaa 950

<210> 18

<211> 700

10 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 18

gcggcgtgag aagccatgag cagcaaagtc tctcgcgaca ccctgtacga ggcgggtgcgg 60
 gaagtctctc acgggaacca gcgcaagcgc cgcaagttcc tggagacggg ggagttgcag 120
 atcagcttga agaactatga tccccagaag gacaagcgtc tctcgggcac cgtcaggctt 180
 aagtccactc cccgccctaa gttctctgtg tgtgtcctgg gggaccagca gactgtgac 240
 gaggctaagg ccgtggatat cccccacatg gacatcgagg cgctgaaaaa actcaacaag 300

ES 2 525 881 T3

aataaaaaac tggcaagaa gctggccaag aagtatgatg cgtttttggc ctcagagtct 360
 ctgatcaagc agattccacg aatcctcggc ccagggtttaa ataaggcagg aaagttccct 420
 tccctgctca cacacaacga aaacatgggt gccaaagtgg atgaggtgaa gtccacaatc 480
 aagttccaaa tgaagaaggt gttatgtctg gctgtagctg ttggtcacgt gaagatgaca 540
 gacgatgagc ttgtgtataa cattcacctg gctgtcaact tcttgggtgc attgctcaag 600
 aaaaactggc agaatgtccg ggccttatat atcaagagca ccatgggcaa gccccagcgc 660
 ctatattaag gcacatttga ataaattcta ttaccagttc 700

<210> 19

<211> 1125

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 19

cccccatgtg acagtgacgg ggtccccgct ccaggagacg ctcgagtctg cgtccccggc 60
 ctcagactg tccactgttt cggtgccagc agagaccagc aggcccggga cagttggtgt 120
 ttggccgtgc cgctgtctaa cttggtgtgc agagtgaatt gccgctgccg gagcggagag 180
 aggcggagcg gccaggagag aggggatttc tgtcagcgcc ggcctcggga gctcggagac 240
 atgaacggct tcacgcctga cgagatgagc cgcgccgggg atgcggccgc cgcagtggcc 300
 gcagtggctg ctgcccgccg cgccgcccgc tcggcgggga acgggaccgg cgcgggcacc 360
 ggggctgagg tgccgggcgc gggggcggtc tcagcggctg ggccccggg ggcggccggg 420
 ccgggccccg ggcaactgtg ctgcctgcgg gaggatggtg agcgtgtcgg ccgggcccga 480
 ggcaacgcca gcttcagcaa gaggatccag aagagcatct cccagaagaa ggtgaagatc 540
 gagctggata agagcgcaag gcatctttac atatgtgatt atcataaaaa ctttaattcag 600
 agtgttcgaa acagaagaaa gagaaaaggg agtgatgatg atggaggatga ttcacctgtt 660
 caagatattg ataccccaga ggttgattta taccaattac aagtaaatac acttaggaga 720
 tacaaaagac acttcaagct accaaccaga ccaggactta ataaagcaca acttgttgag 780
 atagttggtt gccactttag gtctattcca gtgaatgaaa aagacacctt aacatatttc 840
 atctactcag tgaagaatga caagaacaaa tcagatctca aggttgatag tgggtttcac 900
 taggagacgt ggaattgaga ctaataactt ggatgttaac actgtttact gttttttcac 960
 atgtagaaat gttctttgtg tattttttct acagaggatt ttctctgatt ttattttctt 1020
 tgtttctgac tctaataatt agttggaaac tcatataaaa tgagctttcc taaattaaat 1080
 ctattttaaa taaagttat tactatataa aaaaaaaaaa aaaaa 1125

<210> 20

<211> 3608

10 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 20

gcggccgctt cccccggcc gggccccgc cgccccgcgg tccccagagc gccaggcccc 60
 cggggggagg gagggagggc gccgggcccg tgggagccag cggcgcgcgg tgggaccac 120

ES 2 525 881 T3

ggagccccgc gacccgccga gcctggagcc gggccgggtc ggggaagccg gctccagccc 180
 ggagcgaact tcgcagcccc tcggggggcg gcggggaggg ggccccgagc cggaggaggg 240
 ggcggcccg cgacccccg cctgtgcccc ggcgtccccg ggcacatgc tgtccaactc 300
 ccagggccag agcccgccg tgccgttccc cgccccggcc ccgcccgcgc agccccccac 360
 ccctgccctg ccgcaccccc cggcgcagcc gcccccgcgc cccccgcagc agttccccga 420
 gttccacgtc aagtccggcc tgcagatcaa gaagaacgcc atcatcgatg actacaaggt 480
 caccagccag gtccctggggc tgggcatcaa cggcaaagtt ttgcagatct tcaacaagag 540
 gacccaggag aaattcgccc tcaaaatgct tcaggactgc cccaaggccc gcaggggagt 600
 ggagctgcac tggcgggctt cccagtgcgc gcacatcgta cggatcgtgg atgtgtacga 660
 gaatctgtac gcagggagga agtgcctgct gattgtcatg gaatgtttgg acggtggaga 720
 actctttagc cgaatccagg atcgaggaga ccaggcattc acagaaagag aagcatccga 780
 aatcatgaag agcatcgggt aggccatcca gtatctgcat tcaatcaaca ttgccatcg 840
 ggatgtcaag cctgagaatc tcttatacac ctccaaaagg cccaacgcca tcctgaaact 900
 cactgacttt ggctttgcc aaggaaaccac cagccacaac tctttgacca ctcttgta 960
 tacaccgtac tatgtggctc cagaagtgct gggccagag aagtatgaca agtcctgtga 1020
 catgtggtcc ctgggtgtca tcatgtacat cctgctgtgt gggtatcccc ccttctactc 1080
 caaccacggc ctgcccattc ctccgggcat gaagactcgc atccgaatgg gccagtatga 1140
 atttccaac ccagaatggt cagaagtatc agaggaagtg aagatgctca ttcggaatct 1200
 gctgaaaaca gagccccacc agagaatgac catcaccgag tttatgaacc acccttggat 1260
 catgcaatca acaagggtcc ctcaaaccac actgcacacc agccgggtcc tgaaggagga 1320
 caaggagcgg tgggaggatg tcaaggggtg tcttcatgac aagaacagcg accaggccac 1380
 ttggctgacc aggttgtgag cagaggattc tgtgttctct tccaaactca gtgctgtttc 1440
 ttagaatcct tttattccct ggttctctaa tgggacctta aagaccatct ggtatcatct 1500
 tctcattttg cagaagagaa actgaggccc agaggcggag ggcagtctgc tcaaggtcac 1560
 gcagctggtg actggttggg gcagaccgga cccaggtttc ctgactcctg gcccaagtct 1620
 ctctctccta tcctgcggga tcaactgggg gctctcaggg aacagcagca gtgcatagc 1680
 caggctctct gctgcccagc gctggggtga ggctgccgtt gtcagcgtgg accactaacc 1740
 agcccgctct ctctctctgc tcccaccctt gccgccctca ccctgccctt gttgtctctg 1800
 tctctcacgt ctctctctg ctgtctctcc tacctgtctt ctggctctct ctgtaccctt 1860
 cctggtgctg ccgtgcccc aggaggagat gaccagtgcc ttggccacaa tgcgcttga 1920
 ctacgagcag atcaagataa aaaagattga agatgcatcc aaccctctgc tgctgaagag 1980
 gcggaagaaa gctcgggccc tggaggctgc ggctctggcc cactgagcca ccgcccctc 2040
 ctgcccacgg gaggacaagc aataactctc tacaggaata tattttttaa acgaagagac 2100
 agaactgtcc acatctgcct cctctctcc tcagctgcat ggagcctgga actgcatcag 2160
 tgactgaatt ctgccttgggt tctggccacc ccagagtggg agaggctggg aggttgggag 2220

ES 2 525 881 T3

gctgtggaga gaagtgagca aggtgctctt gaacctgtgc tcattttgca attttatcag 2280
 taatttgact tagagttttt acgaaacctc ttttgttgtc cttgccccac tcctctccac 2340
 cagacgcctt cctctctgga tactgcaaag gcttgtggtt tgtagaggg tatttgtagga 2400
 aactgtcata gggattgtcc ctgtgttgtc ccatctgccc tccctgtttc tccacaacag 2460
 cctgggggtg tccccgctgg ctcacgcggt ctgggagctc aaggccacct tggaggagga 2520
 tgccacgcac ttcctctctc ggagccctca gacatctcca gtgtgccaga caaataggag 2580
 tgagtgtatg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgcacacg tgtgtatgag tgcgcagatc 2640
 tgtgcctggg atcgtgcatt tgaggggcca ggggcaggca gggctgcaga gggagacggc 2700
 cctgctgggg cttaggaacc ttctcccttc ttgggtctgc cctgcccata ctgagcctgc 2760
 caaagtgcct gggaaagcca cccagattct gaaacaggcc ctctgtggcc tgtctctatt 2820
 agctgggttc cgggaggcag agaggagtga ccgggcactg gcaactgcgat caggaagact 2880
 ggacccccag cccccagggc cccctcccc ccacttagtg ctggcctag gtcctctgag 2940
 gcaactcatct actgaatgac ctctctactt ccccttcttg ccattattaa cccatttttg 3000
 tttattttcc ttaaattttt agccatttct ccatgggcca ccgcccagct catgtaggtg 3060
 agcctgggca gcttctgttg gcagagcttt tgcatttcct gtgtttgtcc tgggttctgg 3120
 ggcacagcc agctaccctt tgtgggcaaa ggcagggcca cttttgaagt cttccctcag 3180
 atttccattg tgtggcctgg tgggtcaggg ggagtctttg caccaaagat gtcctgactt 3240
 tgcccccttg cccatcagcc atttgccatc accccaaaca actcagcttc ggggccggtg 3300
 aggggagggg cctccccag cacagatgag gagcagctgg ggtaggctgt ctgtgccatg 3360
 gccccccact ccccttccc ttggagggag aggtggcagg aatacttcac cttctctctc 3420
 cctcaggggc aggtggtgga ggggcgcca gggctgtctt tgtgtatggg ggaaggcgct 3480
 ggggtgcctgc agcgcctccc ttgtctcaga tgggtgtgtcc agcactcgat tgttgtaaac 3540
 tgttgttttg tatgagcgaa attgtcttta ctaaacagat ttaatagtta aaaaaaaaaa 3600
 aaaaaaaaaa 3608

<210> 21

<211> 678

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 21

ctcgcccaaa gaagactaca atctccaggg aaacctgggg cgtctcgcgc aaacgtccat 60
 aactgaaagt agctaaggca ccccagccgg aggaagtgag ctctcctggg gcgtggttgt 120
 tcgtgatcct tgcatctgtt acttagggtc aaggcttggg tcttgccccg cagacccttg 180
 ggacgacccg gccccagcgc agctatgaac ctggagcgag tgtccaatga ggagaaattg 240
 aacctgtgcc ggaagtacta cctggggggg tttgctttcc tgccttttct ctggttggtc 300
 aacatcttct ggttcttccg agaggccttc cttgtcccag cctacacaga acagagccaa 360
 atcaaaggct atgtctggcg ctacagctgtg ggcttctctt tctgggtgat agtgctcacc 420

ES 2 525 881 T3

tcctggatca ccatcttcca gatctaccgg ccccgctggg gtgcccttgg ggactacctc 480
 tccttcacca tacccttggg cacccttga caacttctgc acatactggg gccctgctta 540
 ttctcccagg acaggctcct taaagcagag gagcctgtcc tgggagcccc ttctcaaaact 600
 cctaagactt gttttcatgt cccacgttct ctgctgacat cccccaataa aggaccctaa 660
 ctttcaaaaa aaaaaaaaa 678

<210> 22

<211> 2272

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 22

gaagcgactc tgagtcccgg gctcggagcg caggctcagc tccgcgctgc gagcgctacg 60
 ggcgcagggg cggggagccg gcccgagcg cagtttccag tggggccggg gtttcacccg 120
 ggccctctct gtttgaaccg aacccgacaa atgggcgcat gacgatggag agcagggaaa 180
 tggactgcta tctccgctgc ctcaaacagg agctgatgtc catgaaggag gtgggtgatg 240
 gcttacagga tcagatgaac tgcagatgag gtgcactgca agaactgaag ctctccagg 300
 tgcagacagc actggaacag ctggagatct ctggaggggg tcctgtgcca ggacagccctg 360
 aaggtcccag gaccagtgct gagcaccctt gttgggaggg tggcagaggt cctgccaggc 420
 ccacagtctg ttccccctcc agtcaacctt ctcttggcag cagcaccaag tttccatccc 480
 ataggagtgt ctgtggaagg gatttagccc ccttggccag gacacagcca catcaaagct 540
 gtgctcagca ggggcccagag cgagtggaac cggatgactg gacctccagc ttgatgtccc 600
 ggggcccggaa tcgacagcct ctgggtgtag gggacaacgt ttttgacagc ctggtgggca 660
 atttgctaga cttgccagaa ctggagaagg gtggggagaa gggtgagact gggggggcac 720
 gtgaacccaa aggagagaaa ggccagcccc aggagctggg ccgcaggttc gccctgacag 780
 caaacatctt taagaagttc ttgcgtagtg tgcggcctga ccgtgaccgg ctgctgaagg 840
 agaagccagg ctgggtgaca cccatggtcc ctgagctccc aaccggccgc tcacagaagg 900
 tcaagaagcg gagcctttcc aagggctctg gacatttccc cttcccaggc accggggagc 960
 acaggcgagg ggagaatccc cccacaagct gcccgaaggc cctggagcac tcacctcag 1020
 gatttgatat taacacagct gtttgggtct gaatcctaga gacagaaagt tgactgagcc 1080
 tgaaagggcc aggtcccagt gctgggcccc tggggaggag ggaggggtgg cggtatggct 1140
 ctcgaaagcc caactccaag ttcccttccc ccagaaagcg gggagaagcc agagttcttg 1200
 gctcaggact gaaggaagg tggttgggag aggctgtctt gggggctagc tgggtggagga 1260
 ggtaagagta gctggagagt gagctgtgcg tgtgtgtgtg tgtgtgtgca tgtgtgtgtc 1320
 tgtctggcat gcatgcactc actttggggc tggaggtgac agtaggtgag ggacagggag 1380
 gagatcagaa aatccctctg acatctccac tgccccaaa gacctccgtt gaacattctg 1440
 tatgaaaag agccctggag catcaggttc cccagatagg cccccaataa aagacctgtc 1500
 tatggctctc ccaaccttct gtcagcttct ttggcaagac attgctccag gcacagggac 1560
 tgaaccccag gcctcctggg actggagcag cagtgaggca aaacccgacc tgctagcct 1620

ES 2 525 881 T3

ttctgccttg gaggtttcag tccatacctg gactctgaga aaatgagctg aataaggagt 1680
 acagtgtgta aggagcagcc agggaagccc tagacactcc ccgctctcc cccatgcaca 1740
 ggggaaggat gttgacatag cactgggctg tttgaatgcc ttttcatctc catggtctca 1800
 tttgaaagtg agcgaggcag gcaggcatga tcccattttc cagataagga aacaagccta 1860
 gatatgctac atgtccagga acaactgcag ccaggaggca gaacagccta ggtctaactg 1920
 cagagtagaa gctggaccct ggagttacca acactcctcc ccaacagttc ttagcgcccc 1980
 gcaggctggg cgctgtggct cacgcctgta atcccagcac tttgggaggg caaggcaggc 2040
 ggattacctg gggtcaggag ttcattgacca gcctggccaa catggtgaaa ccccgctctc 2100
 actaaaaaaa tacgtaaaaa ttagccaggc gtggtggcac acgcctgtaa acccagctac 2160
 tcgggaggct gaggcaggag aattgcttga gcccgggaga gggaggttgc agtgagccga 2220
 gatcatgcca ctgcactcca gcctggctga cagagcaaga ctcccctgtc tc 2272

<210> 23

<211> 2358

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 23

ggagaggatc ccggagccgg tgagaattct ctgttttttc tctaccatcc tttccaggcc 60
 ttttctcac ctaatgagtc gtagagacga gggcccagag agtctgtaaa gtggctgggtg 120
 aaagattagt gtcccagggc cctacatccg ggaggtgggt cgggataaag agaactagtc 180
 ttgggaacaa tgtaggtggg aacttaaggg aatgggagag cggcccatag aggtggacgg 240
 agggcgcgat tggagtaaag cggaccctgt gtaggtatag agttgagtca agtggagtca 300
 ctgcctctgt ccctctggtc agcgtgatgg ccagaggcct ggggggcccc cactgggtgg 360
 ccgtgggact gctgacctgg gcgaccttgg ggcttctggg ggctggactc gggggctatg 420
 acgacctgca cgacgatctg caagaggact tccatggcca cagccacagg cactcacatg 480
 aagatttcca ccatggtcac agccatgccc atggtcatgg ccacactcac gagagcatct 540
 ggcattggaca taccacgat cagcaccatg gacattcaca tgaggattta caccatggcc 600
 atagccatgg ctactcccat gagagcctct accacagagg acatggacat gaccatgagc 660
 atagccatgg aggctatggg gagtctgggg ctccaggcat caagcaggac ctggatgctg 720
 tcaactctctg ggcttatgca ctgggggcca cagtgtgat ctgagcagct ccattttttg 780
 tcctcttctt tatccccgtg gagtccaact ctccccggca tcgctctcta cttcagatct 840
 tgctcagttt tgcttccggt gggctcctgg gagatgcttt cctgcacctc attcctcatg 900
 ctcttgaacc tcattctcac cacactctgg agcaaccggg acatggacac tcccacagtg 960
 gccagggccc cattctgtct gtgggcctgt gggttctcag tgggaattgtt gcctttcttg 1020
 tcgtggagaa atttgtgaga catgtgaaag gaggacatgg tcacagtcac ggacatggac 1080
 acgctcacag tcatacacgt ggaagtcag gacatggaag acaagagcgt tctaccaagg 1140
 agaagcagag ctgagaggaa gaaggaaagg aaacaagagg ggttcagaag aggcgaggag 1200

ES 2 525 881 T3

ggagcacagt acccaaagat gggccagtga gacctcagaa cgctgaagaa gaaaaaagag 1260
 gcttagacct gcgtgtgtcg gggtagctga atctggctgc tgacttggca cacaacttca 1320
 ctgatggtct ggccattggg gcttcctttc gagggggccg gggactaggg atcctgacca 1380
 caatgactgt cctgctacat gaagtgcccc acgaggtcgg ggactttgcc atcttggctcc 1440
 agtctggctg caccaaaaag caggcgatgc gtctgcaact actgacagca gtaggggcac 1500
 tggcaggcac agctgtgccc ttctcactga aggaggagca gtggacagtg aaattgcagg 1560
 tgggtcagggt cctggctggg tcctgccatt tactgcaggt ggctttatct acgtagcaac 1620
 agtgtctgtg ttgccgagc tgtgagggga ggcacacca ttgcaatcac ttctggaggt 1680
 gctggggctg ctggggggag ttatcatgat ggtgctgatt gccacacttg agtgaggggt 1740
 ggataaacta ccctgcccc aacctctacc cctaactcca ggtcaggggt gcgtagaggt 1800
 tgggggccct ggccagggac atctgccaaa ggaaggaact gtagcctggg agcaatggtt 1860
 actttggcat tagggccttc aagggtggc agtcttacag aggctggagc ggtgagaatg 1920
 agaggccaga gggaccatag tgttgggac tgtctgacca tgttgattt ggaaggctaa 1980
 atggggccat gaagaaggct ggaagggaca gggggtgatg gcagcctacc tgggtgtccc 2040
 taccacact gttctcggag aaccaagtgt ctacacagga agttctcaa ggtccagttt 2100
 cctttctccc accagtgggt ggaggcttca ggaagacca gagtcctgga cagagaggggt 2160
 aacaggagga gtcggggata aacatcaaac atcaatcgtg tgtcctgatt tgggagtgat 2220
 tggggggatg ggggtggaga gggtaattg gtattctcat ggcctgattt tttttgtttc 2280
 tattcctttt atatcactgt gtttgaatcg agggggaggg gtggttaaccg gaaataaaga 2340
 cctccgatct tccgcccc 2358

<210> 24

<211> 1856

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 24

agccaaaaga ggaagggacc ggccctccac gtccacaggg acctgacttc cacctctctg 60
 cccagatttg cttatgtcac tgtcgccccg ggacggggag gtggggagct gagggcaagt 120
 cgcgcccgcc cctgaaatcc cagccgccta gcgattggct gcaagggctct cggttggcc 180
 gcggattaat cacacccgag ggcttgaaag gtggctggga gcgccggaca cctcagacgg 240
 acggtggcca gggatcaggc agcggctcag gcgacctga gtgtgcccc accccgcat 300
 ggcccggctg ctgcaggcgt cctgcctgct ttccctgctc ctggccggct tcgtctcgca 360
 gagccgggga caagagaagt cgaagatgga ctgccatggt ggcataagtg gcaccattta 420
 cgagtacgga gccctcacca ttgatgggga ggagtacatc ccctcaagc agtatgctgg 480
 caaatacgtc ctctttgtca acgtggccag ctactgaggc ctgacgggcc agtacattga 540
 actgaatgca ctacaggaag agcttgcacc attcggctctg gtcattctgg gctttccctg 600
 caaccaattt ggaaacagga aaccaggaga gaactcagag atccttcta ccctcaagta 660
 tgtccgacca ggtggaggct ttgtccctaa tttccagctc tttgagaaag gggatgtcaa 720

ES 2 525 881 T3

tggagagaaa gagcagaaat tctacacttt cctaaagaac tcctgtcctc ccacctcgga 780
gctcctgggt acatctgacc gcctcttctg ggaacccatg aaggttcacg acatccgctg 840
gaactttgag aagttcctgg tggggccaga tggatatacc atcatgcgct ggcaccaccg 900
gaccacggtc agcaacgtca agatggacat cctgtcctac atgaggcggc aggacagcct 960
gggggtcaag aggaagtaac tgaaggcctg ctcatcccat gtccaccatg taggggaggg 1020
actttgttca ggaagaaatc cgtgtctcca accacactat ctacccatca cagaccctt 1080
tcctatcact caaggcccca gcctggcaca aatggatgca tacagtctg tgtactgcca 1140
ggcatgtggg tgtgggtgca atgtgggtgt ttacacacat gcctacagg atgctgtgatt 1200
gtgtgtgtgt gcatgggtgt acagccacgt gtctacctat gtgtcttctt gggaatgtgt 1260
accatctgtg tgcctgcagc tgtgtagtgc tggacagtga caaccctttc tctccagttc 1320
tccactccaa tgataatagt tcacttatac ctaaacccaa aggaaaaacc agctctaggt 1380
ccaattgttc tgctctaact gatacctcaa ccttggggcc agcatctccc actgcctcca 1440
aatattagta actatgactg acgtccccag aagtttctgg gtctaccaca ctccccacc 1500
ccccactcct acttctgaa gggccctccc aaggctacat cccacccca cagttctccc 1560
tgagagagat caacctcctt gagatcaacc aaggcagatg tgacagcaag ggccacggac 1620
cccatggcag ggggtggcgtc ttcattgagg aggggccc aaagccctgtg ggcggacctc 1680
ccctgagcct gtctgagggg ccagccctta gtgcattcag gctaaggccc ctgggcaggg 1740
atgccacccc tgctccttcg gaggacgtgc cctcaccct cactggtcca ctggcttgag 1800
actcaccctg tctgcccagt aaaagccttt ctgcagcaaa aaaaaaaaa aaaaaa 1856

<210> 25

<211> 2727

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 25

ggggacactg gatcacctag tgtttcaca gagggtacct tctgctgtag gagagagaga 60
actaaagttc tgaagacct gttgcttttc accaggaagt tttactggc atctcctgag 120
cctaggcaat agctgtaggg tgacttctgg agccatcccc gtttccccgc cccccaaaag 180
aagcggagat ttaacgggga cgtgcggcca gagctgggga aatgggcccg cgagccaggc 240
cggcgttct cctcctgatg cttttgcaga ccgcggtcct gcaggggagc ttgctgcggt 300
cacactctt gactacctc ttcattgggt cctcagagca ggaccttgg ctttcttctg 360
ttgaagcttt gggctacgtg gatgaccagc tgttcgtgt ctatgatcat gagagtcgcc 420
gtgtggagcc ccgaactcca tgggtttcca gtagaatttc aagccagatg tggctgcagc 480
tgagtcagag tctgaaaggg tgggatcaca tgttactgtg tgacttctgg actattatgg 540
aaaatcaca ccacagcaag gagtcccaca ccctgcaggt catcctgggc tgtgaaatgc 600
aagaagaca cagtaccgag ggctactgga agtacgggta tgatgggcag gaccacctg 660
aattctgccc tgacacactg gattggagag cagcagaacc cagggcctgg cccaccaagc 720

ES 2 525 881 T3

tggagtggga aaggcacaag attcgggcca ggcagaacag ggcctacctg gagagggact 780
 gccctgcaca gctgcagcag ttgctggagc tggggagagg tgttttggac caacaagtgc 840
 ctcccttggg gaaggtgaca catcatgtga cctcttcagt gaccactcta cgggtgctggg 900
 ccttgaacta ctacccccag aacatcacca tgaagtggct gaaggataag cagccaatgg 960
 atgccaaagga gttcgaacct aaagacgtat tgcccaatgg ggatgggacc taccagggct 1020
 ggataacctt ggctgtaccc cctggggaag agcagagata tacgtgccag gtggagcacc 1080
 caggcctgga tcagccccctc attgtgatct gggagccctc accgtctggc accctagtca 1140
 ttggagtcat cagtggaatt gctgtttttg tcgtcatctt gttcattgga attttgttca 1200
 taatattaag gaagaggcag ggttcaagag gagccatggg gactacgtc ttagctgaac 1260
 gtgagtgaca cgcagcctgc agactcactg tgggaaggag acaaaactag agactcaaag 1320
 agggagtgca tttatgagct cttcatgttt caggagagag ttgaacctaa acatagaaat 1380
 tgcctgacga actccttgat tttagccttc tctgttcatt tcctcaaaaa gatttcccca 1440
 tttaggtttc tgagttcctg catgccgggt atccctagct gtgacctctc ccctggaact 1500
 gtctctcatg aacctcaagc tgcactctaga ggcttccttc atttcctccg tcacctcaga 1560
 gacatacacc tatgtcattt catttcctat ttttggaaaga ggactcctta aatttggggg 1620
 acttacatga ttcattttta catctgagaa aagctttgaa ccctgggacg tggctagtca 1680
 taaccttacc agatttttac acatgtatct atgcattttc tggacccggt caacttttcc 1740
 tttgaatcct ctctctgtgt taccagtaa ctcatctgtc accaagcctt ggggattcct 1800
 ccatctgatt gtgatgtgag ttgcacagct atgaaggctg tacctgcac gaatggaaga 1860
 ggcacctgtc ccagaaaaag catcatggct atctgtgggt agtatgatgg gtgtttttag 1920
 caggtaggag gcaaatatct tgaaaggggt tgtgaagagg tgttttttct aattggcatg 1980
 aagggtgcat acagatttgc aaagttaat ggtgccttca tttgggatgc tactctagta 2040
 ttccagacct gaagaatcac aataattttc tacctgttct ctccttgttc tgataatgaa 2100
 aattatgata aggatgataa aagcacttac ttcgtgtccg actcttctga gcacctactt 2160
 acatgcatta ctgcatgcac ttcttacaat aattctatga gataggtact attatcccca 2220
 tttctttttt aaatgaagaa agtgaagtag gccgggcacg gtggctcacg cctgtaatcc 2280
 cagggtgctg agattacagg tgtgagccac cctgcccagc cgtcaaaaga gtcttaatat 2340
 atatatccag atggcatgtg tttactttat gttactacat gcacttggct gcataaatgt 2400
 ggtacaagca ttctgtcttg aagggcaggt gcttcaggat accatataca gctcagaagt 2460
 ttcttcttta ggcattaaat tttagcaaag atatctcatc tcttctttta aaccattttc 2520
 tttttttgtg gttagaaaag ttatgtagaa aaaagtaaat gtgatttacg ctcatgtag 2580
 aaaagctata aaatgaatac aattaaagct gttatttaat tagccagtga aaaactatta 2640
 acaacttgtc tattacctgt tagtattatt gttgcattaa aaatgcatat actttaataa 2700
 atgtatattg tattgtaaaa aaaaaaa 2727

<210> 26

<211> 879

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 26

ES 2 525 881 T3

ctcctcacag aagcctggag ctgggcatcc aagaagaagc agcctcattt gttttctggt 60
gtcatcgtag gtggccacct atggcttttg ggaatgtaaa aagggcagct ctctggcatg 120
ttcctgactg aggatctcat aacatttaac ttgaggaact tcctcctttt ccagctttgg 180
gagtcaagct tctcacctgg ggcgggtggg ttctgcacca ccctcccacc ctccttcctc 240
cgtgtggacg atagagccac atccagcacc acggacagct cccgggcgcc ttcattctct 300
cgtcctccag gcagcacaag ccattgtgga atctccacca ggtgtacaga acggtgcctc 360
tgcgtcctgc cactcaggac ctctcaagtc cccgatgtga tggctcctca gcatgatcag 420
gagaaattcc atgatcttgc ttattcctgt cttgggaagt ctttctccat gtctaaccaa 480
gatctatatg gctatagcac cagctctttg gctcttggct tggcatggct aagtgggag 540
acaaaaaga agaatgtact tcatctggtt gggctggatt ccctctgata agccttccca 600
gttgactgaa agatgaggct aggctctagc aagttgaagt caaaccagct cttcaagaa 660
gctttgagca gaatgaagtg gggaggacc agcttccagc ccaggaagcc cactgtacct 720
ggagccatct gggataagac tttgacccat gactcccata tccacagcct gtccatccta 780
gccccatcca gtttatcctg tatcatttga gctgggattc ccacatcctc tgagttggaa 840
gtcccatctc aagtcttcaa taaagactct tgaatattg 879

<210> 27

<211> 3287

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 27

atggcgctgg ctgtcttgcg ggtcctggag ccctttccga ccgagacacc cccgttggca 60
gtgctgctgc cccccggggg cccgtggccg gcggcggagc tgggcctggt gctggccctg 120
aggcctgcag gggagagccc ggcagggccg gcgctgctgg tggcagccct ggaggggccc 180
gacgcgggca ccgaagagca gggccccggg ccgcccagc tactggttag ccgcgcgctg 240
ctgcgctcc tggcactggg ctccggggcc tgggtgcggg cgcgggcggt gcggcgccc 300
ccggcgctag gttgggact gcttggcacc tcgctggggc ctgggctcgg accgcgagtc 360
gggccgctgc tggtagggcg cggagagacc ctcccagttc ccggaccgcg ggtgctggag 420
acgcggccgg cgttgcaagg gctgctgggc ccagggactc ggctggctgt gactgagctc 480
cgcgggcggg ccagactgtg tccagagtct ggggacagca gtcggcccc acccccgcc 540
gtggtgtcct cctttgcggt ttctggcaca gtgcggcgac tccagggagt tctgggaggg 600
actggagatt cactaggggt gagccggagc tgtctccgtg gccttggcct cttccagggc 660
gaatgggtgt gggtagccca ggccagagag tcatcgaaca cttcacagcc gacttggct 720
aggggtcagg tcctagaacc tcgctgggac ctctctgata gactgggacc cggctctgga 780
ccgctgggag agccccctgc tgacggactg gcgcttgtcc ctgccacttt ggcttttaat 840

ES 2 525 881 T3

cttggctgtg accccctgga aatgggagag ctcagaattc agaggactt ggaaggctcc 900
 atcgcccctg aagacaaagg aagctgctca ttgctgcctg ggcctccatt tgccagagag 960
 ttacacatcg aaattgtgtc ttctccccac tacagcacta atggaaatta tgacggtgtt 1020
 ctttaccggc actttcagat acccagggta gtccaggaag gggatgttct atgtgtgcca 1080
 acaattgggc aagtagagat cctggaagga agtccagaga aactgcccag gtggcgggaa 1140
 atgtttttta aagtgaagaa aacagttggg gaagctccag atggaccagc cagtgcctac 1200
 ttggccgaca ccaccatac ctcttgtac atggtgggtt ctaccctgag ccctgttcca 1260
 tggctccctt cagaggaatc cactctctgg agcagtttgt ctctccagg cctggaggcc 1320
 ttggtgtctg aactctgtgc tgtcctgaag cctcgcctcc agccaggggg tgccctgctg 1380
 acaggaacta gcagtgtcct tctacggggc ccccaggct gtgggaagac cacagtagtt 1440
 gctgctgctt gtagtcacct tgggctccac ttactgaagg tgccctgctc cagcctctgt 1500
 gcagaaagta gtggggctgt ggagacaaaa ctgcaggcca tcttctccc ggcccggct 1560
 tgccggcctg cagtcctgtt gctcacagct gtggacctt tgggccggga ccgtgatggg 1620
 ctgggtgagg atgccctgt gatggctgtg ctgctcacc tcctcctcaa tgaggacccc 1680
 ctcaacagct gccctcccct catggttgtg gccaccacaa gccgggcca ggacctgctt 1740
 gctgatgtgc agacagcatt tcctcatgag ctgaggtgc ctgctctgtc agaggggag 1800
 cggctcagca tcctcggggc cctcaactgc caccttccc tggccagga ggtgaacttg 1860
 gcacagctag cacggcggtg tgcaggctt gtgtagggg atctctatgc ctttctgacc 1920
 cacagcagcc gggcagcctg caccaggatc aagaactcag gtttggcagg tggcttgact 1980
 gaggaggatg agggggagct gtgtgctgcc ggcttctc tcctggctga ggactttggg 2040
 caggcactgg agcaactgca gacagctcac tcccaggccg ttggagcccc caagatcccc 2100
 tcagtgtcct ggcagatgt ggggtggctg caggaggtga agaaggagat cctggagacc 2160
 attcagctcc ccctggagca ccctgagcta ctgagcctgg gcctgagacg ctcaggcctt 2220
 ctgctccatg ggccccctgg caccggcaag acccttctgg ccaaggcagt agccactgag 2280
 tgcagcctta ccttctcag cgtgaaggg ccagagctca ttaacatgta tgtgggcca 2340
 agtgaggaga atgtgcggga agtgtttggc agggccagg ctgcagctcc atgcattatc 2400
 ttctttgatg aactggactc tttggcccca agccggggc gaagtggaga ttctggagga 2460
 gtgatggaca ggggtgtgtc tcagctcctt gccagctag atgggctgca cagcactcag 2520
 gatgtgtttg tgattggagc caccaacaga ccagatctcc tggaccctgc ctttctgagg 2580
 cctggcagat ttgacaagct ggtgtttgtg ggggcaaatg aggaccggc ctcccagcta 2640
 cgcgttctaa gtgccatcac acgcaaattc aagctagagc catctgtgag cctggtaaac 2700
 gtgctagatt gctgccctcc ccagctgacg ggcgcggacc tctactctct ctgctctgat 2760
 gctatgacag ctgccctcaa acgcagggtt catgacctgg aggaagggtt ggaacaagg 2820
 agctcagcac tgatgctcac catggaggac ttgctgcagg ctgccgccc gctgcaacc 2880
 tcagtcagtg agcaggagct gctccgttac aagcgcattc agcgaagt tgcctgctgc 2940
 taggagcccc ccagggtctg ggaccccgt cagcatggct gcaggctact tgatagccca 3000
 cagagagatc tgggaaggaa gggctcctcc tcaggctgct gccaacccac ctggaggcca 3060
 cctccctcca ggagatccca gggtgcaaag tggcattgag acagcagcaa cagctcaaga 3120
 gatattctct gcctacttgc ccctccttcc aggccggctc taagagaaag gccatctac 3180
 tcaggaagag ggccagggcc ttgggttctg gggattggc cctgagagg ctagttctgt 3240
 ggctgaaaat aaagcatgtc ccgcccccta aaaaaaaaa aaaaaaa 3287

ES 2 525 881 T3

<210> 28

<211> 7239

<212> ADN

<213> Homo sapiens

5 <400> 28

```

cggggcagcc gagggcccct gactcggctc ctcgcggcga catggatcgg atggccagct    60
ccatgaagca ggtgcccaac ccaactgccca aggtgctgag ccggcgcggg gtcggcgctg   120
ggctggaggc ggcggagcgc gagagcttcg agcggactca gactgtcagc atcaataagg   180
ccattaatac gcaggaagtg gctgtaaagg aaaaacacgc cagaacgtgc atactgggca   240
cccaccatga gaaaggggca cagaccttct ggtctgttgt caaccgcctg cctctgtcta   300
gcaacgcagt gctctgctgg aagttctgcc atgtgttcca caaactcctc cgagatggac   360
acccgaacgt cctgaaggac tctctgagat acagaaatga attgagtgac atgagcagga   420
tgtggggcca cctgagcgag gggtatggcc agctgtgcag catctacctg aaactgctaa   480
gaaccaagat ggagtaccac accaaaaatc ccaggttccc aggcaacctg cagatgagtg   540
accgccagct ggacgaggct ggagaaagtg acgtgaacaa cttttccag ttaacagtgg   600
agatgtttga ctacctggag tgtgaactca acctcttcca aacagtattc aactccctgg   660
acatgtcccg ctctgtgtcc gtgacggcag cagggcagtg ccgcctcgcc ccgctgatcc   720
aggtcatctt ggactgcagc cacctttatg actacactgt caagcttctc ttcaactcc   780
actcctgcct cccagctgac accctgcaag gccaccggga ccgcttcatg gagcagttta   840
caaagtgaa agatctgttc taccgctcca gcaacctgca gtacttcaag cggctcattc   900
agatccccc gctgcctgag aaccaccca acttcctgcg agcctcagcc ctgtcagaac   960
atatcagccc tgtggtggtg atccctgcag aggcctcatc ccccgacagc gagccagtcc  1020
tagagaagga tgacctcatg gacatggatg cctctcagca gaatttattt gacaacaagt  1080
ttgatgacat ctttggcagt tcattcagca gtgatccctt caatttcaac agtcaaaatg  1140
gtgtgaacaa ggatgagaag gaccacttaa ttgagcgact atacagagag atcagtggat  1200
tgaaggcaca gctagaaaac atgaagactg agagccagcg ggttgtgctg cagctgaagg  1260
gccacgtcag cgagctggaa gcagatctgg ccgagcagca gcacctgagg cagcaggcgg  1320
ccgacgactg tgaattcctg cgggcagaac tggacgagct caggaggcag cgggaggaca  1380
ccgagaaggc tcagcggagc ctgtctgaga tagaaaggaa agctcaagcc aatgaacagc  1440
gatatagcaa gctaaaggag aagtacagcg agctggttca gaaccacgct gacctgctgc  1500
ggaagaatgc agaggtgacc aaacaggtgt ccatggccag acaagcccag gtagatttgg  1560

```


ES 2 525 881 T3

aacgagagaa aaaagagctg gaggattcgt tggagcgcag cagtgaccag ggccagcggg 1620
 agactcaaga acagctggaa gttctagaga gcttgaagca ggaacttgcc acaagccaac 1680
 gggagcttca ggttctgcaa ggcagcctgg aaacttctgc ccagtcagaa gcaaactggg 1740
 cagccgagtt cgccgagcta gagaaggagc gggacagcct ggtgagtggc gcagctcata 1800
 gggaggagga attatctgct cttcggaaaag aactgcagga cactcagctc aaactggcca 1860
 gcacagagga atctatgtgc cagcttgcca aagaccaacg aaaaatgctt ctggtggggg 1920
 ccaggaaggc tgcggagcag gtgatacaag acgccctgaa ccagcttgaa gaacctcctc 1980
 tcatcagctg cgctgggtct gcagatcacc tcctctccac ggtcacatcc atttccagct 2040
 gcatcgagca actggagaaa agctggagcc agtatctggc ctgcccagaa gacatcagtg 2100
 gacttctcca ttccataacc ctgctggccc acttgaccag cgacgccatt gctcatggtg 2160
 ccaccacctg cctcagagcc ccacctgagc ctgccgactc actgaccgag gcctgtaagc 2220
 agtatggcag ggaaacctc gcctacctgg cctccctgga ggaagagggg agccttgaga 2280
 atgccgacag cacagccatg aggaactgcc tgagcaagat caaggccatc ggcgaggagc 2340
 tcctgccag gggactggac atcaagcagg aggagctggg ggacctggtg gacaaggaga 2400
 tggcggccac ttcagctgct attgaaactg ccacggccag aatagaggag atgctcagca 2460
 aatcccagc aggagacaca ggagtcaaat tggaggtgaa tgaaaggatc cttggttgct 2520
 gtaccagcct catgcaagct attcaggtgc tcatctggc ctctaaggac ctccagagag 2580
 agattgtgga gagcggcagg ggtacagcat cccctaaaga gttttatgcc aagaactctc 2640
 gatggacaga aggacttatc tcagcctcca aggtctggg ctggggagcc actgtcatgg 2700
 tggatgcagc tgatctgggt gtacaaggca gagggaaatt tgaggagcta atggtgtgtt 2760
 ctcatgaaat tgctgctagc acagcccagc ttgtggctgc atccaaggtg aaagctgata 2820
 aggacagccc caacctagcc cagctgcagc aggcctctcg gggagtgaac caggccactg 2880
 ccggcgttgt ggcctcaacc atttccggca aatcacagat cgaagagaca gacaacatgg 2940
 acttctcaag catgacgctg acacagatca aacgccaaga gatggattct caggttaggg 3000
 tgctagagct agaaaatgaa ttgcagaagg agcgtcaaaa actgggagag cttcggaaaa 3060
 agcactacga gcttgctggt gttgctgagg gctgggaaga aggaacagag gcatctccac 3120
 ctacactgca agaagtggta accgaaaaag aatagagcca aaccaacacc ccatatgtca 3180
 gtgtaaatcc ttgttaccta tctcgtgtgt gttatttccc cagccacagg ccaaactcct 3240
 ggagtcccag gggcagccac accactgcca ttaccagtg ccgaggacat gcatgacact 3300
 tccaaagact ccctccatag cgacaccctt tctgtttgga cccatggtca tctctgttct 3360
 tttcccgcct ccctagttag catccaggct ggccagtgct gcccatgagc aagcctaggt 3420
 acgaagaggg gtggtggggg gcagggccac tcaacagaga ggaccaacat ccagtcctgc 3480
 tgactatthg acccccacaa caatgggtat ccttaataga ggagctgctt gttgthtgtt 3540
 gacagcttg aaaggggaga tcttatgcct tttcttttct gtttcttct cagtcttttc 3600
 agthtcatca tttgcacaaa cttgtgagca tcagagggct gatggattcc aaaccaggac 3660

ES 2 525 881 T3

actaccctga gatctgcaca gtcagaagga cggcaggagt gtcctggctg tgaatgccaa 3720
agccattctc cccctctttg ggcagtgccca tggatttcca ctgcttctta tgggtggttg 3780
ttgggttttt tggttttggt ttttttttta agtttctctc acatagccaa ctctcccaaa 3840
gggcacaccc ctggggctga gtctccaggg ccccccaact gtggtagctc cagcgatggt 3900
gctgcccagg cctctcgggt ctccatctcc gcctccacac tgaccaagtg ctggcccacc 3960
cagtccatgc tccagggatc ggcggagctg ctgagtgaca gctttcctca aaaagcagaa 4020
ggagagtgag tgcctttccc tcctaaagct gaatcccggc ggaaagcctc tgtccgcctt 4080
tacaaggag aagacaacag aaagagggac aagaggggtc acacagccca gttcccgtga 4140
cgaggctcaa aaacttgatc acatgcttga atggagctgg tgagatcaac aacactactt 4200
ccctgccgga atgaactgtc cgtgaatggt ctctgtcaag cgggccgtct cccttgccc 4260
agagacggag tgtgggagt attcccaact cttttctgca gacgtctgcc ttggcatcct 4320
cttgaatagg aagatcgttc caccttctac gcaattgaca aaccgggaag atcagatgca 4380
attgctccca tcaggggaaga accctatact tggtttgcta cccttagtat ttattactaa 4440
cctcccttaa gcagcaacag cctacaaaga gatgcttga gcaatcagaa cttcaggtgt 4500
gactctagca aggctcatct ttctgcccgg ctacatcagc ctcaagaat cagaagaaag 4560
gccaagggtc tggactgtta ctgacttga tcccaaagca aggagatcat ttggagctct 4620
tgggtcagag aaaatgagaa aggacagagc cagcggctcc aactcctttc agccacatgc 4680
cccaggctct cgctgccctg tggacaggat gaggacagag ggcacatgaa cagcttgcca 4740
gggatgggca gcccaacagc acttttctc ttctagatgg accccagcat ttaagtgacc 4800
ttctgatctt ggaaaaacag cgtcttctt ctttatctat agcaactcat tgggtgtagc 4860
catcaagcac ttcccaggat ctgctccaac agaataatgc taggttttgc tacatgacgg 4920
gttgtgagac ttctgtttga tcaactgtgaa ccaacccccca tctccctagc ccacccccct 4980
ccccactcc ctctctgtgc attttctaag tgggacattc aaaaaactct ctcccaggac 5040
ctcggatgac catactcaga cgtgtgacct ccatactggg ctaaggaagt atcagcacta 5100
gaaattgggc agtcttaatg ttgaatgctg ctttctgctt agtatttttt tgattcaagg 5160
ctcagaagga atggtgctg gcttccctgt cccagttgtg gcaactaaac caatcggtgt 5220
gttcttgatg cgggtcaaca tttccaaaag tggctagtcc tcacttctag atctcagcca 5280
ttctaactca tatgttccca attaccaagg ggtggccggg cacagtggct cacgcctgta 5340
atcccagcac tttgagaggc tgaggtggta ggatcacctg aggtcaggag ttcaagacca 5400
gcctgtccaa catggtgaaa cccccatctc tactaaaaat accaaaaatt agccgagcgt 5460
agtgacgggt gcccgtaatc ccagctactc aggaggctga gacaggagaa tcacctgaac 5520
cccagaggca gaggttgag tgagctgaga tcacgccatt gtactccagc ctgggcaaca 5580
agagcaaaac tccgtctcaa aaaaaaaaaa aaattacaaa tggggcaaac agtctagtgt 5640
aatggatcaa attaagattc tctgccagc cgggcacagt ggcgatgcc tgtaatccca 5700
gaactttggg aggccaagac gggatgattg cttgagctca ggagtttgag accaggctgg 5760

ES 2 525 881 T3

gcatcatagc aagacctcat ctctactaaa attcaaaaac aaaattagcc gggcatgatg 5820
 gtgcatgcct gtagtctcag ctagttgggg agctaagggt ggagaattgc ttgagcttgg 5880
 gaagtcgagg ctgcagtcag ccctgattgt gccagtcac tccggcctgg gtgacagagt 5940
 gagacctgt ctcaaaaaa aaaagattct gtgtcagagc ccagcccagg agtttgaggc 6000
 tgcaatgagc catgatttcc cactgcactc cagcctgagt gacagagcga gactccatct 6060
 ctttaaaaaa aaacaaaaa ttatctgaat gatcctgtct ctaaaaagaa gccacagaaa 6120
 tgtttaaaaa cttcatcgac ttagcctgag tcataacggg taagaaagca cttaaacaga 6180
 agcagaggct aattcagtgt cacatgagga agtagctgtc agatgtcaca taattacttt 6240
 cgtaatagct cagattagaa tggctacccc attctctaga caaaatcaa ttgtcctatt 6300
 gtgactcttc taaaaatgaa gatgaagagc tatttaatga cacaccttgg attaaaacgg 6360
 gaatcacatc ttaaagctaa aaatgaacct gcaagccttc taaatgagtc actgagcatc 6420
 actagtgaca agtctcgggt gagcgtaaat gggtcatgac aagatgggac agcaacaaaa 6480
 tcatggctta ggatcgacaa gaagttaaaa aacagctgca tctgttactt aagtttghtaa 6540
 gacagtgcc ttagacctct agagaaaaga tgtttgttta cataagagaa agaggccaga 6600
 catggtgtct cacacgttta atcccagcac tttgggaggc aggggcgggt ggatcacctg 6660
 aggtcaggag ttcaagacta gcctggccaa catggtgaaa ccccgtctct actaaaaata 6720
 caaaaattag ccgggcatgg tggcaggcgc ctataatccc agctactggg gaggctgagg 6780
 caggagaatc acttgaacct gggggacaga ggtttagtagt agccaagatc gcaccactgc 6840
 actccagcct gggtcacaga gtgagactcc atctcaaaaa aaaaaaagag agagagagag 6900
 aaagaaatag aagagaagag ccatcttggc agggttattt tatactctgag caaggagttt 6960
 aatgagact agtttagatt gtctgctgat gcagccgtcc atagcagtac ccctaaatc 7020
 ccaccagaat acgggtccct ctaaccagcgt ggctggaaga accactgtct agagcaactt 7080
 ttcttggaac tgtcccagct accaagtcag acaccaaggt ttatgccacc aggtaacacg 7140
 ggaatcacag gtacatgtcg ctccggctcag attagttggc tttggcccct cgaccctgtg 7200
 caggagctag ttctcagctt gcagctggaa gttccctct 7239

<210> 29

<211> 21

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 29

tgactggcag atccagaggt t 21

<210> 30

<211> 21

10 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 30

gtagaatag gacaggaaca c 21

<210> 31

15 <211> 21

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 31

cctgaagtgt aacaccccag a 21

5 <210> 32

<211> 21

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 32

10 tccctctcca gcacttctag t 21

<210> 33

<211> 31

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15 <400> 33

tgctggagct gggacccagc attgaggagg a 31

<210> 34

<211> 27

<212> ADN

20 <213> Homo sapiens

<400> 34

tcagacacac acaacttcag tcgatag 27

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para el pronóstico de un síndrome séptico a partir de una muestra biológica de un paciente, caracterizado por que comprende las etapas siguientes:
- a. se extrae material biológico de la muestra biológica,
 - 5 b. se pone en contacto el material biológico con al menos una sonda de hibridación específica de al menos un gen diana, presentando dicho al menos un gen diana la secuencia nucleica SEC ID nº 1; y
 - c. se determina la expresión de dicho al menos un gen diana.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que en la etapa b) se pone en contacto el material biológico con 22 sondas de hibridación respectivamente específicas de 22 genes diana que presentan respectivamente una
- 10 secuencia nucleica identificada SEC ID nº 1, 3, 7, 9-15, 17-28; y
- se determina la expresión de al menos dichos 22 de dichos genes diana.
3. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que en la etapa b) se pone en contacto el material biológico con 28 sondas de hibridación respectivamente específicas de 28 genes diana que presentan respectivamente una secuencia nucleica identificada en SEC ID nº 1 a 28; y
- 15 se determina la expresión de al menos dichos 28 de dichos genes diana.
4. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que la muestra biológica extraída del paciente es una muestra sanguínea.
5. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que el material biológico extraído durante la etapa a) comprende unos ácidos nucleicos.
- 20 6. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que la sonda de hibridación está inmovilizada en un soporte.

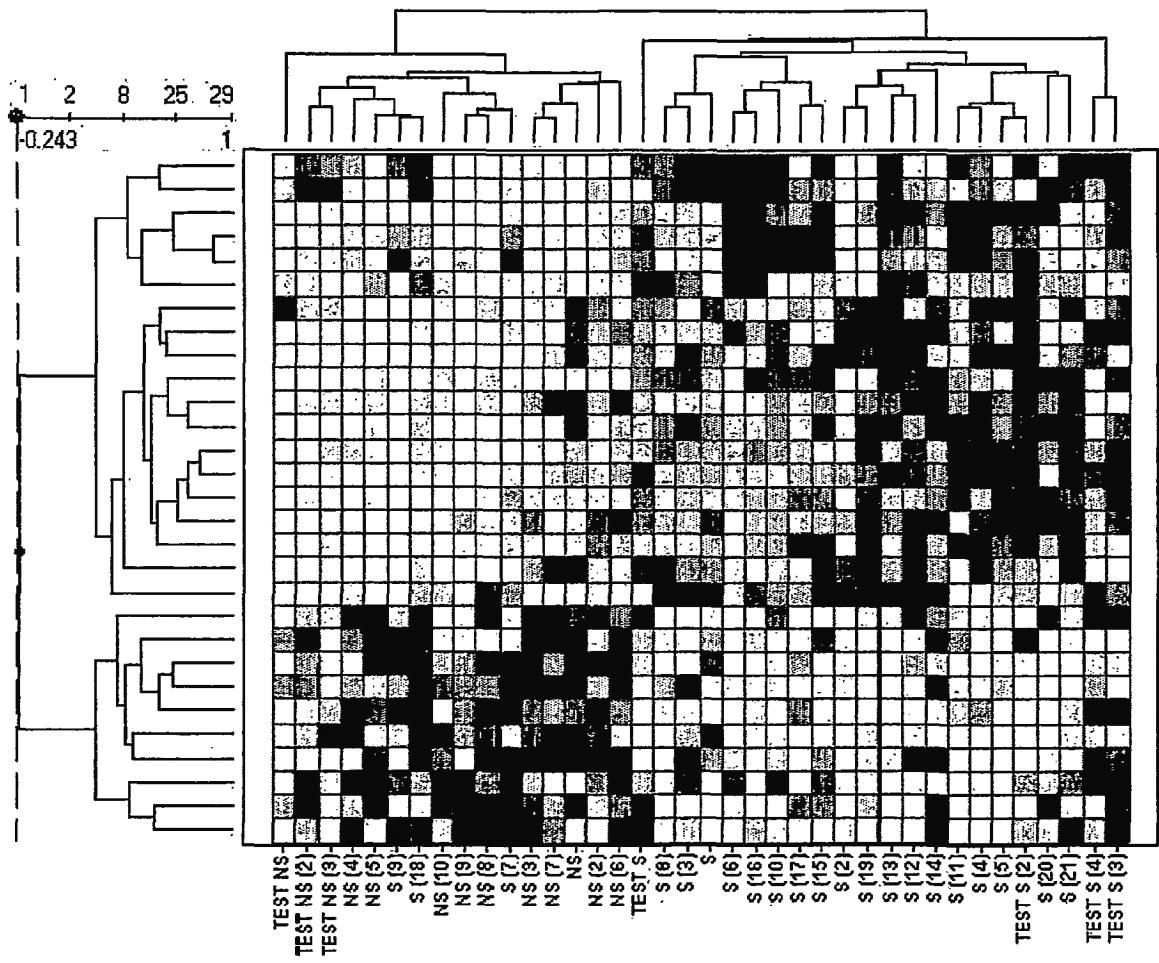


Figura 1

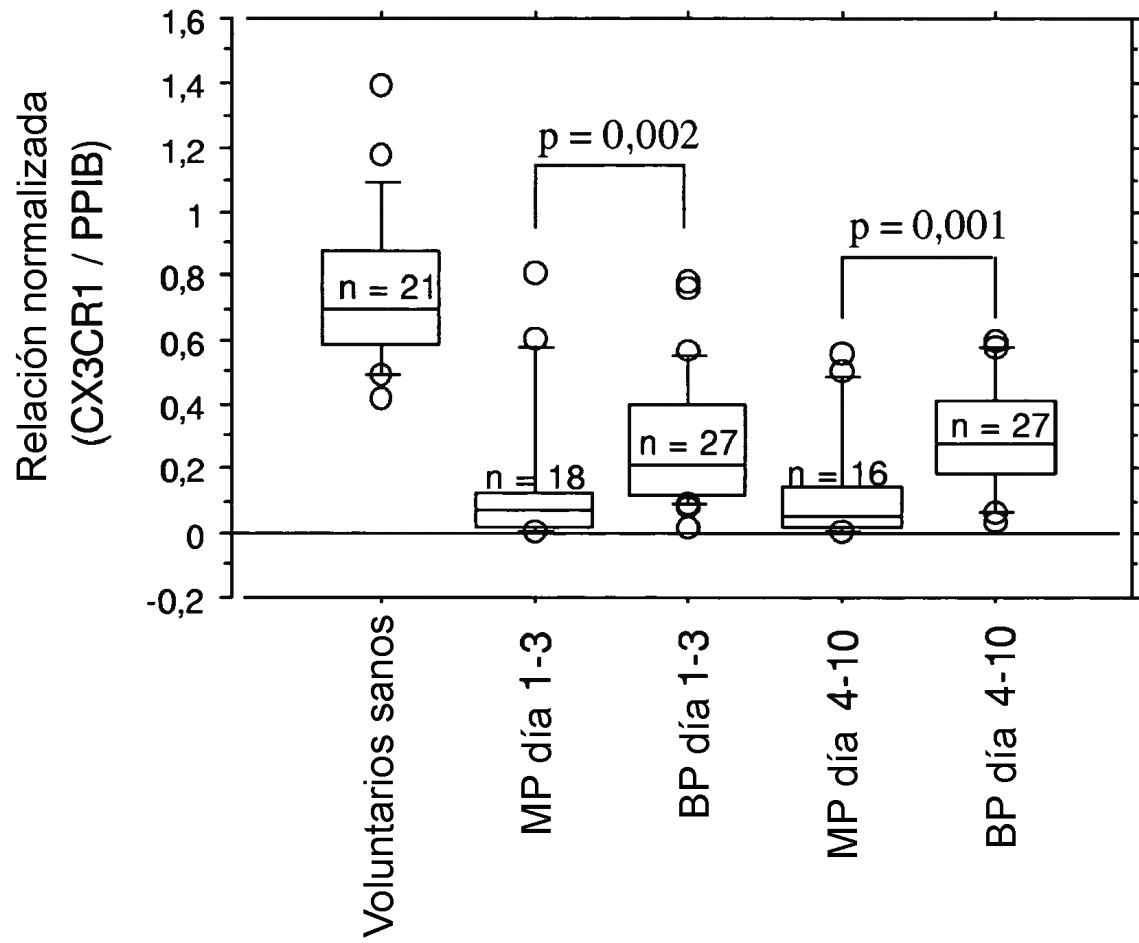


Figura 2

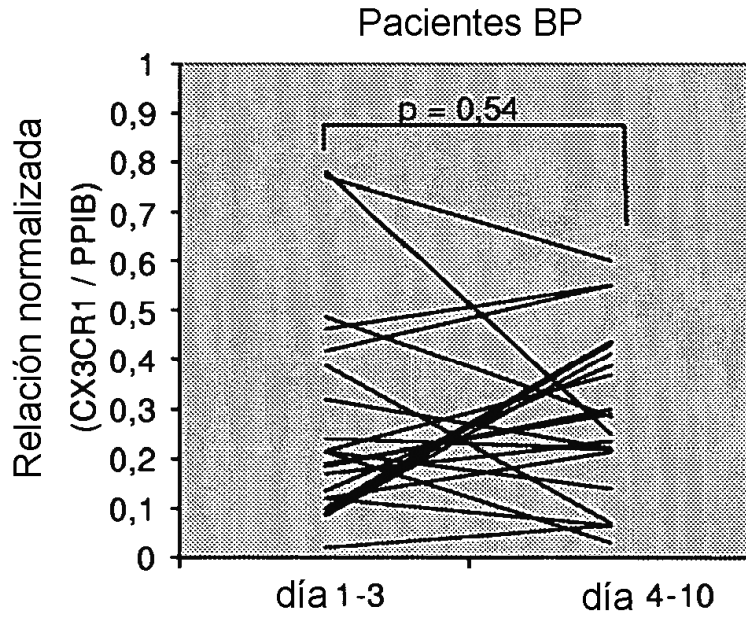
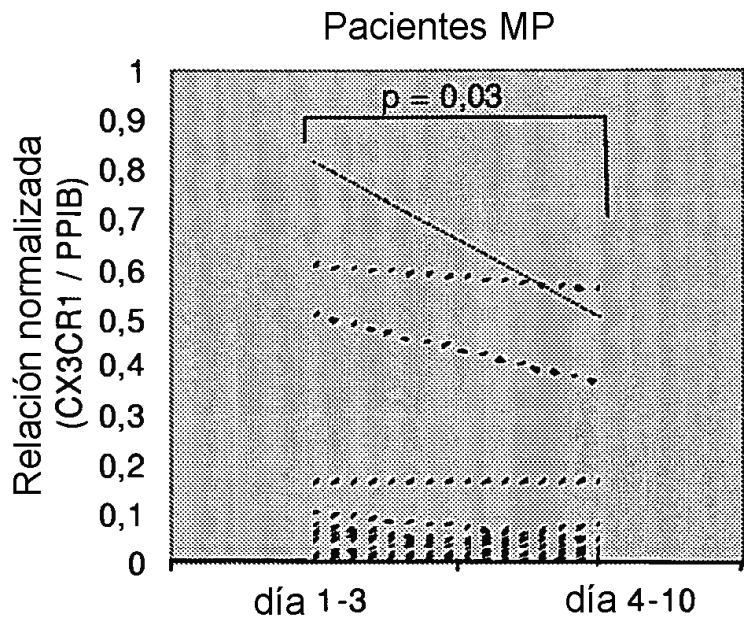


Figura 3