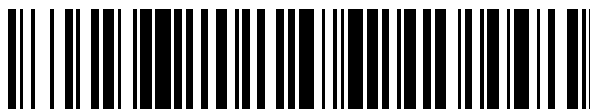


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 532 883**

51 Int. Cl.:

G01N 33/574 (2006.01)

C12Q 1/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.06.2009** **E 09761791 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.12.2014** **EP 2300827**

54 Título: **TET2 como nuevo marcador de diagnóstico y de pronóstico en neoplasias hematopoyéticas**

30 Prioridad:

12.06.2008 EP 08305255

13.03.2009 EP 09155169

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.04.2015

73 Titular/es:

**INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA
RECHERCHE MEDICALE (INSERM) (14.3%)**

101, rue de Tolbiac

75013 Paris, FR;

INSTITUT GUSTAVE ROUSSY (14.3%);

**ASSISTANCE PUBLIQUE - HÔPITAUX DE PARIS
(14.3%);**

CENTRE HENRI BECQUEREL (14.3%);

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES (14.3%);

**UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE (PARIS 6)
(14.3%) y**

UNIVERSITÉ PARIS-SUD 11 (14.3%)

72 Inventor/es:

VIGUIE, FRANCK;

BERNARD, OLIVIER;

FONTENAY, MICHAELA;

BASTARD, CHRISTIAN;

DELHOMMEAU, FRANÇOIS y

VAINCENKER, WILLIAM

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 532 883 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

TET2 como nuevo marcador de diagnóstico y de pronóstico en neoplasias hematopoyéticas.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a marcadores genéticos para diagnosticar neoplasias mieloides, más particularmente a un nuevo gen supresor de tumores recientemente identificado, el gen del miembro 2 de la familia de proteínas Ten Eleven Translocation (TET2). Las alteraciones genéticas de TET2 son útiles para diagnosticar tumores mieloides, tales como síndromes mielodisplásicos/mieloproliferativos, MDS, AML o MPD, y tumores linfoides.

Antecedentes de la invención

La hematopoyesis se mantiene mediante un sistema jerárquico en el que las células madre hematopoyéticas (HSC) dan lugar a progenitores multipotentes, que a su vez se diferencian en todos los tipos de células sanguíneas maduras. Se han estudiado ampliamente los mecanismos moleculares que controlan la multipotencialidad, autorrenovación, la quiescencia e internalización de las HSC. Sin embargo, permanecen por abordar numerosos aspectos, y siguen sin identificarse genes importantes que regulan estos procesos.

Las neoplasias mieloides incluyen leucemia mieloide aguda (AML), trastornos mieloproliferativos (MPD), síndromes mielodisplásicos (MDS) y síndromes mielodisplásicos/mieloproliferativos que son todos ellos trastornos malignos clonales de células madre (HSC) o progenitoras (TIU *et al.*, *Leukemia*, vol. 21(8), p: 1648-57, 2007).

Varias mutaciones genéticas se han correlacionados con AML, y se reconocen cuatro grupos: (i) la AML con anormalidades genéticas recurrentes AML t(8;21)(q22;q22) con gen de fusión RUNX1-ETO; AML con eosinófilos de médula ósea anormales e inv(16)(p13;q22) o t(16;16)(p13;q22) con reorganización CBFβ/MYH11; leucemia promielocítica aguda APL con t(15;17)(q22;q12) PML/RARA; AML con anormalidades 11q23 (MLL)); (ii) AML con displasia multilineal tras MDS o MDS/MPD o sin antecedente de MDS o MPD; (iii) terapia de AML o de MDS relacionada; y (iv) otra AML sin clasificar entre las cuales está el grupo de AML con cariotipo normal cuyo pronóstico se basa en el análisis molecular de oncogenes tales como mutaciones de FLT3-ITD o NPM1.

Los síndromes mielodisplásicos/mieloproliferativos incluyen cuatro enfermedades mieloides agrupadas en 1999 por la OMS: leucemia mielomonocítica crónica (CMML), leucemia mielomonocítica juvenil (JMML), leucemia mieloide crónica atípica (aCML) y síndromes mielodisplásicos/mieloproliferativos sin clasificar (U-MDS/MPD). HAASE *et al.*, *Annals of Hematology*, vol. 87, nº 7, abril de 2008, es un repaso en el campo técnico de síndromes mielodisplásicos/mieloproliferativos.

Los MDS incluyen anemia refractaria (RA), y citopenia refractaria con displasia multilineal (RCMD). Los MDS se caracterizan por hematopoyesis ineficaz en uno o más de los linajes de la médula ósea. El MDS temprano demuestra mayoritariamente apoptosis excesiva y displasia de células hematopoyéticas (CLAESSENS *et al.*, *Blood*, vol. 99, p: 1594-601, 2002; CLASESENS *et al.*, *Blood*, vol. 105, p: 4035-42, 2005). En alrededor de un tercio de los pacientes con MDS, esta hematopoyesis ineficaz precede la progresión a AML secundaria (sAML). Aunque se han identificado algunos sucesos moleculares asociados con subtipos de MDS específicos (ELBERT *et al.*, *Nature*, vol. 451(7176), p: 335-9, 2008) o con transformación de la enfermedad (BRAUN *et al.*, *Blood*, vol. 107(3), p: 1156-65, 2006), todavía se comprenden pobremente los defectos moleculares subyacentes. No existen actualmente marcadores biológicos, excepto rasgos morfológicos, para el diagnóstico y pronóstico tempranos.

Los MPD, denominados actualmente como neoplasias mieloproliferativas (MPN; TEFFERI y VARDIMAN, *Leukemia*, vol. 22, p: 14-22, 2008), son enfermedades mieloides crónicas que incluyen leucemia mielogenosa crónica (CML), policitemia vera (PV), trombocitemia esencial (ET), mielofibrosis primaria (PMF) y mielofibrosis idiopática (IMF). Los MPD se caracterizan por una mayor proliferación de uno o varios linajes mieloides. Si la mayoría de los MPD son enfermedades esporádicas, se han dado a conocer (GILBERT, *Baillieres Clin. Haematol.*, vol. 11, p: 849-858, 1998; KRALOVICS *et al.*, *Blood*, vol. 102, p: 3793-3796, 2003; BELLANNE-CHANTELOT *et al.*, *Blood*, vol. 108, p: 346-352, 2006) casos familiares de MPD, para los cuales se desconoce la prevalencia exacta. El análisis clínico de estos casos familiares ha demostrado que son fenotípicamente idénticos a los casos esporádicos. No obstante, las familias de MPD se caracterizan por una heterogeneidad clínica y genética. En primer lugar, los casos de MPD de una única familia pueden presentar el mismo subtipo o tipos diferentes de MPD (GILBERT, mencionado anteriormente, 1998; BELLANNE-CHANTELOT *et al.*, mencionado anteriormente, 2006; RUMI *et al.*, *Cancer*, vol. 107, p: 2206-2211, 2006). En segundo lugar, alrededor de 6-15% de pacientes con PV y 3-5% de pacientes con ET están en riesgo de desarrollar complicación hematológica después de 15 años de evolución (FINAZZI y HARRISON, *Semin. Hematol.*, vol. 42, p: 230-238, 2005; KILADJIAN *et al.*, *Blood*, vol. 112, p: 1746, 2008; PASSAMONTI *et al.*, *Blood*, vol. 111, p: 3383-3387, 2008; PASSAMONTI *et al.*, *Haematologica*, vol. 93, p: 1645-1651, 2008).

Los MPD, tanto en casos esporádicos como familiares, están habitualmente asociados con una actividad de cinasa constitutiva adquirida, como se ejemplifica por la mutación JAK2^{V617F} en policitemia vera, en la mayoría de los casos

de PV y en la mitad de los casos de ET y PMF (MORGAN y GILLIGAND, Annu. Rev. Med., vol. 59, p: 213-22, 2008; DELHOMMEAU *et al.*, Cell Mol. Life Sci., vol. 63(24), p: 2939-53, 2006, CAMPBELL y GREEN, N. Engl. J. Med., vol. 355(23), p: 2452-66, 2006; BELLANNE-CHANTELOT *et al.*, mencionado anteriormente, 2006; JAMES *et al.*, Nature, vol. 434, p: 1144-1148, 2005; BAXTER *et al.*, Lancet, vol. 365, p: 1054-1061, 2005; LEVINE *et al.*, Blood, vol. 106, p: 3377-3379, 2005; KRALOVICS *et al.*, N. Engl. J. Med., vol. 352, p: 1779-1790, 2005). Los MPD resultan frecuentemente de la expresión de una proteína tirosina cinasa constitutiva:

- A través de una fusión como *BCR-ABL* en CML, *FIP1L1-PDGFR* en HES, *TEL-PDGFRB* en CMML con hipereosinofilia, *ZNF198-FGFR1* en MPD raro acoplado a proliferación linfoide, y *PCM1-JAK2* en MPDs raros, AML y linfomas de linfocitos T
- Una mutación nucleotídica limitada o individual, es decir, *JAK2 V617F* (1849G>T), cuyo reciente descubrimiento en PV (98%), ET (75%), IMF (50%) y un pequeño porcentaje de CMML, MDS/MPD y U-MPD permite una nueva clasificación de MPD y criterios de diagnóstico y perspectivas para el tratamiento. Además, las mutaciones *KIT* son recurrentes en la proliferación de mastocitos sistémica.
- A través de mutaciones activantes en el receptor del receptor de trombopoyetina (MPL), especialmente del triptófano 515 (*MPLW515^{K/L/A}*) (PIKMAN *et al.*, PLoS Med, vol. 3(e270), 2006; CHALIGNÉ *et al.*, Leukemia, vol. 22, p. 1557-66, 2008).
- Casos marginales de CML que se presentan con reorganización *BCR/JAK2* debido a t(9;22)(p24;q11).

El gen *JAK2* en el cromosoma 9p codifica una tirosina cinasa que se asocia con receptores de citocinas tipo 1. Se predice que la mutación *V617F* interrumpe el efecto autoinhibidor del dominio JH2 a la activación constitutiva de la cinasa. *JAK2* de tipo salvaje ejerce un efecto negativo dominante sobre la actividad de la proteína mutada. Por lo tanto, la pérdida de *JAK2* de WT asociada con la duplicación del gen mutado por recombinación mitótica observada en la mayoría de las muestras de MPD permite una mayor expresión y actividad de la cinasa mutada.

Sin embargo, varias observaciones, tales como la policitemia vera que coexpresa el *JAK2* de WT y mutado y la caracterización de AML secundaria que surge de MPD mutado pero que carece de la mutación *JAK2* en las fases de erupción, indican sucesos oncogénicos que ocurren tempranamente antes de la mutación *JAK2*. Además, y como se discute previamente, la evolución de la enfermedad de MPD es de hecho muy variable en y entre familias. De este modo, existen ciertas pruebas de que existe al menos alguna otra mutación distinta de *JAK2* implicada en MPD y, más específicamente, su progresión.

Los tumores linfoides consisten en la expansión de células con rasgos linfoides. La leucemia/linfoma linfoblástica aguda son proliferación de células bloqueadas en la diferenciación linfoide, ya sea de origen T (leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T; T-ALL) o B (leucemia linfoblástica aguda de precursores de células B; BCP-ALL). Algunas leucemias y linfomas son de origen asesinas naturales (NK). Los linfomas implican la expansión de células linfoides más maduras (B o T), algunas neoplasias son crónicas, y pueden implicar linfocitos T (leucemia prolinfocítica) o células B (leucemia linfocítica crónica). La clasificación de neoplasia linfoide se basa en análisis anatomopatológicos, marcadores de diferenciación y datos de patogénesis (Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H., Thiele J.W., Vardiman J.W. (Eds): WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. IARC: Lyon 2008). Por ejemplo, los linfomas anaplásicos de linfocitos T grandes están asociados con el oncogén de fusión *NPM-ALK* (y sus variantes), los linfomas foliculares están asociados con la activación de *BCL2* tras la translocación cromosómica t(14;18)(q32;q21), los linfomas de células del manto están asociados con la activación de *CCND1* tras la translocación cromosómica t(11;14)(q13;q32). Sin embargo, muchos linfomas carecen de cualquier marcador molecular fiable, sugiriendo un mecanismo patofisiológico. Este es el caso, en particular, de más del 50% de linfomas de células B grandes difusos (DLBCL), de la mayoría de los linfomas de linfocitos T periféricos (PTCL), y de una mayoría de linfomas de bajo grado no foliculares.

Por lo tanto, existía una necesidad urgente de un marcador de diagnóstico fiable que permite identificar neoplasias linfoides y mieloides, en particular MDS y MPD, y eventualmente pronosticar su progresión.

La familia de proteínas Ten Eleven Translocation contiene tres miembros recientemente identificados, con funciones desconocidas, caracterizados por que comparten dos dominios muy conservados en su extremo C-terminal. Como se utiliza en la presente memoria, la expresión "gen de la familia TET" se refiere a miembros de la familia Ten Eleven Translocation, TET1, TET2 o TET3, que se han identificado recientemente (Lorsbach *et al.*, Leukemia 2003).

Entre ellos, TET1 es el único miembro estudiado, debido a que se ha identificado como una pareja de fusión con la proteína de leucemia de linaje mixto (MLL) en dos estudios diferentes e independientes (ONO *et al.*, Cancer Research, vol. 62(14), p: 4075-80, 2002 y LORSBACH *et al.*, Leukemia, vol. 17(3), p: 637-41, 2003). Esta proteína, también denominada LCX, o "proteína asociada a leucemia con un dominio CXXC en la región N-terminal", contiene una región de espiral enrollada α -helicoidal en su región C-terminal, región que se retiene en la fusión MLL-TET1. Por el contrario, el dominio CXXC del término N de TET1 no está presente en esta fusión proteica (Ono R, Cancer Research 2002). Las dos regiones carboxi terminales muy conservadas están incluidas en la fusión MLL-TET1

(Lorsbach *et al*, Leukemia 2003). Una región conservada está interrumpida por la translocación. La otra está fusionada a MLL. A pesar de esta descripción como una pareja de fusión de MLL 7 años atrás, recientemente se ha dado a conocer el análisis funcional y de secuencia del gen TET1, después de la fecha de prioridad de la presente solicitud.

El gen MLL está situado en el cromosoma humano 11q23, y se encuentra que está reorganizado en un grupo heterogéneo de leucemias humanas linfoides, mieloides, y de linaje mixto. Se ha descrito que más de 70 loci están reorganizados en la banda cromosómica 11q23, y al menos 50 de éstos se han clonado y caracterizado a nivel molecular. La mayoría de las reorganizaciones de MLL cartografían una base de 8,3 kb de los genes. Los genes compañeros están siempre fusionados en el marco a la parte 5' de MLL, y puede incluir el propio MLL. También se han dado a conocer amplificaciones de MLL. Los genes compañeros codifican proteínas con funciones dispares. KOJIMA *et. al.*, Leukemia, mayo de 2004, vol. 18, nº. 5, páginas 998-1005, describen que, entre ellas, se han dado a conocer previamente que tres septinas están entre las dianas para las fusiones de MLL, y este artículo identificó el gen FLJ10849 como una nueva pareja de fusión del gen MLL en una estirpe celular de leucemia mieloide humana establecida a partir de CNL en transformación blástica con t(4;11)(q21;q23). En la fusión con MLL, pueden proporcionar dominios de activación transcripcionales, reclutamiento del complejo modificador de cromatina o motivo de dimerización/oligomerización. De hecho, la expresión de una MLL-beta-galactosidasa (una proteína bacteriana capaz de tetramerizarse) o a dominio de dimerización es suficiente para inducir leucemia en modelos de ratón. Por lo tanto, no es posible interferir la función de una proteína o su implicación independiente en transformación celular a partir de su fusión a MLL (The versatile mixed lineage leukaemia gene MLL and its many associations in leukaemogenesis. Daser A, Rabbitts TH. Semin Cancer Biol. enero de 2005; 15(3):175-88. Review. Chromosomal rearrangements leading to MLL gene fusions: clinical and biological aspects. Harper DP, Aplan PD. Cancer Res. 15 de diciembre de 2008; 68(24):10024-7).

Por el contrario, se sabe poco sobre la proteína TET2, que es codificada por un gen situado en la región cromosómica 4q24, y la proteína TET3, que es codificada por un gen situado en la región cromosómica 2p12.

Más específicamente, recientemente se ha diseñado el número 2 del oncogén de Ten Eleven Translocation (TET2) (Lorsbach *et al*, Leukemia 2003). El gen TET2 situado en la región cromosómica 4q24 comprende 11 exones que se extienden a lo largo de >130 Kb, y normalmente está ampliamente expresado. Este gen se referencia con el número de acceso ID 57790, y su ADNc (número de acceso NM_001127208, SEC ID nº:1) codifica una proteína de 2002 aminoácidos (número de acceso NP_001120680, SEC ID nº:2).

La proteína TET2 comparte dos regiones muy conservadas con una única proteína ortóloga predicha de *Drosophila*. Estas regiones son i) una región de 310 aminoácidos situada próxima al centro de la proteína TET2 (aminoácidos 1134 a aminoácido 1444), y ii) una segunda región de 80 aminoácidos situada cerca del extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922) (estas regiones están resaltadas en la figura 1). La secuencia predicha de TET2 no reveló ningún motivo que corresponda a una función identificada.

Los solicitantes dan a conocer en la presente memoria que una o ambas copias del gen de Ten Eleven Translocation 2 (TET2) están a menudo inactivadas/modificadas por mutaciones adquiridas en MPD, MDS y CMML, pero también en linfoma. Estos sucesos tienen como diana la célula madre hematopoyética, e indican una función importante para TET2 como un gen supresor de tumores en neoplasias mieloides o linfoides.

Sumario de la invención

En un primer aspecto, la presente invención proporciona un método *in vitro* para diagnosticar un tumor mieloide o un tumor linfóide en un sujeto, que comprende la etapa de analizar una muestra biológica procedente de dicho sujeto:

- (i) detectando la presencia de una mutación en el gen del miembro 2 de la familia de proteínas Ten Eleven Translocation (TET2) que codifica el polipéptido que presenta la secuencia SEC ID nº:2, en el que dicha mutación se selecciona del grupo que consiste en supresiones, inserciones y mutaciones de punto, tales como mutaciones que afectan a sitios de corte y empalme, mutación de aminoácido ("missense mutation") y mutaciones finalizadoras ("nonsense mutations"), y/o

- (ii) analizando la expresión del gen TET2;

en el que la detección de tal mutación de TET2, de la ausencia de expresión de TET2, o de la expresión de una TET2 truncada es indicativa de un sujeto que desarrolla o está predispuesto a desarrollar un tumor mieloide o un tumor linfóide.

En una forma realización preferida, dicho sujeto es un mamífero, preferiblemente un ser humano.

En otra forma de realización preferida, dicho cáncer mieloide se selecciona del grupo que consiste en síndrome mielodisplásico (MDS), leucemia mieloide aguda (AML), enfermedad mieloproliferativa (MPD) y síndrome mielodisplásico/mieloproliferativo.

En todavía otra forma de realización preferida, dicho tumor linfóide se selecciona del grupo que consiste en linfoma, y más preferentemente en linfoma de linfocitos T.

- 5 Preferiblemente, dicha mutación se detecta en cada copia del gen TET2 que codifica el polipéptido que tiene la secuencia SEC ID nº:2 (codificada por el ADNc que tiene la secuencia SEC ID nº:39), y está incluida en el grupo que consiste en supresiones, inserciones y mutaciones de punto, tales como mutaciones que afectan a sitios de corte y empalme, mutaciones con falso sentido y mutaciones finalizadoras, preferiblemente mutación con falso sentido y mutaciones finalizadoras.

10 En un aspecto más preferido de la invención, la mutación es una supresión o una inserción que da como resultado la ausencia de expresión de la proteína TET2, o la expresión de una proteína TET2 truncada.

15 Incluso más preferiblemente, esta proteína TET2 truncada no comprende al menos una de las dos regiones muy conservadas compartidas por las otras proteínas TET y que corresponde a i) la región de 310 aminoácidos situada cerca del centro de la proteína TET2 (aminoácidos 1134 a aminoácido 1444, SEC ID nº:3), o ii) la región de 80 aminoácidos situada cerca del extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4), preferiblemente en la región de 80 aminoácidos situada cerca del extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4).

20 Por ejemplo, estas supresiones o inserciones se pueden seleccionar del grupo que comprende o que consiste en aquellas descritas en la Tabla I en referencia a SEC ID nº:39 para la posición de ácidos nucleicos, y a SEC ID nº:2 para la posición de aminoácidos.

25 Tabla I

Cambio de nucleótido	Consecuencia
del1264_1666	p.Glu135 FS
delC 1642	p.Ser261 FS
del1893_1896	p.Lys345FS
delC 2448	p.Gln530 FS
delA 2505	p.Thr549 FS
delC 2524	p. Pro555 FS
Ins 2540_2544	p.Leu560FS
delT 2685	p.Ser609 FS
delA 2815	p.Gln652FS
del 2834_2835	p.His658 FS
delA 2935	p.Glu692 FS
delT 2944	p.Leu699 STOP
delG 2994	p.Glu711 FS
delC 3009	p.His717 FS
insA 3009	p.His717 FS
del 3131_3137	p. Leu757 FS
insC 3151	p.Gln764 FS
delA 3166	p.Gln769 FS
delT3215	p.Phe785 FS
insA3350	p.Gln831FS
insT3995	p.Glu846 FS
delA3430	p.Asn857FS
insT 3465	p.Pro869 FS
insA 5757	p.Gln891 STOP
insCT 3581	pGly 908 FS
del CA 3756_3757	p.Gln966 FS
dupT 3914	p.Glu1026 STOP
delT 3998	p.Leu1046FS
delA 4130	p.Lys1090 FS
delG 4271	p.Glu1137 FS
delA4327	p.Asn1156 FS
delG 4527	p.Ala1223 FS
-	p.del 1237-1239
delG 4932	p.Glu1357 FS
insG 5119	p.Leu 1420 FS
delG 5133	p.Asp 1425 FS
insA 5177	p.Arg1440FS

Cambio de nucleótido	Consecuencia
dupA 5177	p.Arg 1440FS
delC 5222	p.Leu1457 STOP
del5521_5524	pThr1554 FS
insA 5540	p.Tyr1560 FS
del 5583_5605	p.Pro1575FS
delT 5570	p.Leu1637 FS
del5828_5843	p.Met1656 FS
del6049_6050	p.Asp1830 FS
delC 6360	p.Gln1834 FS
del6396_6531	p.Val1846 FS
delA 6507	p.Thr1883 FS
insC 6507	p.Thr1883 FS
del6511_6512	p.Pro1885FS
DelC 6555	p. Leu1889FS
sitio de corte y empalme insC	mutación de sitio de corte y empalme exón 8
Del: supresión; ins: inserción; FS: desplazamiento del marco	

En otro aspecto más preferido de la invención, la mutación es una mutación de aminoácido, que está situada en el marco de lectura abierto de la proteína TET2, preferiblemente en al menos una de las dos regiones muy conservadas compartidas por las proteínas TET y que corresponde a i) la región de 310 aminoácidos situada cerca del centro de la proteína TET2 (aminoácidos 1134 a aminoácido 1444, SEC ID nº:3), y ii) la región de 80 aminoácidos situada cerca del extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4), y más preferiblemente en la región de 80 aminoácidos situada cerca del extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4). Por ejemplo, estas mutaciones de aminoácido se pueden seleccionar del grupo que comprende o que consiste en I1175V, L1197N, H1219Y, E1235V, C1271W, K1299E, L1340P, R1302G, G1370E, A1344E, N1387S, V1417F, H1868R, G1869W, L1872P, I1873T, R1896M, y S1898F, preferiblemente se pueden seleccionar del grupo que comprende o que consiste en L1197N, H1219Y, E1235V, C1271W, K1299E, L1340P, R1302G, G1370E, A1344E, N1387S, H1868R, G1869W, L1872P, I1873T, R1896M, y S1898F, y más preferiblemente del grupo que comprende o que consiste en H1868R, G1869W, L1872P, I1873T, R1896M, y S1898F.

En otro aspecto más preferido de la invención, la mutación es una mutación finalizadora, que está situada en el marco de lectura abierto de la proteína TET2, preferiblemente antes o dentro de al menos una de las dos regiones muy conservadas compartidas por las proteínas TET y que corresponde a i) la región de 310 aminoácidos situada cerca del centro de la proteína TET2 (aminoácidos 1134 a aminoácido 1444, SEC ID nº:3), y ii) la región de 80 aminoácidos situada cerca del extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4), y más preferiblemente antes o dentro de la región de 80 aminoácidos situada cerca del extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4). Por ejemplo, dichas mutaciones finalizadoras se pueden seleccionar del grupo que comprende o consiste en Q232Stop, Q321Stop, S354Stop, Q417Stop, R544Stop, R550Stop, Q557Stop, Q574Stop, Q635Stop, Q642Stop, Q685Stop, L699Stop, S792Stop, Q891Stop, Q943Stop, E1026Stop, R1067Stop, R1216Stop, Y1225Stop, R1404Stop, L1457Stop, R1465Stop, R1516Stop, Q1524Stop, Q1542Stop, N1624Stop, Y1724Stop, Y1751Stop, L1819Stop, Q1834Stop y W1847Stop.

En otro aspecto de la invención, la mutación en el gen TET2 induce ausencia de expresión o subexpresión del polipéptido que tiene la secuencia SEC ID nº:2, y más preferiblemente la ausencia de expresión o subexpresión de al menos una de las dos regiones muy conservadas compartidas por las proteínas TET y que corresponde a i) la región de 310 aminoácidos situada cerca del centro de la proteína TET2 (aminoácidos 1134 a aminoácido 1444, SEC ID nº:3), y ii) la región de 80 aminoácidos situada cerca del extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4), más preferiblemente la región de 80 aminoácidos situada cerca del extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4).

En un segundo aspecto, la presente descripción se refiere al uso de un kit para diagnosticar un cáncer mieloide o linfóide en un sujeto, que comprende al menos una sonda de ácido nucleico u oligonucleótido o al menos un anticuerpo, que se puede usar en un método como se define previamente para detectar la presencia de una mutación en el gen TET2 y/o analizar la expresión del gen TET2.

En una forma de realización preferida de la invención, dicho oligonucleótido es al menos un cebador de PCR, y preferiblemente un conjunto de cebadores de PCR, que permite amplificar una región del gen TET2.

Más preferiblemente, dicho conjunto de cebadores se selecciona del grupo que comprende SEC ID nº:5 a SEC ID nº:38 (véanse los ejemplos).

La descripción proporciona también el uso de un agente hipometilante para tratar un paciente que sufre un tumor mielóide o linfóide, para cuyo tumor se ha detectado una mutación de TET2, una ausencia de la expresión de TET2, o una expresión de una TET2 truncada.

En un aspecto final, la presente descripción se refiere a un método para tratar a un sujeto que sufre un tumor mielóide o linfóide, para cuyo tumor se ha detectado una mutación de TET2, una ausencia de la expresión de TET2, o una expresión de una TET2 truncada, comprendiendo dicho método la etapa de administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente hipometilante.

Breve descripción del dibujo

La figura 1 muestra la secuencia proteica de TET2 (SEC ID nº:2), resaltando las regiones conservadas entre especies (negrita).

La figura 2 muestra las trazas de secuencia obtenidas secuenciando los productos de PCR obtenidos para muestras obtenidas de dos pacientes A y E, que muestran que la mutación ocurre solo en las muestras tumorales y no en las muestras no tumorales (NT), y linfocitos de sangre periférica (PBL). R corresponde a la secuencia obtenida con el cebador inverso, y F corresponde a la obtenida con el cebador directo. WT corresponde a la secuencia obtenida en individuos sanos.

La figura 3 muestra que, en muestras de MDS, se observa TET2 mutada en células CD34⁺ inmaduras, y se asocia con expansión in vivo del clon mutado.

La figura 4 muestra que células madre hematopoyéticas de MPD JAK2^{V617F} positivas con defectos en TET2 presentan capacidades repoblantes NOD/SCID potenciadas.

La figura 5 muestra las localizaciones de algunas de las mutaciones identificadas del gen TET2 distribuidas a lo largo de la secuencia proteica. Las regiones conservadas están marcadas con tiras grises. Las puntas de flechas indican la localización de las fronteras de exones. FS: desplazamiento del marco.

La figura 6 muestra una representación esquemática del gen y proteína TET2 que muestra las mutaciones identificadas en neoplasias mieloproliferativas familiares. Las cajas sombreadas indican exones. Las mutaciones truncantes se representan como estrellas, las mutaciones de aminoácido como triángulos invertidos. Los dominios funcionales conservados se representan como cajas en el esquema proteico. fs: desplazamiento del marco.

La figura 7 muestra el estudio secuencial de TET2 y JAK2 en paciente P4 (F3). Se muestran electroforegramas de secuencias para cada mutación TET2 y para JAKV617F. El diagrama en la izquierda indica el lapso de tiempo desde el diagnóstico (en años) y el fenotipo correspondiente para cada muestra (blanco: ET; gris: PV; sombreado: MF post-ET; negro: AML).

La figura 8 muestra la representación esquemática del estado clínico de los doce pacientes con al menos una mutación de TET2. Las cajas blancas representan etapas de ET; las grises, PV; el sombreado transversal indica mielofibrosis, ya sea primaria (inclinada a la izquierda) o post-PV/ET (inclinada a la derecha); y AML se simbolizan como cajas negras. Encima de cada punta de flecha que indica un análisis molecular se anota la mutación correspondiente de TET2. La duración de la enfermedad (en años) se indica debajo de las barras, indicando el punto "cero" el tiempo de diagnóstico. El tiempo de la muerte se simboliza como una línea vertical, cuando sea apropiado, en el extremo a la derecha.

La figura 9 muestra los genotipos de TET2 y JAK2 en progenitores comprometidos de pacientes P2, P3 y P4. Los histogramas muestran la fracción de clones que albergan JAKV617F y dos mutaciones de TET2 (sombreado transversal) JAK2V617F y una mutación de TET2 (blanco), JAK2 de tipo salvaje y dos mutaciones de TET2 (gris claro), JAK2V617F y TET2 de tipo salvaje (gris), y ninguna mutación en ninguno de los dos genes (negro). Se analizaron dos muestras para el paciente P4; la etapa correspondiente se indica debajo de cada barra. Se indican los números de clones analizados.

La figura 10 muestra el estado clínico y los genotipos de TET2 en pacientes con MDS. Las cajas blancas representan MDS de grado bajo/int-1, las cajas sombreadas representan MDS de grado int-2/elevado, y las cajas negras representan AML secundaria.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se basa en el descubrimiento por los presentes inventores de que los alelos de TET2 son a menudo elegidos genéticamente como dianas mediante mutaciones y/o supresiones en células tumorales en pacientes que sufren tumor linfóide o tumor mielóide, tal como MPD, AML o MDS, y se pueden considerar como un gen supresor de tumores fiable de neoplasias mieloides humanas.

En un primer aspecto, se informa que, para cáncer esporádico, las frecuencias de mutación de TET2 en series de pacientes sin seleccionar fueron 12% en MPD, 18,5% en MDS, 24% en sAML hasta 50% en pacientes con CMML. También, se demostró que TET2 es un gen supresor de tumores en trastornos de neoplasias mieloides, debido a que las células madre hematopoyéticas mutadas están dotadas de una ventaja de crecimiento que conduce a la proliferación potenciada.

En un segundo aspecto, se demostró mediante un análisis de 61 casos de MPD familiar (es decir, PV, ET, y PMF) que las anormalidades del gen TET2 se encuentran en 20% de los tres fenotipos de MPD principales (PV, ET, y PMF), con una mayor prevalencia en PMF (42%).

Entre los pacientes positivos para TET2 diagnosticados con PV o ET, 77% desarrollaron mielofibrosis (MF), sugiriendo que la presencia de sucesos adquiridos de TET2 influye en la evolución de la enfermedad. En cuatro pacientes (3 PV y 1 ET), se pudo demostrar que el defecto de TET2 precedía de uno a 7 años la complicación hematológica. Los pacientes con un defecto en TET2 tienen tendencia a evolucionar a MF. Esto sugirió altamente una posible relación entre las mutaciones adquiridas de TET2 y la gravedad de la enfermedad, más específicamente entre TET2 y el desarrollo de MF.

En un tercer aspecto, se da a conocer que, para cáncer esporádico, las frecuencias de mutación de TET2 en pacientes que sufren tumor linfóide de linfocitos T fue ~20%. Finalmente, se observaron reorganizaciones de TET2 en pacientes que sufren tumor linfóide de células B.

De este modo, en un primer aspecto de la invención, se proporciona un método *in vitro* para diagnosticar un tumor mielóide o un tumor linfóide en un sujeto, que comprende la etapa de analizar una muestra biológica procedente de dicho sujeto:

(i) detectando la presencia de una mutación en el gen del miembro 2 de la familia de proteínas Ten Eleven Translocation (TET2) que codifica el polipéptido que tiene una secuencia SEC ID n°:2, y/o

(ii) analizando la expresión del gen TET2;

en el que la detección de una mutación de TET2, de la ausencia de expresión de TET2, o de la expresión de una TET2 truncada es indicativa de un sujeto que desarrolla o que está predispuesto a desarrollar un tumor mielóide o un tumor linfóide.

Pruebas recientes indican que las proteínas de la familia TET codifican enzimas responsables de la conversión de 5-metilcitosina en 5-hidroximetilcitosina (TAHILIANI *et al.*, Scienceexpress, 2009), y de este modo tienen papeles potenciales en la desmetilación de CpG y regulación epigenética. Además, esta referencia estableció que los dominios de TET conservados, en los que se observan la mayoría de las mutaciones de TET2, están implicados en esta actividad.

Concomitantemente, varios trabajos han establecido, en los últimos años, un papel para agentes hipometilantes en MDS (ITZYKSON Y FENAU, - Current Opinion in Hematology, vol. 16, p: 77-83, 2009) y otros tumores mieloides/linfoides (KUENDGEN *et al.*, Annals of Hematology, agosto de 2008, vol. 87, n° 8, p. 601-611 y JABBOUR *et al.*, Cancer, junio de 2008, vol. 112, n° 11, página 2348).

Los resultados de los inventores sugieren ahora que la eficiencia observada del agente hipometilante en algún MDS resulta potencialmente de un defecto de desmetilación en MDS con mutaciones de TET2.

De este modo, los resultados de los inventores sugieren además el uso de agente hipometilante en sujetos que sufren tumor linfóide o mielóide, tal como MDS, para cuyo tumor se ha detectado una mutación de TET2, una ausencia de expresión de TET2, o una expresión de una TET2 truncada.

Consiguientemente y según una forma de realización preferida, la detección de una mutación de TET2, de la ausencia de expresión de TET2, o de la expresión de una TET2 truncada es indicativa de un sujeto que desarrolla un tumor mielóide o un tumor linfóide que sufre un defecto de desmetilación, sujeto el cual se puede tratar ventajosamente con un agente hipometilante, tal como azacitidina (AZA).

Preferiblemente, el método de la invención está dedicado a diagnosticar tumores mieloides.

De hecho, los inventores han establecido que la frecuencia de mutaciones de TET2 en pacientes que sufren tumor mielóide o tumor linfóide es mayor que 10%.

La presente invención proporciona además un método para la detección de la presencia o ausencia de células que tienen el potencial para evolucionar hacia neoplasias mieloides invasivas o hacia tumores linfoides invasivos, aunque esas células no sean detectables como una lesión o precursor por medios convencionales.

Como se utiliza en la presente memoria, el término “sujeto” se refiere a un mamífero, preferiblemente un ser humano.

5 Dicho sujeto puede ser un sujeto sano, pero el método de la invención es particularmente útil para evaluar un sujeto que se piensa que desarrolla o está predispuesto a desarrollar un cáncer mieloide (es decir, tumor mieloide) o un tumor linfoide. En ese caso, el método de la invención permite confirmar que dicho sujeto desarrolla o está predispuesto a desarrollar un cáncer mieloide (es decir, un tumor mieloide) o un tumor linfoide.

10 Más preferiblemente, dicho tumor linfoide se selecciona del grupo que consiste en linfoma, tal como linfoma de linfocito T o de célula B, y más preferentemente de linfoma de linfocito T.

Todavía más preferiblemente, dicho cáncer mieloide (es decir, tumor mieloide) se selecciona del grupo que consiste en síndrome mielodisplásico (MDS), leucemia mieloide aguda (AML), trastornos mieloproliferativos (MPD) y
15 síndrome mielodisplásico/mieloproliferativo. Ventajosamente, dicho cáncer mieloide es un síndrome mielodisplásico/mieloproliferativo, y preferiblemente una leucemia mielomonocítica crónica (CMML).

Según una forma de realización preferida, el método de la invención es para diagnosticar una mielofibrosis (MF) en un sujeto, en el que dicho sujeto sufre policitemia vera (PV) o trombocitemia (ET), y en el que la detección de una mutación de TET2 o la subexpresión de TET2 es indicativa de un sujeto que desarrolla o está predispuesto a
20 desarrollar una mielofibrosis (MF).

Según todavía otra forma de realización preferida, el sujeto sufre síndrome mielodisplásico (MDS), y la detección de una mutación de TET2 o la sobreexpresión de TET2 es indicativa de un sujeto con un buen pronóstico.

25 Como se utiliza en la presente memoria, un buen pronóstico corresponde a un paciente que sufre MDS y que tiene un riesgo reducido de desarrollar una AML.

30 De hecho, los inventores han establecido que la supervivencia a cinco años aumentó significativamente en pacientes con TET2 mutado que sufren MDS, en comparación con pacientes no mutados ($p < 0,05$).

Como se utiliza en la presente memoria, la expresión “muestra biológica” se refiere a tejidos sólidos tales como, por ejemplo, una biopsia de pulmón; frotis bucal, fluidos y excreciones tales como, por ejemplo, esputo, esputo inducido, sangre, suero, plasma, orina. Preferiblemente, dicha muestra biológica es una muestra de médula ósea.

35 En este aspecto de la invención, el método comprende la etapa de detectar la presencia de una mutación en el gen TET2 que codifica el polipéptido que tiene la secuencia SEC ID n°:2.

Como se utiliza en la presente memoria, el término “mutaciones” corresponde a cualquier modificación en la secuencia de la secuencia de ácido nucleico original. Estas mutaciones comprenden mutaciones a pequeña escala, o mutaciones a gran escala. Las mutaciones a pequeña escala son aquellas que afectan a un gen en uno o unos pocos nucleótidos, incluyendo mutaciones de punto, inserciones o supresiones de uno o más nucleótidos extra en el ADN. Las mutaciones de punto pueden ser mutación silenciosa, de aminoácido, y finalizadora. La mutación a gran
40 escala en la estructura genómica, tal como duplicación de genes, supresiones, o mutaciones cuyo efecto es yuxtaponer trozos previamente separados de ADN, juntando potencialmente genes separados para formar genes de fusión funcionalmente distintos. Estas últimas mutaciones incluyen translocaciones cromosómicas, supresiones intersticiales, inversiones cromosómicas y pérdida de heterocigosidad.

Preferiblemente, solo se requiere una muestra biológica que contenga células que incluyan ADN genómico (u opcionalmente ARN) del sujeto que se debe evaluar.

Preferiblemente, esta etapa de detección se realiza en cada alelo del gen TET2. De hecho, el diagnóstico es más fiable cuando la mutación se detecta en cada alelo del TET2 que codifica el polipéptido que tiene la secuencia SEC ID n°:2.

55 En una forma de realización particular, el método *in vitro* de la invención pretende detectar la mutación incluida en el grupo que consiste en supresiones, inserciones y mutaciones de punto, tales como mutaciones que afectan a sitios de corte y empalme, mutación de aminoácido y mutaciones finalizadoras, preferiblemente mutación de aminoácido y mutaciones finalizadoras.

60 Se ha establecido que la existencia de tales mutaciones está asociada con cáncer mieloide o linfoma. Además, se observó que el dominio C-terminal polipeptídico de la proteína TET2 está seleccionada preferentemente como diana por las mutaciones dañinas en los pacientes estudiados (véanse los ejemplos).

65 Para la supresión o inserción, dicha supresión o inserción da preferiblemente como resultado la ausencia de expresión de la proteína TET2 o la expresión de una proteína TET2 truncada, proteína TET2 truncada la cual no

comprende al menos una de las dos regiones muy conservadas compartidas por las otras proteínas TET y que corresponde a i) la región de 310 aminoácidos situada cerca del centro de la proteína TET2 (aminoácidos 1134 a aminoácido 1444, SEC ID nº:3), o ii) la región de 80 aminoácidos situada cerca del extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4). Más preferiblemente, dicha proteína TET2 truncada no comprende la región de 80 aminoácidos situada cerca del extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4).

Por ejemplo, estas supresiones o inserciones se pueden seleccionar en aquellas descritas en la tabla 1.

Para la mutación de aminoácido, dicha mutación de aminoácido está situada preferiblemente en el marco de lectura abierto de la proteína TET2, y preferiblemente en al menos una de las dos regiones muy conservadas compartidas por las proteínas TET y que corresponde a i) la región de 310 aminoácidos situada cerca del centro de la proteína TET2 (aminoácidos 1134 a aminoácido 1444, SEC ID nº:3), y ii) la región de 80 aminoácidos situada cerca del extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4).

Como ejemplo, dichas mutaciones de aminoácido se seleccionan del grupo que comprende o consiste en I1175V, L1197N, H1219Y, E1235V, C1271W, K1299E, L1340P, R1302G, G1370E, A1344E, N1387S, V1417F, H1868R, G1869W, L1872P, I1873T, R1896M, y S1898F; preferiblemente del grupo que comprende o consiste en I1175V, L1197N, H1219Y, E1235V, C1271W, K1299E, L1340P, R1302G, G1370E, A1344E, N1387S, H1868R, G1869W, L1872P, I1873T, R1896M, y S1898F.

Más preferiblemente, dicha mutación de aminoácido está situada en la región de 80 aminoácidos situada cerca del extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4). Incluso más preferiblemente, dichas mutaciones de aminoácido se seleccionan del grupo que comprende o que consiste en H1868R, G1869W, L1872P, I1873T, R1896M, y S1898F, como un ejemplo I1873T, R1896M, y S1898F.

Para la mutación finalizadora, dicha mutación finalizadora da preferiblemente como resultado la introducción de una mutación de parada en el marco de lectura abierto de la proteína TET2, y preferiblemente antes de al menos una de las dos regiones muy conservadas compartidas por la proteína TET2 que corresponde a i) la región de 310 aminoácidos situada cerca del centro de la proteína TET2 (aminoácidos 1134 a aminoácido 1444, SEC ID nº:3), o ii) la región de 80 aminoácidos situada cerca del extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4).

Como ejemplo, dichas mutaciones finalizadoras se seleccionan del grupo que comprende o que consiste en Q232Stop, Q321Stop, S354Stop, Q417Stop, R544Stop, R550Stop, Q557Stop, Q574Stop, Q635Stop, Q642Stop, Q685Stop, L699Stop, S792Stop, Q891Stop, Q943Stop, E1026Stop, R1067Stop, R1216Stop, Y1225Stop, R1404Stop, L1457Stop, R1465Stop, R1516Stop, Q1524Stop, Q1542Stop, N1624Stop, Y1724Stop, Y1751Stop, L1819Stop, Q1834Stop y W1847Stop; preferiblemente del grupo que comprende o que consiste en Q321Stop, S354Stop, R544Stop, Q557Stop, R1216Stop, e Y1724Stop.

También, dicha mutación finalizadora puede dar como resultado la introducción de una mutación de parada dentro de al menos una de las dos regiones muy conservadas compartidas por la proteína TET2 que corresponde a i) la región de 310 aminoácidos situada cerca del centro de la proteína TET2 (aminoácidos 1134 a aminoácido 1444, SEC ID nº:3), o ii) la región de 80 aminoácidos situada cerca del extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4).

Más preferiblemente, dicha mutación finalizadora da como resultado la introducción de una mutación de parada en el marco de lectura abierto de la proteína TET2 antes de la región de 80 aminoácidos situada cerca del extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4). Como ejemplo, dicha mutación finalizadora se selecciona del grupo que comprende o que consiste en Q232Stop, Q321Stop, S354Stop, Q417Stop, R544Stop, R550Stop, Q557Stop, Q574Stop, Q635Stop, Q642Stop, Q685Stop, L699Stop, S792Stop, Q891Stop, Q943Stop, E1026Stop, R1067Stop, R1216Stop, Y1225Stop, R1404Stop, L1457Stop, R1465Stop, R1516Stop, Q1524Stop, Q1542Stop, N1624Stop, Y1724Stop, Y1751Stop, L1819Stop, y Q1834Stop.

También, dicha mutación finalizadora puede dar como resultado la introducción de una mutación de parada en el marco de lectura abierto de la proteína TET2 dentro de la región de 80 aminoácidos situada cerca del extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4). Como ejemplo, dicha mutación finalizadora es W1847Stop.

Las técnicas típicas para detectar la presencia de una mutación pueden incluir polimorfismo de longitud de fragmento de restricción, técnicas de hibridación, secuenciación de ADN, resistencia a exonucleasas, microsecuenciación, extensión en fase sólida usando ddNTPs, extensión en disolución usando ddNTPs, ensayos de ligación de oligonucleótidos, métodos para detectar polimorfismos de un solo nucleótido tales como hibridación

dinámica específica de alelo, reacción en cadena de ligación, minisecuencia, "chips" de ADN, hibridación de oligonucleótidos específicos de alelo con sondas marcadas individualmente o dualmente combinada con PCR o con balizas moleculares, y otros.

- 5 Ventajosamente, la alteración se detecta en el ADNc o ADN del gen TET2 mediante PCR y secuenciación, matriz de SNP o CGH, siendo todas ellas bien conocidas por la persona experta.

10 En biología molecular y bioinformática, una matriz de SNP es un tipo de micromatriz de ADN que se usa para detectar polimorfismos en una población. Los principios básicos de la matriz de SNP son los mismos que los de la micromatriz de ADN. Éstos son la convergencia de hibridación de ADN, microscopía de fluorescencia, y captura de ADN en superficie sólida. Los tres componentes obligatorios de las matrices de SNP son: i) la matriz que contiene secuencias o dianas de ácido nucleico inmovilizadas; ii) una o más sondas de oligonucleótidos específicos de alelo (ASO) marcadas; y (iii) un sistema de detección que registra e interpreta la señal de hibridación (véase en Sheils, O., Finn, S. y O'Leary J. (2003) "Nucleic acid microarray: an overview." *Current Diagnostic Pathology*. 9:155-158).

15 La hibridación genómica comparativa (CGH) es un método citogenético molecular de identificación de un tumor en busca de cambios genéticos. Las alteraciones se clasifican como ganancias y pérdidas de ADN, y revelan un patrón característico que incluye mutaciones a niveles cromosómicos y subcromosómicos. El método se basa en la hibridación de ADN tumoral marcado fluorescentemente (frecuentemente fluoresceína (FITC)) y ADN normal (frecuentemente rodamina o Rojo Texas) a preparaciones de metafase humana normal. Usando microscopía de epifluorescencia y análisis de imágenes cuantitativo, se pueden detectar diferencias regionales en la relación de fluorescencia de ganancias/pérdidas frente a ADN de control, y se pueden usar para identificar regiones anormales en el genoma. CGH detectará solamente cambios de cromosomas desequilibrados. Habitualmente no se pueden detectar aberraciones cromosómicas estructurales, tales como translocaciones o inversiones recíprocas balanceadas, ya que no cambian sistemáticamente el número de copias (Emanuel BS, Saitta SC. *From microscopes to microarrays: dissecting recurrent chromosomal rearrangements*. *Nat Rev Genet*. 2007 Nov;8(11):869-83. *Repaso*).

20 En otra forma de realización preferida de la invención, el método comprende la etapa de analizar la expresión del gen del miembro 2 de la familia TET (TET2).

30 Según los resultados obtenidos por los inventores, la ausencia de expresión o la subexpresión de la proteína TET2, o la expresión de una proteína TET2 truncada como se describe previamente, está asociada con cáncer mieloide.

35 Los métodos para analizar la expresión de un gen son bien conocidos por el experto en la materia.

En una forma de realización particular de la invención, la expresión del gen TET2 se evalúa analizando la expresión del transcrito de ARNm o precursores de ARNm, tales como ARN naciente, de dicho gen.

40 Tal análisis se puede evaluar preparando ARNm/ADNc de células en una muestra biológica procedente de un sujeto, e hibridando el ARNm/ADNc con polinucleótido de referencia. El ARNm/ADNc preparado se puede usar en ensayos de hibridación o de amplificación que incluyen, pero no se limitan a, análisis Southern o Northern, análisis de reacción en cadena de la polimerasa, tal como PCR cuantitativa (TAQMAN), y matrices de sondas tales como GENECHIP™ DNA (AFFYMETRIX).

45 Ventajosamente, el análisis del nivel de expresión de ARNm transcrito a partir del gen TET2 implica el proceso de amplificar ácido nucleico, por ejemplo mediante RT-PCR (la realización experimental se expone en la patente U.S. nº 4.683.202), la reacción en cadena de ligasa (BARANY, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol.88, p: 189-193, 1991), la replicación de secuencia autosostenida (GUATELLI *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 87, p: 1874-1878, 1990), sistema de amplificación transcripcional (KWOH *et al.*, 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 86, p: 1173-1177, 1989), Q-Beta Replicase (LIZARDI *et al.*, *Biol. Technology*, vol. 6, p: 1197, 1988), replicación de círculo rodante (patente U. S. nº 5.854.033) o cualquier otro método de amplificación del ácido nucleico, seguido de la detección de las moléculas amplificadas usando técnicas bien conocidas por aquellos de pericia en la técnica. Estos esquemas de detección son especialmente útiles para la detección de moléculas de ácido nucleico si tales moléculas están presentes en números muy bajos. Como se usa en la presente memoria, los cebadores de amplificación se definen como un par de moléculas de ácido nucleico que se pueden hibridar a regiones 5' o 3' de un gen (hebras más y menos, respectivamente, o viceversa) y contienen una región corta entre medias. En general, los cebadores de amplificación tienen una longitud de aproximadamente 10 a 30 nucleótidos, y flanquean una región de aproximadamente 50 a 200 nucleótidos de longitud. En condiciones apropiadas y con reactivos apropiados, tales cebadores permiten la amplificación de una molécula de ácido nucleico que comprende la secuencia nucleotídica flanqueada por los cebadores.

50 En otra forma de realización particular, la expresión del gen TET2 se evalúa analizando la expresión de la proteína TET2 traducida a partir de dicho gen.

65 Tal análisis se puede evaluar usando un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo radiomarcado, marcado con cromóforo, marcado con fluoróforo, o marcado con enzima), un derivado de anticuerpo (por ejemplo, un conjugado

de anticuerpo con un sustrato o con la proteína o ligando de una proteína de un par proteína-ligando (por ejemplo, biotina-estreptavidina)), o un fragmento de anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monocatenario, un dominio hipervariable de anticuerpo aislado, etc.) que se une específicamente a la proteína TET2. Dicho análisis se puede evaluar mediante una variedad de técnicas bien conocidas por un experto en la materia, incluyendo, pero sin limitarse a, inmunoensayo enzimático (EIA), radioinmunoensayo (RIA), análisis de transferencia Western, y ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima (ELISA).

Los anticuerpos policlonales se pueden preparar inmunizando un animal adecuado, tal como ratón, conejo o cabra, con la proteína TET2 (SEC ID n°:2) o un fragmento de la misma (por ejemplo, al menos 10 o 15 aminoácidos). El título de anticuerpos en el animal inmunizado se puede monitorizar a lo largo del tiempo mediante técnicas estándar, tal como con un ELISA que usa polipéptido inmovilizado. En un momento apropiado tras la inmunización, por ejemplo cuando los títulos del anticuerpo específico son los más elevados, se pueden obtener células productoras de anticuerpo a partir del animal y se pueden usar para preparar anticuerpos monoclonales (mAb) mediante técnicas estándares, tales como la técnica de hibridoma descrita originalmente por KOHLER y MILSTEIN (*Nature*, vol. 256, p:495-497, 1975), la técnica de hibridoma de células B humanas (KOZBOR *et al.*, *Immunol.*, vol. 4, p: 72, 1983), la técnica de hibridoma de EBV (COLE *et al.*, *En Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc., p: 77-96, 1985) o técnicas de trioma. La tecnología para producir hibridomas es bien conocida (véase generalmente *Current Protocols in Immunology*, COLIGAN *et al.* ed., John Wiley & Sons, Nueva York, 1994). Las células de hibridoma que producen el anticuerpo monoclonal deseado se detectan mediante identificación de los sobrenadantes de cultivo de hibridoma para anticuerpos que se unen al polipéptido de interés, por ejemplo usando una ELISA estándar.

Como se menciona anteriormente, las mutaciones en el gen TET2 pueden desencadenar la ausencia de expresión o la subexpresión de la proteína TET2.

Como se usa en la presente memoria, la "subexpresión" de un polipéptido se produce cuando la transcripción y/o la traducción del gen está afectada por la mutación, conduciendo a un nivel de expresión en la muestra biológica que es menor que el error estándar del ensayo utilizado para evaluar la expresión, y es preferiblemente al menos 20% inferior al nivel normal de expresión de dicho gen, preferiblemente al menos 50% inferior al nivel normal de expresión de dicho gen, y lo más preferible al menos 100% inferior al nivel normal de expresión de dicho gen.

Por lo tanto, el método de la invención puede comprender comparar el nivel de expresión del gen TET2 en una muestra biológica procedente de un sujeto con su nivel de expresión en un control (es decir, nivel de expresión normal). Un nivel significativamente menor de expresión de dicho gen en la muestra biológica de un sujeto en comparación con el nivel de expresión normal es indicativo de que el paciente puede desarrollar una neoplasia mieloide.

Como se utiliza en la presente memoria, un "control" corresponde preferiblemente a una muestra de control que comprende células no tumorales. Preferiblemente, dicho control corresponde a leucocitos de sangre periférica (PBL), y todavía más preferentemente a un leucocito de sangre periférica inmortalizado con el virus de Epstein Barr.

De este modo, el nivel "normal" de expresión del gen TET2 es el nivel de expresión de dicho gen en una muestra biológica de célula no tumoral. Preferiblemente, dicho nivel normal de expresión se evalúa en una muestra de control y, preferiblemente, el nivel de expresión promedio de dicho gen en varias muestras de control.

El análisis de la expresión normal del gen TET2 se puede evaluar mediante cualquiera de entre una variedad amplia de métodos bien conocidos para detectar la expresión de un ácido nucleico transcrito o de una proteína traducida como se describe anteriormente.

En una forma de realización preferida de la invención, dicha mutación en el gen TET2 induce la ausencia de expresión o subexpresión de las dos regiones muy conservadas compartidas por las proteínas TET2 y corresponde a i) la región de 310 aminoácidos situada cerca del centro de la proteína TET2 (aminoácidos 1134 a aminoácido 1444, SEC ID n°:3), y ii) la región de 80 aminoácidos situada cerca del extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID n°:4), y más preferiblemente de la región de 80 aminoácidos situada cerca del extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID n°:4).

En un segundo aspecto, la presente invención se refiere al uso de un kit para diagnosticar cáncer mieloide o cáncer linfóide en un sujeto, comprendiendo dicho kit al menos una sonda de ácido nucleico u oligonucleótido o al menos un anticuerpo, que se puede usar en un método como se define en la presente invención, para detectar la presencia de una mutación en el gen TET2 y/o analizar la expresión del gen TET2.

Preferiblemente, el oligonucleótido es al menos un cebador de PCR, preferiblemente se proporciona un conjunto de cebadores de PCR, que permite amplificar el gen TET2 o un fragmento del mismo. El experto en la materia proporciona fácilmente tal oligonucleótido o conjunto de cebadores de PCR que permiten amplificar una región del gen TET2, con la condición de que la secuencia de ácido nucleico de TET2 sea bien conocida (número de Acceso

NM_001127208, SEC ID nº:1) (Current Protocols in Molecular Biology; editado por Fred M. Ausubel *et al.*, más arriba).

En una forma de realización preferida, el kit comprende al menos un cebador de PCR seleccionado del grupo que comprende SEC ID nº:5 a SEC ID nº:38 (véanse los ejemplos y el listado de secuencia) para detectar la presencia de una mutación en el gen TET2 y/o analizar la expresión de dicho gen.

Como se utiliza en la presente memoria, el término "kit" se refiere a cualquier sistema de suministro para suministrar materiales. En el contexto de los ensayos de reacción, tales sistemas de suministro incluyen sistemas que permiten el almacenamiento, transporte, o suministro de reactivos de reacción (por ejemplo, oligonucleótidos, enzimas, etc., en los recipientes apropiados) y/o materiales de soporte (por ejemplo, tampones, instrucciones escritas para llevar a cabo el ensayo, etc.) desde una localización a otra. Por ejemplo, los kits incluyen uno o más recintos (por ejemplo, cajas) que contienen los reactivos de reacción relevantes y/o materiales de soporte. Como se utiliza en la presente memoria, la expresión "kit fragmentado" se refiere a sistemas de suministro que comprenden dos o más recipientes separados que contienen cada uno una subporción de los componentes totales del kit. Los recipientes se pueden suministrar al receptor pretendido juntos o separadamente. Por ejemplo, un primer recipiente puede contener una enzima para uso en un ensayo, mientras que un segundo recipiente contiene oligonucleótidos. La expresión "kit fragmentado" pretende comprender kits que contienen reactivos específicos para el analito (ASRs) regulados bajo la sección 520(e) del Federal Food, Drug, and Cosmetic Act, pero no se limitan a ellos. De hecho, cualquier sistema de suministro que comprende dos o más recipientes separados que contienen cada uno una subporción de los componentes totales del kit está incluido en el término "kit fragmentado". Por el contrario, un "kit combinado" se refiere a un sistema de suministro que contiene todos los componentes de un ensayo de reacción en un único recipiente (por ejemplo, en una única caja que aloja cada uno de los componentes deseados). El término "kit" incluye kits tanto fragmentados como combinados.

Los presentes kits también pueden incluir uno o más reactivos, tampones, medios de hibridación, ácidos nucleicos, cebadores, nucleótidos, sondas, marcadores de peso molecular, enzimas, soportes sólidos, bases de datos, programas de ordenador para calcular órdenes de dispensación y/o equipo de laboratorio desechable, tal como placas de múltiples pocillos, a fin de facilitar rápidamente la implementación de los presentes métodos. Las enzimas que se pueden incluir en los presentes kits incluyen nucleótido polimerasas y similares. Los soportes sólidos pueden incluir perlas y similares, mientras que los marcadores de peso molecular pueden incluir marcadores conjugables, por ejemplo biotina y estreptavidina o similares.

En una forma de realización, el kit contiene instrucciones para llevar a cabo el método descrito en la presente memoria para diagnosticar un cáncer mielóide o un cáncer linfóide en un sujeto. Las instrucciones se pueden proporcionar en una forma inteligible a través de un medio tangible, tal como impresas en papel, medios legibles por ordenador, o similares.

Todavía un aspecto adicional de la presente invención se refiere a la utilización, para diagnosticar cáncer mielóide o linfóide, del kit mencionado anteriormente que comprende al menos una sonda de ácido nucleico u oligonucleótido o al menos un anticuerpo, que se puede usar en un método como se define para detectar la presencia de una mutación en el gen TET2 y/o para analizar la expresión del gen TET2.

Ventajosamente, el cáncer mielóide se selecciona del grupo que consiste en síndrome mielodisplásico, leucemia mielóide aguda, enfermedad mieloproliferativa y síndrome mielodisplásico/mieloproliferativo.

Todavía ventajosamente, dicho cáncer linfóide se selecciona del grupo que consiste en linfoma, tal como linfoma de linfocitos T o de células B, y más preferiblemente linfoma de linfocitos T.

En todavía otro aspecto, la invención se refiere al uso de un agente hipometilante para tratar un paciente que sufre un tumor mielóide o un tumor linfóide, para cuyo tumor se ha detectado una mutación de TET2, una ausencia de expresión de TET2 o una expresión de una TET2 truncada.

Preferiblemente, dicho tumor mielóide no es un MDS.

El agente hipometilante es bien conocido por el experto en la materia, e incluye, como ejemplo, azacitidina.

En un aspecto final, la descripción se refiere a un método para tratar un sujeto que sufre un tumor mielóide o linfóide, para cuyo tumor se ha detectado una mutación de TET2, una ausencia de expresión de TET2 o una expresión de una TET2 truncada, comprendiendo dicho método la etapa de administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de agente hipometilante.

Preferiblemente, dicho tumor mielóide no es un MDS.

Preferiblemente, dicho agente hipometilante es la azacitidina.

La cantidad terapéuticamente eficaz de agente hipometilante se puede determinar de forma simple por el experto en la materia. Como ejemplo de cantidad terapéuticamente eficaz de azacitidina para tratar tumor linfóide o mielóide, se puede citar el régimen que se describe en FENAUX *et al.* (Blood, vol. 110, 817, 2007).

A continuación, la invención se describe con mayor detalle haciendo referencia a secuencias de aminoácidos, secuencias de ácidos nucleicos y los ejemplos. No obstante, no se pretende ninguna limitación de la invención por los detalles de los ejemplos. Antes bien, la invención pertenece a cualquier forma de realización que comprenda detalles que no están mencionados explícitamente en los ejemplos en la presente memoria, pero que el experto en la materia aprecia sin un esfuerzo excesivo.

Ejemplos

1. Identificación de mutación del gen TET2 en MDS, MPD y en AML.

Se identificaron 6 pacientes que sufren cáncer mielóide (AML (nAML1, nAML2, nAML3) o MDS (MDS01, MDS02, y MDS03)) y que alojan una translocación cromosómica adquirida asociada con una supresión genómica en la vecindad del punto de ruptura del cromosoma 4 en 4q24. Estas supresiones fueron homocigotas en un caso y heterocigotas en otros casos, y podrían indicar la localización de un gen supresor de tumores en esa región.

Los análisis de FISH permiten en primer lugar estrechar la región habitualmente suprimida en estos pacientes hasta un intervalo de ~ 500 kb (datos no mostrados). Los análisis asistidos por ordenador y por RT-PCR descubrieron la estructura de un solo gen, Ten Eleven Translocation (TET2) que se extiende en esta región (figura 1).

El gen *TET2* comprende 11 exones extendidos a lo largo de 150 Kb. La proteína TET2 predicha, codificada por los exones 3 a 11, pertenece a una familia de tres miembros (familia TET) en ser humano y ratón. Las proteínas de la familia TET comparten dos regiones muy conservadas, con una única proteína de *Drosophila* ortóloga en su parte central y carboxi terminal (figura 1).

La figura 1 muestra la secuencia proteica de TET2 (SEC ID nº:2), resaltando las regiones conservadas entre especies (en negrita).

Para TET2, se predijo que un codón de iniciación traduccional situado en el extremo 5' del exón 3 (nucleótidos 862-864 del ADNc, o 27-29 del exón 3) permite la síntesis de una proteína de 2002 aminoácidos (figura 1). Un ATG alternativo situado en el exón 2 (nucleótido 798-800 del ADNc, o 111-113 del exón 2) dirigirá la síntesis de 21 aminoácidos más. No se excluyen comienzos adicionales.

El transcrito de *TET2* está ampliamente expresado (ONO *et al.*, mencionado anteriormente, 2002; LORSBACH *et al.*, mencionado anteriormente, 2003), y como se sugiere por los datos disponibles, la expresión de TET2 se confirmó en médula ósea y tejidos sanguíneos humanos mediante RT-PCR (datos no mostrados). Más específicamente, los transcritos de *TET2* se detectaron en células sanguíneas CD34⁺ de cordón umbilical, en granulocitos de controles sanos, y en estirpes de células hematopoyéticas.

Finalmente, de estos seis pacientes, cinco albergaron una supresión en un cromosoma 4, mientras que se suprimieron ambas copias en MDS01.

También se descubrió la implicación de la misma región 4q24 usando un enfoque diferente en MPD. El análisis de progenitores multipotentes CD34⁺CD38⁻, progenitores comprometidos CD34⁺CD38⁺, y células maduras, nos condujo a identificar dos subconjuntos de JAK2 V617F MPD en el diagnóstico, con cinéticas distintas de expansión hematopoyética (DUPONT *et al.*, Blood, vol. 110(3), p:1013-21, 2007). El primer subconjunto se caracteriza por una expansión tardía del clon maligno; es decir, aguas abajo del progenitor comprometido. Por el contrario, el segundo subconjunto de pacientes tuvo una expansión temprana del clon, aguas arriba del progenitor comprometido. Se teoriza que el segundo subconjunto de pacientes tuvo un defecto molecular capaz de promover la expansión temprana del clon maligno. Se analizaron cinco pacientes de este segundo subconjunto (MPD01 a MPD05) usando matrices de SNP y CGH de alta resolución para comparar ADN de células clonales presuntas (granulocitos) frente a células policlonales (células mononucleares de sangre periférica o linfocitos). Un paciente con mielofibrosis primaria (PMF) (MPD01) y un paciente con policitemia vera (PV) (MPD04) mostraron una gran pérdida de heterocigosidad adquirida (LOH) sin modificación del número de copias (disomía uniparental; UPD (20)) que oscila de q22 hasta qter del cromosoma 4. El tercer paciente (MPD05) demostró una supresión adquirida situada en la región 4q24. Esta supresión de 325 kb en MPD05 estaba incluida en la región de LOH de 4q24 de pacientes MPD01 y MPD04, y contenía *TET2* como un gen candidato individual. Esta región fue normal en las otras dos muestras de MPD estudiadas (MPD02 y MPD03).

Puesto que la región 4q24 está afectada en pacientes que sufren neoplasias mieloides, y puesto que TET2 se localiza en esta región, la integridad del gen TET2 puede verse afectada en estos pacientes. Además, la pérdida de las dos copias de TET2 en pacientes MDS01 y la pérdida recurrente de una copia en otros 8 pacientes con MDS, MPD o AML designó a *TET2* como un gen supresor de tumores candidato.

De este modo, se llevó a cabo la PCR sobre el gen TET2 a fin de detectar alteraciones del gen TET2 en estos pacientes. De forma importante, se analizaron ambos alelos a fin de detectar modificaciones bialélicas.

5 2. Procedimiento experimental para detectar alteraciones del gen TET2

2.1. Cebadores usados para la identificación de mutaciones o supresiones de TET2 (tabla 2)

Tabla 2

SEC ID NO	Tm (°C)	Secuencias	Región amplificada	Longitud del amplicón
5	60,9	TGAACTTCCCACATTAGCTGGT	106374235-106375189	955
6	60,7	GAAACTGTAGCACCATTAGGCATT		
7	62,0	CAAAAGGCTAATGGAGAAAGACGTA	106374894-106375729	836
8	62,0	GCAGAAAAGGAATCCTTAGTGAACA		
9	63,0	GCCAGTAACTAGCTGCAATGCTAA	106375458-106376300	843
10	62,3	TGCCTCATTACGTTTTAGATGGG		
11	60,0	GACCAATGTCAGAACACCTCAA	106376065-106376931	867
12	60,9	TTGATTTTGAATACTGATTTTCACCA		
13	60,5	TTGCAACATAAGCCTCATAAACAG	106376703-106377490	788
14	60,9	ATTGGCCTGTGCATCTGACTAT		
15	62,1	GCAACTTGCTCAGCAAAGGTACT	106377284-106378064	781
16	62,3	TGCTGCCAGACTCAAGATTTAAAA		
17	60,1	ATACTACATATAATACATTCTAATTCCTCACTG	106381631-106382125	495
18	61,5	TGTTTACTGCTTTGTGTGTGAAGG		
19	61,7	CATTTCTCAGGATGTGGTCATAGAAT	106383324-106383609	286
20	61,5	CCCAATTCTCAGGGTCAGATTTA		
21	60,1	AGACTTATGTATCTTTTCATCTAGCTCTGG	106383864-106384462	599
22	60,1	ACTCTCTTCCTTTCAACCAAAGATT		
23	60,0	ATGCCACAGCTTAATACAGAGTTAGAT	106400093-106400454	362
24	60,9	TGTCATATTGTTCACTTCATCTAAGCTAAT		
25	61,1	GATGCTTTATTTAGTAATAAAGGCACCA	106402226-106402579	354
26	61,5	TTCAACAATTAAGAGGAAAAGTTAGAATAATATTT		
27	61,7	TGTCATTCCATTTTGTCTTGATA	106410076-106410436	361
28	60,5	AAATTACCCAGCTTTGCATATGTCTT		
29	63,0	CTGGATCAACTAGGCCACCAAC	106413052-106413825	774
30	63,0	CCAAAATTAACAATGTTTCATTTACAATAAGAG		
31	61,1	GCTCTTATCTTTGCTTAATGGGTGT	106415516-106416263	748
32	60,5	TGTACATTTGGTCTAATGGTACAAC		
33	60,5	AATGGAAACCTATCAGTGGACAAC	106416016-106417122	1107
34	60,2	TATATATCTGTTGTAAGGCCCTGTGA		
35	62,0	CAGAGCTTTCTGGATCCTGACAT	106416670-106417204	535
36	60,3	GCCCACGTCATGAGAACTATACTAC		
37	66	TCTAAGCTCAGTCTACCACCCATCCATA	106416118-106416671	570
38	66,7	TGCTCGCTGTCTGACCAGACCTCAT		

2.2. PCR

Se llevó a cabo la PCR en 20 µl partiendo de 25-50 ng de ADN en APPLIED BIOSYSTEM PCR 9700.

Para cada muestra: Se usaron 17 PCR para detectar las mutaciones/supresiones situadas en el gen TET2. La mezcla se preparó según lo siguiente:

	mezcla *1
10X	2
dNTP 25 mM	0,15
O1 100 pmol/µl	0,1
O2 100 pmol/µl	0,1
hot star (5 U/µl)	0,2
Agua	15,5-16,5
Muestra de ADN (25 ng/µl)	1-2

Se usaron las siguientes condiciones de ciclos de PCR:

15'	94°C	1 ciclo
20 s	94°C	2 ciclos
20 s	56°C	
30 s	72°C	
20 s	94°C	2 ciclos
20 s	54°C	
30 s	72°C	
20 s	94°C	2 ciclos
20 s	52°C	
30 s	72°C	
20 s	94°C	37 ciclos
20 s	50°C	
30 s	72°C	
10'	72°C	1 ciclo

2.3. Secuenciación de los productos de la PCR

Finalmente, se realizó la secuenciación de los productos de la PCR mediante EUROFINs MWG Biotech (Francia, 9, rue de la Laponie, 91967 Les Ulis cedex) o por "Département des services commun de l'Institut Cochin" (Plate forme transcriptomique, Hôpital Cochin/Bat G. Roussy/3ème étage, 27 rue du Fg St Jacques, 75014 Paris) con el kit Big Dye terminator V1.1 y las máquinas de secuenciación 3130 XL (ambos de APPLIED BIOSYSTEMS).

3. Mutaciones del gen TET2 en pacientes que sufren MDS o AML con supresión de 4q24 heterocigota

3.1. En células tumorales

La integridad del gen TET2 se comprobó en la copia "intacta" de 4q24 de los 8 pacientes mencionados anteriormente que albergan la translocación cromosómica adquirida heterocigota asociada con una supresión genómica en la vecindad del punto de ruptura del cromosoma 4 en 4q24.

Para identificar mutaciones potenciales del gen TET2 en estos alelos, se investigó mediante PCR, como se describe anteriormente, la secuencia de los ocho exones codificantes y de sus sitios de corte y empalme en el ADN extraído de muestras de médula ósea de 8 pacientes que poseen una reorganización de 4q24.

La tabla 3 describe el estado de ambos alelos de los genes TET2 en pacientes que sufren MPD, MDS o AML y que tienen una supresión 4q24 en un alelo:

Paciente	Copia 1	Copia	Enfermedad
nAML1	R1896M	Supresión	AML
nAML2	I1873T	Supresión	AML
nAML3	Supresión	Desconocido	AML
MDS01	Supresión	Supresión	RA
MDS02	FS tras L560 (Exón 3)	Supresión	RA
MDS03	N1624Stop (Exón 11)	Supresión	RA
MPD01	Q557Stop	Q557Stop	PMF
MPD04	Supresión (1237 a 1239)	Supresión (1237 a 1239)	PV
MPD05	Supresión	Tipo salvaje	PV

La comparación de la secuencia obtenida de los pacientes con la contraparte de tipo salvaje identificó cambios nucleotídicos en 6 pacientes (Tabla 3). Los cambios no fueron atribuibles a polimorfismos identificados. El paciente nAML1 y nAML2 albergaron cambios de un solo nucleótido, conduciendo a una I1873T en el paciente nAML2 y a R1896M en el paciente nAML1. El paciente MDS03 mostró un cambio de CAG a TAG, introduciendo un codón de parada en lugar de N1624. El paciente MPD01 mostró un cambio de un solo nucleótido, introduciendo un codón de parada en lugar de NQ557. El paciente MDS02 tuvo una inserción de 4 pares de bases, conduciendo a un codón de parada 6 aminoácidos después de L560. El paciente MPD04 tuvo una supresión de 9 nucleótidos en el marco. No se observaron cambios nucleotídicos notables en el ADN del paciente nAML3. El paciente MDS01 aloja una supresión bialélica del gen TET2.

3.2. En células no tumorales de los pacientes

Para confirmar que los cambios observados estaban adquiridos somáticamente, se analizó el ADN procedente de muestras no tumorales cuando estuvo disponible.

En el paciente nAML2, no se observó el cambio T a C en ADN procedente de una población de células B transformada con el EBV (figura 2). En el paciente nAML1, los análisis de una muestra obtenida después de autotransplante de médula ósea demostraron una relación invertida entre el G de tipo salvaje y el T mutado, cuando se compara con la muestra de diagnóstico (datos no mostrados). De forma similar, la señal que corresponde al T mutado está casi ausente en el ADN extraído de PBL estimulado del paciente MDS03 (Figura 2). Este análisis ha mostrado también la ausencia de mutación para MPD04, y de supresión para MPD05 en células no tumorales (datos no representados). Este análisis ha mostrado además que se detecta una pequeña cantidad de secuencia de tipo salvaje residual en células mononucleares periféricas procedentes del paciente MPD01 (datos no representados).

La figura 2 muestra las trazas de secuencia obtenidas mediante secuenciación de PCR en muestras obtenidas de los dos pacientes nAML2 y MDS03, y que muestra que la mutación solo se produce en las muestras tumorales (R: cebador inverso y F: cebador directo) y en muestras no tumorales (NT o PBL).

Considerados conjuntamente, estos resultados demuestran que las dos copias del gen TET2 son seleccionadas como dianas en pacientes que sufren neoplasia mieloide diversa, y esto a través de dos sucesos diferentes, una translocación cromosómica asociada con una supresión y mutaciones de punto, estableciendo a TET2 como un gen supresor de tumores.

4. Alteración del gen TET2 en pacientes que sufren MDS o AML sin supresión de 4q24 citogenéticamente detectable

Para establecer si la mutación de TET2 se podría producir también independientemente de una anomalía cromosómica, se analizó mediante PCR, como se describe anteriormente, ADN procedente de muestras de médula ósea de 309 pacientes adicionales con diferentes subtipos de MDS (n = 81), sAML (n = 21), CMML (n = 9), MPD positivo para JAK2^{V617F} (n = 181), y MPD negativo para JAK2^{V617F} (n = 17) sin anomalía de 4q24 conocida.

La Tabla 4 describe el estado del defecto identificado de TET2 en pacientes que sufren MDS o AML:

Paciente	Defecto de TET2	Enfermedad
sAML2	S1898F	sAMLII
sAML4	FS (Exón 3)	sAMLII
sAML5	FS (Exón 11)	sAMLII
sAML6	FS (Exón 11)/Q891 stop	sAMLII
sAML7	Q943Stop	sAMLII
MDS04	K1299E/R544Stop	RA
MDS07	Sin amplificación Ex11	RA
MDS30	FS (Exón 3)	RA
MDS09	FS (Exón 3)	RARS
MDS35	Y1225Stop Exón 6	RARS
MDS10	Y1724Stop/Q321 Stop	RCMD-RS
MDS28	FS (Exón 3)	RCMD-RS
MDS18	FS (Exón 11)	RAEB1
MDS27	FS (Exón 3)/ FS (Exón 3)	RAEB1
MDS33	FS (Exón 4)	RAEB1
MDS39	L1872P	RAEB1
MDS40	FS (Exón 11)	RAEB1
MDS42	Mutación L1872P/11873T del aceptor de corte y empalme	RAEB1
MDS34	Sitio Exón 5	RAEB2
MDS41	FS (Exón 11)	RAEB2
CMML01	Q685Stop	CMML
CMML02	FS (Exón 3)/R1067Stop	CMML

RA, anemia refractaria; RARS, anemia refractaria con sideroblastos en anillo; RARS-T, RARS con trombocitosis; RAEB, anemia refractaria con exceso de blastos; RAEB1: blastos 5-9%; RAEB2: blastos 10-19%; AML, leucemia mieloide aguda; FAB, clasificación francesa-americana-británica; del, supresión; FS, desplazamiento del marco; ND, no realizado. Todos los MDS/AML ensayados (22/27) fueron negativos para JAK2^{V617F}. MDS03 se estudió en las fases de RAEB1 y RAEB2. Se analizaron dos muestras sucesivas de paciente MDS34. Los pacientes seleccionados analizados durante la parte inicial del estudio aparecen en negrita.

La Tabla 5 describe el estado del defecto identificado de TET2 en pacientes que sufren MPD:

Paciente	Defecto de TET2	Enfermedad	Estado de JACK2 y MPL
MPD18	R1216stop	PV	JAK2 ^{V617F}
MPD20	FS Ex11	PV	JAK2 ^{V617F}
MPD35	S354stop	ET	JAK2 ^{V617F}

Paciente	Defecto de TET2	Enfermedad	Estado de JACK2 y MPL
MPD43	FS Ex3/R550stop	MF post ET	JAK2 ^{V617F}
MPD45	FS Ex3	PV	JAK2 ^{V617F}
MPD69	FS Ex7/FS Ex11	PV	JAK2 ^{V617F}
MPD74	FS Ex3	PMF	WT
MPD81	FS Ex6	ET	JAK2 ^{V617F}
MPD86	FS Ex5/R1404stop	PV	JAK2 ^{V617F}
MPD89	FS Ex10	PV	JAK2 ^{V617F}
MPD92	R1302G	PMF	JAK2 ^{V617F}
MPD96	W1847stop	ET	JAK2 ^{V617F}
MPD99	FS Ex3	ET	JAK2 ^{V617F}
MPD120	FS Ex3	PV	JAK2 ^{V617F}
MPD130	FS Ex3	ET	JAK2 ^{V617F}
MPD132	FS Ex3	PV	JAK2 ^{V617F}
MPD133	G1869W	ET	JAK2 ^{V617F}
MPD142	FS Ex3	PV	JAK2 ^{V617F}
MPD149	FS Ex6	ET	JAK2 ^{V617F}
MPD158	FS Ex3	PV	JAK2 ^{V617F}
MPD163	Q1542stop	ET	MPL ^{W515L}
MPD164	FS Ex3	PMF	JAK2 ^{V617F}
MPD183	FS Ex7/Q635stop	PV	JAK2 ^{V617F}
MPD200	FS Ex3/FS Ex11	ET	WT

PMF, mielofibrosis primaria, PV, policitemia vera, ET, trombocitemia esencial. WT: negativo para mutaciones JAK2^{V617F} y MPL^{W515L}. FS, desplazamiento del marco.

- 5 Se observaron anomalías obvias de la secuencia codificante de *TET2* en 45 pacientes, que dan como resultado la sustitución de aminoácidos conservada, la generación de codones de parada en el marco, o desplazamientos del marco (Tablas 4 y 5. En un paciente adicional (MDS07), la amplificación de la parte 5' del exón 11 dio como resultado solamente cantidades en trazas de fragmento de PCR a pesar del uso de varias condiciones y pares de cebadores (datos no representados), lo que se atribuyó a una reorganización genómica estructural no caracterizada que afecta a esta región. Se observaron defectos de *TET2* en todos los tipos de MDS (22/111) y MPDs negativos para BCR-ABL asociados con JAK2 V617F (21/181), o MPL W515L/K (1/6) o desprovistos de estas mutaciones (2/11).

- 15 Los resultados demuestran que los defectos de *TET2* se pueden identificar en trastornos mieloides diversos no seleccionados, con una prevalencia elevada (46/309 = 17%). Como ejemplo, el paciente MDS04 mostró dos cambios que conducen a K1299D y R544Stop. El paciente MDS10 tuvo dos mutaciones de parada, Y1724Stop y Q321Stop. El paciente sAML2 tuvo una mutación de punto que conduce a S1898F. Estas mutaciones observadas pueden dar como resultado una pérdida parcial o total de función de la proteína *TET2*. Se puede anticipar que se pueden haber perdido otros defectos, tales como supresiones del gen *TET2*, y de este modo se habría subestimado la frecuencia estimada de los defectos de *TET2* en estas neoplasias.

- 25 En conjunto, en 19/55 de los pacientes con defectos de *TET2*, se detectaron dos mutaciones diferentes, probablemente que seleccionan como diana a ambas copias de *TET2*. Este punto se confirmó secuenciando moléculas individuales tras subclonar los fragmentos de PCR obtenidos del paciente MDS42. Se observó un único defecto en 35/55 muestras, sugiriendo que la haploinsuficiencia de *TET2* puede ejercer un papel en estas neoplasias.

5. Las mutaciones de *TET2* seleccionan como diana a progenitores tempranos en MDS.

- 30 Los MDS son neoplasias mieloides que se originan a partir de una HSC. Si las mutaciones observadas en *TET2* son causales, también se deberían observar en la HSC. Para investigar esto, se analizó en primer lugar la presencia de los defectos de *TET2* en células CD34⁺, que incluyen HSC y progenitores hematopoyéticos, procedentes de 4 pacientes con MDS (MDS03, MDS09, MDS28, MDS35).

- 35 La figura 3a muestra los histogramas de secuenciación de células CD34⁺ clasificadas procedentes de paciente MDS03 en las fases RAEB1 y RAEB2. Con fines comparativos se muestran secuencias observadas en muestra de médula ósea sin clasificar y de control de tipo salvaje. Los asteriscos indican el nucleótido mutado.

- 40 La figura 3b muestra el análisis mediante PCR-RFLP de ADN aislado de células CD34⁺CD38⁻ y CD34⁺CD38⁺ de MDS03 clasificadas, en la fase RAEB1. Los fragmentos amplificados se digirieron usando Tas1 y se fraccionaron por tamaños mediante migración en agarosa. La proporción de *TET2* mutada se evaluó midiendo las intensidades de las señales mutadas (mut) o de tipo salvaje (wt) con respecto a aquella de la señal generada por ambos alelos (wt+mut). Sin digerir (-) y digerido (+). (ctl) corresponde a productos de PCR a partir de ADN de control. MW: peso molecular.

La figura 3c muestra el análisis mediante PCR-RFLP de *TET2* llevado a cabo directamente a partir de células CD34⁺CD38⁻ y CD34⁺CD38⁺ clasificadas procedentes del paciente MDS09 usando la endonucleasa BseLI.

5 La figura 3d muestra el genotipado mediante PCR-RFLP usando BseLI de células CD34⁺CD38⁻ y CD34⁺CD38⁺ clasificadas procedentes del paciente MDS09 que se hicieron crecer a una célula por pocillo. Las anotaciones son las mismas como en b. Los histogramas representan la fracción de clones con *TET2* de tipo salvaje 8gris) o mutada (negro). Obsérvese la ausencia de fragmento de tipo salvaje en clones CD34⁺CD38⁺ indicados por los asteriscos.

10 En todos los casos, la secuencia de *TET2* mutada se pudo detectar (Figura 3). En uno de estos pacientes (MDS03), las células CD34⁺ se pudieron analizar en anemia refractaria con fases de exceso de blastos 1 (RAEB1) y RAEB2. De forma interesante, la secuencia de tipo salvaje se detectó en la fase RAEB1, pero no en la fase RAEB2 (Figura 3a), sugiriendo expansión de progenitores mutados en *TET2* con la progresión de la enfermedad.

15 A continuación se fraccionaron las CD34⁺ procedentes de estos cuatro pacientes en poblaciones de células CD34⁺CD38⁻ (que corresponden a HSC y progenitores multipotentes) y CD34⁺CD38⁺ (que corresponden a progenitores más maduros) usando anticuerpos CD34-PeCy5 y CD38-FITC (IMMUNOTECH) usando un clasificador celular FACSDiva (BECTON DICKINSON). En dos pacientes (MDS03 y MDS09), se usó análisis mediante PCR-RFLP para distinguir secuencias de *TET2* mutadas y de tipo salvaje. La carga de *TET2* mutada aumentó en ambos
20 pacientes de células CD34⁺CD38⁻ a CD34⁺CD38⁺ (16% a 54% en MDS03, y 26% a 48% en MDS09) (Figura 3b, c). Se llevó a cabo un análisis adicional a nivel celular, sembrando progenitores hematopoyéticos individuales procedentes de MDS09.

25 Las células CD34⁺CD38⁻ clasificadas procedentes de médula ósea de MDS09 se sembraron a una célula por pocillo en una capa confluyente de la estirpe celular MS5 en medio MEM alfa suplementado con 10% de FBS (STEM CELL TECHNOLOGIES), y un cóctel de citocinas tempranas (trombopoyetina (Tpo), interleucina-3 (IL3), FLT3-L, factor de células madre (SCF) e interleucina-6 (IL6)). Las células CD34⁺CD38⁺ también se sembraron a una célula por pocillo usando la misma combinación de citocinas "tardías" (SCF, IL3, eritropoyetina (Epo) y factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF)) como se usa en cultivos de metilcelulosa DUPONT *et al.*, mencionado anteriormente,
30 2007). Después de tres semanas (CD34⁺CD38⁻) o 10 días (CD34⁺CD38⁺), los clones individuales se recogieron para el genotipado posterior.

Los resultados muestran que la mutación de *TET2* se identificó en 8 de 32 (25%) y 18 de 30 (60%) clones derivados de células CD34⁺CD38⁻ y CD34⁺CD38⁺, respectivamente (Figura 3d). De forma interesante, la copia de tipo salvaje de *TET2* no siempre se amplificó a partir de clones que poseen una *TET2* mutada, sugiriendo su pérdida en una
35 minoría de las células.

Para los otros dos pacientes (MDS28, MDS35), el incremento en la carga de mutación de *TET2* de muestras de CD34⁺CD38⁻ a CD34⁺CD38⁺ se evaluó con las gráficas de secuencias. Para ser más exactos, los fragmentos
40 amplificados procedentes de muestras de MDS28 se subclonaron, y se secuenciaron los clones bacterianos individuales. La copia mutada apenas fue detectable en la población de CD34⁺CD38⁻ de MDS28, mientras que representó 32% de las secuencias de *TET2* en la población de CD34⁺CD38⁺ (datos no representados). Estos datos indican que las mutaciones de *TET2* seleccionan como diana a una célula CD34⁺CD38⁻ y que, en MDS, la carga mutada de *TET2* aumenta desde progenitores inmaduros a progenitores maduros, sugiriendo una ventaja selectiva
45 de las células mutadas durante las fases tempranas de la diferenciación hematopoyética.

En tres muestras de sAML (sAML2, sAML4, sAML5), también se encontraron mutaciones de *TET2* en células CD34⁺ (datos no mostrados). Cuando se analizaron, en células clasificadas sAML4, sAML5, no se observaron cambios
50 notables en la carga de *TET2* mutada entre poblaciones de CD34⁺CD38⁻ y CD34⁺CD38⁺.

6. Impacto de la prevalencia y del pronóstico de mutaciones de *TET2* en MDS.

Para establecer el impacto de la prevalencia y del pronóstico de las mutaciones de *TET2* en MDS, se analizaron retrospectivamente las mutaciones de *TET2* y su valor de pronóstico, en 204 MDS y AML post MDS enrolados en
55 ensayos multicéntricos GFM (41 RA/RCMD/MDS-U/5q-, 18 RCMD, 28 RARS/RCMD-RS/RARS-T, 43 RAEB 1, 32 RAEB 2, 44 AML post MDS). El análisis de las mutaciones de *TET2* se realizó como se describió previamente, y los resultados se presentan en la tabla 6.

La Tabla 6 describe el estado del defecto identificado de *TET2* en pacientes que sufren MDS o AML:

Enfermedad	Cambio de nucleótido	Consecuencia
MDS02 G04	delA 3166	p.Gln769 FS
MDS 04	c.4755A>G + c.2490C>T	p.[Lys1299Glu]+[Arg544X]
MDS01 A08	insT 3465	p.Pro869 FS
MDS01 A11	c.5071 OT	p.Arg1404 STOP

Enfermedad	Cambio de nucleótido	Consecuencia
MDS02 C01	delT 2685 + insA 3009	p.Ser609 FS + p.His717 FS
MDS01 B03	insA 5540	p.Tyr1560 FS
MDS01 B11	c.2913 C>T	p.Gln685 STOP
SAML1		del/wt
MDS 07		Sin amplificación de 5' Exón 11
MDS01 C08	delC 6360	p.Gln1834 FS
MDS01 C09	c.3532C>T + insA 5757	p.Cys1633 FS + p.Gln891 STOP
MDS01 D01	c.6475T>C	p.Leu1872Pro
MDS02 H02	c.4384A>G + c.4625C>G	p.Ile175Val + p.Tyr1255 STOP
sAML2		Ser1898Phe
MDS01 D06	del 2834_2835	p.His658 FS
MDS 10		p.Gln530 FS + p.Tyr1724 STOP
MDS02 C12	delT 2685 + c.6316T>G	p.Ser609 FS + p.Leu1819 STOP
MDS02 D01	delC 3009	p.His717 FS
MDS 01		del/del
MDS 02		del/p.Arg581 FS
MDS01 E02	c.5730C>T	del/Gln1624 STOP
MDS02 D04	delT 2944	p.Leu699 STOP
MDS01 E06	irisC 3151 + p.5406C>T	p.Gln764 FS + Arg1516 STOP
MDS01 E07	c.6475T>C + c.6478T>C	p.Leu1872Pro + p.Ile1873Thr
MDS01 E08	delC 2448 + delA 4130	p.Gln530 FS + p.Lys1090 FS
MDS01 F02	p.6360C>T	p.Gln1834 STOP
MDS01 F04	delG 2994	p.Glu711 FS
MDS02 E01	c.6114T>G + insT sitio de corte y empalme	p.Tyr1751 STOP + mutación de sitio de corte y empalme exón 8
MDS01 F06	p.3688C>T + delA 6507	p.Gln943 STOP + p.Thr1883 FS
MDS01 G01	delG 4271 + c.6478T>C	p.Glu1137 FS + p.Ile1873Thr
MDS01 G03	p.3688C>T	p.Gln943 STOP
nAML2	c.6478T>C	del/p.Ile1873Thr
MDS01 G05	delC 5222	p.Leu1457 STOP
MDS02 F11	dupT 3914	p.Glu1026 STOP
MDS01 G06	delA 2935 + del5828_5843	p.Glu692 FS + p.Met1656 FS
MDS02 A12	p.4969G>A + del6396_6531	p.Gly 1370 Glu + p.Val1846 FS
MDS01 G7/8	g.4366-1G>T	mutación de sitio de aceptor de corte y empalme exón 5
MDS02 E10	insCT 3581	p.Gly 908 FS
MDS02 H12	delG 4932 + del5521_5524	p.Glu1357 FS + p.Thr1554 FS
MDS02 G03	insC 3151 + insC 6507	p.Gln764 FS + p.Thr1883 FS
MDS02 G01	delG 5133 + del6511_6512	p.Asp 1425 FS + p.Pro1885FS
MDS02 G07	p.5253C>T	p.Arg1465 STOP
MDS02 C07	c.4561A>T	p.Glu1234Val
MDS02 B07	c.2109C>T	p.Gln417 STOP
nAML1	C.6547G>T	del/p.Arg1896Met
MDS02 E11	c.2784C>T + p.5253C>T	p.Gln642 STOP + p.Arg1465 STOP
MDS01 H05	c.4515C>T	p.His1219 Tyr
MDS02 H06	del1264_1666	p.Glu135 FS
MDS02 B08	delA4327 + c.5020A>G	p.Asn1156 FS + Asn 1387Ser
MDS02 D10	insC 3151 + c.4891C>A	p.Gln764 FS + p.Ala1344 Glu
MDS02 B02	delT 5570 + insC sitio de corte y empalme	p.Leu1637 FS + mutación de sitio de corte y empalme exón 8
MDS01 F01	insT3995 + c.4059A>T	p.Glu846 FS + p.Arg1067 STOP
MDS02 B11	c.4673C>G + Del6049_6050	p.Cys1271 Trp + p.Asp1830 FS
MDS01 E09	insG 5119	p. Leu 1420 FS
MDS	c.5430C>T	p.Gln1524STOP
MDS	c.5177dupA	p.Arg1440FS
MDS	c.5583_5605 del	p.Pro1575FS
MDS	c.5310 A>G	p.Lysl 197Arg
MDS	c.2375C>A	p.Ser792STOP

Se encontraron 59 mutaciones del gen TET2 mediante secuenciación directa de los exones 3 a 11 (27 desplazamientos del marco, 21 mutaciones finalizadoras y 11 mutaciones de aminoácido en dominios conservados) en 43/204 pacientes (Tabla 6). Las frecuencias según los subtipos de la OMS fueron 21,8% en RA, 5,2% en RCMD,

21,4% en RARS/RARS-T/RCMD-RS, 34,9% en RAEB 1, 15,6% en RAEB 2, 19% en AML post MDS. Se encontraron otras anomalías de la región 4q24, incluyendo una supresión en 1/46 pacientes analizados mediante CGH, y 3 LOH en 3/22 pacientes analizados mediante matrices de SNP, y 2 supresiones en 5/23 pacientes analizados mediante matrices de SNP. De este modo, la prevalencia global de las anomalías de 4q24 fue 21,6% de pacientes (44/204). 20 pacientes tuvieron dos anomalías de TET2 identificadas mediante secuenciación directa (17 pacientes), o mediante secuenciación más matriz de SNP (3 pacientes), indicando que las dos copias del gen fueron seleccionadas como diana en 43,5% de pacientes mutados.

Después, se realizaron análisis de supervivencia monofactoriales y multifactoriales con el modelo proporcional de riesgo de Cox para establecer el impacto del pronóstico de mutaciones de TET2. Las comparaciones entre los 43 pacientes con mutaciones de la secuencia codificante de *TET2* y pacientes no mutados no encontró diferencias significativas en características iniciales para sexo, edad, exposición previa a quimio o radioterapia, nivel de Hb, recuento de WBC, ANC, recuento de plt, % de blastos de médula ósea, displasia multilineal, subtipos de la OMS y FAB, cariotipo e IPSS.

El análisis reveló que la supervivencia a cinco años (curva de Kaplan-Meier) aumentó significativamente en pacientes con TET2 mutados en comparación con pacientes no mutados ($p < 0,05$).

7. Reorganización del gen TET2 en pacientes que sufren MPD con anomalía de 4q24 detectada mediante análisis de matrices de SNP o CGH.

Entre 35 muestras de MPD, 4 pacientes tuvieron una LOH mediante matrices de SNP y se analizaron en busca de mutaciones en el gen TET2 en ambos alelos. En 3 de las 4 muestras, se observó una clara mutación o supresión.

La Tabla 7 describe el estado de ambos alelos de los genes TET2 en pacientes que sufren MPD:

Paciente	Copia 1	Copia 2	Enfermedad
IGR-1	Q557Stop	LOH	PMF
IGR-2	Supresión 1237-1239	LOH	PV
IGR-3	Supresión de todo el gen	Ninguna anomalía	PV
IGR-4	desconocido	LOH	ET

En la tabla 7, "PMF" representa mielofibrosis primitiva, "PV" policitemia vera, "EV" trombocitosis esencial. Todas estas enfermedades son MPDs de Clase II.

El paciente IGR-2 albergó una supresión en el marco de 9 pares de bases que condujo a la pérdida de tres aminoácidos, P1237, L1238, S1239. Como se muestra mediante análisis de SNP y mediante los análisis de las trazas de secuencia, los pacientes IGR-1 e IGR-2 habían perdido la otra copia de TET2. No se observó ninguna de las mutaciones en células no tumorales de los pacientes. Estos datos establecen que la inactivación de TET2 participa en el desarrollo de MPD.

La secuenciación sistemática de los genes TET2 en otros 17 pacientes reveló dos pacientes con un codón de parada en un alelo (IGR17: S354Stop, IGR-18:R1216Stop) y un paciente con una supresión nucleotídica que conduce a un desplazamiento del marco en el exón 11.

8. Análisis de la adquisición de la reorganización de TET2

Pruebas recientes indican que JAK2^{V617F} puede no ser el suceso iniciador en algunos MPD. Por lo tanto, se usaron muestras de MPD para evaluar los papeles relativos de los defectos de *TET2* y la mutación JAK2^{V617F} en estas enfermedades y para ganar conocimiento en la secuencia de la adquisición de las mutaciones. Se analizaron en primer lugar progenitores hematopoyéticos de cinco pacientes con MPD con mutaciones en ambos genes, como el paciente IGR2.

Para muestras de MPD, se sembraron células CD34⁺CD38⁻ inmaduras a una célula por pocillo durante cuatro a seis semanas en condiciones que permiten diferenciaciones simultáneas de B, NK y granulocíticas (diferenciación linfomieloide) como se describió (DUPONT *et al.*, mencionado anteriormente, 2007), mientras que se hicieron crecer células CD34⁺CD38⁺ más maduras en ensayos en metilcelulosa eritroides/granulocíticos. Los clones individuales se recogieron para el análisis de la diferenciación de B, NK, y granulocítica mediante citometría de flujo, y genotipado. Las células CD34⁺CD38⁺ se sembraron a 1.500 a 3.000 células por placa de cultivo en metilcelulosa estándar al 2% suplementada con 37% de FBS (STEM CELL TECHNOLOGIES), y un cóctel de citocinas como se describió (DUPONT *et al.*, mencionado anteriormente, 2007)). Las colonias individuales que crecieron a partir de unidades formadoras de brotes eritroides (BFU-E) y unidades formadoras de colonias granulocíticas/de macrófagos (CFU-GM) se recogieron en el día 14. Los clones obtenidos se analizaron en busca de la presencia de ambos defectos moleculares.

Los resultados han mostrado que, en todos los pacientes ensayados, los análisis de secuencia revelaron que estaban presentes tanto el defecto *TET2* como *JAK2* en clones derivados de progenitores linfomieloideos (datos no mostrados). De forma interesante, la mutación *JAK2*^{V617F} no se observó en ausencia de defecto de *TET2*, mientras que la mutación de *TET2* se pudo observar en ausencia de *JAK2*^{V617F}. Estos resultados demuestran que, como en MDS, la mutación de *TET2* está presente en progenitores inmaduros de pacientes con MPD, e indican que los defectos de *TET2* preceden a la mutación de *JAK2* durante la evolución de la enfermedad.

Para definir adicionalmente el papel de las mutaciones de *TET2* en la amplificación del clon maligno, se comparó el genotipo de colonias derivadas de progenitores inmaduros (CD34⁺CD38⁻) con el de colonias de eritroides y granulocíticas derivadas de progenitores comprometidos (CD34⁺CD38⁺).

Los resultados mostraron que en tres pacientes con MPD (MPD01, MPD04, MPD35), casi todas las colonias en diferentes etapas de la diferenciación hematopoyética albergaron una mutación de *TET2*, sugiriendo que el clon mutado de *TET2* se expandió en etapas tempranas de la hematopoyesis (datos no representados). En otros 2 pacientes (MPD05, MPD20), la mayoría de los progenitores inmaduros fueron de tipo salvaje, mientras que la mayoría de los progenitores comprometidos estaban mutados para *TET2*. Dentro de los progenitores de tipo salvaje para *JAK2* de estos dos pacientes, se observó un incremento en la proporción de clones con defectos de *TET2* desde la etapa de progenitor inmaduro (2/37 y 0/34, respectivamente) a la del progenitor comprometido (10/23 y 9/54, respectivamente). Considerados en conjunto, los resultados indican que la ventaja selectiva del clon mutado para *TET2* en las etapas tempranas de diferenciación es independiente de la mutación de *JAK2*^{V617F}.

Globalmente, estos datos procedentes de muestras de MPD demuestran que los defectos de *TET2* (i) se producen en etapas tempranas de la diferenciación hematopoyética, y que (ii) pueden preceder a la aparición de la mutación *JAK2*^{V617F}, y (iii) dan una ventaja selectiva al clon a medida que se dirige hacia la diferenciación mieloide.

9. Injerto y proliferación de células mutadas para *TET2* *in vivo*

Se razonó que la pérdida de función de *TET2* podría conferir una ventaja de crecimiento a las células madre hematopoyéticas. Para demostrar que las mutaciones de *TET2* se producen en HSC con capacidad repobladora NOD-SCID, se usó un ensayo de xenotransplante inyectando, en ratones NOD-SCID, células CD34⁺ aisladas de pacientes con MPD con *JAK2*^{V617F} con mutaciones de *TET2*.

Se inyectaron intravenosamente células CD34⁺ (1 a 10 x 10⁵ células) procedentes de pacientes con MPD con *JAK2*^{V617F} con mutaciones de *TET2* en ratones NOD-SCID irradiados subletalmente (3,5 Gy), tratados previamente con 200 µg de anticuerpo anti-CD 122 (JAMES *et al.*, Blood, vol. 112(6), p:2429-36, 2008). La médula ósea se obtuvo con una jeringuilla heparinizada del fémur derecho a las 3, 6 y 12 semanas tras el trasplante, y los ratones se sacrificaron en la semana 15. El injerto de células humanas se evaluó mediante la suma de leucocitos humanos (CD45⁺) y poblaciones eritroides (CD45⁻CD36⁺ y CD45⁻CD36⁻GlicoforinA⁺), según se evaluó mediante citometría de flujo. Las células de médula ósea se sembraron en cápsulas de cultivo y placas de 96 pocillos para ensayos en metilcelulosa y de células iniciadoras de cultivo a largo plazo (LTC-IC), respectivamente, permitiendo el crecimiento selectivo de células humanas como se describe en JAMES *et al.* (mencionado anteriormente, 2008). Las colonias individuales se recogieron a continuación y se genotiparon.

Se comparó en primer lugar la cinética de quimerismo tras el trasplante de células CD34⁺ procedentes de estos pacientes con MPD con *JAK2*^{V617F} con mutaciones de *TET2*, y procedentes de tres MPD con *JAK2*^{V617F} desprovistos de defectos de *TET2* (MPD09, MPD11, MPD27).

La figura 4a muestra el porcentaje de células CD45-positivas humanas en médula ósea de ratón monitorizada a 3, 6, 12 y 15 semanas después del trasplante. MPD01 y MPD04 son pacientes con defectos de *TET2*, mientras que MPD09, MPD11, y MPD27 son pacientes de control desprovistos de defecto identificado de *TET2*.

La figura 4b muestra el análisis citométrico de flujo de células humanas presentes en médula ósea de NOD-SCID 15 semanas después del trasplante con 3 x 10⁵ células CD34⁺ procedentes de pacientes MPD04 y MPD09. Los porcentajes de células mieloides y linfoides humanas CD45 (hCD45)-positiva se determinaron usando anticuerpos anti-CD45-PC7, anti-CD33-APC, y anti-CD19-PE.

Los resultados muestran que las células humanas de los tres pacientes desprovistos de la mutación de *TET2* desaparecieron con el tiempo (Figura 4a).

Por el contrario, el porcentaje de células humanas en la médula ósea de ratones injertados con células de los dos pacientes mutados para *TET2* aumentó con el tiempo (Figura 4a). En estos ratones, la diferenciación se inclinó hacia la expansión de progenitores mieloides, a costa de progenitores linfoides, según se juzga a partir de los análisis de citometría de flujo de los antígenos CD33 y CD19 (Figura 4b), a diferencia de lo que se observa con HSC normales en las que la diferenciación linfóide está favorecida (ROBERT-RICHARD *et al.*, Haematologica, vol. 17(3), p:637-41, 2003).

Las células humanas presentes en la médula ósea de ratón 15 semanas después del trasplante (W15) se estudiaron en ensayos *in vitro* de progenitores y de LTC-IC, y se analizaron en busca de la presencia de mutaciones de *TET2* y *JAK2*. Los defectos de *TET2* se encontraron en colonias derivadas de CFU W15 reunidas procedentes tanto de las muestras MPD01 como MPD04, y en todas las LTC-IC y progenitores humanos individuales presentes en los ratones (datos no mostrados). Los resultados se compararon con ensayos de progenitores llevados a cabo inmediatamente antes del injerto (DO). Todas las colonias que surgen de células de progenitores comprometidos de los pacientes (D0 CFU) alojaron la mutación de *TET2*.

Estos resultados demuestran que la mutación de *TET2* se produce en una HSC. De forma interesante, los resultados han mostrado además que la proporción de células progenitoras que poseen solamente la mutación de *TET2* aumentó con el trasplante a expensas de células que poseen ambas mutaciones de *TET2* y *JAK2*^{V617F}. Se piensa que estas células reflejan la población de HSC original. Por lo tanto, estas observaciones indican que las HSCs mutadas para *TET2* con una *JAK2* de tipo salvaje son más numerosas que las HSCs mutantes dobles *TET2/JAK2*, estableciendo adicionalmente la mutación de *TET2* como un suceso "pre-*JAK2*^{V617F}", en estos pacientes.

Por lo tanto, nuestros datos son compatibles con la hipótesis de que los defectos de *TET2* dotan a la HSC con una ventaja de injerto selectiva independientemente de *JAK2*^{V617F}.

10. Posiciones de las mutaciones identificadas en el gen TET2

Se informa de que la inactivación de *TET2* es un suceso temprano habitual en MDS, MPD y sAML humanos, y que las frecuencias de la mutación de *TET2* en la serie de pacientes no seleccionados fueron 15/81 = 18,5% en MDS, 2/9 = 22% en CMML, 24/198 = 12% en MPD y 5/21 = 24% en sAML. Se debe señalar que en estos análisis no se consideraron cambios de aminoácidos que se producen fuera de los dominios conservados. La secuenciación del gen *TET2* usando las parejas de cebadores identificadas en la Tabla 1 permite identificar un número de mutaciones en el gen *TET2* (figura 5).

La figura 5 muestra las localizaciones de algunas de las mutaciones identificadas del gen *TET2* distribuidas a lo largo de la secuencia proteica.

El cartografiado de las mutaciones de *TET2* identificadas en la secuencia de *TET2* sugiere un papel esencial para la región conservada carboxi terminal (aminoácidos en la posición 1860 a la posición 1950) en la función de la proteína.

Finalmente, la detección de los defectos genéticos adquiridos que seleccionan como dianas a las dos copias de *TET2* en 19 de los 55 pacientes con alteración de *TET2* establece a este gen como un gen supresor de tumores fiable de neoplasias mieloides humanas. Los defectos de *TET2* se observan tanto en MDS como en MPD, que son dos enfermedades mieloides distintas. Por lo tanto, es probable que sus fenotipos clínicos y biológicos característicos requieran al menos otro suceso cooperante adicional. En muestras de MPD con ambas mutaciones de *TET2* y *JAK2*, probablemente las mutaciones de *TET2* se producen primero en la historia natural de la enfermedad, precediendo a la aparición de la mutación *JAK2*^{V617F}.

11. Identificación de mutaciones del gen TET2 en MPD familiar

Las familias con al menos 2 pacientes afectados con MPD se recogieron a través de una red nacional como se describió previamente (BELANNE-CHANTELLOT *et al.*, mencionado anteriormente, 2006). Los diagnósticos de MPD se revisaron basándose en los criterios de 2008 de la Organización Mundial de la Salud. Todos los participantes firmaron una autorización.

En una primera etapa, se analizaron 15 probandos de familias compatibles con una herencia dominante autosómica, en busca de un suceso constitucional que daría cuenta de estos casos familiares. Los probandos elegidos sufrieron mayoritariamente PV o ET. En una segunda etapa, el análisis se extendió a pacientes con complicaciones hematológicas y a familiares de pacientes con variantes de *TET2*.

En conjunto, se analizaron 61 pacientes para mutaciones en la secuencia codificante de 6009 pb del gen *TET2* de 42 familias con MPD (40 europeas, 2 africanas: familias F3 y F4), incluyendo al menos dos pacientes afectados disponibles con MPD. Treinta y cuatro pacientes presentaron un fenotipo simple que consiste en PV (15), ET (12) o PMF (7) sin evolución hematológica observada de la enfermedad después de un período de seguimiento de 12 años. Otros veintisiete pacientes habían experimentado una evolución de su fenotipo de MPD: PV que evoluciona en mielofibrosis (post PV MF, 5) o en AML (12); ET que evoluciona en MF (4) o AML (5), o PMF que se convierte en AML (1).

El análisis se llevó a cabo mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) sobre ADN genómico extraído de torundas bucales tras calentar a 95°C durante 10 minutos para liberar el ADN genómico. Los productos de la PCR purificados se secuenciaron usando la química BIGDYE TERMINATOR (APPLIED BIOSYSTEMS) y se hicieron pasar en un secuenciador capilar APPLIED BIOSYSTEMS 3100.

El estado mutacional de JAK2V617F se determinó como se dio a conocer previamente en BELANNE-CHANTELOT *et al.* (mencionado anteriormente, 2006).

5 Toda la región codificante del gen TET2 se secuenció como se describió previamente. Se montaron dos PCRs múltiples para estimar el número de copia de cada exón de TET2 usando el método de la PCR múltiple cuantitativa de fragmentos fluorescentes cortos (QMPSF) (CHARBONNIER *et al.*, Cancer Res., vol. 60, p:2760-2763, 2000). Como controles internos, se usaron dos pares de cebadores adicionales que amplifican secuencias cortas del gen F9 o del DSCR1. Los productos de la PCR se separaron mediante electroforesis capilar usando un analizador genético de ADN (ABI 3100). El análisis se basa en la comparación de las alturas de los picos generadas a partir de la muestra de ADN ensayada y del ADN de control. La estimación cuantitativa de la altura de las alturas de los picos se determinó usando software de análisis comercialmente disponible (GENEMAPPER VERSION 4.0, APPLIED BIOSYSTEMS).

15 La Tabla 8 muestra las mutaciones de TET2 identificadas en 12 pacientes con MPD.

Pacientes	Fenotipo	Evolución	JAK2	TET2		
				Localización	Cambio de nucleótido	Cambio proteico
P1 (F1)	PV	MF	95	Exón 11	c.5695delC	p.Leu1899fs
P2 (F2)	PV	MF	63	Intrón 7	c.3954+2T>A	p.?
P3 (F2)	PV		49-82	Exón 3	c.3138delT	p.Leu1046fs
P4 (F3)	ET	PV>MF>AML	23-47	Exón 3	c.1648C>T	p.Arg550X
				Exón 3	c.2570delA	p.Asn857fs
P5 (F3)	ET	MF>AML	0	Exón 3	C2058A>T	p.Arg686Ser
P6 (F4)	ET	AML	0	Exón 3	C1955delA	p.Gln652fs
				Exón 3	c.2490dupA	p.Gln831fs
P7 (F4)	ET		39	Intrón 4	c.3500+3A>C	p.?
P8	ET	MF	90	Todos los exones	c.1.4999_5014del16	p.0
P9	PMF		36	Exón 3	c.694C<T	p.Gln574X
				Exón 11		p.Leu1667fs
P10	PMF		33	Exón 3	c.4019T<C	p.Gln232X
P11	PMF		66	Exón 8	c.5603A<G	p.Leu1340Pro
P12	PV	MF	78-96	Exón 11		p.His1868Arg

Los pacientes se diagnosticaron inicialmente con el fenotipo indicado en la segunda columna, y subsiguientemente tuvieron una evolución hematológica mostrada en la tercera columna. Cuando se midió en varias muestras, la carga del alelo JAK2V617F se indica como un intervalo.

La figura 6 es una representación esquemática del gen y proteína TET2 que muestra las mutaciones identificadas en este estudio. Las cajas sombreadas indican exones. Las mutaciones truncantes están representadas como estrellas, las mutaciones de aminoácido como triángulos invertidos. Los dominios funcionales conservados se representan como cajas en el esquema proteico. fs: desplazamiento del marco.

Después de este análisis, se identificó una supresión completa de TET2 en un paciente y un total de 39 variantes de punto. El examen de estas variantes mostró que 15 de ellas, identificadas en 12 pacientes, fueron mutaciones heterocigotas dañinas. Se distribuyeron como una supresión del gen completo, 11 mutaciones truncantes (3 mutaciones finalizadoras, 6 inserciones/supresiones fuera del marco, y 2 mutaciones de sitio de corte y empalme) y 3 mutaciones de aminoácido (Figura 6, Tabla 8).

Además, las tres mutaciones de aminoácido estaban ausentes de los 165 individuos de control de poblaciones étnicamente parecidas, confirmando así su efecto dañino. Dos, p.Leu1340Pro y p.His1868Arg, estaban situadas en los dominios funcionales de TET2 muy conservados (1134-1444 y 1842-1921). Las mutaciones truncantes parecían estar distribuidas aleatoriamente a lo largo de la secuencia codificante (Figura 6).

En pacientes P4, P6 y P9, se identificaron dos mutaciones de TET2. Para el primero, las amplificaciones específicas de alelos múltiples de las dos mutaciones situadas en el exón 3 mostraron que estos dos sucesos moleculares ocurrieron en diferentes alelos, conduciendo a la inactivación bialélica de TET2 (datos no representados). La observación de tal inactivación bialélica de TET2 en estos pacientes cumple los criterios del modelo recesivo de dos eventos clásico de carcinogénesis, y apoya la teoría de que TET2 actúa como un gen supresor de tumores.

Otras veinticinco variantes identificadas en la secuencia codificante de TET2 y las regiones intrónicas cercanas cortas fueron polimorfismos. Siete fueron sustituciones en regiones no codificantes (intrónica o 3'UTR), una fue una variación en una repetición en tándem corta intrónica, 4 fueron variaciones silenciosas en la secuencia codificante, y 13 fueron polimorfismos de falso sentido. Todos ellos se clasificaron como polimorfismos en base a su presencia en

bases de datos públicas, al hecho de que se encontraron en miembros de familias asintomáticos, o a su identificación en poblaciones de control. Es de interés señalar que ninguno de los polimorfismos de falso sentido estaban localizados en ninguno de los dominios funcionales.

5 12. Las mutaciones de TET2 se adquirieron secuencialmente en un paciente con dos mutaciones

Siete muestras de sangre estaban disponibles del paciente P4 de la familia F3, a lo largo de las últimas tres etapas de su evolución: PV, MF y AML. La secuenciación de estas muestras nos permitió determinar la temporalidad de los sucesos clínicos y moleculares.

La figura 7 muestra el estudio secuencial de TET2 y JAK2 en el paciente P4 (F3). Para cada mutación de TET2 y para JAKV617F, se muestran electroferogramas de secuencias. El diagrama en la izquierda indica el lapso de tiempo desde el diagnóstico (en años) y el fenotipo correspondiente para cada muestra (blanco: ET; gris: PV; sombreado: MF post-ET; negro: AML).

Los resultados muestran que JAK2V617F y la mutación de TET2 p.Arg550X ya estaban presentes en la primera muestra, cuando el paciente sufrió PV. La segunda mutación, p.Asn857fs fue detectable en la segunda muestra, 7 años más tarde y 5 meses antes del diagnóstico de MF. Este análisis secuencial ha mostrado que la carga de cada una de estas mutaciones creció con el tiempo, concomitantemente con el desarrollo de la enfermedad.

Finalmente, se encontraron mutaciones de TET2 en proporciones similares en pacientes positivos y negativos para JAK2V617F, sugiriendo que los sucesos moleculares en ambos genes pueden surgir independientemente uno del otro.

25 13. Los sucesos moleculares de TET2 se observaron principalmente en pacientes con PMF o pacientes con PV o ET que evolucionaron de forma secundaria hacia una transformación hematológica.

En conjunto, se encontró que 12 pacientes poseen al menos una mutación de TET2. Dan cuenta del 20% de todos los pacientes con MPD ensayados.

La figura 8 muestra la representación esquemática del estado clínico de estos doce pacientes con al menos una mutación de TET2. Las cajas en blanco representan las etapas de ET, las grises, PV, el sombreado transversal indica mielofibrosis, ya sea primaria (inclinado a la izquierda) o post-PV/ET (inclinado a la derecha), y AML se simbolizan como cajas negras. Encima de cada punta de flecha que indica un análisis molecular se anota la mutación correspondiente de TET2. La duración de la enfermedad (en años) se indica debajo de las barras, indicando el punto "cero" el tiempo de diagnóstico. El tiempo de la muerte se simboliza como una línea vertical, cuando sea apropiado, en el extremo derecho.

Este análisis muestra que estos defectos de TET2 se identificaron en pacientes diagnosticados con los tres fenotipos principales de MPD: PV (4/32), ET (5/21) y PMF (3/8). No se observó mutación de TET2 en familiares con fenotipos hematológicos raros, incluyendo AML de novo y mastocitosis sistémica (datos no representados). Todos los pacientes con un defecto de TET2 menos dos fueron positivos para la mutación de JAK2V617F. La carga alélica varió de 33 a 95% (Tabla 6). Los casos negativos fueron pacientes con ET que desarrollaron AML muy activa y murieron rápidamente (P5 y P6, datos no representados). Se debería observar que los dos pacientes, P3 y P7, que no desarrollaron MF post-PV o post-ET en el momento del examen, se caracterizaron por un nivel elevado de carga alélica de JAK2V617F (82 y 39%, respectivamente, Tabla 6).

En conjunto, nuestros resultados establecieron que 20% de los pacientes positivos para JAK2V617F se encontraron mutados para TET2 (10/49) frente a 17% entre los pacientes negativos para JAK2V617F (2/12).

Todos los pacientes que poseen una mutación de TET2 menos dos tuvieron una mielofibrosis que apareció en el comienzo o se adquirió de forma secundaria tras PV o ET, o una AML secundaria. Por tanto, 29% (10/34) de pacientes con PMF o complicación hematológica tras PV o ET se encontraron mutados en TET2 en comparación con 7,4% (2/27) de pacientes sin ninguna complicación hematológica diagnosticada después de un tiempo medio de duración de la enfermedad de 12 años. Ambos pacientes con mutaciones de TET2 y que presentan PV o ET sin transformaciones hematológicas tuvieron no obstante un curso activo de la enfermedad.

No se puede realizar ninguna correlación entre la presentación clínica, los datos hematológicos o incluso el curso de la enfermedad en pacientes y el tipo y localización de mutaciones o entre pacientes con una única mutación de TET2 heterocigota y pacientes con dos. Como se muestra en la figura 8, se encontraron mutaciones de TET2 en tiempos diferentes en la evolución de la enfermedad para cada paciente desde el momento del diagnóstico (P9) hasta 20 años más tarde (P8); el tiempo hasta la progresión también fue variable [1-16 años].

14. Las mutaciones de TET2 estaban presentes en progenitores hematopoyéticos tempranos y se adquirieron independientemente de JAK2V617F

Había tres pacientes para el análisis de sus células progenitoras, paciente P4 de la familia F3 y pacientes P2 y P3 de F2. Las células progenitoras sanguíneas estaban disponibles para los primeros en dos etapas diferentes de su enfermedad durante la etapa de PV y la fase de erupción tras MF.

La figura 9 describe genotipos de TET2 y JAK2 en progenitores comprometidos de pacientes P2, P3 y P4. Los histogramas muestran la fracción de clones que albergan JAKV617F y dos mutaciones de TET2 (sombreado transversal), JAK2V617F y una mutación de TET2 (blanco), JAK2 de tipo salvaje y dos mutaciones de TET2 (gris claro), JAK2V617F y TET2 de tipo salvaje (gris), y ninguna mutación en ninguno de los dos genes (negro). Se analizaron dos muestras para el paciente P4, y la etapa correspondiente se indica debajo de cada barra. Se indican los números de clones analizados.

Los resultados muestran que ocho años después del diagnóstico, durante la etapa de PV, colonias de eritroides endógenos ya portan la mutación p.Arg550X (5/29) pero nunca se observó p.Asn857fs (0/29, Figura 9).

Nueve años más tarde, tras la transformación leucémica, todas las unidades formadoras de brote eritroide (BFU-E) genotipadas y todas las unidades formadoras de colonias de granulocito y macrófagos (CFU-GM), menos 2, portaban JAK2V617F y ambas mutaciones de TET2 (Figura 9). Por lo tanto, el análisis de progenitores confirmó la temporalidad de estos sucesos: en el paciente P4, p.Arg550X se adquirió primero en las etapas más tempranas de la enfermedad; y las etapas más tardías se caracterizaron por la presencia tanto de p.Arg550X como de p.Asn857fs. De forma interesante, dos CFU-GM portaron ambas mutaciones de TET2 en ausencia de JAK2V617F. Para el paciente P2, se encontraron colonias tanto con JAK2 como con las mutaciones de TET2, el JAK2V617F solo, o ninguno (Figura 9). Esto fue una indicación de que, para este paciente, la mutación de TET2 se produjo en colonias ya mutadas para JAK2. Todas las BFU-E y CFU-GM del paciente P3 diagnosticado con PV portaron tanto JAK2 como las mutaciones de TET2, y no se pudo concluir sobre la temporalidad de los sucesos de JAK2 y TET2.

15. Los sucesos moleculares de TET2 se observaron principalmente en pacientes con CMML

También se estudió la naturaleza y frecuencia de mutaciones somáticas en TET2 en médula ósea o sangre periférica recogida de 88 pacientes con CMML 1 (n = 70) o CMML2 (n = 18) según los criterios de la OMS y 14 transformaciones blásticas agudas de una CMML previamente identificada. Los pacientes firmaron su autorización según las regulaciones éticas actuales. Los pacientes con CMML en fase crónica se diagnosticaron recientemente (n = 43) o se sabía que padecían enfermedad hematopoyética, y se siguieron cada 3 meses para la abstención terapéutica, cuidados de apoyo o tratamiento citotóxico, en la mayoría de los casos con hidroxiurea (n = 45).

Las muestras de sangre y de médula ósea se recogieron en EDTA, y las células mononucleares se seleccionaron mediante Fycoll Hypaque. El ADN se extrajo usando kits comerciales (QIAGEN). La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la reacción de secuenciación directa se llevaron a cabo usando condiciones estándar con cebadores específicos de los genes diseñados para amplificar secuencias codificantes que abarcan desde el exón 3 hasta el exón 11 del gen TET2 como se describe previamente. Para cada reacción de PCR, se usaron 20 ng de ADN genómico para la amplificación mediante PCR, seguido de la purificación mediante perlas magnéticas y secuenciación bidireccional usando secuenciadores capilares ABI 3300 (AGENCOURT BIOSCIENCE). Se usó Mutation Surveyor (SOFTGENETICS) para detectar mutaciones finalizadoras y de falso sentido situadas en regiones conservadas que abarcan desde 1134-1444 y 1842-1921, y las secuencias se revisaron manualmente para detectar mutaciones de desplazamiento del marco. Las anomalías de TET2 se enumeraron según la base de datos de secuencias nucleotídicas EMBL FM 992369.

Las mutaciones identificadas en *TET2* son proporcionadas en la tabla 10.

Tabla 10

Paciente	OMS	Cambio de nucleótido en <i>TET2</i>	Exón	Consecuencia
2	CMML1	c.4453G>A	5	W1198STOP
4	CMML1	c.5214C>T; Ins 5537 (A)	10 y 11	R1452 STOP; Y1560FS
5	CMML1	c.4942G>A	9	G1361S
15	CMML1	c.4500C>A; Del 5118_21 (TTAT)	6 y 10	R1214W; L1420FS
18	CMML1	delT 4172; c.5011A>T	3 y 9	F1104FS, D1384V
19	CMML1	del 5362_5365; c.6441G>A	10 y 11	G1501FS; G1860R
20	CMML1	c.2631C>T	3	Q591 STOP
21	CMML1	Del 6507 (A)	11	T1883FS
22	CMML1	c.2961C>T	3	Q701 STOP
23	CMML1	c.1818G>T; c.4936G>A	3 y 9	E320 STOP; R1359H
24	CMML1	c.4515C>T	6	H1219Y

Paciente	OMS	Cambio de nucleótido en <i>TET2</i>	Exón	Consecuencia
25	CMML1	c.4663n+1 G>A; Del 6424_33	6 y 11	Mutación del sitio donante de corte y empalme Exón 6 + L1855FS
26	CMML1	ins 2468_9 (AA)	3	K536FS
28	CMML1	c.1272C>A; c.4814n-1 G>A	3 y 8	Q138 STOP; Mutación del sitio receptor de corte y empalme Exón 8
31	CMML1	Ins 3151 (C); c.4390T>G	3 y 5	Q764FS; I1175S
32	CMML1	c.3675C>T	3	Q939 STOP
35	CMML1	delG 4754; dup 6569_6573 (GAGA)	7 y 11	K1298FS; M1570FS
39	CMML1	delA 3874; del 4830_31 (TC)	3 y 8	K1008FS; S1324FS
40	CMML1	c.2208A>T; del 4347 (A)	3 y 4	K450 STOP; I1163FS
41	CMML1	c.6478T>C	11	I1873T
42	CMML1	ins 1921 (A); ins 2703 (G)	3 y 3	S354FS; L615FS
44	CMML1	ins 3995 (T); c.4059 A>T	3 y 3	E846FS; R1067 STOP
17	CMML2	c.2814C>T	3	Q652 STOP
30	CMML2	Ins 4293 (A); c.6510A>G	4 y 11	G1145FS; T1884A
34	CMML2	delT 4277; c.6598G>T	4 y 11	I1139FS; G1913V
38	CMML2	c.4936G>C	9	R1359S
14	TA	c.3235C>A	3	S792 STOP
29	TA	c.2490C>T; Del 5334 (G)	3 y 10	R544 STOP; E1492FS
1	CMML1	c.5043n-1G>A; Dup 6575_6579 (GAGCA)	10 y 11	Mutación del sitio receptor de corte y empalme Exón ex10; M1907FS
7	CMML1	c.4439T>G	5	C1193W
8	CMML1	c.4726G>T	7	C1289F
9	CMML1	c.5100C>T	10	Q1414 STOP
11	CMML1	Del 6023 (G)	11	L1721FS
12	CMML1	Del 1921 (C)	3	S354 STOP
16	CMML1	c.4827G>T; Ins 5178 (A)	8 y 10	E1323 STOP; R1440FS
27	CMML1	insG 2703; ins 5125_26 (AA)	3 y 10	L615FS; K1422FS
33	CMML1	Ins of 2950_85 (dup)	3	L718FS
36	CMML1	c.4638G>A; c.4825T>C	5 y 8	C1193Y; L1322P
37	CMML1	c.6414C>T; c.6496A>C	11 y 11	Q1852 STOP; E1879A
43	CMML1	del 3859 (A)	3	N1000FS
46	CMML1	del 1264_66 (AAA)	3	E135FS
3	CMML2	c.4431C>T	5	Q1191 STOP
6	CMML2	c.5070C>T	10	R1404 STOP
10	CMML2	Del 2655_2658 (CAAA)	5	N598FS
13	CMML2	Ins 5602_5606 (TCCAA)	11	S1582FS
45	CMML2	c.2784 C>T; c.5253 C>T	3 y 10	Q642 STOP; R1465 STOP

Los resultados revelaron que se detectó un estado mutado del gen *TET2* en 44 de los 88 (50%) pacientes. Entre los 43 pacientes estudiados en el diagnóstico, se identificó un estado mutado del gen *TET2* en 18 casos (42%). Tal estado mutado se identificó en 26 de los 45 pacientes (58%) de los estudios a lo largo del curso de la enfermedad. Estos resultados sugieren así que la prevalencia de la mutación de *TET2* es mayor en CMML que en cualquier otra enfermedad mieloide estudiada.

Además, se debe observar que dos mutaciones distintas en la secuencia de *TET2*, sugiriendo una alteración bialélica del gen, se identificaron en 18 de 44 (40%) pacientes mutados con una CMML de fase crónica, incluyendo 5 de los 18 (27%) pacientes cuyas mutaciones se identificaron en el diagnóstico, y 13 de los 26 (50%) pacientes mutados estudiados a lo largo del curso de la enfermedad. En conjunto, se identificaron 69 mutaciones en *TET2*, incluyendo 33 mutaciones de desplazamiento del marco, 19 mutaciones finalizadoras, 14 mutaciones de aminoácido, y 3 mutaciones en un sitio de corte y empalme. Estas mutaciones implicaron muy frecuentemente al exón 3 (22 sucesos), al exón 10 (9 sucesos) y al exón 11 (10 sucesos).

Se llevó a cabo un análisis de la supervivencia global en 40 de los 43 pacientes cuyo estado de *TET2* se determinó en el diagnóstico con un seguimiento de al menos dos meses e indicó una supervivencia global a 1 año menor en pacientes con los 16 pacientes de esta cohorte con mutación de *TET2*, pero la diferencia no alcanzó significancia. Cuando el análisis de supervivencia global se limitó a los 29 pacientes con una CMML1 según la clasificación de la OMS y un seguimiento de al menos dos meses, la diferencia entonces fue significativa ($p < 0,01$). Ninguno de los otros parámetros ensayados, incluyendo la edad, sexo y clasificación FAB, afectó a la supervivencia. Finalmente, los resultados establecieron que la mutación de *TET2* estaba asociada en los 29 pacientes con CMML1 con una tendencia a una supervivencia significativamente menor.

16. Alteración del gen TET2 en pacientes que sufren cáncer linfóide

Los análisis de CGH de 157 pacientes que sufren linfoma de células B mostraron la pérdida de un cromosoma completo 4 en 2 casos, una supresión parcial de las secuencias del cromosoma 4q que suprime el gen TET2 en 4 casos, y la pérdida del lado en dirección 5' de TET2 asociada con duplicación del lado en dirección 3' de TET2 en un caso. Estas reorganizaciones se encontraron en linfomas de células B grandes difusos (107 casos), mientras que no se pudo encontrar ninguna reorganización en linfomas foliculares (50 casos).

Se analizaron 93 pacientes en busca de variación en la secuencia codificante de TET2. Hubo 33 linfomas de linfocitos T y 60 linfomas de células B.

Se observaron 14 mutaciones en 10 muestras de linfomas de linfocitos T, incluyendo 10 desplazamientos del marco y 2 mutaciones finalizadoras y 2 mutaciones de aminoácido.

La Tabla 9 muestra las mutaciones de TET2 identificadas en 10 pacientes con linfomas de linfocitos T.

Enfermedad	Cambios de nucleótido	Consecuencias de aminoácidos
T-linfoma	c.3215delT	p.Phe785FS
T-linfoma	c.[1893_1896delAAGC]+[4527delG]	p.[Lys345FS]+[Ala1223FS]
T-linfoma	c.[2505delA]+[2524delC]	p.[Thr549FS]+[Pro555FS]
T-linfoma	c.6564C>T	p.Tyr1902
T-linfoma	c.6745C>T	p.Pro1962Leu
T-linfoma	c.5523_5524insA	p.Glu1555fs
T-linfoma	c.[3131_3137delCCAGACT]+[5109G>T]	p.[Leu757FS]+[Val1417Phe]
T-linfoma	c.[3747C>T]+[5331A>T]	p.[Gln963STOP]+[Lys1491STOP]
T-linfoma	c.3756_3757del CA	p.Gln966 FS
T-linfoma (LAI)	c.1642delC	p.Ser261 FS

De este modo, estos resultados establecieron que las frecuencias de la mutación de TET2 en pacientes que sufren tumor linfóide de linfocitos T es 30%.

Listado de secuencias

<110> INSERTM IGR

<120> TET2 COMO NUEVO MARCADOR DE DIAGNÓSTICO Y DE PRONÓSTICO EN NEOPLASIAS HEMATOPOYÉTICAS

<130> 354819 D26395

<150> EP 08305255.5

<151> 12-06-2008

<150> EP 09155169.7

<151> 13-03-2009

<160> 39

<170> Patent In version 3.3

<210> 1

<211> 132428

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<221> Intrón

<222> (1)..(100)

<220>

<221> Exón

<222> (101)..(787)

<220>

<221> Intrón

<222> (788)..(44167)
 <220>
 <221> Exón
 5 <222> (44168)..(44294)
 <220>
 <221> Intrón
 10 <222> (44295)..(87704)
 <220>
 <221> Exón
 <222> (87705)..(91159)
 15 <220>
 <221> Intrón
 <222> (91160)..(95146)
 <220>
 20 <221> Exón
 <222> (95147)..(95237)
 <220>
 <221> Intrón
 25 <222> (95238)..(96641)
 <220>
 <221> Exón
 <222> (96642)..(96735)
 30 <220>
 <221> Intrón
 <222> (96736)..(97377)
 35 <220>
 <221> Exón
 <222> (97378)..(97586)
 <220>
 40 <221> Intrón
 <222> (97587)..(113426)
 <220>
 <221> Exón
 45 <222> (113427)..(113577)
 <220>
 <221> Intrón
 <222> (113578)..(115566)
 50 <220>
 <221> Exón
 <222> (115567)..(115656)
 55 <220>
 <221> Intrón
 <222> (115657)..(123417)
 <220>
 60 <221> Exón
 <222> (123418)..(123555)
 <220>
 <221> Intrón
 65 <222> (123556)..(126371)

ES 2 532 883 T3

<220>
 <221> Exón
 <222> (126372)..(126726)

5 <220>
 <221> Intrón
 <222> (126727)..(128855)

10 <220>
 <221> Exón
 <222> (128856)..(132328)

<220>
 <221> Intrón
 15 <222> (132329)..(132428)

<400> 1

gcgcgggggc gtgtgcgcgg gacctcgaag tgggtggtgga gtgcagacca gcaaaaagtt	60
tcaaaggga atcttagatg tcacgtcttt gtccaggcac ccgtgccatc ccaacctccc	120
acctcgcccc caaccttcgc gcttgctctg cttcttctcc caggggtgga gaccgcga	180
ggccccggg gttcccgagg gctgcacct tccccgcgct cgccagccct ggcccctact	240
ccgcgctggt ccgggcgcac cactcccccc gcgccactgc acggcgtgag ggcagcccag	300

ES 2 532 883 T3

gtctccactg cgcgccccgc tgtacggccc caggtgccgc cggcctttgt gctggaagcc 360
cggtgcgggg ggctaattcc ctgggagccg gggctgaggg ccccagggcg gcggcgaggg 420
ccggggcgga gcgggaggag gccggggcgg agcaggagga ggccccggcg gaggaggaga 480
gcggcggtta gcggcagtgg cagcggcgag agcttggggc gccgcgcccg cctcctcgcg 540
agcgccgcgc gcccggttcc cgctcgcatg caagtacagt ccgccccctc ggcgcgggccg 600
ccccgagacg ccggccccgc tgagtgatga gaacagacgt caaactgcct tatgaatatt 660
gatgcggagg ctaggtgtct tctgtagaga agcagaagga agcaagatgg ctgcccttta 720
ggattttgta gaaaggagac ccgactgcaa ctgctggatt gctgcaaggc tgaggggacga 780
gaacgaggtc agagcgcttc tcttatgccg cgaaactctc cctttcttct ccccttcgct 840
ttttctcggg cttccaggga ctggggagca aaccctgtag tgtcacccac aaataccaag 900
agggaagagg gaagcttcac aaattactgg agcctcttca acatggctga caaatatagt 960
tttaattccc tctacccctt ttaaacctgt agttctgtgt tctcttctct cctcctaatt 1020
ctcgtccctt catctcccag aaaacttacc tttgtgcctc cgacgagccg gtttcccggc 1080
cttttttaat cctcagaaaa gtgattttta aatttgcttt cctttctaaa atagttcagc 1140
tttgggggca ctacttttcc ctttaatcct cttccctgtt ttctttctgt taagtgaaac 1200
gagtctcccg tttatcctga acaacctcag agagaacact gatagggtgt ttttcgaccc 1260
ttttatcagc tgtaggttct gggctctggg ttgtgtctgc ctcctctac cttcttatcc 1320
ccctttaggg ggctgtacga agtgaatgtc acagggagtg gaattggagt aactgagtg 1380
ggtttttttt ttccttaagt ccgcgcgttt tgtagcggc gctgagtgaa agaggaaaga 1440
atagtttctc tggttcccca aacaagacca gaactcactt ttctcaaggc acataagtca 1500
gcgctgggct gagccttcca gcctggggaa tgtatgtaag agaatttatg gacaaatctg 1560
tgtcccggtt ttgtgcttct cccgaatcag cttcgtttgg ttccttggtg agtgacaggc 1620
agacacaaa ggcaggcgag gcccggggag gggcggggag ggggtgggga gcgcagcggt 1680
ggagttgcaa gactgcaagg tcagggggcg ctaaagaaat gaaaccaat cccagcaaag 1740
aagtgaagag cagatttata acagtcccat ccaaatttct ctttggttcc tctctttggt 1800
ctttcatctc tctgccttcc tctctgtgtc tctctctac tctttcttct ctctctctca 1860
tacacataca cacacacaca cacacacaca cctcactcgc atcttctgta atcttttcac 1920
tgggactgct tgtctagttt tattaagcta atagggtttg tatggagagt tttctacct 1980
tgacataatg aagtgtggcc tggatagact cctggaaagg ccgaaaatga aatataagt 2040
ttatttgctg gttattcccc tcatgatata cttttaatta cattgaggga gttctccctt 2100
cttcatctaa tgtttaagaa ttgagaaaag gcttattttc cagcggtaaa atttagtgca 2160
taaaatttag tgaaatattt atatatttac gtgtctaggg agtggaatac attcatgaat 2220

ES 2 532 883 T3

ttaatatctc aaatcacaca ttgtgctttt tccccttcag tcagggatta taatgggaaa	2280
cccaaattca aagatattca tcaacaaatg atccatcata ggaataagat tgtatcttaa	2340
gggaagttgg gattcacaga gaaaagacat tggtttggtt tgggtgtgata ctgtgggtat	2400
tggtgcctgg ctaatgaaat cattacattt gcattttaat ggaaagtga aatactaagg	2460
ggagttatgt tcttttacat gtttgtatgt gtgcttaata atgtttggaa tagaatataa	2520
atttaaacac aataaatatt gattttttta aatgttaata agcagagaac ggtaaatgaa	2580
gtgttgata atcaaaactga agtttagaag acaatttata ggattaaaa atggatagaa	2640
ggaaaaacac aataatagat atttctccat aagtcgaatt tccaaaacta tttgtcctcg	2700
atagttcact ttgtaacttt ctattttgat ctttgttaat ttaatgtagt ttgctttaat	2760
cattgatacg tggggttctt tcacatgatt acaagggaga agcattactc atctctgtgg	2820
aatagaaacg gttcattggt tagttcttat ttgccctaaa attaaaaaa aaattaggat	2880
tttaccatta atgctgttca tggtaaaacta tcgagaaaac tatggtaaat tattccagca	2940
attcagaatt aaaaacaatt ctttttgcta acaaactaat atttactttt tggggacaac	3000
ttttcaaagt ttgtggtata tactgtcttc aggtactca actaataata gataacaacat	3060
tttcactca ataaataaga ataactacat tggtaataa ttttgaatac aactatgaag	3120
gcttgttttt tcctgtcatc aaatttagat tcttgttatt ttgtgcatcc tacttttata	3180
ctgaaaatag ctgctaatta atactgtata aagtatttca gtgattataa ggaagagatg	3240
tgtatgttag tcactttatc ctttgttga aaagagaaat tattttaata agtatgggt	3300
agtttacaat aaaagacata acctcagttc tttctttacc atatatgtga tcatactacc	3360
taggtgctcc aaaaattcca taggactgtc ttgggttatt gaattttagg aacatgataa	3420
tggacaataa caagatagat agcttttctt aactatgaca ttgttttget tattttctta	3480
ttgaactaat catcaatgag aaattaagtt gcagtgagag aaatcccttg ctttgtttaa	3540
attgtcatat ttgccaaaact cttcttaagg ctttaattag gtctgatgtg ccagtttatg	3600
ccagaagccg gaggaattga tatgattttg aggcagtggc acatggtoct actagacatt	3660
ggcaagtga taccacttcc agaacaagtg aagtgcacct gccaggagt tgttatgaaa	3720
gaattccaaa gtccttattg ggcaactggtc ttgtattagg taacaacaaac tggagttaat	3780
gttttagttt cacttgttga agttaaaagt tccctatcaa ttcttctaag actccacccc	3840
caaacaatgt tgtaagtcaa atgtcactat tgaaatgtat ttccttaatt actgacctca	3900
ttaagaagcc cttcttatga ttcataggca cacctcacag aaactctatt ttccatcctg	3960
cccaaagtct gagtaggtaa attcttatga attcttatga aattaccttg aaataaaata	4020
tcttcaaaag ttacggatgc tagacattgt ataatgtcaa tattttagaa tatctaatat	4080
ttagaaaatc ttagatctac tttttatgct ttaattgctt ctaatgcaag ttaaattggt	4140

ES 2 532 883 T3

tttgttgtta ttgttttaaat agaatttcat agtcttatct agcaatttca aatcgctgga	4200
aagagtcac tttgttatat aaataacccat gtagactgtt ttaatgttat tgtttcctac	4260
cttggaaca ggctaaaact ttggaccagc tgtcagtatt tgttcacag aataacactt	4320
tgtcaatgat tattctacca ttgcacagta gttcttaagg atagtaatgg taccaaagcc	4380
agcagcaata gaatatctcc caagccaact ttacaattgg agccttccact gtgggaaaga	4440
ccagttgcc aagtagagctg gtggttatct gggaaactgt gctgaagaac acaaccacaa	4500
atgattttgc caaatataca gtatttactt ggtctagatc tccaatttct atttctactc	4560
actgccaaaa ctgagtgaat actgtgacat tattgaagga gggttatgcag tacatctgtt	4620
ggtttggtat atagtaggag agaagggttc caggagggaa aggggaaagt cagagcatgt	4680
gaatcactgt gactacaatc caaaaagaat tatgtatgtc tgctatttcc agcattattt	4740
ttgtcctata ttgtacattg cagagacttg ctgacttaaa atagatatat aatctttttc	4800
tcaaaagaat agatatttgg ttgtccattc caaataacaa attttggatg ggcgtggtga	4860
ctcatgcctg taatcctagc actttgggag gccaagggtga gagatcactt gagccagga	4920
gtttgaaacc accctgggca acacagtcag gcccagtcct ctacaaaaaa tttaaaaagt	4980
tagtggggca tgggtgtaca ttctgtagt cccagctact caggagactg agataggagg	5040
atggattgag ctcaagtgtt ctaacttata gtgagctctg atcacaccac tgcgtccag	5100
cccaggcaag agggagagac cctatctcaa acagcgacaa caacaaaacc aaacaaacaa	5160
aaaagcacat tctatcagct ttgatttatg ttttcttcat ttgtaatgac atgtagttaa	5220
atgtgtcata cttcaaaaag aagaacaga tagtaggtgg attttcaata taatatatat	5280
tagatataga taatatatat tttcaatata taatatatgt aaaaataaat tcagtataa	5340
tatcatccta cctgcagttt taagaattca gaactcaggc cagggtgtgtt ggctcattct	5400
gggaggggaa ggcaggagga tcaactgagg ccagaagttc tagaccagcc tgggcaacat	5460
agtgaatac ctgtctctat tcaataaaaa taaaaataaa aataattcag aactcaatgc	5520
tttatactca ctgaaagtgt ttctctataa ctgacttgaa atcatgttcc aaataaactg	5580
agaattaaag taagagacga ggccggttgt ggtggctcat gcctgtaatc ccagcacttt	5640
gggacgacaa ggcaggtgga tgacctgagg tcaggagttt gagaccagcc tggccaacat	5700
ggtgaaaccc tgtctctact aaaaatacaa aaattagccg ggcatggtgg cacacaccag	5760
taatcccagc tactcaggag gctgaggccc gagaatcact tgagcctggg catggtggct	5820
catacctata atcccagcac tttgggaggc cgaggcaggt ggatcacctg acgtcaggaa	5880
ttcgagacca gtctggccaa catggtgaaa ccccatctcc actaaacata caaaattagc	5940
tgggtgtggt ggcacatgcc tgtagtctca gctattctgg aggctgatac aggagaattg	6000
cttgaaccct cccgggaggc agaggctgcg gtgagccgag atggctctgc tgcaactccag	6060

ES 2 532 883 T3

cctgggcgag gcagagagac tctgcctcaa aaaaagaaaa ataataataa taaataggag	6120
atgaataaat tgggataaag tgtttttgaa ggacagtcta ggatataaaa tgaactgggt	6180
gtttgactaa aaatactaca aatgtttctt tcaaattaca tttctttttt gtctattgga	6240
aggtaggcac tgatttctat gtctttctat tccctaatag aacctactgt tgacctctca	6300
gtcaatattt aatggatgat atagaactag tgaaaaacca tgcaatttaa ctgaaaaaaa	6360
aaagtataat ctattttctt ttcttttttc tttctttctt tctttctttt tttttttttt	6420
tttgagacgg tatcttgctc tgtcacctag gctggagtgc agtgggtgta tctcggtc	6480
ctgcaacctc tgccttccag gttcaagtga ttctctttct cagccccag agtagctggg	6540
actaggagcg tgccccacca cacctggcta atttttctat ttttattaga gacagggtt	6600
caccatgttg gccaggctga tctcgctactc ctggtctcag gtgatctgcc tgcccggtc	6660
tcccaaagtg ctgggattac aggcattgac cactgcacct ggtctaattt attttcaatg	6720
tataagagaa aaatagtgtt aagtgtcttg gtgatgggtga tgatggtagg agtaatggtg	6780
tgttttcctt acatttaatt tctacaggct atggcaattg ccctataaaa gccaccatt	6840
ttaagcacia aagtgaatgg tttttagtaa acttatatgg gatcatatat ttttaattga	6900
aatatttttt gagttaatta tagattcata tgccattgta tgaaataata cagagagatt	6960
ccacgtatac ttgctcaatt tccccagtg gcaaaccttt gcaaaactat aatatcatat	7020
cacatcacat gcaaaactat aatatcatat cacaaccatg atactgacat tgatgtggcc	7080
tactaatctt attcagatgt cctcagttta acttgctactc atttgtgtgt gttttgtttt	7140
ataccattta gtcacatgat cacatatattt taaacctttt tttctcaaaa cagagaagtt	7200
tagcacaaaa gtttagcaat ttatcaattt tgtgattgtg ctgttatgcc atattaaaa	7260
gtgtgtcaga atgtaagttt ttgttttctt aaaagtcctt tttttgatag aatggcctt	7320
atgttaaaaa tattttaagt tgttttgtga cagtgtgaat cgatgtcatt taattctcat	7380
cacaacccta gagataggta ttattcttat cctattttat gaggtaggaa actgaagccc	7440
agtgaggtta aataacttcc ttaagttcat acagcctata catggcttag gcttagccag	7500
catttgagtt aagcagctcg tctctagtgc caaatctttt aatcactata ttatacttca	7560
tcattatcat tgatagctgt aaaagtgtat aatgtggact atgtagagaa agtcataaaa	7620
ggagatttaa aatgcataca gttgttcaca tgaaaacttg tagccaaatg ttcatcacag	7680
cattattaat aatggtaaaa aatggaaaca acccagatgt ctatcatgtc atgagtgaat	7740
aaacaaattg tggatatatc atacagtga atattattaa gtagtataaa ggaatggatt	7800
attgataaat gctgtcacat aggtgaatct gagaggcaca agaaaggcca catatgatat	7860
gctttcaatt ttaagtaacg tccagaatag gcaaatctaa ggagacagaa agttggctag	7920
ttattactag gggctaggga tgggaggagg gtgactccta ataagtatga gattttcttt	7980

ES 2 532 883 T3

ggtgatgatg aaaatgttct ataattagat agtaatgatt gcccaactct ttgaatatgc 8040
 tgaaacccac tgaattatat gctttaaaag gatgaattta ttgtatgtga attatatattc 8100
 aaaaagctgt tggtataaaa atgaatgtag ttgagttatt tggtttattt tatgtcagaa 8160
 aatgtcttac atctcatgca aaagaaatgc aggaactatt tggattgaat gaggctaagc 8220
 atatctttct aggaagatgg catcaaggag ttttattatg cctgtaatcc tggcactttg 8280
 ggaggccaag gcgggagacc agaagtttga gattagtctg ggcaacatcc tcttatagat 8340
 gagaaggata cttaatcact caaaagttgg catttgtgtt tgtgataaca atagccttta 8400
 gagctcatat gggaagattc aatagatagt gataggttat atgacttggg aaagagggct 8460
 taatgtatag gtgcaagaaa ctttctcaga tgtctttagt tacctagcca ttcagttcag 8520
 gagatgtaac ccaagtgtta aaaggaatgt gactgggtgc ggtggctcac acctgtaatc 8580
 ccagcacttt gcgaggcgga agtgggtggg tctcttgagc tcaggagttg gagacaagcc 8640
 tgggcaacat ggcaaaaccc catccctaca aaaaatgcac aaattagctg ggtgtgggtg 8700
 cacatccctg tagttccagg tacttggtgg gctgaggcgg gaggatggct cgagcctggg 8760
 aagttgaggc tgcagtgagc catgttggtg cccccacact tcagcctggg tgacaaaatg 8820
 agaccctctc tctcaaaaaa aaactataaa aattgctgtt cttgtttaaa ttactacaaa 8880
 gtgcagttta atctagaaat aataacaaat tactagattt ggggggttat taatgtctta 8940
 tctatgtgaa aacagaaggg caatgcaggg cagagaataa acttcaaaac tttgagtttg 9000
 ttaactgttt atatctccac ttgtcatgtt tcagatttta aagttaaaat gacaaagtat 9060
 ctcatagggg ttaaacaagt gactcttttc ctgttaactg atactgtggc atgttgaaga 9120
 tgtaaaataa ggttgaaaag gaaattgctt tgcagcagtc ttcataatgc caggacaaag 9180
 tgagaaacag ggtcagaatg atgatggctc tccatctttg ctacacatgg ctgcaagtat 9240
 ttacaaatac cagcagaact tctacaaacc acttacaggt aaaatgagtg cagattttta 9300
 aactagtcc ctatggaact atgacttgta gttttggaca cacaggggta attacttggg 9360
 gttgattgta tttgaatttc taaccttatg taattctaga taccagacat tcttgttgtg 9420
 caatgcttct ctcccttttt attctcatga gaatgctggg ttgcagccgg ttggatccca 9480
 taccttggga ccatgactga taactggagt ggagaaaatt cactgatctg gaaagggtga 9540
 gctttagggg tcagagactt atttaaggta cacatgtgat tgtacccaat aaggaagtat 9600
 attggcttta tataattggt atgatcactt gttcaatgag taactataga attttacttt 9660
 ttaagagtat gatcatagca tctacttgta ggtttggtga gtatgtttga caagcccaag 9720
 atagatgctc atgttagacc cattaagaag ttggtgtagt gatggttatg gaaagcagta 9780
 agatagaatt taggttctgt tctccttact ggagaaatga ctagcttact tgtcttcaat 9840
 ctctcttgtt tctctcaaaa ctttgtgaac cacctcagct gactataaat ttttgtacta 9900

ES 2 532 883 T3

gtatctccat aattttaaaa aagttgttca caagtttgag tgtagtactt catctttgct 9960
 ttttaatgca cttccaaaaa atgtaaactt gttctcgcat attaggaaca ttttgatttg 10020
 ttgtttattt ttagctttgc tttttataag taattttatac agaaggtaca ccataattcaa 10080
 aagaagaaaa atgggctgtg aatttttgct gatgtactac tctcttcaaa gggaattgcc 10140
 tatgttcagg catagaaatg caggcagtct gacatttagg tatgccatac agagtattga 10200
 tatttttaat ttgctacttt taacattttg agatttgtca cagtttggtc tgtgggtggg 10260
 taaaagtaat ggtaatttta attacagttg tegtgcctca ttagccattg ctaaaacctg 10320
 ccttaccaaa tcaacttttt tcttgatgca gtgttaaact tagcttctat gtccagggtta 10380
 tacattaatg agaacattca cccatctctc aaatgggtta ttatagtatt ttctcctgaa 10440
 atagatgatg cataaaaaaa agtaaaaaag cttcaatagg gataatgaaa gccagataac 10500
 atagcatggt atatgagtta ttctcccggt ttttcttacc tgtctgcact aagaagggca 10560
 cccattaaat accataatta ttagttgtgc tgcctctgaa gtagagcacc agaattgtgag 10620
 agtaatacaa tgagaccaca cccagattct atccataaca tactgtcctg gtcttattaa 10680
 tttttttaac ctgtttgttc ttttagcact ttctctgctt ttgtttgaag tctcttgctt 10740
 tgaagttata gaatttttat atttgccatt ggctgtaaaag ttatctcagc tcttttataa 10800
 cttttcatta tatttgcat aaaggatca ctttgagcac cctgtaatta attcagatga 10860
 ttattagctt tttgtttgt tctactgtgc actctcctat atacattata acagaagaaa 10920
 aaaccatttc taaaaatata gtgtctgata gttcatcaaa tcagaatgag catcttaaaa 10980
 agtgaattat taaaatatta attcatttac attcctattt taatgtacca aatgtaactg 11040
 atgaaaagaa gaataccata aatgggtacc tttcaaaaat gaaggaaaaa aaaatctcac 11100
 aactaaagat tcttaccata taaatttttt atttttagtaa ataattattt tagtacaac 11160
 agatacattt tagcaggaaa aaacacactt taaaccttgt tttatagatt ttatctttct 11220
 tccaatctag ccaactgaaat ggttttttct ccagtgaagt tatattatct acataagttg 11280
 aatttaaaac aaggttgtat tttaattttg cagttgtctg ccacattacg cttgtggaaa 11340
 aacactggca gaaagcaaag ctaatagaca ttttgctgtt ggctcacctt attaatggct 11400
 aagatttaat tatgtatttc tactgaaaag caaacttgaa aaagacgttt ggttactaac 11460
 tgtgggaact aaaaattttt atttattttt attttttatt ttttggtaga gtctcactct 11520
 cttgccagg ctggagtgc gtggcatgat cttggctcac tgcagcctcc tccttctggg 11580
 ttcaagcgat tctcctgtct cagcctcccg agtagctggg attatagga ccagccacca 11640
 tgccctggcta atttttgcat ttttagtaga aacagcggtt cgccatgtag gctaggettg 11700
 tctogaactc ctgacctcta gtgatccacc cccttctgct tcttaaagtg ctgggattac 11760
 aggcattgag catcggcctg gccaaactat ttactgttac aacttactta ctttgaaaca 11820

ES 2 532 883 T3

acttattttac tgttaaaaaa tgtggttctt atttcaaata agattttatg gacatcaact 11880
aatttttttaa acatatattg taatttttaa acattttttac caacattttt caagagcatg 11940
ggaaatctag ggtatggcat tttaaagtga ctttaaagac acttcttggg ttttggtgaa 12000
gtcagaatat ttttaaaaat acaatgagtt taattttacta ctgacagatt ttcttttaatt 12060
ttttttgcat tgttataaatt agtcatgcct taatcctcgg ggtttttggg aaactatatatt 12120
taggggttaa aaacttagtt attgacattg taatttttct cagtattggt aagaattcag 12180
gtgtttaagg aatggagttt acttggtttc tgttcacaaa cccattgtaa aagatataat 12240
gaatgtagat gaaggtgaaa tccgagatag gaagagaggt aaaatgctac ttttttttcc 12300
ttcacccaag gaaagccatt gaatactgaa tgggtcatgt tgtaatttaa ttgggtgtaa 12360
attataactt tgtaaatcat ttgcctactt agtgtatata tctggttttt atgtaattca 12420
tctcccataa tatctcagtt tacactgaag taaataagca agcaggaata agtctgcaa 12480
atagaggaag tagaaagtgc attcagaatg cattgctgaa attgtaaaac tgatcctaaa 12540
ttgaattagg tagagcagtt aatttagatt acaagaaatg caacaggaaa aaaatattac 12600
agttcttctt cttttttgga aaaaaaaaaa gaaagaaaag acaataaaat cacccttagt 12660
tagtgataat tccttgacat ctgtatgctc atttttaggg ccaaaaaata gtaggcttct 12720
ctttggaaat tgtagacgct ttctctcctt ccagttacac gcggtcacat caacatttga 12780
cacgtgggta ccgtgcacgt ggcagcagta tttacaaaca ccctcctagg attccagaga 12840
ctcttatgta acagtggaga gagtaagctt tgagtgtctg tgggcggagg aatcaacaca 12900
gtttaattca ttgtccggga gcccttgtct ggctctgata gggtcatgaa ccaaagatca 12960
aggtgttttag gtcaggatat tccctaacgc atgggttttcc taccaaagcc tcaaaagctg 13020
tgctaaata caagattaat ctttttcttt ctttctttct tttttttttt tttttttgag 13080
acggagtttc gctcttctg ccaaggttgg agtgcagtgg cgcgcgcatc tcggtcact 13140
gcaacctccg cctcaccggt tcaagcgatt ctccagctc agacacccaa gtagctggga 13200
ttataggcat gcgccaccac gcccgctaa ttttgtattt ttagtacaga cggggtttct 13260
ccatgttggt cagcctggtg ttgaaactcc gaactaaggt gatccgcttg cttcggeccc 13320
ccaaagtgtt gggattacag gcttgagcca ccgcgcag ctaagattaa tctttttatg 13380
ccctgcagca aacaactagt catgccaaac catttttgtg atttggggaa acatgagcag 13440
atgatgcttt ggatctgatt ataattcaca gtgctcttgt aatttacgtg agatttgcatt 13500
acctgcctcc cagcctcaca aaatgccttt aaaaaattac atcttgcca ggatggctca 13560
cgctgtaat ccgggcatth tgggaggcca aggcgggtgg caagagatcg agatcatcct 13620
ggccaacacg gtgaaaaccc gtctctgcta aaaatacaaa aattagctgg gcgtggtggc 13680
gggcgcctgt aatccagct acttgggaga ctgtggcagg agaatcgctt gaccccgga 13740

ES 2 532 883 T3

ggcgagggtt gcagtgcgc gagatcgcc cactgcactc cagcctggcg acagaacgag 13800
 actccgtctc agaaaaaaaa aaaatcttga tatttgtatg catcttaaaa agcaagagaa 13860
 ttcattgattg acttcccaaa ctaaaccggtc tgaccagaaa aactcaaga aaactcttgg 13920
 ttaatcatgc tccttagtat accattatac ctgcctctcc cctttcccca tcctctgtaa 13980
 attctctcaa ccttctctca tttttaattt cataccaaga cctagagcta aaacaacaac 14040
 aacaaagctt taagtctcta tatttaggga atgtgcctcc tatcccaaat tgatttttag 14100
 agcttttcat ttatttttat caatacaaag caagttgaaa taaaaaaaaa ggcatcaaaa 14160
 atttaaatgt ctaaccacgt atatttggtg tatgtatact ggtgctatgt attagctgta 14220
 agcagactgg tttgaatatt taaaatatga acagaatttg agttcttttt gtattgcctc 14280
 taaggatcat ttgagatgga tgcattcatt tatcatccaa aatagaagcc ttcttgccta 14340
 acaagaatt gtaattagat catcaaagat gaaatttata gtaattgaaa agttagctca 14400
 ttgactgct tctttcatag actgtgtttt tgtaattaca ctacctttct aaagatagga 14460
 aaaatcagag tctctgaaat gtaatactat aagtgaata tgtatttttt aaaataaagg 14520
 atcttttccc aagagctaaa ccaagcacca aatctgtttt ttgggggttt tttggtttgt 14580
 tgggtttgtt gtttgtttgt tttgacaga gtctccctct gtcgccagg ctggagtga 14640
 gcggagcgat ctgggctcac cgcaacctcc gcctcctggg ttccagcaat tctctgcctc 14700
 aggcctcgga gtagctggga ttacaggcac tcgccaccac gcccggttaa tttttgtatt 14760
 tttagtagag gcgggggttt accatcttgg tcaggctggt tttgaactcc tgacctggtg 14820
 atccactcgc ctccagctcc caaagtgtg ggattacagg tgtttttctt taagtaatac 14880
 ttggtataag agaactttat atctggaata atttaaatac tatctgaccg aatctattat 14940
 tcacatatag aaactcaggt tttagccatt taacatctaa agctgttctc atttagagga 15000
 aattacaaa agagtgaact atttaactaa caataaaatc taaggataga tattttttca 15060
 ttctgttgca gagcaaaagc agccttctgg atatgaaaag atattacttc tttagtgttt 15120
 attacttata atttattgta cttttctgat aactgaatt aagatgcgat gagagtaggt 15180
 tgtagatttt taaaagttct ttttgcgtg atttatctac ttgctttttt agtgcggac 15240
 tataaatgat gtatttctct caattatcct cggcctaaat agtaaaagct tgggtgaaat 15300
 tacttatgag tatacttttc ctgcacagag cagagccatt actgaacact ctcgagcttt 15360
 aacaaaaatc atcctatctt atattagaat attaataatt tccctctttc tcggaccttt 15420
 gtttcacagt aaatcatata tggatataag ctgcaagtgc tcagaatttg attaaggcta 15480
 taagttaatt tctactaaaa aagggttca aatagaactt tcatttggtt gtactgtagt 15540
 ttcacttgaa ggggcaagca tgcaataaac attgacttat tcaatgcata ggctgtcttc 15600
 ataaagatga gactgagtga cagttgtctg tgtattataa aatatcagaa tggtagattg 15660

ES 2 532 883 T3

aatctgatgc ataccaagga gcaatgtgga aatthtttaggc tgttcgtctt ttttcagtta 15720
ctactaagtg tgtgtatgtg gtgtgtatgt gttttgaact tttcatattht aagctgaatc 15780
ctcttttgga gaaatgggta aatagactat agtaaaagtth tctgtctata aatataaaat 15840
gaaaaaatac tgatatcttg cattttccct aatatgttga aagtgcacag aatccttggg 15900
gtcttttgta taaactgttht ttatatggtht cctgtagaag acagctgagg caccaaacac 15960
acacacaaaa caaacagctt gcttggtgat gataacattc gtgcaaggga gttctctctt 16020
gcataggagt cccaggttac cctaattgcct tcccacatgg tcaaacacat ggagctttca 16080
tatttacaca cagctccaga attctgaagc ctgcagttgt ttatcagthg gatacaggga 16140
gaaagagthg tgtctatctt actaactgtt taatgacctg gatcatgaat actgatacag 16200
aataagaaag cactggcctg actgcagggg aaacatggta gatgcctaaa ggaggcttht 16260
ccctgcccc aactgttht tttaaactat cattatcac tgaaaggagc tttcacctt 16320
gaacttaaaa tagtagcttht taaccctgac aagcaagtag gcactthtagt attcaagaac 16380
tgaaggthg aagccctgag gagtgttact ctctttcata accaagctga ctcaaactct 16440
tttagaagct agtgtagtaa cttaacctac tctaataatg ttgctgcatg ccttcataga 16500
aacagttgga gcaagagctg cattttcttht tttttaagtg tttattattht acattthtatt 16560
tttgaaaaca tgccattcct attacatata gaaatacttc ccaaaatcac tgtttgtata 16620
gaactattht gcttaacatt aggattctat tgaagagcct atatctgcaa taatacgggg 16680
agaaaatccc cttttgtgtg atagattaat gataaagaga aagaaaaggth gagaagtaat 16740
tttgggaaat atgcaatgat aaactagthg tattttattga actaaacacc agcagctgtg 16800
cttagcatgg ataattgcct aaaaggatga gaaaaaaaag taaaaatcag gagactataa 16860
atthtttcagt gaagaataaa tttctgttca caaattatga acattthtaaa tatgtattht 16920
aaactthttc ctacttgha caaattatca gactthttta tctaccttht ttgagcttht 16980
catctthttc cctgaattat agatttaatt ctgtgtatgt atgtgtgtgt ttgaatatat 17040
ttttatattt tagatctaga tttgtaaaact agagctgttht ctaactgctt ataagacatt 17100
gccacctgga ttgccaccac tttcactcca gtatthtcaat aaacacttca tcaaaaacat 17160
agtttattht caaacataga atcatggatt gctacaagct gaaaggactt tagagactca 17220
gtaaccccat tcttgcatt tacagatgag aaaatggagg catgggaaag taaagtcagt 17280
tgctcaaat agcgtaacaa gctatgtata tttctaataa tagctactat tgattaagtht 17340
cttatgtthg gtttaagtacc atgctaagca ctttccaaag attatctaath tcttatgtca 17400
tctatatttht tgttggtgtt attactctcc tcactthtact aaggaagaaa ccaagacatg 17460
gggttaaata acttccctat aaatthtgaa ttatctthtg catcatctcc ctattthgcaa 17520
atctccattg tctctthgtt cgtaatcaath gtaaatcaac tcttaaacag ttggatgcca 17580

ES 2 532 883 T3

acaagcagtc tgggtgtttgg agctcgaaaag tttcgagaga gagagagaga gagagagaga 17640
 gagagagaga gagagagaga gagtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgttcca 17700
 gctttgttga ggtataattg acaagtaaac agtccacaaa actgtacaca ttttaagagat 17760
 acagtgtgat gttttaatat acattgtgaa gtgattatta ctatcaggct aattcacatg 17820
 tccatcacct ctcagtcatt ttttgtgttt acggtgagaa cacttaagag ctactcaaat 17880
 gtagtcaagg ataccatata gtactaactg tagtcacat gctgtacatt agatctccag 17940
 aatgtattaa atattcatct ggcataactg aaactgtgta tcctttgaca aacctatttc 18000
 ccctactacc cagcccatgg caaccacat gttactctct gcgtttatga gttcgacttc 18060
 tttagattcc acatataagt gagatcatgc aataggaaga tctaatttag catcctgact 18120
 ttccctttta ttagctgtgt atgtcatatt caggttgcct tagcatttgt gaatctgctt 18180
 ctctacctgt aaaatgagaa caactaataa ttcttatctc atggattact gagaggatca 18240
 gatgaagtaa cataaataaa acatccagca tgttacttgg caaaattgta gtgattgaat 18300
 aaatatttgt ttattcttca agcatgtgtt gagcatctat gtatcaggca agaagagagc 18360
 catcatcttt acccttctgg aatatacagg ctcataggaa ataatcaatg ctttgatctt 18420
 tttttaaagc ataatgagat gaaaattata ggactcatag actggtcagt tgaggaattt 18480
 cccaggatgc ttccagcctc tgcataaaag gtgtgaattc ccagttgcct gaataggcgc 18540
 cagagttggc atagctttct cagtattggg acctgacagg gagattgcac aagtgtaca 18600
 gcacagcctc tgaagattgg ctcaaggggg aagagatgaa ggattacttc catccctttt 18660
 attgtttcaa tcaagatata tattatgagc tcatagtacc atcctttcat gatcatcctt 18720
 tattgtcttt attagatata atgaaaagat acaaatttgt ccatagaaat attaaatgat 18780
 agcaggcatg atttaaaaag tactaaggac tatagatatt actgtttttc ctctattttg 18840
 tatcatattt tcaggaagaa gagacaacat tttggcatac cttgcttaaa gatagatgat 18900
 agccgggtgt ggtggctcag acctgtaatt ccagcacttt gggaggccga ggcgggcaga 18960
 tcacctgagg tcaggagttt gaaaccaacc tggccaacgt agagaaaccc cgtctgtacc 19020
 aaaaaatata aaaattagcc aggcgtggtg gtgggcgcct gtaattccag ccactcagga 19080
 gactgaggca cgagaatcac ttgaaccag gaggcagagg ttgcagtga ctgagatcgt 19140
 gccattgcac tccagcctgg gtgacagagg gagacttcgt ctcccaaaaa ataaaaataa 19200
 aaaataattg tcttggtgtg ctaatcagga gcttcctgtg agagtggaaa ttccttacat 19260
 ggcagtgtca tgaaatttta ggcccatgtg aaagatgttt ttgagtgtct caaaatagtt 19320
 aacggtttaa aaatacatat tttatgtgtc agaaactgct ttcattgaaa ttgaagtttc 19380
 tttgagaact aggatcatat catgtatatc tattgaattt cccacaacaa ttatcacgca 19440
 agcaaagtaa tagcagaccc tcaataacac ttactgatga ttattgcat gtataagttg 19500

ES 2 532 883 T3

ggatactctt gagtaccttt ctaagtctgc atttagggaa atacagaaca caaaatgaaa 19560
 tgtttgattg gttgcttagt ttccacagtg acttttcaaa atgtatagga gcatggtaac 19620
 aaaactattht taaatactac aatcttaagt atgcctttat tattcttacc cacaataatg 19680
 cattgcttta aaaaattggt tatcagtgte agaccatacc tttctgagtc tctactatgt 19740
 aagatgtgaa agttaatatt cttcaattcc agctactttt cttttcctgc cttctgtcaa 19800
 ctctgtatt ccatatcatt acttcttatt gctaaattta taatatttat attctggtht 19860
 gcatctatag ttaattctct tgtgcttcat ttctcagtg c taattgaaaa agaaaacaca 19920
 tcacttacaa tgccatgatt gtaataaata aaattcactg taacacctag cagtatggtt 19980
 gaacatgtag aaaaggaaaa agtgatcctg tgacactaaa atttagcttg ttctaaggat 20040
 gctactthaa gcattagggt aaaaatggatt cccttttgct aaattctthc agttcctcaa 20100
 aattatgcaa catttttggt tctttcacat ttggacttag attttcctgt aagcattcaa 20160
 tttttcttga aaattthaat tgcattthtt tattcttggt gacagaagaa acattthcat 20220
 catatcacaa ttttttttca gatttcttaa ttataaccatt tgatgaatga aatacactth 20280
 cttcttgaag tctgatttht ctgttctaatt ttagagthtc ttctcattth tctcctggct 20340
 atgtctatta ttgcttagt ctcatgtctt tgtatttgat tattatttht ctttttacta 20400
 ctgtttthct tcttacagaa aaaaaagaa aaaaaaacag gggthtttac aaatattgtg 20460
 ctgagthctt acatgtccaa aatgccttat atthttcctt atagtacatt cataaattat 20520
 tgtgattaga accataaatt caaagtaatt ttctctcaga gcttgggaaa cattggtacg 20580
 ttgttaccct tcatctagga ttgcttatga gatagatata tgatgccagt ctgattctgt 20640
 cttttthaga taactthttt cctattcat atgtthatta ggatcttht cttthcactt 20700
 ctgaaattcc tccagatatg gctctgttaa aatgtattct tctcagcact tgatgattct 20760
 gtacaatctg gaaacaactg cttthattta gcttaaggta cttthcttcc attgtacctt 20820
 tgattatttc ttcttcttht tttcacctt atctthtga aactcatgtt aatggtgcat 20880
 tagaacttgt gaactgattt ttctthattt ttaaattcca tcacataatt ttcactctgtt 20940
 tatctctgta tattthattt tctcaactth tgatatttht gtttaattgaa atttaatttc 21000
 caagaagtcc atthttctatt ctctgattga ttctthttta tggtagccta tttcgtggct 21060
 caaatcatat aaaatgtatt aaattthgtg ggaaaattag gcaaacaag aaaattthaat 21120
 tttacctaac tatatctaaa aacaatacaa ctthactthaa gaaaagtgcg tatatgtgta 21180
 cacatataca tatgcgtgta tatgtgtaca catatgctac atatacatgt atatgtagta 21240
 tatgtacatg tagtatatgt gtgtatgtat gtatatacac atgtagtata tctatataca 21300
 tgtatatgta caaagaaaaa atatgtatat aatagthttca ctgtacttht tttgctcccc 21360
 tthtaaaaat aacagtgcta gagttcatga ctgactaatt ttcagaactt ggtgtgtatg 21420

ES 2 532 883 T3

gttgtttatt aagccctcaa taataatgct ttagtattac agtgcccagg catagtcaagt 21480
 gactgtgcta atagtcctag cagtagcagt tcatcctgta cagatctaag gtgtaactat 21540
 ttccatttct gggcccttgg agattctttg gttgtcttca tatcttttac ctatcttgct 21600
 gttcaataac aggtaataga aaaggagata aaacttaaat gtcacatctt cccactgctt 21660
 aacagtcttt aaaaataaat gtgaaacccg taaggacgta atcttgcccta gctttaagga 21720
 atgaaggaaa cactagaaac aacagagaga aaaggaataa ctgatcctcc aacatgttct 21780
 gttgactcta cctgtaaaagt atattcagga tctgactact tcacaccatt tcaccaattt 21840
 ccatctccat tcaaaccacc ttcatgtgtt actttgaaaa gtgcagtctt cctgtcatgg 21900
 gtttcctgt ttctagcttt gctccccctt cttacctcac cgtgggtttt tacccaaaca 21960
 aaaattcaag tgatcattta aaaattaagt caggtcattg ctctcctctg cttaaaacca 22020
 ttaatgggtc tctgtttcac tcagaatata agccaaagcc cttttcatga cccaccagtc 22080
 ctcaagtga ttggctgcta tttgtgtttc tgattccatt tcttgccact attctccctc 22140
 attctattct aatttccttg gttttcttgc tgtcctggca acaagaagag catccttttt 22200
 cctccaggcc tttgcacttg ctgttccctc ttccctggagc acccttcctt cagagagcca 22260
 cagggtattgt ttctatcttt ctttctaata tctccttgag tgttactttt tcagagataa 22320
 attccctaac cattctatct aacagaactc tgactattga cettgcttta tttctctctt 22380
 ttttttttaa aattttattt ttttattccc ataggttatt ggggaacagg tgggtatttg 22440
 ttacatgggt aagttcttta gtggtgattt gtgagatctt ggtgcaccta tcaccgagc 22500
 agtatacact tcacctatt cgtagtcttt tattcctcac ccccttccca cctttttccc 22560
 ctgagtcctt agagtccatt gtgtcattct tatgcctttg catcctcata gcgtagctcc 22620
 cacttatgag tgagaacata tgatgttttg ttttccatcc ctgagttact tcacttagaa 22680
 taatagtctc cagtcttata caggtcactg caaatgccat taattcatto ctttttatgg 22740
 ctgagtagta ttccatctta taaatatacc acagtttctt taactactca ccgattgacg 22800
 agcatttggt ttggttccac atttttgcaa ttgcaaattg tgctgctata aatgtgtgtg 22860
 caagtatctt ttccatataa tgactttttt cctctgggta gatacccagt agtgggattg 22920
 ctggatcaaa tggtagttgt acttttagtt atttaaggaa tctcccaact gttttccata 22980
 gtggtgttac tagtttacat tcccaccagc agtgtagaag tgttctctgt tcaccatata 23040
 catgccaacg tctactattt tttgattttt tattgccgtt cttgcaggag taaagtattg 23100
 cattgtggtt ttgatttgca tttccctgat cattagtgat attgaacatt ttctcatatg 23160
 tttgttggtc atttgtatat cttcttttta aaattgtcta ttcatgtcct tagcccactt 23220
 tttgatagga ttgtttgttt ttttccctgc taatttggtg gagttccttg tagattctag 23280
 atattagtcc tttgccgat gcatagattg tgaagatttt ctcccactct gtgggttgct 23340

ES 2 532 883 T3

tgtttacgct gctgactggt cctattgctg tgcagaggct cttttgttta attaagtctc	23400
acctatztat ctttgttttt gttgcatttg cttttgggtt cttggtcatg aagtctttac	23460
ctaagccaat gtctagaagg gtttttctga tgttatcttc tagaattttt atagtttcag	23520
caogtagatt taagtttttg atccatcttg agttgatttt tatataagggt gagagatgag	23580
gatctagttt cattcttcta tatgtggctt accagctatc ccagcaccat ttgttgaata	23640
gggtgtcctt tacctactaa tttatgtttt tgtttgcttt gtcaaagggtc agttggctgt	23700
aagtatgtgg gtttctttct tgggtctcta tccccccatt ggtctctgta cctattttta	23760
taccagtacc atgctgtttt ggtgtctatg gccttctagt ataaagtcag gtaatgtgat	23820
tctgcccaat ttgttctttg tgcttagttt tgctttgggt ctgtgggttc tttttgttt	23880
tcatatgaat tttaaaattg tttttcctaa ttctgtgaag aatgatggtg gtattttgat	23940
gggaattgca tagtttatca acccttggca aagtgtttct gcttttctta aacaattttt	24000
attgtctgct ttctccagta gatgtgagtt ctatgagatg aggaacattg tttgggtcac	24060
tgacatgtat tgtcagcata ccaaacagtg gctagcacat ggtgagcact caataaatat	24120
ttggtgaaag ttgcagtga tgaaaatggt ttctaaaatg gcaatgacta tagtcccagc	24180
tactctgaag gctgaggcag gaagattgcc tgagtctcaa aagtttgggg ttgtagtga	24240
ctatgattgt gcctgtgaat agctgtgca ttgtagcctg gtcaacacag tgagaacca	24300
tctctttaaa aaaatggcaa tgaaataatc ttatttttac tgcttttctc ttttaaggctg	24360
ccagtgttgt cttttctctg ctgatttatc ctcatggaa attgaagata gataaaatat	24420
ccattgatta tttatagggt aaattaggct tttggatcca tgaggaatag ctgagacaat	24480
cttccaggag cttctggagc cgaggaaaca ttggtcacta aaataccatt tatattggca	24540
actgtactct tttccgatgc tagtgtttca attacattgt gcatttataa ggctgttgcg	24600
gctacctcaa aatataaaca tgatgtgca cactacttgt tagttttgaa caactgattt	24660
ataaatagac ttaggggtgt caagcctct gcaagatgag cactgcctgt gttcttctt	24720
ctgcttctt tatttcagct gtgtgtctac caacttctc ctccttctac actaggagaa	24780
attgcactgt ttccaatata ttttaacatct gctatcatga tgagaaaata tcttttctgg	24840
atgtgaaata ccttcttcat tctttttttt taaatggcgg aaataaatc atagtgtttt	24900
gagtgcagtt ttcttctgc tgttattgct ggctcaaaat ccaggagcat ttcagtgtta	24960
tttctgagct ccatgatggg agttccattt ctgttttatt caaagtgtta tctccagtgt	25020
ctagcacagt gcctggcaca ttataagcct ataatgttta tctagtggat gtagaccaat	25080
actattaaag aattatcatt gcaaagattt agtggcatga aaaaatgata atgattaatg	25140
ctctactcca tgctaaggaa atgaagtga aatogttctt tatttttctt ccaagtatag	25200
agaactttct gaaattaaag aagcattgat taataagttt taatatatgt tattgatcat	25260

ES 2 532 883 T3

aataatatgt aatcatataa ccaaataaga taacacaggc catcttttgt tctttaaaaa	25320
atgacaggaa gattagaata agagaaaaaa ttagagggtca aaacagtttt cttcaaacca	25380
gtagtgtaac ttactgagat atcttctgta atccttaa at tctgtattga tgctaccaag	25440
atgcaactct tgagctacaa ctgcctcttg ataaaggatg ctggtccctg ctgccagtgt	25500
aatgtttgct catttacagt ggaatgtaca atatatgacc tgggatgggtg aagaagggtga	25560
agcaacaaat ttaaaatagc tgtgggtaaa cctacagaaa cagactattc tctttcttcc	25620
agattgcatt attcattttc atatgcctgc ctttatctgc tttggaagcc tatttcttaa	25680
tcttccaaga tttatcatca cttcatatg tocatagcat gcatttctca gacaggtaag	25740
atagaattgg tatatatattg gtatagcaaa aagtcaagggt tgtctttaga ttatatacctt	25800
ggtttttcat gtggtactgg ggagaaagcc tactgtttct tcatctataa aatgaaggac	25860
ctgggcaaga taacattctg tgaaatttca ctgaactttg agctcagcaa agtagggatg	25920
cgtgtgtgtg tgtctatttg caatgcatca cagaccttaa ataaatacag ttgaccttg	25980
aataacatgg aggttaagag caccaacccc ctgcactgtc aaaaatccac atgtaatttt	26040
tgactcccca aaaacttaac tactaatagc ctgctgttgt ctggaggccc tgctgataac	26100
acacacagtt gactaacaca tattttctat gatatgtatt gtgtactata ttcttacaat	26160
aaactaagct agagaaaaga aactgttatt aagaaaatcg taaggtaaag aaaatatatt	26220
tactatttat taaatggaag tagatcatca taaagatctt catcctttgt tgtcttcacc	26280
ttgagtatgc tgaagaagag gaggaaaagg atgggttgggt cttgctgttc caggggtggc	26340
agaagtggaa gaaaattcac atataagcag tccatgcagt tcaaacctgt attttaagggt	26400
caacggtatt tgttacattg ctttttgtaa gtgacctgt taattttttt caatgaaaaa	26460
aatagtgttc cattcaaatg cctgtatgtt tatgagaaac atttcagaac tatgaaagtt	26520
gaattcaagg tttcttgcaag attgtttgta tactttctgt aatgtttgtc atataatgag	26580
aataactaatg gtcttacaac ttgaaactga ttaactgatt aactctttaa gcaacttaaa	26640
aagaaaatct ttcagtgagg aaagagtatt catcagaagt attctagtag atgacatatt	26700
tttggtaatg aaattgatat gggcaattaa cagctttttc caagttggct atgctgtac	26760
tctcttatta tacaatgata ctatttttca gagcagaaaag caaattagtt ttatttttat	26820
aaaccaaatt ttaaatatcc ctttagagaa tagaaaatat gaaaaagtat ttgcttctca	26880
gacctctcaa caatataaat tttcttctta agaggaaatt tattcttgca tgccaacaca	26940
aaggataaaa agtttaccta tccttagttt ctaagaggaa aatgtgcata aaatttccat	27000
ctgctgtgtg ccagttacca aaacgataag ttccaactca atcttggttg ggtgtggtgg	27060
ctcaagcctg tgatcccggc actttgggag gccgaggtgg gcagatcacg agctcaggag	27120
tttgagacca gcctggccaa tatggtgaaa acccgtctct actaaaaata caaaaaaaaa	27180

ES 2 532 883 T3

aaaaaacaaa	actagcccg	catggtggtg	tgctcccgta	gtcccagcta	cttgggaggc	27240
tgaggcagga	gaatcgattg	aaccaggag	gtggaggttg	cagtgagcca	agattgcacc	27300
actgcactcc	agcctgggca	aaagaggag	actctctctc	aaacaaacaa	aaaagactca	27360
atcttactaa	aaaactgcag	agaagaatga	gtcatttttag	tcaataaagg	aaataaagaa	27420
attctagttt	tgaaaatgac	ataatttgct	acaagaatgc	aaaggtgatg	acatgaggaa	27480
aaaaggggtt	tgctgatattg	ttttctctac	tactcagcaa	atgcaggcca	ggaacccatt	27540
tattcaaata	tttattacat	ggtaaatata	aacattttata	aaattaggct	catattctta	27600
gaattcctgt	taacaaagt	acatatataac	aagattataa	tctaattggag	attaatattg	27660
gttgagaaaa	atcttgagac	ttctttaaga	cttcagttta	ataaaatatt	gacttaggta	27720
gatatatgtg	aggaaatata	tattttaccc	atgcatgcaa	aaatgatgta	tgtatttctt	27780
aaaagagtag	gtagcaatga	cttcaaagga	ccatagctgt	ccctatcaac	atatatatta	27840
acaaaacaat	tagaaacatg	agcttagtat	gctaattata	tttctaccca	aagcctcaat	27900
ttgttctata	gctatactgt	tcatatataa	gtaaaatttt	aggggtatca	gagagagtta	27960
gaaaagagca	aatacatgta	tgaatttgat	aagcctatcc	cttaatttga	tagatcttaa	28020
aagatatttt	atcactgcat	tcttctaaag	aatgtatttt	gtacattgca	aaacaaccct	28080
ttttgagaag	tagactatga	tcacagattt	tcttgccact	agtatttctt	aagattttatt	28140
tggaatagaa	gatcgatatt	tttctgggat	gacatatggt	taaaaagtaa	aaaacaaaac	28200
aaaacaaaaa	actctttaaa	aacacaacaa	gtaaaaagct	gaatgaattg	gaaaattaac	28260
gaatcttctt	agatctgtca	gaaaaatgag	attatagggc	aaaccactgc	atcaaatatt	28320
agagaagcag	acaggtagat	agaaagaatc	acaacttagt	ggggcaaaaa	cctacaagga	28380
aaatttttgt	gggaaccggt	gccaggtagg	aaaacatgaa	ctgtaattga	aaaattgttc	28440
agtgtgggcg	gttgttcagt	gtggcaagtc	tgaggggttaa	aaactccagg	aggactcact	28500
tacggaagg	cctgtacttt	tgtgagttta	acctccagga	gtgttcacag	tgactactgg	28560
agaaaattcc	ctaaggggag	aagaaaagga	accatcttga	aatatgtcag	agcattttgt	28620
tggaactcaag	cctgctctca	agtgaacta	ttttaccaga	gcctaaaactt	ttgggatttt	28680
ataagagtgt	aacctcccaa	agggaaggga	aatacctaag	ttcagcccc	tttttagcttt	28740
ccacatagg	aaaggaaaat	atataactct	ggacaactca	aaccatcctg	tccacgttag	28800
ggggcctagg	ggaactgaga	aaactggtga	agttcatagt	ccatgggtac	agtttcacca	28860
aagagggaga	ccaaattata	aggctacaga	atgcttcctt	ttccacacc	ttttactatc	28920
atattactaa	aagcctattt	gcagcagttt	cttttactga	gtatatcatg	tctgtcattc	28980
aaccaaaaaa	ttataaggca	tgctaaaagg	caggaaatgc	agtttgaaga	cactgaataa	29040
gcatcagaag	cagagtcaaa	tatggcagtg	acattggaat	tatcagacca	gaaactttat	29100

ES 2 532 883 T3

aaaaaactat ggtaaataatg gtgagggatt aaaaaaatga catacaagaa cagatggata 29160
 atgtaaatat agagacggaa attttaggaa agaaccaaaag agaaatgcc a gtatcaagc 29220
 atagtgtaca gaaatgatta aaatgtcttt gataggctca taagtagatt gaacatagcc 29280
 gaggaaaaaa tctttgaagt taaggatatg ataataggaa cttcaaaact aaaatgcaaa 29340
 gagaaaaaag actgtgaaaa aaacagaaga gattattcaa gaactgcagg agaactacaa 29400
 aagggtataat gtacgtgcaa tgggcatact agaaaaagaa agaaaggatt agatgcaata 29460
 tttgaagaaa tagtgtgtga aaatctcccc caattaatgt cagacaccaa actacttctc 29520
 cagagagctc aaagaacacc aagcaggata aatgtcccaa aactactcat gggcatatta 29580
 tattcaaaact tcagaaaaatc aaagattaaa aaaatatcga aagaatccag aaggaaaaaa 29640
 cacctataga ggagcaaaaa taataaattt tatctgacat atcctcataa accatacaaa 29700
 taagagagta gagtgagaca ttaagatgt tgaaagaaaa atccggcagt gtacgattct 29760
 ggaccttgca aaattgtcct tcagaagtta agaaataaag tctgtcttaa agaacaacaaa 29820
 atttcaggaa tttgttgcca gtggaccacc cttgcaaaaa atgtttaaag ttcttttagag 29880
 agaggtaaaa tgatacagggt tagaaactca gatccacata aggaaaaata aattagggat 29940
 atagtagtat tccccactt gataaagaaa atacacaaaa aacctacagt ttacatcata 30000
 cttaattttt agaaactcaa agctttcctg ctaagatcaa gaacaagaca aagggtgtctc 30060
 ctcttaccac tttgtttcct actggaagtg ctacctaatg caataagaca aaggaaagaa 30120
 aatgaaaagc atacagattc cggaggaaga aatcaaactg tctttgttca cggatgacag 30180
 ttgtttatat ggaatatcca aaggatcaga aaaaagaaaa ctggaactaa taaatgatta 30240
 ttgtaagggt acagaataca aacttaatat aaagaaagcc aatcactttc ctgtatacca 30300
 gcaataaaca agtgaatatt gaattaaaaa cacattacca tttacattag caccocaaga 30360
 aatgaaatac ttttgataaa atctaacaga atatgtacat gatctatatg aagaaaacta 30420
 caaaagtgtat atgaaaaata ccagtgaact aaataatgaa gagatgttac atgttcattg 30480
 tcaagatgtc agttcttccc aacttgatct atagattcag tgcaatgcc ttaaaaaaca 30540
 cagcacgata ttttatggat atcaacaaaa ggattctaaa gtttatatgg agaggcaaaa 30600
 gagcagaata gccaaactcag tatttgagga gaacaacaaa gtcagaggac tgacactacc 30660
 tggttttaaa gcttactata aagctcagat aatcaatgta gtgggtactg gtgaaagaat 30720
 attcaaatac accaatggaa tagaataaag agcccaaaca aacctatgta aatataatca 30780
 aatgatcttt gacaaggag caaaggcaat acaatggagc aaagatggtc ttttcaacaa 30840
 ataatgctgg aaaaactaca cattaacata caacaacaaa aattttttta atccaaattg 30900
 agtgtaaaca cagatcttat accctttgca aaaattaact tgaatcatag acctaaatgt 30960
 aaaatgcaga actataaaac tcccagaaga taacacagga aaaatcctag atgactttgg 31020

ES 2 532 883 T3

tatggcagtg gcatttttta gatacagctc caaaggcacg atacatgaag gaaatgattg 31080
acaagctgga cttaactaaa atttaaaact tctgctctgt gaaagacaat attaagagaa 31140
tgagaagaca agccacagat ggaaaaatta ttgcaaaaag atacttctca taaaggacta 31200
ttgttcacaa tgtgcaaaca actcttacaa ctcaacagtt tgaaaatgaa caactcaact 31260
taaaaaatga gcaaaaaaacc tgaacagaca actcaccaaa gaagatacac aagtgtcaag 31320
aaagcatagg aaaagatggt aaacatcata gtcattaggg tattgaaaat taaaacaaca 31380
atgagatacc gctacatacc tgttagaatg gctgaagtca gaacactgat gaaaccaagt 31440
gctggtgaga atgtggagca acaggaacct tcattcattg ctggtaagaa ttcaaaatgg 31500
catagtcact ttggaagaca gtttggcagt ttcttacaaa ataaacatac tcttcccata 31560
tgattcagca atagcgctcc ttggtatgga cttgaaaact tatgtcctgg ccgggcacag 31620
tagctcacgc ctgtaattgc agcacttttg gagggccagg cagggtggatc atttgaggtc 31680
aggagttcaa gaccagcctg gtgaaatccc atggtgaaac cccagctcta ctaaagatac 31740
aaaaaagtag ctgggtgtgg cagtgtgcgc ctgtaatctc agctactagg gaggtgagg 31800
caggagaatc acttgagccc aggaggcgga gggtgcagtg agctgagatc atgccattgc 31860
actccagcct gagtgacaga gcaaaactcc atctcaaaaa aaaaagcaaa acaaaaaaca 31920
aacaacaaaa acttatctcc acataaaaac ctgcacacat tgtttaacag ctttacataa 31980
ttgccaaaaa ttgggtgcaa tcaagatata ctttaatat ttgagtggata aactgtggta 32040
catccagatg taagaatatt attcagcact aagaaatgag ctatcacatc ataaaacgac 32100
atggatgaaa cttaaatgca tattataaag tgaaagaagc taatccgaaa aggctaaata 32160
ctgtatgatt ccaactatat gacattccgg aaaagccaaa attatggaga cagtaaaaag 32220
agcagtgttt tccagaggga ggaatgtata ggcaaatttt tagtgcagtg aaatgaatct 32280
atgtaatact atagtgggtg atccatgtca ttatacattt gtccaaacac gtaggatgta 32340
accaccaata gtgaacccta atgtaaacta tggggtttgg gtatcaaaaat gcatcaatgt 32400
aggtttatca gttgtaacaa atataccact ctgggtatggg atgttgataa tggggaaggt 32460
tgtgggtctg tggggacagg ggtatatggg aactttctac tgttttactg tgaatcaatt 32520
ttactgtaaa gttttattaat gttaaaaaat ttaatgcaca tgtaccotaa aacttaaaagt 32580
ataataataa taaaataaat ttaggcaatc tgaaaaaatg ttaataaaaa agaaaataaa 32640
ctagttgaat gtatcagttc attttcatac tgctataaag tactgcctga gactgagtaa 32700
tttataaagg aaagagatgt aattgactca cagtttagca tggctgggga ggtctcagga 32760
aacttaacag tcatggcagg tgacttcaca aagtggcagg aaggagaaat gaacgcagaa 32820
gcaactacca aacacttata aaaccatcag atctcatgag aactcactcc ctatgatgag 32880
aacagcatgg gggcaactgc ccccatgatc caattacttc cacctggtct ctgcottgac 32940

ES 2 532 883 T3

acatgggtat tatggagatt atggggatta taattcaaga tgagatttgg gtggggacac 33000
 aaagcctaac catatcagtg ataaaactat gtcttttctt ttatggggtg ctatagtgtt 33060
 tcatttcaag ttgtcttttt gacctccatt ttccaatttc tggttaggaa aaataacttt 33120
 gtctcctcct taattgaccc acaaccttgt ttgcaatgaa gaatcaacac aaatctttca 33180
 ttaaaagaaa taggggaggt gatgggggat atccatgagt gtccatgggc ataattcagt 33240
 tgccttcatt caatgccaat gatactgcaa agcctacaag gcaaattcat gtacctacag 33300
 acagactcca tcttttttct caaactatc aagataaaaa atcttgtttc attttatgtg 33360
 aggatttttt tcaccatcta tcctcaaaaa atgaaaaata tcctcttcat ttgggaaatg 33420
 agtgcttata atagaaagta atttgtagtc agctgttaca cttagatgat ttgtgtcacc 33480
 tctgacctgc tttctgataa tgcatgactt cattcatggc tctctagggtg acctgtgtac 33540
 cctgacctgg cataaaccac tagagtatta agtcatttca gtggcacatg tttaggggaa 33600
 gattgacatc ccaactggaag actatctaca gtgagatcct ctaaagcagc tgcattccta 33660
 gtgaggcatg attaaagttta tcccactatt aggttctgga gtattacttg tcatgcccaa 33720
 gaggaaggtt tttctagcat gcagagtatc tggtttttaa tggctactga gctgaaataa 33780
 aatgtgccta ctaagggttg ttcatttgtc tgtctccctt ctttcaactgt ttttttctt 33840
 ggaggttaca gtagttatgc ctttctggtc agctggctgt tgacctatca tagaaatgac 33900
 actttcacat cttcaagtgt aaggaattag atgttcacgc cttcactttg tttctcatcc 33960
 aaaatcaatg acaaaaacttt cagtattgat ttctcatggc ctatgaacct gagtcaactt 34020
 ggcataaagg acttttcaga caagcttctc taaatgcaga gtcagtggct tctttttgcc 34080
 aaactccact ttgctcagtg ataacattaa aatggtgatt tgattcattc ctagttotaaa 34140
 aatacttcct catattccaa aatctcagtc attaatacat ggaggaaaat acaaatattt 34200
 acatgcctgt gcttctcggc tgttgtagat agataaaata tatacaattg tgttctataa 34260
 ttattgagtt cttttaagtt ttatcttttt ttgttttacc aggaagcaaa attatgttta 34320
 tttcagagct tatttactgc atttagaatc tcatgacact taaaaaacct ttctaaaacg 34380
 taaatattct ccatgatctc catggtcaca aacagtattt cacgttctaa ttgatattgc 34440
 cattttatca tttttttttt tttcttgag acagtctcac tctgttgccc aggotgggat 34500
 gcagaagcac gatcttgct cactgcaacc tccacctcct gagttcaage gattctctg 34560
 cctcagcctg ccgggtagct agaattacag gcatgtgcca ccacacctgg ctaattctgt 34620
 attttttagta gagacaggtt ttcacgatgt tggccagact ggtcttgaac tcctgacctc 34680
 aggtgatcca cccacgcag cctcccaaag tgctggaatt acaggcgtga ggcaactgcat 34740
 ctggcccttt tatctttctt ttaactcaaa tcctcaaata tatccctcca tgtgaagttg 34800
 ccttccttaa ttatgtactg tcctagttaa atcttcattc cttgtttgcc tctataaaac 34860

ES 2 532 883 T3

caagttttaa aatagtctct gattctgtaa atcatcactc ttatgctcat ttatatctct 34920
 atctagaata ttttaaatcc tttgtaacaa agtttctact atgcagtcta cctttctcag 34980
 ctacgatcta tatactcctt ggccatgtct tttgttattg tgtgtgtttg tctttgtgtg 35040
 tgtctgtata gtagtggttt gtaaattctc catttagtca caatatgctt tttgaggatt 35100
 ttccctttcc tgggaatttc ttgatgattt ttattttgtc atgtgatgaa gaatgtatgt 35160
 caaagcacca ctgcagaaat agtgcttttc tatttacttg cactcttcca tcttagaaga 35220
 gctggtgata gacaaccgac tcttctttta tcttggtttc tacaacacag aggttgctaa 35280
 ggcactttta tcccttttaa cacaggacaa tcaacaacaa attccttctt tcttttagatt 35340
 cagatatttc acttagaaaa tctagcaaat aaaaaatggg ttaaaacttc tttaaaatgt 35400
 gtaattctgt acaatctcct acatctgtaa cccctgcccc aaatattttt tacttatgct 35460
 atttcttgag cattatgata tgcttattca taggcaatca acttgtaagt agcaatagtg 35520
 tagccccctc taggaaatcg aagatgtgaa aatccagttt aatgtgataa tgagttactt 35580
 tgatgaaaaa tactatgtca caatttggtt taaaaatact catttggtt tctgattcac 35640
 ttatattacc ctccaacctt aagtatgatt gaatttatag ctttttatac tactttcttt 35700
 atttagggag gagtgattt aaattctgtt atctcggtta ttacttgaaa gttcaacctc 35760
 atactttcat ttttatataa ttttaatat atgaaaatat tttatgtaat tttatgtata 35820
 attcgaaaac atttttaaat attgcatctt taaattttta tttcttttat caaattttcc 35880
 ctatcatttg ttctctggct acaaccaaaag ttaatagtta catttttttc cagtgacaaa 35940
 tggtaatttg caaagacttg taacagttgc ttaatacttt tttatccctt atttaagaat 36000
 catgcaaaca accagagctg ataggcagca ggtgcacatg agtgtggctg tgctgatggg 36060
 tactgaaaga tttccaagggt agctagtaat tctgctaccc taagccacta tagctccttc 36120
 cccattactc cctgggtota cccaccatcc tgcagctaga ataataaatg gcatgtaggt 36180
 tctcttagga tctctctcca gcaactatgtc tcatgcctgg acatatgagc tgttaaatat 36240
 tttgattatc actcctgtgt ggtaaggag acgtctactt gtcgtaactt gatgtttact 36300
 aaactacttt taagattacc ttatgataaa agtagacact tgcaattttg cagaatgcat 36360
 agtttgtttt taacaaacca ggtaaacata actgcagagt tttcctatac gttttgaaat 36420
 ctttaaaaaa gtatttttta tttgcctttc tattagaaat agattagata aaaatttctt 36480
 tgtttcaatt tttagaatga acattagaga atattgttac tgaaggaatt tttttaaaaa 36540
 tagtgactga tcaaatgtca gcagctttat actatagtgt aaaattttat tttgtagttt 36600
 gccatcccat taagcattag aatttttata attgatcctt tgatgtttat attcatgata 36660
 ttaatgtaat gtcttttaac cttagctcat ataggctata tgacttaaag catccttaga 36720
 tgaagatatt tgggctataa ataatttatg acataagtga tttaaaaatt cattctttcc 36780

ES 2 532 883 T3

atccattttg aagaaattgt aaggtagggg tcatgtatac ctaatactta tcccccaaa 36840
 atacgaaaaa taaaatcatt tttaaaatat ctgggttaat gctatagatt ggaagcagtt 36900
 tttaaaaagc acttaaagtc taccagttta ttgatcctca atctgtggct gttttaaatg 36960
 gatgcaatta gcagttcagt ctaagagaac catggtagta gactcattac tccccagaaa 37020
 ccattacatc attttgtaat attaaattac taaatataag gaatagaata tatattgtaa 37080
 aaattgcttt ggaatcaata ataagtattg tggctatcaa ttatagttaa atattacaat 37140
 gtaagggata tctttttata aacttaatat cacacaagta gacttagaat aattccatta 37200
 atataatttt gcttggtgtt ttatacctat tcatttcaat aactcttttt cctatatata 37260
 ttttttatct caaattcgat agtatctaaa tcatggaatc ataaaacctt aaagctgggt 37320
 tggaacagaa ataatacaat ttaacatctt ataggctctc tagtcctcag tttccctaag 37380
 tgatcggctc aagatcatga atttatggag gattagagtc agaattagaa cccaagatta 37440
 atttatactt tgttatctct tctacagcct acccccttag tttgcctgtg ggtttatgga 37500
 agttacagga gagacattct gagattcagc taaaaacctc gctccaata gaattattgc 37560
 cctgtagtca gccgcgcaaa tacaatcaca aatacctgaa gttccttggt tgaagaaaaa 37620
 gaaaatgact attaaagcat caaaatcaat gcaagttacc tttctttgcc cctttcttcc 37680
 cctttcactc ctttctctct ctatactact tgaaatttct agcggggatc tctaaaatgc 37740
 ctggatgtta ggaatggtaa gtctattgta gagaattata ttttctattt tagtggatga 37800
 aaaataaacc atacccttaa gaggcctttc aaagttaaga ttttgagcac atccttcatt 37860
 ggcccagctc ctgaccagtg aggtcaagta ttagccagtg tcagaatgct gtgaaaagtt 37920
 tgtgtttcag atgcagaatt tttttttgca ttttctgtgt gatgtttata gggatatttc 37980
 ttctgaaatg ttttccatct tggtttttaa aaatatctat ttttttaaaa aatattccct 38040
 cataacttct ttttattttc ggaaactata taaattgatc tgataatcta tacacaatgc 38100
 cttgtgaatt tatacctgta cctctcatgt tccagtgttt ggttcttaaa taatcacttt 38160
 gtataatgga aatactatgt taaattgttt ataactgggt gttgatattt cagccttggt 38220
 tggctatcgt agttatataa agactgttaa ttagaaacaa cctcatatgg tgtatgottg 38280
 tttttatctt catggaattt gttctgcaaa cactgagttc tttactggga gtcaccaactt 38340
 tgtctatggt aggaggagca ggaagtgaat acatttaagg tctttaattt tcttcttaaa 38400
 actttgacta ctgtagtggt tttttaagc attaacagga gaatagccat cactgccaaag 38460
 tagctgacat tctgaaatag cacttccctt taggcactgt acagttggaa tcatttactt 38520
 gcagagaggt gtgtgtgtgt gtgtgtgtat ttatgtgtgt actcatgtgt ataagaatag 38580
 gagaaacact ttgtgggcat atcctgctga ggtgagtaac gtgctgatta gtgaactcca 38640
 gtctcatccc atttaaacct ggaggagaac cacatcaagc acagaagcag ccaaagcagc 38700

ES 2 532 883 T3

atttcaacag gaaggaaaca tctattactg gggctttgaa gaaacatgcc atgaaggtgt 38760
 actaatatca caaagggaag ggaaggacta aattcagcat gataaacaaa gtcccttttt 38820
 tgtaacggaa gtgtttgatg atgtttgatc aatgggtggat ctatctcttg aaaggaaaat 38880
 gcattttaaac cccaaatgga ggattcttat ataaggtgcc tagcttgtaa tgatatattc 38940
 atgtttatag gtagagtac tggttttttag agaagagggt tttttttttc cttcattttt 39000
 gaacgaaaac ttgtctgtct ctaggctttg aaatgtagaa ttatttacct ttccccaaaa 39060
 tgaaatgttt cactgaatct cctacaagct tgtggaggcc atgaagcatg ttgaataaga 39120
 gcacaggctc tggaggccct gccaccaca aagggtgtgc taaggtaaac aactgatagt 39180
 attttgaaaa ttagatgact tagaatccat tcaataaatt ttagctattt ttattgtctt 39240
 ttttttctaa atctatttgg aaaatattgc agataaagta gataatacct ttctaaaaca 39300
 cagtgaagac aggcgcagtg gctcatgcct gtaatcccag cactttcgga ggccgaggta 39360
 tgccgatcac gaggtcagga gatcgagacc atcctggcta acacggtgaa atcccgctctc 39420
 tactaaaaat acaaaaatta gccaggcgtg ggggcatgcg cctgtaatcc cagctactca 39480
 ggaggctgag gcaggagaat ggcgtgaacc ggggaggcgg agcttgccagt gagccaagat 39540
 cgcaccactg cactccagcc tgggctacag agcaagactc tgtctctaaa aaataaaaaa 39600
 taaaaataga acagtgaata gtttataaag ataaaataga ataggcttca atttagggaa 39660
 caaaggaaaa tatgttttag aatgatatta tgctcaaaat gattgcaact ttgatggtga 39720
 agtgtatttt attcaattaa aaatgtagat atggctgggc gtggtggctc acacctgtaa 39780
 tccagcact ttggaagggt gacgcagggt gatcacttga ggtaggagt ttgagacctg 39840
 cctgggcaac atagtgaagc ctcatctcta caaaaaataa acaaaaaatg tgctgggtgt 39900
 ggtggtacat gcctgtagtc ctagccactt gggagactga gatggaagga tagcttgagt 39960
 ctgggaggtc agtgcctcag tgagccgaga tcgtgccact gcacttgagc ctgggtgaca 40020
 gagcaagacc ctgtctcaag aaaacaaaca aaaaaacaaa aacaacagta gatatgtgtg 40080
 tgggaatgag aacattttaa tgtgctcctc ggcttagatt tttctttaac ccccttcctg 40140
 gcccttatct taacctctgt cttcagcact acccttcata tgtttgttcc gttttatctt 40200
 ctaagtgatt tttttataac tctcaatgta tcatggcaga aggaaaaact agtgtataag 40260
 ctgactgtat ttgcatttt cttttttttt tttttttttt tgagatggag tctcactctg 40320
 tcacccaggc tggagtgcag tgggtgcgac tcagcttatt gcaacctccg cctcctggag 40380
 gcgattctcc cgcctcagcc tccccagtag ctgggactac aggccttgac caccatgcct 40440
 ggataatttt tatattttta gtagagacgg ggtttcatca tgttgtctag gcaggctctca 40500
 aactcctgac ctcaagtgat ccaccacact tggcctccca aagtgcctggg attgcaggca 40560
 tgagccaccg cggcctggct tcatgatcca aaatagcctc attagcttc tctttcaaaa 40620

ES 2 532 883 T3

catgtatata agcctgtgag tcatcactgt atttatcaga atattatcat attggagact 40680
ttgcaaagct gaacaaagcc agaattattg gctactgagg aactatattc tagcaagaga 40740
ctattctatt tgttggggat cacctctttt tactaaaggg gactgttttg ggcatataaa 40800
actagaatto atggttttct cttgatagtt tgccagcttg attcccagtc aaccagataa 40860
ctgctggtag tgacactcat gtccctccagg actcccaatc ttgtgccagc tcagagaggg 40920
aaatccccct agaactgctc acaccattcc aagaaccaca agcaccacct tggatatagtt 40980
aaaaatgtga taccaactca aattctgata aaaacaagtt ctataaagct taataaagtt 41040
atatttttta ctttttaagt tttgttttac tattttaaac agaaaacaga aggtaaaaac 41100
tcctctgcct tcctcagtat ttggtttgtc agttgctgaa ctgagattta agagtctaatt 41160
catatacagg caataaccct cttctaattc taataatggt tctttgatca tttctttaaa 41220
aagaaaaatg aaatagccta ttgactccaa ccctgacctc ctgtacttca cctgcctgat 41280
gaatatttat ttggaatata taagtttttt caaatgcac atgtcaagaa tttgtcattt 41340
cagatttcct tctagaatta tctattttat tcattagtag catcattctt tcagacaacc 41400
aaactcaaaa gctttatcac tataattgaa tttctttttt cttcttacct ttaaaatggt 41460
actaaatgcc attcatttct ttatcagtaa ttttctgtt tgatcatttt atttcattta 41520
ttctgccacc ctctcattcc aactattgct tatacttgag tactgcaata agccaatatc 41580
ttgcatatga ttatttataa cacctaaatc ttctaccact tcacactcac tgggatggat 41640
ataattttta aaacatacaa taacaggtgt tagtgcggt atggaaaaat tggaaacctg 41700
acacattgct agtggaatgt aaaaagggtc agccacttg caaaacagtt tggcagttca 41760
tcaaaagatt aagcatggaa ctaccataag acccagtagt ttcgctctta gggattccac 41820
totcaagaga attgaaaaca tatgccata caaaaactta taaacattgt atatccatgt 41880
ttgttgagc attattcaca atagcctaaa ggtagaagca acccaaagtc ctacagatgg 41940
atgaatggat aaacagaatg tggatatagc atacaatgga ctattattca acctaaaga 42000
ggaagaaaat tctgacacat gctagaaaat aaatggatct tgtatacatt ctactaagt 42060
gaataagcca atcacacaaa gaaaaatatt atgattccac ttacatgagg tacttagaat 42120
agtcaaatga atagaggcat acagtagaat aatgattgcc aggggctggg agggaggagca 42180
aatgggaagt tattgtttta tgagtataga atttctgttt aggaagatga aaaagttctg 42240
gagatgggtg gcagtgatgg ttgcacagca atgtgaatgt acttaatgcc acagaatagt 42300
atacttaaat atggtttgaa tggcaactt tgttacatac attttatcac aattaaaaag 42360
tttgaaatga atatccaaag aagcattatt tatgaggcta aaagtggaag taacccaaaa 42420
gttcatcatt gatagctaaa ggaacatgg catatcaaaa cagtagaata ttagtcatatc 42480
aaaggaataa agtacagaca catgctgcaa tacagatgca ccttaaaaac attacactaa 42540

ES 2 532 883 T3

gtgaaagaaa ccagacgtaa aaggccaaat tttgtatggt tttatatata taaagtcggt 42600
 caaaatagga aaaccataa agactgaaag ttgattagt gtcaccaagg cccgggggag 42660
 gaatgaatga aaactggctc ctaatgggta ctgggttttt tggggcgagg gggacagagt 42720
 gatgaaaata ttgtagaatt tgatagtaat gataggtag agtggcataa ttttttttaa 42780
 tataactaaaa cccactgact catatacttt acaaggatgt attttatggt atgtgaatta 42840
 tatctcaaaa cacccttaa attttaacgt atggctttta tgatgccatg tttctaaaga 42900
 agcaacgtgt cccagtctca gcttactatt tctaggcatg tgactttgag aaaaaattaa 42960
 gagacctccc ttcttactct gtaaaatggg aataataata atgatgataa tgataataat 43020
 aatgatctta ccagattttt ttgagtgtta aatgaggtta catatgtagt gcacttagca 43080
 tagtgtctgg catttaccaa gaaccccggt aacctgagct tcaactgctt ctgatactat 43140
 tccagatact atttcaggat attccaatac tgtttccata tattcaggac aatggacca 43200
 ctcccttagc cattttatca aaactcttta gattctgttt caaatcggtc tttccaaagt 43260
 cttcttgctc tcctttgtag acactcttca gtcagagaga gctttttaat ctccccaat 43320
 ttgctgcagc tgtatctgtg cctcaaaaca acgctttctc cccattcctc tttctctct 43380
 gcccttgaa ctctgtggac ttctctcatg tttttaacct actcccttt atcagtgcac 43440
 gtcactctca cttatttgta gcaccaata tttttactac atctttgacc aattaagtct 43500
 tacttggggt atgtttttta agtaggtatc ttattagggtg gtccttttaa agtatatgtc 43560
 cagtctctcc agctaaatta aaacccttga gcacagagac cacatgttat aatgttttac 43620
 cttttccata gcacttagca tgttaccttg acatggcata tactgaatga atgcttgcta 43680
 tttatgagtt tagttagtgc cacatctcat gaagtacagg gacttaatga ttctcaatcc 43740
 tgacttcac ttacagtcac ctggagaata aagtttctc ttagctcaac aagtcagaat 43800
 ctctgagcaa aatcctcaac ttcttaccta ggtgatactc ttgtaagcca cactgtgaac 43860
 cactggattc aacagatgaa gtaataataa ccaactggctc ttaagcctca ttgattattg 43920
 cggatgaagat gtgaagacta aagatgcttt ggcatggca aagtgttcta cagatattag 43980
 aattgttatt atggtacatt tgagagtgtc attgctttga gaaagattct ctaagttttt 44040
 taacagccac actgtaatgg aaatatccaa ttatagggtat ccaaacctt ttaaacctct 44100
 tatatcaggt gtatataccc tgttcctttt tgctaactta aaaatgttca aactctgtct 44160
 tctctaggct ggcaaacatt cagcagcaca ccctctcaag attgtttact tgcctttgct 44220
 cctgttgagt tacaacgctt ggaagcagga gatgggctca gcagcagcca ataggacatg 44280
 atccaggaag agcagtaagg gactgagctg ctggtaagac agtggagaca gttgacactt 44340
 gtttgtcaag tatgaattta ttctaatgt aatggtaatc tctctcccaa acttcaactt 44400
 caagttaccc tgcacctct caaatacttt tctttattgt ctatgcttag gacacatgga 44460

ES 2 532 883 T3

ttagattggtt aagatttgtg aatttactaa agttgtgtac tgacttatgt atagctgtat 44520
 ttttctggag aaagatagat ttttatcaat tctcaatgtc tatggagttt ttaaaaagag 44580
 gtaaggatta ttcaaatgta actataaaca taagaaaatg tgatatctat aaccagttgt 44640
 tagagtattt atcgctcca ttttgcttca cttgtagcca cttcgtctca atcttggtta 44700
 ggaccaaata aatggtattt gtggttactt gctgatctga aaagtgaagta cctcctgcac 44760
 ctggctagtc agtcttgtga caatttggtg ccatagaact agcagagaac taaattatgg 44820
 aatggcagat ctcaggagca gctatgtgat tttacatacg gtttggtttt aatggataga 44880
 gacagagtct ggctatgttg cccaggctgc tctgaaactc ctgggttcaa gccatcatcc 44940
 tgccttagcc tcttaaggag ctgggattac aggtgcatgc ccccaggccc agttcatatg 45000
 attttctgaa aatacaaaaag aaagagggag atacaaaata cttttttaat catgttctta 45060
 taattatctt aataaaaaatc aatttgctct gaatgccatg acctgctgag tgtcccaacc 45120
 taagggttgt cagaccattt tctcatatat gcatgtatag aagtagggaa ctaatatatt 45180
 tttgtctaaa atgtttaaga tgaagatgag aatgaattct acaatatata atttgcctg 45240
 aactatataa gacagttaaa attatagaga cattgcagga gagactctgg attagataga 45300
 aaaaaggaag aattagcctt ttttttgtc tataatcctt ttagtaggta attcagcttc 45360
 agtttacta aatcttgttt atgcattcag cataacaaat cttctaataa gcctgtatag 45420
 ctctaacttc tgccttactg cagacacctg aggatataag tatccactct gccacttgat 45480
 acttctcaga gactgttctg gtgctgagaa atcctttcca gtgtgtcctc agttgaactc 45540
 ccatgattcc tggatgttgc cattttcaag acacagggca agcgcactct tctagattac 45600
 ctctctacct tgggaatttt aagtcactct gtgagggaaa gagaactcag tatagtagta 45660
 actctcagaa tgaaaatttt ccccttgcct gttaatatatt ttagagtaat cattgtcact 45720
 gaaaatagac ttctcttttc cctctcatg ctggaaaatc ttaggtaatt atgaataaag 45780
 cattctttac ttttccctc ctcccttgat gattgcttta cctcactctg tgagaactgt 45840
 gactactcat tctgctcttg tcttttacat gagaactgag agcgcatttt taagatggaa 45900
 ttttctctct taatgaagtc ataacattag tcagaagatt ttctcttctt gaacgttaag 45960
 cctgggtaag gaataaagtg cagaagttta tggaaaatta taagataact taaaaaaaaa 46020
 acgaagacaa caaattaaaa tattagccat tgagggaaaa gggttttacag gtagctctct 46080
 gaggagttct tccctcatat ctctcaaaa atcttgtttt gcatttaatt ttttacagtt 46140
 ggataagctc agcccttgac atattttcaa tagcaaataa gcctagagtt tatttttagt 46200
 acatttatta ggaatgtgtt cttgggaaaa ttatttaacc tctgtaagcc ctgctttaa 46260
 tggcaaagaa gaaagtaggt aataatagat aataacagga ttattttatg cattacctgt 46320
 acattgcccc acatatagta agttctcaat tttatattgg tatttgtttt attattaacc 46380

ES 2 532 883 T3

acttttatta atgttgcttt tagtttttga aatatgaatt cattcaaaaa tattttcttga 46440
gcacctgcc aataccaggc actcttctag gaactagagt ggcattaatg agtaagaggc 46500
aaaaatctct tcccttggtg agcttagaat ccattagagt aagagacaga cacatacaaa 46560
ataaaatgta taatatagta aataccaaga agtgctaagt tttaaaaatg taaagcagaa 46620
aaaggaaatt gagtggcagg gttaggtagt aattgaagat atagtagtca agtaaggcag 46680
cttcaagaga agattatgtc ttaataaaaa atctgataaa gatataaaaa caagccatga 46740
agttatctga aggaattgca ggtagtggag aacagccaaa agacctggag tagtaaaagg 46800
ttttatgcag agtgatttaa aaagaatcac agtatcttat acatcagtaa atattttacac 46860
atacacttaa gtaagtgata tggacaagaa ctttggaagt tgaatagcaa ggtccatctg 46920
gactataaca gaggaggctt cacaaggaa ggtgacagg catggcctgg atcctgaagg 46980
acaggaagaa ttgggatcga taacaaagaa tgacatccca gtggagagaa gtggagggga 47040
aacagcatga aatggagtga aataagaatg ttggccttta gggcaggaat gggccaggca 47100
gagggcaagt gggaagcagg aaaaaggcga ccttgtataa agttcatgtt ggcaaataga 47160
gagaagatgg gaaagcagg taaggccaaa tttagtaaaa tcctaaagtc aagctaaaga 47220
ttattgcatg ctatcctgaa aatattgggg aataattaga gcagatgagt agaaagggtga 47280
attccttgta ttagctatat cattattttt acaaatttaa acaaataagg aaatggaggc 47340
agtagttgga gtaatttagg agataaattg aaaatggatt ttgttaagag agaagggag 47400
atagatttta tatattttta ggaaaaatca tgaggattta tttgctgact gcacgtaaga 47460
gataaaagag aggagtcaaa gatttctcta aaattttcaa aatgattaat tacgtgttg 47520
tattaaaaga aatagggaag ttgggacata tgagtttgaa ttcagcatga gtcagttaag 47580
acaatcagat gcagatatc ttaaggcaac taaagttcat ttgatatttg tcatataggc 47640
tgaattaagt ttctaagagc tgtttttact atgcattaaa tccgtgtaat actaacatag 47700
tacaaaagtt gtttgctatc caaattttgt atttttataa taagttggag agacagagaa 47760
tcaaaaaatt attgatttg aaccattaga catcagctag tccaattagt tcattttgtg 47820
gaaggaaaaa ggatacccag agatgttaca tgactttata gccatgcctc tagctagtat 47880
ctaacttggc ctagcccagg tctccatact gagaactctc tectgetaat aaaaaataa 47940
taaaaaagta ttagtggttt gtattttgct ggcttgcttg tggagaatag gattagaagg 48000
tttgacttgc ctgttagcac tctctttag ccatttttct aattaacata cacattttac 48060
cctttctcat gaaacagatc taacttggtt agaagcttca gtcttcttga ttttaattaat 48120
cactttctcc cacctttagt cattgttgaa gtttctgat ttacaatgtt atctttttat 48180
cttttcagta gtataaggag gaatgatatt tctactgttg tactattttt ctgtttatct 48240
ttcagaagaa aaatagcttt tcttatggc ccaaaaaacc atcacctac aggaaataaa 48300

ES 2 532 883 T3

tcacactctt tgcttgatth tctgatctg gctactgatt tctcttcaaa ttttaagccaa 48360
 tacttagact ttaagacttc attgttactt ccttacaggt cattcttatg aactaaaatc 48420
 catagtcatt gttctagcaa gcctgagcag tttattcttt gagtcacagg attataaaag 48480
 aaaaaataga ccttagagat cataatacag tgctcttcaa actgtactct tcaatthttc 48540
 tactacttat cagttgttht ttattctaatt aaaatataat tacctagcaa gtgagcagac 48600
 atgtatthac agtagcttht caattcttht tacacttctt tactctctcc attacacatg 48660
 ccacatggta tgatacaagt cataactcaa ctatgtgaaa gcaaaaaccac tcttatacat 48720
 ggtgtcttgc atatatatta aggcccagag tgggtatcagt agtctctgtg tcccaagaga 48780
 ctgaattaaa caagactgtt gaccttcttg tggcatttht ctgacaacct tggcaatccc 48840
 taaattcaca aatagctgta tagcatttht tgcatttht gcatatccac atatgatgtg 48900
 tcttttgatt ttagaacaag taaagcatgc taaaatagac tgcaccttat gaaagtcatt 48960
 ttcactatth ttgtgtthtca gtttctctcat caaaagggtga aatatcagct gcctctgttg 49020
 atctcaggat cththtaagta gaaatggaag agtcttagtg aaaacagtht gtattctgaa 49080
 agaaaattgc aatgtaaata caggcactaa aaacgththt tcatcttht acatgttht 49140
 ctgaccagac atththtctca aaatgtgaaa atagtatgga ththtcttagc tcatthtaata 49200
 ttgaaagact agaaaaacaa gtaatgatgt tctagaagaa tctatgatca tataattaca 49260
 gttgtctctc agtatctgtg ggagattggg tccaggaccc cccatggata tcaaaatctg 49320
 tggatctctca agtctcttat ataaaatagt gcagtattht cacatgattt acatataccc 49380
 tccatatac ttggaatcat ctctcgatta thtataatac tacaatgtcc atgctatgta 49440
 agtagttatt aactgtatt gtttagggaa tagtgacaag aaaattaatc tgtacatgth 49500
 cattacaaac acagcaatcc atththththt tgagtattht gatctgtgat tgattgaatc 49560
 cacagatgct ggaatccatg aatacccatg gggggctgac tataatgttg tctatgtgcg 49620
 tagcaattht gtaattctca accaaggaca cgtatagtcc ttgaatcttg gtaggagtct 49680
 tggggactth tctthaaata ththtgaccat ctctcaaga tcttgactcc taccctcact 49740
 tgtacacgtg cacatacttg tgcacactca cacacaatac cthtctthta gtcctgctca 49800
 ccagcttgct tctattgca ttgagagcat tcaacctgta gaccaagaac thtctaccata 49860
 thththccacc tctaccccaa aacacagtht agacatatcc atthththtca thtctcagag 49920
 tcatctcacc actthcataa attatthctt aattgttccc tctgcctctg thtctththt 49980
 thththctgat gatcagthtca aagtacctct gtatgcccat tcttaagtgc aaatctgacc 50040
 atctataccc cthtcttaata tctthtctth tatggatacc catttcagac thtattaaag 50100
 gagtggaaag thccccctcc ccacctcacc acttgaagth thtgcaatta gaatggagth 50160
 taththgtht atgcaaaaat agatgtgatg tagaattctt ggggacacct acttatcccc 50220

ES 2 532 883 T3

ttttcagagt ggccctgaat agctctgtga acccaggaat ctgaagaact cagtacagaa 50280
 aaccatcagc ctacagaaag tagatcaaac tctatgcttg atattcctga tctggctcct 50340
 ggttactctt caaattcctc cttactatat tgtcccttca gatttgtaaa tctttaccgt 50400
 gacatcgtat tttacacact gaacctttgt accgctgttc ctctcctgat gaacttcctt 50460
 tttctcttaa ctacacagct cagattttctc ataaggggaag cttcatattt gttgtggcac 50520
 tgtgtttcct caaacatcct acttactgta gtcattttgtt tatgcttgtc tcctttgcag 50580
 attctgaaat tcctagggca aaggctgcat cttgtcttct tattactaat attttacaca 50640
 gtatctggtt acatagtagg cattcaatca tacaatttaa aagaagaggt tgactttgtg 50700
 atctttttca tatgttttat ttccctctcc ccctactggc aacttcttcc tacttcttaa 50760
 aatagataca gcacttgccc actaagtgga gggaagaggt gtgggagtcg agtagttgga 50820
 acttcaagtg tcaaaacatg ataattctcat ttgcaaagtt acattatato ggagcttgaa 50880
 cctcagagat acttaattat aagcaacact tgtggaacat ttgataccta catttttttc 50940
 actaaagtat cctatcaaaa ttaaatgtgt tgcagttgag atttgtgagg ttttagctat 51000
 ttagagactt tagggatatg tttagtgttc taattctaata agtattgatg aatataaatg 51060
 tttcactgta gaaagagaag tttgagagct gttgtgaatg atatttgatg tctattaggt 51120
 gataatttct gatgactaaa catgctcaag accttagtga gaaatacatg aatacagaaa 51180
 atattttgaa aattatgaga agtttatcat tgattataga ttttcttato cagcagtttt 51240
 tggttgtgtt ctgtttttca ctgtcagaga agcagaaaagt ggtcagtgga ctttagaatg 51300
 taggctcttg taggaggcca tatgtttgag agtgctgtcc aggtgctttg tgatgtggct 51360
 gagaatggat gcaggcttgc agggaaaaac taatactgta gatctctaga gagcatttta 51420
 ggaaagactt ctaagcttta ggttcctga ccaaagagta aaaagtgatt cttaatatcc 51480
 atagctatag aggaaagtaa atacacttcc cacatcaaata gtagaattaa atatttaggc 51540
 atttcaagtg tatttcattt agaacaaaat aaaatcatat attcactaat gaaatataaa 51600
 accagatggt ctctgaaagg tttttccctt tactcacttt cagagtaagg caaggaagag 51660
 tagttttgtt ttttaattta tatttttaatt gtccctttct gtttttccaa aagttttatt 51720
 ttttgaaaag gagtcacctt ttagacattt gaaaaattag aattactatg atgtttattt 51780
 tattagtaag tcttcctaga gtagcaacgt agaaaagcat ctctgaatgc ctacatagta 51840
 agtattttaat aaatgttttt tgggccaggt gaggtagctc actcctgtaa tcccagcaat 51900
 ttgggaggcc gaggcgggtg gatcacctga ggtcaagagt ttgagaccag cctgaccagt 51960
 atggtgaaac cccatctcta ctaaaaaatgc aaaattagct gggggtggtg gtgcatgcct 52020
 ataataccag ctactcggga ggctgaggca gggaatcgc ttgaactcag gaggtggagg 52080
 ttgcagtgag ccgagatcgt gccgttgac tccagcctga gcaacaagag tgaaactctg 52140

ES 2 532 883 T3

tctcaataaa taaataaata aataaaatac ataaataaat gctttttgat ttaacgaagg 52200
 tgtcattgtc ctatgaaaag gaaaactatc aaaatatatt ttttaaaact tagcttttga 52260
 taatgatatg gaagatattt ctcttaatta acctaagtca gaaactaaaa tatgttataa 52320
 aatgctaaca tcaaataattt gagaccagtt aaaggagaca gaaggaagtt atggagaaag 52380
 aagcagtagc cagaaaaataa gggcaagaaa atgttttcta aatttatgag aatcagaatg 52440
 ttacaaaaat tgctattatt atcatctgga aaaaatatgc cttgtaggct gaaaaaatga 52500
 acattccctt tccataccat gcaggaacct tctttactgc attcctaaga ggactagtct 52560
 agcacctaatt tggatacttg tggtaatat tgggaactca ctgatctggg acatcagtggt 52620
 gggagtcgag tagtcagaac ttcaagtgtc aaaacatgat agtctcattt gcgaagttac 52680
 actatatttag agcttgaacc tcagagatac ttaattataa ttaacacttg cagaacattt 52740
 gatacttaca tttttttttc actaaagtgt cctacaaaaa ttaaatgtgt tgcagttgag 52800
 agttgtgagg ttttagctat ttggaaactt tagggatatg tttagtgttc taattccaat 52860
 agtattgatg aacataaatg ttttactgta gaaagagaag tttgagagca agttgagcaa 52920
 gaatctgtca ctctaggtct tctactcttt attaaagaat gttggattca tttataactt 52980
 actggtccct taaatattaa agtttggtgt ttggtatctt aaacatgatt acatccttat 53040
 agggctctct tctaattgcc tggatactgc acatctatta atacagtctc aaagcacact 53100
 tgcttttttg atagtaagag cgtacgattt aatcacattg aagttagtcc gcaaagggtt 53160
 ttgtcttttt ttcaggcaag cagctgatga atgaatctct actatccttc actttgtgac 53220
 tgtgattttc taaataaatg ttggagattt taacttaciaa tttattaatt tccatcttgt 53280
 ttcttcaagt cctccttta aggaaattta tggaaatctt tttccatacc atcaagtggc 53340
 ttatttcttt ttaacttttt tcttaagtt caggagtaca cgtgcagggt tgttgcatag 53400
 gcaaccttgg gtcatgggag tttgttgtac aggttatttc atcaccaggg tattaagcct 53460
 agtaccatt agttattttt cctgacctc tccctcctcc caccctccac cctctgatag 53520
 gccccggtgt gtgttgttcc cctctgtgtc catatgtcct catcatttag ctcccactta 53580
 taagtgagaa catgcagtat ttggttttct gttoctatgt tagtttgcta tggataatgg 53640
 cctccagctc catccatgtc catgcaaaaa acatgatctt attctcttat atggotgeat 53700
 gttattccat ggtgtatata taacacagtt tttttttatc cagtctatta ttggtgggca 53760
 tttaggttga ttccatgtct ttgctattgt gaataggact gcagtgaaaa tatgtgtgca 53820
 tgtgtcttta taatagaata attttttttt cctttggtat ataccagta gtggggttgc 53880
 tgggttgaat agtattttctg tcttgaggtc tttgaggaat cgctacactg tcttccacaa 53940
 tgggttgaact aatttacatt cccaccaata gcatataagt gttccttttt ctccgcaacc 54000
 tcaactaacgt gttatttttt gactttttta taatagccgt cctgactggg gtgagatggg 54060

ES 2 532 883 T3

atctcattgt gggtttgatt tgcattttctc taatgatcag tgatgttgag ctttattttca 54120
 tatgtttgtt ggccgcatgt atgtcttctt ttgtaaagtg tctgttcatg tcctttgccc 54180
 actttttcaa tggggatgtt tgtttgtttg tttgtttttc ctgtaaaatt aagatcctta 54240
 tagatgctgg atactattgt cagatacata aattgcaaaa tttttctccc attctgtagg 54300
 ttgtctgttt tctctgttga tagtttattt tgctatgaag aatgtcttta gtttaattag 54360
 atcccatttg tgaatttttg ctatgaactg gatctgatat aagcatatgt ttaattttta 54420
 ctoocaggto acactgtttt tttttgtttg ttttggtttt gttttgtttt ttgtttttgt 54480
 ttttttgagg atggagtctc acgctgtcac cagtctggag tgtggtgata caatcttggc 54540
 tcattgcaac ctccacattc cgggttcaag caattcttct gcctcagcct cctgagtagc 54600
 tgggactaca ggcacacacc accatgccc a gctaattttt gtatttttag taaagatggg 54660
 gtttcaccat gttggccagg atggtctcta tctcttgact tcatgatctg cccgcctcag 54720
 cctcccaaag tgctgggatt acaggcttga gccaccacac ctggccccag gtcatacttt 54780
 taatcaaaat gagaaaaaag attgacttca ctggagtgtt tatgtcttgt tttatattca 54840
 agttttaaat ttatgttctt gagattatta catcttgagt tacttgataa taccacgggt 54900
 gaaatccatg ttgttgaatc cttcaacccc ttgaggactg agaattccct ttaattatct 54960
 gtctgaatca ttaaatactt gtaaatcaag agttcaattt agaaatgtta tacttgatac 55020
 attttttaaa gctggataaa ttaacctatt aaacaaaatt atctcttctt caaaaaaaag 55080
 gcatcacttc cccacaaaat gtgtaattta ggaattgttt tctattggag tggttcacgc 55140
 ttatatattt tagttgctct aatgcaagggt gtttcctaaa aagtttaagg aaagtataac 55200
 tttattttca tgtatgatag taaataatac aataggggggt gcatttgtgc tatgcttgtt 55260
 tttgttccca tttcagtgtt caattactgt agcttctaataaataaaaatt atcagttgct 55320
 aacattttaa tcaaacagtt ccacaagtgg aagtattgct tatttgtgag agttgtgttt 55380
 ttttaaaactt aaccttactg aggggtttta aggactgcta attatagatt gtactaagca 55440
 aagtataaag taatagaagg ttaccaagtt gaggctagaa ttcaattagt gccaatagag 55500
 ttaaaatggt atcattaaca gaacatcttc atccaggacc tttttttttt tttttttttt 55560
 ttttttcaga cagggtttca ctcctgttgc ccagactgag gtgcagtggc ctgattgagg 55620
 ctoactgcag cctcaacttc ccaggetcag gtgatcctcc cacctcagct tccagagtag 55680
 ctgagaccac aggggcatgc caccacccct ggctaatttt ttgtattttt tgtagagaca 55740
 gggttttgcc atgttgccca ggctgttgc aaactcctgg cctcaagcaa tccacctgcc 55800
 tcggcttccc aaagtgtgtg aattatggga atgagctgcc acaccagacc cctccggaat 55860
 ctttagatta ccaacttctg tcttccaggt ttttatgtcc ttggaaaatt atgcatattt 55920
 ttagaggtaa gacctcct catcttcttc ctaatccttg acatattgtg aacacagata 55980

ES 2 532 883 T3

tatatacaat taagtagttc cctgagttac aaatatactt aaatataactt taacttatta 56040
tagaaggctt acaaaaactg tggataaata acatatatatt atcttagtta atgaataact 56100
gatgctgaaa ataatgtgaa tgtcaaatta gttctctttt tttctagccc tcacctttga 56160
aaagcctgag cctctgagat gtgagatgac tgctgtaaaag tgaagcagcg aatttctaga 56220
ggctgggttc acgcttcagg tctctaaaat cctaggtcgc ttcccactac tacatactac 56280
cctaaaaaat ctgtaattcg caaatatttatt ttttgatctt tttcataact tattaattt 56340
ttattgaaca aatacaggaa acagttttaa attactcatt gctcttgaat acattgggtga 56400
ttatTTTTtT tctctgaaat tctgttttcc ttaaaggcag tcattttttg gtctcttcta 56460
aatgacactt agtattttta gtaacatcat aacttcagtg gccacagtga gccctcattt 56520
tgcaacatat gcctactttt catatctggc ttgcctttta ttatttataa tttaatgaaa 56580
agaaagtacc actctttcca tagttttgta atagaattgc tgtcaacaaa gtagtggatg 56640
cactatgtta taaagatttc attgtgaaaa catgaaatgg ctgttaacta tacatcaggc 56700
aaaataaaaa caggaaatat aaacatttcc tggaacaggg cagagtatga gtaataagggt 56760
atcaaataata attggatacc tgaccaaata tttttaaatg tcttaagaaa tgtcactgga 56820
aagactggag tacttggatt tgtctcttat tcttattttg attcctaaca ctgtgcttgg 56880
cacatggtag gtaattaata aatgtgtgat ggatgaataa tgattgtcat tcaattagtg 56940
actaagagag ttggaaaagg ctatcaattt caaattgggt cctttaagac atttttacgt 57000
aagatttggg agaaaagtaa aagagcacca tatgattatg ctttactaag agctgcttcc 57060
attcctacat tgacctgtg gactcatatt tggcctatat aattacatta gaataaaca 57120
agcaccaaaa gttggaaaag gaagtagtag taggagaggg ttttaagcta tgtatttact 57180
gggaaaaaaa gtcattgttt cttttttaa aatgttctaa acagtactgt aatcacttgg 57240
gaattgaatg tgctttgtgt cagacaaagg tctttgtata caatacatta cattttgtat 57300
accaatacat tacattacac agaagggagt gcctggcttt gtatacaata cattacattt 57360
tgtataccaa tacattacat tacacagaag ggagtgctg gctttgtata caatacatta 57420
cgttttgtat accaatacat tacattacac agaagggagt gcctggcttt gggaaacaca 57480
tctacctaaa ctcttaacat agcacaatgc tgccatacgg taggtaatac caagacaaat 57540
cagggcgtt attacaaco ttgaggaaat gtcttgggaa atattttaa aatttttgtt 57600
taattataat aaggaatcta cagcctctgt gaagtcatcc caaactcttc gaggcaaatt 57660
tagtctcttc ccacctgtt tttttaatgt ttctaaagga tgttatgtat aatctattag 57720
aaaactggcc aagtgcagt gctcatgct gtaatcgag cactttggga ggccaaggcg 57780
ggtagattac ctgaggtcag gagtttgaga ccagcctagc caatatggcg aaaccctctc 57840
tactaaaaat acaaaaatta gccaggcgta gtggcaagt cctgtaatcc cagctactca 57900

ES 2 532 883 T3

ggaggctgag gcaggagaat ctcttgaacc cgggaggcga ggttgccagt agttgagttc 57960
 gcgtcactgc attccagcct gggcgacgga gtgagactcc gtctcaaaaa acaaaaacaa 58020
 accaaaaaaa aaaaaaatat atacacacac acacacacac acacacacac acacacatac 58080
 atacatacat tagaaaaacta attacattgt tttcttaaaa tgttttaagc atctctcttc 58140
 ctcaaggaca agaattctga atccttagtg catatgaggt acttaataga tatttaaagt 58200
 aatagtgagc tactattgcc taaaaatatt agacatcatg taatatcagg cctacagttg 58260
 atagaaaaag tattctcaac taagaataat ttaccaatgg agaaaactgt tagttttccc 58320
 ttctttttct ttgctttata aaatttaa atgacattaaga gttacgtttc ttggaaaatt 58380
 gaaaagaata tctgtggcac aatgggctct ggggtataatt gcaggataat ttgaaaagt 58440
 taaagaatat tttcaatagg tataagttta tttaggctct gtgtctctc ttgagatgac 58500
 tttagcagta tatattttcc tggaacacca tgcactctag gttttcta attttggttt 58560
 aaaatacatg gcattttact acgtaaatat tctctgtatc tgtaggtaca gcacctctgt 58620
 gtacactaag ttagtgtatg tttttttta aaattgcctt agttttgcta ttcactagat 58680
 ttttttcaa ggaacctact cttagattta ttaagcctac tatatatatt ttgttattaa 58740
 ctaattctct tttttttaa aattactttt cttttctttg cttaaatttg ctttgttttc 58800
 ctaaattagt gatttggaa acttaattgt ttttattttg ttttgttttg tcaataaaag 58860
 agttttaaga ctctagtat actatagcta tagccaatgc attttgagag gtgcttacat 58920
 attacaatta ttttcagaaa ttccttattt caaagctttg ctttctttga acaaagagtt 58980
 atttaggaaa agaaaggaat aaaaatctca acttattctc cacttgacta gctttattat 59040
 ttgcagtatt ctgtttttta cttgttctaa tacttcttta tttttgttg tggaattatg 59100
 tcacctaa atattttct taacttctta attttagcct gttttccaag ttaatcattt 59160
 atctgttgtt tcaatgaata cctaagaaaa ttttctttgt caggataagg cacatgaggt 59220
 ctaagattta tttctagaac agtaagcaaa tcatttctga aagtgtgttc ttctactatt 59280
 aagtaacatg tttatttttg tcttttagtt gaagtcccc ccaaccaat aggtactatt 59340
 ctgatttgtt ctctattca cacattcttg aaggagagct gatttatctg taccacaaa 59400
 attataatat aattttctca gagtattcaa aacattgtct tttttatttt tctttttttt 59460
 gagtttttca ctctgttg ctaggctgga gtgcaatggc aggatctcag ctcaactgca 59520
 cctccgctc ccggtttcaa gagattctcc tgcctcagcc tcccagtag ctgggattat 59580
 aggcattgcac caccactcct ggctaatttt tttctatttt tagtagagac ggagtttctc 59640
 catgttggtc aggcgggtct caaactccca acctcaggtg atccacctgc ttcagcctcc 59700
 taaagtgcta ggattacagg cgtgagccac cacaccagc cgaaaacatt atcttaattg 59760
 agcatttaga acgttatcac tgacaaactt ttttctattg aaaatactgc ttaaaagatc 59820

ES 2 532 883 T3

aggtcatgcc caccaccaca cccacaccct ttgtatttct cttttacttg tcttggectc 59880
 tagttcagat ttatagtttg gtaatgtctg attttctttg ttagtgcttc agcccatctg 59940
 gttggggaac agctctatcc cactgggacc tctcccttcc ctcagttagt acgccagggt 60000
 cctgctgccc ataagcattc tgtttgctga gtttgatatat atttccttcc cccagcttcg 60060
 ctgccttttg ctgcttttg gtaagtaag acatacccat gtttcctaaa gcctccttcg 60120
 ccttttagtcc ttgatgctgg ggaccttttg gttgggaaga cagcttcctt atgtcagggt 60180
 gagcctgcta cacaggtagt taactcagac agtgacctac tgttgagttt ctgttttagt 60240
 tttctttgtc tccctcaaat ggtacaaacg tggagggtct caactgcagt ctacctttgt 60300
 cctgttagtt ttgtctatca cagcccatgc cctccaaata agagatgatg gagcagtcgt 60360
 cttattttct gtagcactcc acaactgact ttaaaagagg gactgggatt gggctcttag 60420
 tgatgacttt taatgtggat tcatctgcat tttctctaga aattctttaa actctctgcc 60480
 tctcagctgg cactattcca tggatatttt gtgctaattg gggatctttt ctaatttttg 60540
 tttttctttg actgttttaa tcatttactg gaaagagggc ttagatatct gctcatatgc 60600
 tcctgctagt ctacaagtcc tccagcctga ttttgttcat gaacatgatg gaaataagct 60660
 tcttaaatgc ctttaatat ggatactgct ttcaaggaaa tttaaaatag caagcaggct 60720
 ttcaagaaga gagaataaat tatcagccag tctcgcaaga acaaaaataa gccaaagtc 60780
 ataaaacaag tttggagtaa acttggtttt acatttcaaa ttcgagttga actcttcaag 60840
 tgaagcttca gagatataaa aaactttaac tgataaagat tccaaacatt aatatatgga 60900
 aatgtatgag ctactgaaa attttacata atttttacta gaagagtgga ctgaccagtt 60960
 gcttttataa gatttctcaa aagatctcaa atcttaggga ctaatatgtt aagtatacgg 61020
 ggaaattaag acaaagattt actatcttgt gagtttttag tttggataat gaacttaatt 61080
 tcacaagaaa ttgcttttag acaaacatga aaaccttaag catgagaact ctctttttga 61140
 agtacaaggg gagactaaa tgataaactc aaactggaaa ttagagaaaat tgaatttgct 61200
 atgatttgaa gtcctttcag aatagccaac agatttttaa caagagtttt attgcatagt 61260
 ttctttggga tatacattga aggagaaagg aggaggaggt tttaaaagac aagtggaaag 61320
 ccttttctgc ttgttttggt tatggcttcc atttcagtgt ctgtatttaa gggatcataa 61380
 aaggaactgg aaagactggt cacaatggca gctctgtacc tgtatgattt cggatgtgaa 61440
 aagagtttag cgatttcctt gttaacctat actgctgtgg aagtcattca ttatgcagtt 61500
 aggcatttag agaacaaata aagttcacag ctctaggaac caaatttaac tttatcactc 61560
 ttctgattta gaatattttc atatgctttc atatgtccta cagacgataa gaagatagaa 61620
 tcaataactg gtgattgata ggttattttt taaaaggga gaaagaatta aacatccatg 61680
 gttttcttct aagtaactgg ggggatgata gtatccctca caccaatggg gagtatagat 61740

ES 2 532 883 T3

gacaggtttg gagtgaaaga cagtgaattc ctttttgat aagttgaatt tgaagtgcct 61800
 atgggacata caggtacaga tgactaggag acaattgaaa atccaaattg tgaactctgc 61860
 tgaagattag aagtacagat ctgagattaa attgctactt gagttcatgg gaataaaata 61920
 ggtcattctg caaatgggta tctcaatata ttcttgcca tctcttgggt caccttgcca 61980
 acttttcatt ctctttacaa tctctaaatt ctcatgtttt taaggctctc atcttaggcc 62040
 aacttatctt gggtcacctt gctaactttt cattctcttt acagtctcta aatttgtgct 62100
 ttttaaggccc cattctcaag ctggcttctc tgttttggtg ggaactggta gcaaacatcc 62160
 atttgtaaac aacccaaatg gctagcattg agcaggactc cccaacatac tcctctgaat 62220
 tacattttga gttatctgaa ggatcaatat ctcaactag gaaactgtag ctttctcatt 62280
 tattttcatc atctaattat tttcttggc ttttaagtata agggatagag acttgattga 62340
 tttttatgta caacaagtta aaaaatttaa ttaggcgtct ttgccattta atcagtttat 62400
 acttcttgaa tcttttccag tcatcaaaaa gttgctgagc atgcgcagct ttacttacta 62460
 gcttatagca tgaagaagag taaaatagga gtggataaag gcacagtggg gagtagtcag 62520
 tgtttccaat taatctcaaa gtttaggatt aatttagcgt gaattctgtt cttttgtgtc 62580
 ttcttgcttt ttgacgtggg aacctgccat aacaaaagga aacagcagga aacttggtac 62640
 caattaaaac agtcttcttc ccccaaagaa cgaactgtca gcaaacaatc tcaaatcaaa 62700
 agtgataagt gtttttagagt gaaacaagga taaagagaca aggctattaa attttaacat 62760
 ctgctggaac acaaagcgca tgccagtaga attaagtttg gcatttaata agatacaatt 62820
 tgcacatcag aaatgaaata gatgcctcaa ggcatgggat atatatatat atatatatat 62880
 atatatatat atatatatat atatatgttt gagcgagggg cacttctago aaaactgaat 62940
 aacttggtat aaatgtctgc gtgaaaattt ttttatccat tcaacttttg tgtgtattcc 63000
 agctgtgagt tattcaacca ggctcaacta gtttgagtct gattaataac gtttaaggctc 63060
 acatctgatt aacagtattt gaagtttgaa tttgttctaa gatgactcaa gcgcaataac 63120
 attttctata tcaaatgaa tttccatcca aatagggagg aaatctgaaa tttcagttcc 63180
 agtggtgact gagatgctct ggatgagcct ggactcagag ctcaccaact ttggatcttt 63240
 atgttaagta gtcagtggg ttgacttcta gactagagat caaatgttc tacacctctt 63300
 gatataggtc agtggtgat gtaatgtgct tccaacaact ttcttttaac taaaacagta 63360
 catataccaa gttggtttgt cacaatggga acaaacaga aatctgacaa cagatttctc 63420
 taattttttg tgtgtatgtt tctgaatggg ctaaaataca taattttact cttccttggt 63480
 gaagatgctt ttataagagg acgtgtttta gaaaattaag aaatgttgta ggtagccatg 63540
 aaagaattat tttaaacaga attagtatag aggtgtgaag atctactgaa gggtgataag 63600
 taagtgtgga agagatggg ttcagcattg ggcttcagta tgaataggta gaagatgagc 63660

ES 2 532 883 T3

aaggcttaga gacaagaagt tcattcaata ggctgttgcg gttatccago aatgagatgg 63720
tgacagcatg agccatggta gtaaaagtaa ggacatggat aatttgtggg ttctacagac 63780
aataagaaca tagaaccgat aggttatttt ttaaaccgga agaaagaatt aaacatccat 63840
ggtttcttct taagtaactg cgtggatgat agtaccctc aactgatgg ggaatgtaga 63900
tgacaggttt ggagtgaag aatgaattcc attttgata agtagagttt gaagtgccta 63960
tgggacatac aggtacagat gactaggaga cgattgaaaa tccaaattgt gaactctgct 64020
gaaggtaga agtatagatc tgagattgaa ttgctacttg agttcatggg aataaaatag 64080
gtcattcagt aaattgttat ctcaatatct tcctggccat ctcttggtc accttggtga 64140
cttttcattc tctttacaat gtcaaaattc tgggtgtttt aaggcccaa tctcaggctg 64200
gcttctcaa ctgtactctt acttgggatg atcttatcta gtcattgggc attaaatacc 64260
attggtaggt taacacagtt cacaattttc tccagcttag acccttgct gatttcctga 64320
cttgtagact caactgcctg cctaataatc ccactttaat gataatgtac atctcaaaact 64380
gagcttattc gaaatagaag ccttaatttt tctgtcagtc atattgttcc catttaccca 64440
tctaacaaa tagcaccatc atcaaccttt tagctcaaga caaaactcta ggcattatct 64500
tgctttcatt cctttcatgt actttctcac atctaatacca ttaccaagtt gttctgtttc 64560
tgccttcaaa atgtgtccta aatttatcca tttctctgcc actgctatto tctagttcag 64620
gacattctat cttttctctt gtattactgc ggtctctaaa cttcatgtat ctatgtttta 64680
tacttttaat tcattgtcta tacagctacc agagtgatct tttaaaggtc taaatcagtt 64740
catgtcactg ctttatatat aatgcaccta tggtctccca ctggatttaa ataataatct 64800
taacacttta ctctccatg gcctttacat acttctagcc gcacctcaaa aactcctct 64860
tgttactga gaactaacta gaccagtttc tcttctctc agctatatca tgctaattta 64920
tgcttcagt cttttgtac ttttgttccc tctagctgaa tcattcttcc aggtcattct 64980
atcattggct ttttcattca gttcagatag atatcagcaa atcaagagag tctttcetta 65040
cctgctctat ctaaatagtc ctgttttagt cctctttatc tcatcactca gatttatttc 65100
cctcatagca ctcatcagtc tgaaattggt tgtttatttg gctacttggt tgtctagata 65160
aacttcactg gtgaaggaa ccagaactatc ttgttcatcc ctacatccct agaacctaga 65220
acaatatggt aaagataaat aaataaatag atgaaagaat gttgaagaga agagggtcca 65280
gtccagcccc ctgaggtagc cagcatttag ggaataagcc gaggcagagg agggccatta 65340
agaaggagca atgagagata gaggaaaact aagaacaagg tgtccctaaa gtgagagtgt 65400
cctaacacag gtctaaatga aaggatagtt cagaagagg cactgcagct ggctgaaaga 65460
gaacaagaaa ggctgtaagg tggaggtaga tttttaattg agcgtgaaa gatagggaaa 65520
ttctgtatga aggagtaaat ggaggcatag aggcataag gcagaagatg catgcctggt 65580

ES 2 532 883 T3

tggggaatag tcattccatt tgtctttcac atatctcatt taatacttct catttaatcc 65640
 ttttagtggt aatggtgtca ctagattaaa aaacaaaggc tccatcagga tcacacagta 65700
 aacagaagaa tatggattta atgggagatc tatctgactg caaagactac ttactgtaac 65760
 ttaagtcatt gagattcctt atggccacct catattcacc ctgcatataa cagtatgcca 65820
 atgtaggaat gaggcgtgaa taagcagggt aacaatagaa acatattctc accttgatta 65880
 ttcccttgggt agcttcaagg gaaattgagt ttgaggataa agtaactctt cccatgtcag 65940
 cactttatct gtctgaaac atgagaaatt ccaaagtgc aagccatgca gtttttatct 66000
 agtcagatgg ttgagaagtc caggttaccc atagttgtaa tgaatacctc ctctttatct 66060
 tottaatggt ctgctttgcc aaatgatcta taaagattac tcagtgtacc ttccagattg 66120
 aggtccagca gactttcaga aactacatt taattacaga aacccaacta ataaaataat 66180
 aagctcatgt tagtttcagg tgttgatttg tttttaatgt agtcaataat atttcatat 66240
 aatgactggc aacttaacag agttataata gattattcac ctgtatttgc ctttatttgt 66300
 gggatacac acatatatac atgccttaaa ctagagtaaa atcatttatg catactaaat 66360
 caaatttgag agtcccaaaa ttttcaaatt gtgtatggct ggtctatatt ttctaggact 66420
 gtcccttctg gtttaaatga aattaaaaat tgaattaatg atattagtct cttttaattt 66480
 tctatTTTTT tcatgattaa aaaatattaa tttccagcca ggtgcggtag ctcaagcctg 66540
 taatcccagc actttgggag gctgaggcgg gtggatcacc tgaagtcagg agttcaaaac 66600
 cagcctggcc aacatgggtga aaccctgtct ctactaaaaa tacaaaaact agccaggcat 66660
 ggtggcacgt gcctgtagtc ccagatactt ggatggctga ggcaggagaa tcacttgaac 66720
 ccaggaggcg gaggttgagc tgagctgaga ttgtgccact gcactctagc ctggtcgaca 66780
 gagtgagaat ctgtctcaga ggaaaaaaaa aaattaattt tccccattcc cccaccacc 66840
 caccaaaaga ctccattgga gttttatttt acaaatgcat ctgctcatct acttcttttt 66900
 aagtgcataa actagtttta caagcttgag tttaaatctt aactcctcaa ttctttttct 66960
 gacatagaaa tatacaggtg cattatgaaa tagctaatag tgactatttt ctagggctgt 67020
 aactcaatat ttataagcat aatgatataa cctgctgaag ttgacacgt cagtatagtt 67080
 cttttgttat tctaagtcac aaaggcagaa tttggaaaaa ttcacagctt ttcaaatatg 67140
 cagaagagga aaaattgaga ggaagcatac taaaatttct ttagccaatt ttaatcaaat 67200
 tgagtttgaa acttacagga ttatgcttca aagcttgtaa tgatcgtaa aagtagcctt 67260
 attcaaatg acacactaat ttctaccaca tctgtattct tctcattgta agatgttaca 67320
 tatacctatg cttgaccaa tggacttcct gctattttta gatatttttc tgtgttttaa 67380
 gtctttctac aaattttctc aagcatttcc ctttacctag gatgtttctt tttcactgca 67440
 agtgaagaca ttctaaaaat tcctaaagca cactaccaa agcccttcat ttggatgacc 67500

ES 2 532 883 T3

caccttccta tgagtctcca tagttgcatg tctgatggca tttatttttaa ctctatgac 67560
tgcttctaaa ttagataaaa gctctcagag agaactatga ccaattgtca ttctgtttcc 67620
catggcacct agtacagtac tctgtccaca ggctcaataa gtaatgagtt gagctacgtt 67680
tttttaaggc agagtctccc tctgtcgccc aggggtggagt acagtgggtgc aatctctgct 67740
cactgcaacc tctgtctgtg ggttcaagtg attctcctgt ctcagactcc cgagtagctg 67800
ggactatacc accatgccac catgcctggc taacttttag tagaaacaag gtttcaccat 67860
gttggeccagg ctggtctcca actcctggcc tcaagtgatc cacctgcctt ggccataa 67920
agtgttagga caaaagtgtg ccattgtcat gttacgatat atattggttt ttgtccatgg 67980
tttctggttc atagctccaa tatccctttt tacagtcttt tgtagaatg tggggtgtgt 68040
tggacctcgg ggcaggcctt agaaaacaga atctctcctg ccttcctttc acttgteccc 68100
cgagggagat tttttttttt tttttttttt ttgagacaag acttcctgt gtcacccagg 68160
ctggagtgca gtggtgtgat catagctcac cgcagcctca gcctcctagg ttcaagcaat 68220
cctcccatct cagcctccca agtacctggg actacaggca catgccacca cacctggcat 68280
tttttttttt tttttttttt ttgtagagag gtttcgccat gttgccaggt ctggcctcca 68340
gctcctgggc tcaagtgatc caccacactt ggctcaaacc accacacca accctgaggg 68400
agatttctaat cttccccacc cttctgattt tgagtcttaa aacccagag aaggtccac 68460
cctttgcact ggggaaagga atgtgatga tcatgaagcc tccataaaaa ctgaggagga 68520
ttgagtctgg ggagctctg gatagctgaa ccagtggagg ttcttggaag gtggctcatc 68580
cagggaggac ttagaagctc cgtgcacttt ccttatactt caccctaagc atctcttcat 68640
ctgtatcctt tgataaacca gcaaatataa gtaagtgttt cttgagttaa gtgagctgct 68700
tgacaaaacg tattgaaccc aaagaggggtg ttgtgggaac cccaactcga agctgggttg 68760
tcagaagttc tggaggcctg gatttgtgac ttgtgtctgt ggcaggagca tcttggaac 68820
tgagcgttta atctacggg tctgacactg tctccgggaa ttaaattgga ggacaccag 68880
ctagtgtctg ctgcttgta ttggggagaa accctcacac atttggtcac aagagagaag 68940
ttttctgttt tgaatattgt tgtgatgtga gagcagagga aaaatgcatt ttggagaggt 69000
tttttctac acagccatag gcagtgataa gaatatgatg cttttttcca gaaaatgcta 69060
catgagacct ttttataaaa tctaattttt ttcaactgag tagcatttaa actaaaaaga 69120
ataggttatt tcagtgtctc tctgtaataa catcttaca tcaactgtca gaccatgaaa 69180
taatgttcta gaaaatcagt gaaagagctt tttaaacttt gtgacatttg acttatattt 69240
attacaaaa agcctgaatt attattcagc acattataat tttatttaa atttaaatta 69300
gagatgaaat acttgtaaat gtttataaga ttggtagctg tgtgggcttc cagagttaga 69360
aatgcctctg agaaaagatt tagagttttt aaagtatttt gaaaaaagaa acagaaagga 69420

ES 2 532 883 T3

atacaacatt	tttcccagca	ctgcttcaat	aatgcagtct	tcagcatcat	ctcaaagcaa	69480
taactgcagt	acagatgaga	tcagccagtt	tttttttccc	ccttatctgc	agtgatttta	69540
ccatctcttc	atgctacatc	ttaccacaaa	gagaacattg	aaacatggga	aagagtttgc	69600
tttgatttca	accagaatgc	caactcattt	ctggggttct	aaaccataac	cttttttagc	69660
agagcagtgt	agaattttta	tacgatacca	taaatggtcg	gcctgagtaa	cattttaact	69720
gtaagtcaat	acctttgaag	agacatgtct	gacaactcag	agttctatct	tctccatgtg	69780
tgactaaagt	accttttcta	ttaagagatc	aaccaccatt	tccttctact	ctttgttctc	69840
cccttaaata	aagttaattc	agcttcaaaa	tattttatga	tcttgattac	taactgtggg	69900
tctttagaag	acaatgtaaa	acatttccat	gctgtgaata	ttagagctag	tatacttgga	69960
gtttggctag	tatctctggg	ggaggtagaa	gaggagacat	agagtacaaa	tgagtatttt	70020
taaagccacg	ctgactaaaa	caaaaggaat	gttttataca	tgttttattc	atagtacttc	70080
tttgaaacag	gtcgggggga	ggagagttaa	aatattgctt	tgaattttaa	tcaaagttct	70140
ttcatggaat	tgttggtgct	tctggtaata	acagttctat	aatctttgtg	agttaatctg	70200
aaatgctctt	tttcttcac	gtaattcagt	gcttgtctta	actggtggac	ttattttatg	70260
gtattatggt	tataagatgg	caactaaaat	cagatttttt	atactcctaa	aagatggata	70320
cgatagaggg	gaaaggggg	aagctacaac	ttttaggttg	ttggtgatat	ttgaagtgtt	70380
tattgcttct	gatttacatt	tatatattat	attcaaatat	aaactttaaa	agtaatgatt	70440
tgccacaggt	taaagcagaa	catttatatg	atatttccta	gatgttttcc	tctacaatcc	70500
tgtttttgtt	ctatgaaaaa	tgccataaac	ttggatcatt	cactaattaa	tttgaagctg	70560
ttttcaaaca	aaaagcta	tcctctttta	gctgatttag	ttataatcgt	gataacagat	70620
gtatagctaa	gtctgttga	caaactgttg	gtcacatcaa	tcttaaatgc	atcatacagc	70680
gtgatgtgaa	tttatgatat	ttcctaggta	atgttaaggt	tatatggaaa	tttctttgca	70740
ggtagttaag	tcttattttg	aattcaaatg	ttattttcaa	tacatacgtg	gaagtgtatt	70800
ttttgtttgt	cctaaatgtt	tagatttttt	gagtttacaa	tttttttgtg	tgttctttct	70860
ttgttcttgc	ccctccctgc	attctctatg	aagatacatg	tcagcactat	gcaacactaa	70920
aataacaatc	aaccaaatta	tatcctatga	acagaccttt	ctcttcattt	caaaggcata	70980
acttggtatg	tctgttttag	tcattggtgaa	aaaaaaaaag	tatgattttg	tatttgggca	71040
aagtacaggt	gaagagcgtg	aatcattaga	acagcaatat	aactggaaga	agatagttta	71100
gtttttacaa	gttaaatttg	aagctaaagc	aaaacttgca	taggtatgtg	tcctttgctc	71160
ttgaaaatga	actcagaact	ctacatctga	gtggttttat	gaatttatac	tctcctagtc	71220
cacaggttct	catcagtgcc	tcaagatcta	tgcaacagatt	aaaattacat	aagatatcat	71280
atactacatc	tgaattaggg	ttttccaaag	tatgctattc	catggaaata	ctgtttattc	71340

ES 2 532 883 T3

aggggtgctcc ataaacaatg atcctgtggtt tcattatgtc caggaaatgc cacacagcac 71400
 ctttccagac atcctatcat catattaaag actttgaggc catgcattaa agaaagtttt 71460
 aaattagaaa aaaaataagt tttcttgctt gagcacagaa ctttattttt tctcaggctg 71520
 gttctccttt tttaaaatta cacgttaata tcccaaagaa ccagtcccat agatagatat 71580
 cacatatgat aagaatctgt ttcaatggtg ttggtgtaca tgtgtgttca ggtacctaca 71640
 cattaggaca catctctagt ttattaatac tgcacttata aagagacatg gtagagacat 71700
 caagaagaca tcatttttagg gtggacacca ttgcctagga cctgcttctt aatgtcaaaa 71760
 attcagaaac ccaattttat ctctcccgca gagttgactc gagtgaagga aattgagttg 71820
 ttttaattaa actcacatga gattgatgtt taaacaaaat tgtaagttaa tcaattaata 71880
 atcaagaatt ctgattttta attttcaaaa tattatttat gtccactgtc caggttactt 71940
 gctttaaggg caccagtgga ttcttgaaga tgaagagtct taggaatatt tattttctag 72000
 acctcaatga agaaagcttt ttaatcatcc tgccccatag aagaatttat gttcctagtg 72060
 atgtgatcat attggccaat ccagtgtttc ttttccaagg acagtactga taaggagcac 72120
 caaatctacc tctttgtcct gaacagatca tctccatcta ttcatagttt ggctcagaag 72180
 ttggacaagg ctgcatttta tatctacttc ttctcatgt cggctatgcc atgccgtttc 72240
 gttcttttag cttgtttact tatgtgtaaa atgaggtaaa aattacacco ttcaaaccga 72300
 aagtggctct cgtgatgagt tatttaattg aagccccagt agatatttat cattgccagt 72360
 tttagagaat catagcattt tagaacacaa gatgacctta gatgtaatca tgttcattcc 72420
 cctcgtatta taaattttta aaaattgaga tgtgggggtg ttgtgacttg ctcacaaacc 72480
 cacatttaga accaaaactc agcattcttg ttctgactgt gtctatgtcc tgtaggtata 72540
 tgtcttgtct tctcagttaa ataattaaag attcttaaag atagagacca tattttatgc 72600
 aacttctgga tcccataaat tatgtttcca gaagaacctt ttgtaatgaa aaaatatata 72660
 taatgtctat attatatata tagtctatta ctattttgat aatctaaaaac atgctatata 72720
 attttaggcg atcttaacct atttatcaga gcttttcaga tcaaagaaaa ttagagtaat 72780
 cttcatcatg tatgggaaca ttgatgtatt tttctgatga acacatggtt atatgatact 72840
 ctttttaaagc atctgtatta ctctttcttc tgatagactg gttattttgt ttatgttatg 72900
 aaataatggt ggcagctttt cattagaact gatacatatt gaaatttctt aaattgatag 72960
 ctcatggatg tgcagttggt ttaatggcat ctccattatt aatctttaag aagatcttca 73020
 tcttactctc aaaaataaacc gtaatatcct acaaattaac taaaacatga tcattgctag 73080
 ttgttccaaa ataggaagaa taaaaatgac cagattgtta tggttaaccag ttgattaaga 73140
 ctagatcaat agggaaaacga atttattcaa gtctgtacaa aacttctcca aaacatagat 73200
 ggcattgcctt ttgaggcaat ggtagggaac aaaatatttt tgagaaggag cagatttttag 73260

ES 2 532 883 T3

ggatacagta cagtacataa ttgccaaaat gcttgtgtta caaggattcc tggtaacagag 73320
 ttttttaaata aaatgctagg tatgtcatgt ttgtttcaca ttaatatgtt agagtcccct 73380
 ggggatgtga caatttagtt gaccaactct aatatagtta atttctacct tttgatagct 73440
 ttgtgggggtt ttgtttgttt gttttttgtt ttgccattct tgattttagg gctgaagata 73500
 tgagacaatg tatcaaacag taaagaatta tgcattgatt aagatcatct tggatgaatta 73560
 gatgttttatt atataactcg actttaagac tttgttcaga tctcactatc ttaatgagat 73620
 ttacctcat tatatagtat ttaatagggc aacctctcc cgatactctt gattcctcgt 73680
 tagctgccct attatttctt tgtttttccc ttagcactca acattttctt accacaccac 73740
 ataatttact ttcttattgt gtttattgtt tttctcctca ttagaatatc aggtccaaga 73800
 agacaggagt atttatctct tttgttcagt ggtgtgttac tggtgactac tagagtgcct 73860
 gacacataga atatgttcaa taaatattcg ttgcatgaaa gaatgaatac cttgacagat 73920
 tattttttata actctaccag tgcattata taactacact gaatgattat gagccctcct 73980
 agaaattaca taaagtctct atatattatt agaaccctt tgttggcctt atgtaatggt 74040
 tctatttgaa aaatcatacc tccgtatata aaaatgaaag ttttttttt ctacaattgc 74100
 cctcatata tactattata gtctccttca cccattcag ccattaatgt cttcttgacc 74160
 aggtaacata atttttacag caccttttgg ttattagaac aattttattt gtctttcaaa 74220
 ctcagtccca ttcatittaa aactoccaac tcaagcctga gtcagtgttc ttctcccagc 74280
 acaaacttaa aactggctc caacccttgg agttgaaagt aggggagcct cactcctgat 74340
 acctcccctc cccctctacc gtgagcacca gtgcctagga gattgggcag gactgaggaa 74400
 ggatgaaaag gagctcaggg ctcttaagc acctgaacaa gactggagga ctttgatgt 74460
 tgctattttt ctgcctggca ttgactggct attggacgcc ctctgtgagg caggcatccg 74520
 aatactggct ttcttgacat atatggagcg ttcttttagag aggcctacaa gggctctcac 74580
 tgcacagtac cctgatagga gagatctgtc cttatttctt ctatcccat agctacttca 74640
 gctttgcctg ctgagtccac cccacagtct ctttctgtg gggcatcctt gccttgaca 74700
 gattctttaga gcatgaccaa gcctaaacaa cttctgcaat ttttctaagt aacttttat 74760
 ttaattgaaa gtttcaagca ttggataata taaatgtatc ctagacagtg ttccagtaag 74820
 gacaaccagc tcacaattat ccattctaata atggggagtc aactgaaata gaaaaatata 74880
 gattttttaa ataatttatg agaaacaaat atttgtgaca cagtacattt ctaattatgt 74940
 ttatctttat tattattatt atcgtttctc tcagtacaca ctagtttggt gagacttgga 75000
 gaaaggccag gaataagccc aaattcaaaa aacaattcca ggattaacag ataagtggat 75060
 aatagagaat tgacaaaaga tcatgtcat tttaccaata agaaactggt tggttaactt 75120
 gggttgcaaa ctgaaagcag atttatacta aactggcag tgtctccaga tcttaaattgc 75180

ES 2 532 883 T3

agatctctat ctctgagtta atctgectct catottcaat ggcattcctc tgaatttttc 75240
 tccctcaaat aatctatata ttattaaatt ttgtttatac tgccatttta agaaacagat 75300
 tttaaaactt taaacatggg aattaaatag gccctactga ggattatgaa aaacctgaca 75360
 aaacctccta tgcacatgat ttagattagg agcagtgcac acgctgtatg tgtatgtgca 75420
 gctacttgtc caattaacac cttttcagaa atggaggaaac tttctctgag gactttgaca 75480
 tatttggtgtg ttcagcagtc ctttttcttt ttttttattt tttatttttt tattattata 75540
 ctttaagttt tagggtacat gggcacaatg tgcagggttag ttacatatgt atacatgtgc 75600
 catgctgggtg cgctgcaccc actaactcgt catctagcat taggtgtatc tccaatgct 75660
 atccctcccc cgtcccccca ccccaacaac gtccccagag tgtgatgttc ccttctctgt 75720
 gtccatgtgt tctcattggt caattcccac ctatgagtga gaatatgagg tgtttggttt 75780
 tttgttcttg tgatagttaa ctgagaatga tgatttccaa tttcatccat gtccctacaa 75840
 aggacatgaa ctcatcattt tttatggctg catagtattc catgggtgat atgtgccaca 75900
 ttttcttaat ccagctctatc attgttggac attagggttg gttccaagtc tttgctattg 75960
 tgaatagtgc cgcaataaac atacgtgtgc atgtgtcttt atagcagcat gatttatagt 76020
 cctttgggta taaacccagt aatgggatgg ctcagtcaaa tgggtatttct agttctagat 76080
 ccctgaggaa tcgccacact gacttccaca atgggtgaac tagtttacag tcccaccaac 76140
 agcgtaaaag tgttctctat tctccacatc ctctccagca cttgttgtgt cctcactttt 76200
 taatgatcgc cattctaact ggtgtgagat gatattctcat tgttggttttg attttcattt 76260
 ctctgatggc cagtgatggt gagcattttt tcatgtgtct tttggctgca taaatgtctt 76320
 cttttgagaa gtgtctgttc atgtgcttcg cccacttttt gatgggattg tttgtttttt 76380
 tcttgtaaat ttgtttgagt tctttgtaga ttctggatat tagccctttg tcagatgagt 76440
 aggttgcgaa aattttctgc cattttgttg gttgcctgtt cactctgatg gtagttcctt 76500
 ttgtgtgtgca gaagctcttt agtttaatta gatccattt gtcaattttg gcttttggtg 76560
 ccattgcttt tgggtgtttta gacatgaagt ccttgcccgt gcctatgtcg tgaatggtgt 76620
 tgccataggtt ttcttctagg gtttttatgg ttttaggtct aacgtttaag tctttaatcc 76680
 atcttgaatt gatttttgta taagggtgtaa ggaagggatc cagtttcagc tttccacata 76740
 tggctagcca gttttcccag caccatttat taaataggga atcctttccc catttcttgt 76800
 ttttctcagg tttgtcaaag atcagatagt tgtagatatg tggccttatt tctgagggct 76860
 ctgttctgtt ccattgatct atatctctgt tttggtacca gcaccaggac catgctcagc 76920
 agtccttttt caagagatgt gaagtacatc ttcacagatt tttaaatatt tagatagaaa 76980
 gttcttacag aatgagaaat aaaaagttag ctttgcccta aaaatattaa ttcaccttat 77040
 attctccata cttaatccat ataggaaaca ttatattcca ggtctaacat gtggcttgct 77100

ES 2 532 883 T3

tacattaatt ttgctgttga aaaatatatg ttttgatta tgtttttaaa attttagctt 77160
 taatatatta .atattaaata atgttaactt taaattaacg aagaatagtt tttaatatta 77220
 taagaaatgc cctataaaaa acactttctt tacctcaaga gtgagacttg gcaaccatac 77280
 caatattaca tagtaatttt aaagtcaaac gaaatggaga gaacttaata gatacagaag 77340
 ataagaatth aaactaacat ttgctcggg attttagaac actatacaga gggaaattta 77400
 gtagacaata atgaagtcca tagcattgca cacatcttga aataagtga taattgacac 77460
 aagctatgtc ccatgttgat aggaagaatc caaaatagtt ttggagaata atgccatcta 77520
 tgcaggaggt gtggccatat acatcatctt tactcagtgt ttttcatgtc aataaatatt 77580
 taattcctaa cactctgaat tactaataga ggtgaagcct gtcagtggaa gtgacagaga 77640
 gatacacagt gattcccgta agtttgatcc tgaaacacag tgccttttagc agatatagtt 77700
 ccataagca agcagtctga agtatttacc ctacagtaatc tgaatgtata aataaacagg 77760
 attcatgatg gtagagtaat ttatatatac ttgtagtatt aggacatgca aaacttattt 77820
 tatggaaaaa aataattttac taccttatag tatggcaact atacaaatct ataaattgac 77880
 tcttttgtcc ccttgaaaaa agctgacat aaaattttaa tgatgtgtat tttttcttag 77940
 agcaataaaa gatatacccc cacctagaaa agcaataaac caaaaaataa aacaaaaaca 78000
 aaatcaagcc ctcttcacaa atttgagcat atctacagct ttatgtggtg agagatacag 78060
 ctaccattct tgagtaatcc gaagagtcaa atggtatgga gcaaaattac agtcctaaat 78120
 gcatattggt gaaatgagat gctgatccat ttgcacacta atgtgctatt ttttaagtcac 78180
 gcatcatagc atcttcaaag aggcctgtca taattatgat ggattagact gcagagtcag 78240
 tcttagatgc agtaattgtt tcacagatgc tgccaatgcg actagaattt ataataaatt 78300
 attttcagag aggcgggaga aggaacaaaa tcaaaggaaa actgctgtgg ctaaaacctg 78360
 ttttggctct aggaaaccaa aatgttagct agtagtcaaa aggccagtat tttcaactga 78420
 gataaacatg ctctattaat acatgcctct gacatagaag ataaaggtta acataattga 78480
 catatcagcc agtctctctc tctctctctc tctctctctc tctctctctc tctctgtctc 78540
 gtagcttatg aaaatttatt ctggggcatt agctgaaatt attgagtggc catataattg 78600
 ttgcatgttt ctatttatgt taaattgcct gggtataatt tgaccttag aatttctgaa 78660
 aaaaatgggt gtatttatag taaatagaaa tattcttttt gggttccttg aagcccatgc 78720
 attacaaaga acattagatt attggaataa aaggatagac atacataata tgactagtgg 78780
 gatctaaatt ataacctttt aaaattgtaa ttttaattagt ctgtcattta ggcaaatgat 78840
 aatttctaaa actgcctttt tagacttaaa aaaataccaa agttcttata acttttagcat 78900
 tatgttttgt tcattcttaa agtttaattc actttgttgc ctttttggtg aacctatgaa 78960
 gaaatctcat gctgcacat atagtaaaa atcgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgat 79020

ES 2 532 883 T3

ttgaataatg agctatgtgt tataattttga taagcaaaga taagtttata gtgaagcaga 79080
 taaacatgcc atgtattttc ctaggttaag ggttcaataa tcagaagagc ttctacaact 79140
 catttgccctt ctactagtt tttttgaaat tgcgctctat gagtttttta tgtggtgttc 79200
 tctgtacttg ctgactactg atgcacattt ctcccttaggt cactggttct cctccctcag 79260
 caatgttgta ggtagctttg atgaacattc gttgtcagcc ttttaccttt gacttagtgt 79320
 ttttctctca tactacggca agaagaaatg aagttaaatt ttacaagagt gacttgggtg 79380
 gctgatatgc ccacattgac agggacaaga gctctagtct tccctctctc tgtattccca 79440
 tggcacttca gtagtctcat tgcctcaaca taaccacagt tcagggcagt agaggatgtt 79500
 tgcactcttg tgttagctcc atgccatggc aactgcactg agtgaggatt caactcagtg 79560
 cagcaggact gaaaaaataa atgaactaat gtgtcttgag ctccaattct ctgagtgaca 79620
 ttatcagggg agattcataa atcatcctca aatattctag agaaaaatca tcagcagtc 79680
 agcattgcaa agataatctg ggaagggtggc aaagaaggga tcagaataac tctgtggcag 79740
 cttcaaattc catgtcctaa agttttacgt tttctttttt attctatccc aaaccacata 79800
 aagaaatgat ttgttggcaa aagacatgca aaatgccctt aatcatctta ataattacag 79860
 acctacagat acgtagccaa aatacttggt ttttaatcct aaaccttaaa aaaaaagctt 79920
 aaattgttgg ctaaagtga atttaataac aaaacttact cctttaatta tgcacttgct 79980
 ttagtattgt gtggtgggaa gagctttaga gagctgccag agtgcttagg cctagtccct 80040
 gtgggagcct ctgttttggg gcttcacat gggcagattc ctgagttttc acatctttta 80100
 aatgagaaaa tggtagtaga tccttgctgc tactctgaaa tgtttataca ttgttaggac 80160
 cattgttaca tattattact tataatttgag tgtcacctta gaattttctta gccgtgtgat 80220
 atggttttgg tgttggtctc tctaaatctc ctggtgaaat ataatcccca gtgttggagg 80280
 tgggggcctg gtgggaagtg tttggattat tggggcagat cctcatggc atggtgctgt 80340
 cctcctgata gtgagttctc aagagatctg gttaagggtg tgtggcacgt cccctccct 80400
 gtctccttcc ctccctctct cctccctcc ctctgtcctt cctccctct tctccctct 80460
 tctctctct ttttctccca ctccagccat gttagatgcc tgctccctt ttgtttctg 80520
 ccatgattat aagttttgta aggcctcacc caaagcagat gccagtgett tgcctcctat 80580
 acagcctgca gaaccatgag ccaattaaac ctattttctt ataaattacc cagacagcta 80640
 tttctttata gcaactcaaa aacagcctaa catacctttc aaaagggtta aatgetattt 80700
 agtcattcca gaagcaagat ctctttgtcc agaattctgg aaataaagat gccaaaataa 80760
 tatggcatgt atttgatctc agggaatttt cattttttca aaaggaggaa aaaagagtaa 80820
 tataattttt taatatattg gtagctctaa cagtgccttag aaccagttct caagagcaca 80880
 ttgtgaaact ttcaggaatt gcatgagctg taggttgata acatgatgcc agctataacc 80940

ES 2 532 883 T3

cataagagca tctcctgagg aatatgttaa aaactgtatt cattcttaaa ttttaactaa 81000
atgcaatgag tgaagtattg acatcatgaa aatcatccct gggtaaacia ttagtcaactc 81060
caggttttcc caaaggttct tctgtctctg ttcttgtata taaacttcgt aaccagttta 81120
acaaccccaa aaaaggcctt aattttgatt ggccagcatc ctcttaggaa agacattgcc 81180
atcctcttgt aaagttgctt ctcatcttaa aataagaatt gtttccatct agggaatgat 81240
ttttataggt agaatcttat ttggcatgga ctcttttgca tacagtgaat tacaatgtgt 81300
agaccttcaa tagcaagggtg tttgaatatt tagttgcaca atagagcagt atcttaatat 81360
tgtataccat attaattttg tgtctctctg tgtaagaaaa aatagaagga tgtttaattt 81420
caactaaaa atcaatcatg ataattcaaa atatttctga tgagtcatct ataagagcag 81480
atatgaatta aaattatatt tttgttctta gtctctgaga agcaaaaatc acacaataa 81540
totccatagc aaaaatttat atttatctga aaaacagttt aactttgaaa aacttttctt 81600
tgcaatcatt taaattcata aaaaaattc attaactcta ctttctactga atagcagggtg 81660
aatagcaggt caatatctac aaaaattcat ctttgaagat ttttttatct tacgcaaaaa 81720
ttattgactt catgtagact ttttatgcaa gcttgaaaaac actgtgtaaa tgaccccata 81780
aaaactacag catgaaagct ttttcagtat ttctacaatg agcaaaatgc ataggtctca 81840
tttccttctc ttttattaag caaaataata ctttatcaac atcagtatgc aagcactaag 81900
agcttgaaag agtactgtgc aagtgggtta ctggatcata atattccagg gtatgtatat 81960
aaaaagtgtg atttagcaca tattaaagta aaagaaaaa ttgcattttt ctccttctaa 82020
aatggcagtt tattagttaa aatttctga aataagattt aaagaccaat aacaaatttt 82080
cctcattcta acatataact ttctgcctt tcttgtgaaa aagttaacca ttaaactttt 82140
cacacaaatg gttgtataaa ggaacttgctg tcacagacaa aatagttctg tataatgttt 82200
aaaaatggcc attgtgttta aaactccata ttgaaataca tttctttttt agtcaccttc 82260
atttcttagt agctattatt ataactcaaag gatttgcctt tgacacttta aagaatgtcc 82320
aaaattatgt ggaatggatt ataataaaag ataatatatt aaatgcttaa aatattttat 82380
accttagaaa gtagaaaaac atgtattatg tacagatcct acaaatttta tataatttat 82440
cataaatgta cacatgtata tacatgtaaa taccttttga ttgctctgta tatgaattgg 82500
tgttttacag ttaccaaaag aaaagtgcct ttttttggtg gtatctggac aggtaattga 82560
ctttctttct gcaggattta tttagattta tgtctatgct ccttaatttt tgaaaagtga 82620
tagtgtcctg attttgagga agcctctcat atcaaagact acaaatcaat tttcatgatt 82680
ttaaacccta aagtttcttt attaggtgtt attgatgatt aaaagccatt gtctcaccca 82740
aattttctac ttgttcaata gaaacataat gtaagccaca tggaatttta cattttctag 82800
tactcacatt aaaacaagtg aaaaagaaac aaattgatga tacgtttgat ttaacccaat 82860

ES 2 532 883 T3

acatttaaaa tagttcaaca tgtattaaat attttttgag tttttttgtg tttttttaac 82920
 actaaatctt tgaaatccaa actaaatggt ttcataagata ccacatctca atttggacta 82980
 gacacatttt aagggctcaa tagctatatg tgactagtca ctggttgatg atgtatatct 83040
 agaccatctc ttaatgtatg gaaggaagta aatctagcag aaataaaaaac atcactttgt 83100
 tttctttgtc caatatgagt tataacttta tttttttgag acagagtctc gctctgttgc 83160
 caggctggag tgcagtggcg cgatctcggc tcaactgcaac ctccgcctcc tgggttcaaa 83220
 tgattctcct gcctcagcct cccaagtaac tgggactaca ggcatgcgcc accatgccca 83280
 gctacttttt gtatttttag tagtggcggg gtttgaccac gttggccaag atggtctcga 83340
 tctcttgacc tcgtgatctg cctgcctcag cctcccaaag tgctgggact acaggcgtga 83400
 gccaccgtgc ctggcctttt attttattta ttaagtaata cacatgcttg gaagttattt 83460
 aaaaaaaaaa aaaaggaata gttaaaagta atccccctcc cagtgccttt ctccagctgc 83520
 cccattcctt ttctggaggg caaattatta tggccagttc attatatatt ctccagagat 83580
 gatttttttt ttttttacia aggtataggt tgtagcattc ttatataaac tgttgtgtag 83640
 ctctctttat tccatttaat tactgggaga tacttccatc tgaaaatata gagatactaa 83700
 ttttaatagc tacatggtat tatattgtgt ggctgtacca taaattattt aacataaccc 83760
 ttattgatgt aggttggttc taacctttta ttactgcaaa agattgtgcc tacatcattt 83820
 aatgtatata tgagcatatt tgcagatat atatatatat attttttgag acagtgtctc 83880
 actctgtcac ccaggctgga gtgcagcatc acaatctcac ctcaactgcag tgtccacctc 83940
 ctgggttcag gtgattcttc ttctcagcc toccaagtaa ctgggattac aggtgcctac 84000
 caccatgccc tgctaatttt tgatctttt taggagagac gggatttcac catgttggcc 84060
 aggttggtct agaactctg gcctcaggtg atccactggc cttagcttcc caaagtgtg 84120
 ggattatagg cgtgagctac cacaccagc ctgtcagata aattcttaaa aggtcaagg 84180
 aaagtgttc tgaaatttta tacatattgc caaattgtca tcctacatga tttttgtggc 84240
 agttttgact ctcaaaagcc acatgagaga gtatctgttt tcccacatgc ttgccaaaca 84300
 tagtatagta tcaagcttac tgatcttcac taattggaga agagaaaaaa actgtacctt 84360
 gttgcagttt taatttgcac ttctttttat gagcaatagt agatatcttc ttaaataactt 84420
 aagagccatt cacatttcat tttctatgaa ctgtccatgt cccttgtcca ttttttagta 84480
 tgtggttatt catttatttg taggcgtcct atatgttaag aaaagtttta tacaactttt 84540
 aactcttttt acatgtttat tttggcacat ataaatttta gcaaactttc ccacttttta 84600
 tgacttctag attttgttcc acaaaaaaag agcttagcca gtcattagat ttttttaagt 84660
 tttctcagat tgtttttaac ttttggggg gttttatttc ctgtattcaa atattaaatt 84720
 catctagaat ttatcttaaa gtgtaaggga atgatccac tttatcattt tttcaggaga 84780

ES 2 532 883 T3

ttaccagtt gttctaatat caagtatgtc tttgaaatcc catccttato ttgtagcata 84840
 tttctgtggt ttgggtctat ttttgaacat tctgttttat tccattgato atattaatat 84900
 tatatgtgca aacacaaaact attttaagta tagtagcttt gttgctttta aatatctttt 84960
 aatttggtca ctaggcccc aacaattctt tttcagaata ttcctggcta cccaatttgt 85020
 ttatttttcc aaatgaactt tggagtcaac ttccttaatt cctcaaaata ttttgcaagt 85080
 acttttagta agagtatatt aagtgaataa tttgacaact atctaagaac atattatagc 85140
 ttttcccttg ttttgttttt gtacttatat attagtatag ttttaaagtt atattaaaaat 85200
 aggtcttcca cattttaaaa acttattcct agtgtattaa tttcttctat tataactaca 85260
 gtattttatt ccagtaaaac ttctgactgg ttgatgctct tataaatcaa ggctataaat 85320
 ttttcttcag ctactttgct gaattctcac aaactgtaac ctttttttac ttgattctct 85380
 aggttgacca gtatataatc tttttatctg taaacaataa ctttagcgtt gctttcaaca 85440
 tctatattct tattctatct catttttctt gtttatcaag aaatagctgt tttaatagag 85500
 ttgtttttcg cccaaaaaga aaatagtctt tctttttcta cttatatctt taaaaataat 85560
 gtaatgagaa agactgtggg aaaataaagc agacacctta tacaatggat taattttttt 85620
 agtgccattt cttctggctt tctctattat tgggactctg aaatcttctg tagtactact 85680
 ctcaaaaatg ttogaatgaa tgcaatcaga ttcaagggt aagtgacagg ttatataggt 85740
 gaattgcatg ccttgggggt ttggtgtaca gactattttg tcaccaggt aataagcgt 85800
 gtacttaata ggtagttttt tgatcctctc ccttctcca tctcaaagt atccctgctg 85860
 tctgtgttc cccctcttg tgtccatgtg ttctgtctgt ttagctgcca cttaaagaaa 85920
 catgtggtat tttctgttc cttgttagt ttgttttaga taatggcctc cagctccatc 85980
 catgttgctg cacagaacac gattttgtgt ttctttatgg ctgtgtagta ttccatggtg 86040
 tatatgtaac actttcttta tccagtctac tacttacgga catttaggtt gattccatgt 86100
 cttcgctatc attaatagtg ctgtgatgaa catacgtgtg caatatgcct ttatggtaga 86160
 atgatttata tccctttggg taatatgccg aataatggga ttgctcggtc agatggcaat 86220
 tctaagtcct ctgaaattac cgcaactgctt tccacaacag ctgaactagt ttacattccc 86280
 acaagcaata aggggataag tgttcccttt tctctgcagg aatgattaat tcttttagag 86340
 agtcaaagat ggaatcctag ggaagatgat atctgaggca ggttttagagt cattgggcaa 86400
 ataaggggat taagaaggca ttctaggcag acagaaaacc aaaggcatga agctctgaaa 86460
 cagcttacta tgtttggata tttataagct gttgttattg ttggagtata aactgtaaga 86520
 gagagtagga ggacagaaaa aacagcctgt atgcgggggg aagaaaacat ttaaacagaa 86580
 attctcaaaa gatttgggca gccagccctc ctagagaaaa acatagaatc acctagaaag 86640
 ggtttttcat aaagtacact tttcatcacc cctattctgt cacctggaat attgataaca 86700

ES 2 532 883 T3

ctgaagggag tgtgccttat ctctcaggtg tatttggtatg aaatagtttg agaaccatgc 86760
 aggcaagttt aagccagtgt gttaaagaga atatgacatc agatttgcac tttaacaatct 86820
 tccttttgat aacaaaggga accttaaagg gctggagggg aagggcagac ggggctaggg 86880
 gaggagaacc cttttaaaaa gctactgcag gtgggggtgcg gtggctcaca cctgtaatcc 86940
 cagcactttg ggaggccaag gcaggcagat cacctgaggt caggagtcca agaccagcct 87000
 ggccaacata gtaaaacccc atctctacta aaaatacaaa aattagctag gcatggtagc 87060
 aggcacctgt aatctcagct acttgggagg ctgaggcagg agaattgctt gaacctggga 87120
 ggcagagggt gcagtgcagc aagattgtgc cgctgcactc cagcctgggc aagagagtga 87180
 gactccatct caaaaaaaaa aaaaaaaaaag ctactgcagt agatcaggag gaggcacagt 87240
 gataaagaga agatctgagc tatgaagtgg cagtcaagat gattaaagga atatatagga 87300
 agtacagttg atagaactta gcaagtgatt aggtaaatga agtgctagag aaaataaagg 87360
 ggatattttt caattgtttt tagcattttg gcaaaaaatt atttaggaat gaaattgatg 87420
 ctagtaacta agagtatgaa ctcccacat tagctggtaa ttttgatcac cctgttctc 87480
 catgaccata aatatttttag agttgctatg aagacaagaa tgtttatttc ctgagtagct 87540
 gtcagttgtc actatgaaac atgaaaataa atatcagttt gctatgtcta ggtattccga 87600
 tatttatcca caattattcc ttaagatata ttagtatttt tatagataga tagatagata 87660
 gatagaaata aacacatttt aatttttggt tccatgctct ttagaattca actagagggc 87720
 agccttgtgg atggccccga agcaagcctg atggaacagg atagaaccaa ccatgttgag 87780
 ggcaacagac taagtccatt cctgatacca tcacctcca tttgccagac agaacctctg 87840
 gctacaaagc tccagaatgg aagcccactg cctgagagag ctcacccaga agtaaatgga 87900
 gacaccaagt ggcactcttt caaaagttat tatggaatac cctgtatgaa ggggaagccag 87960
 aatagtcgtg tgagtcctga ctttacacaa gaaagtagag ggtattccaa gtgtttgcaa 88020
 aatggaggaa taaaacgcac agttagtga ccttctctct ctgggctcct tcagatcaag 88080
 aaattgaaac aagacaaaaa ggctaattga gaaagacgta acttcggggg aagccaagaa 88140
 agaaatccag gtgaaagcag tcaaccaa atgtctcgatt tgagtataa gaaagaatct 88200
 gtgagttctg tagcccaaga aaatgcagtt aaagatttca ccagtttttc aacacataac 88260
 tgcagtgggc ctgaaaatcc agagcttcag attctgaatg agcaggaggg gaaaagtgtc 88320
 aattaccatg acaagaacat tgtattactt aaaaacaagg cagtgcataa gcctaattgg 88380
 gctacagttt ctgcctcttc cgtggaacac acacatggtg aactcctgga aaaaacactg 88440
 tctcaatatt atccagattg tgtttccatt gcggtgcaga aaaccacatc tcacataaat 88500
 gccattaaca gtcaggctac taatgagttg tcctgtgaga tcaactaccc atcgcatacc 88560
 tcagggcaga tcaattccgc acagacctct aactctgagc tgctccaaa gccagctgca 88620

ES 2 532 883 T3

gtggtgagtg aggcctgtga tgctgatgat gctgataatg ccagtaaact agctgcaatg 88680
ctaaatacct gttcctttca gaaaccagaa caactacaac aacaaaaatc agtttttgag 88740
atatgcccac ctctgcaga aaataacatc cagggaacca caaagctagc gtctgggtgaa 88800
gaattctgtt caggttccag cagcaatttg caagctcctg gtggcagctc tgaacggtat 88860
ttaaacaaca atgaaatgaa tgggtgcttac ttcaagcaaa gctcagtgtt cactaaggat 88920
tccttttctg ccactaccac accaccacca ccatcacaat tgcttcttcc tccccctcct 88980
cctcttccac aggttcctca gcttcttca gaaggaaaaa gcactctgaa tgggtggagtt 89040
ttagaagaac accaccacta cccaaccaa agtaacacaa cacttttaag ggaagtgaac 89100
atagagggtg aacctgaggc accaccttcc cagagtccta atccatctac acatgtatgc 89160
agcccttctc cgatgcttcc tgaaaggcct cagaataatt gtgtgaacag gaatgacata 89220
cagactgcag ggacaatgac tgttccattg tgttctgaga aaacaagacc aatgtcagaa 89280
cacctcaagc ataaccacc aatttttggg agcagtggag agctacagga caactgccag 89340
cagttgatga gaaacaaaga gcaagagatt ctgaagggtc gagacaagga gcaaacacga 89400
gatcttgtgc cccaacaca gcactatctg aaaccaggat ggattgaatt gaaggccctc 89460
cgttttcacc aagcggaatc ccatctaaaa cgtaatgagg catcactgcc atcaattctt 89520
cagtatcaac ccaatctctc caatcaaatg acctccaaac aatacactgg aaattccaac 89580
atgcctgggg ggctcccaag gcaagcttac accagaaaaa caacacagct ggagcacaag 89640
tcacaaatgt accaagttga aatgaatcaa gggcagtcct aaggtacagt ggaccaacat 89700
ctccagttcc aaaaaccctc acaccagggt cacttctcca aaacagacca tttacaaaaa 89760
gtcctatgtc agtcaactgt tggcactaga tttcatttcc aacaaagagc agattcccaa 89820
actgaaaaac ttatgtcccc agtggtgaaa cagcacttga atcaacaggc ttcagagact 89880
gagccatttt caaactcaca ctttttgcaa cataagcctc ataaacaggc agcacaacaa 89940
caaccatccc agagttcaca tctccctcaa aaccagcaac agcagcaaaa attacaaata 90000
aagaataaag aggaaatact ccagactttt cctcaccctc aaagcaacaa tgatcagcaa 90060
agagaaggat cattctttgg ccagactaaa gtggaagaat gttttcatgg tgaataatcag 90120
tattcaaaaat caagcgagtt cgagactcat aatgtccaaa tgggactgga ggaagtacag 90180
aatataaatc gtagaaattc ccottatagt cagaccatga aatcaagtgc atgcaaaata 90240
caggtttctt gttcaacaaa tacacacctc gtttcagaga ataaagaaca gactacacat 90300
cctgaacttt ttgcaggaaa caagacccaa aacttgcatc acatgcaata ttttccaaat 90360
aatgtgatcc caaagcaaga tcttcttcac aggtgcttcc aagaacagga gcagaagtca 90420
caacaagctt cagttctaca gggatataaa aatagaaacc aagatatgtc tggtaacaaa 90480
gctgcgcaac ttgctcagca aaggtacttg atacataacc atgcaaatgt ttttctgtg 90540

ES 2 532 883 T3

cctgaccagg gaggaagtea cactcagacc cctccccaga aggacactca aaagcatgct 90600
gctctaaggt ggcattctctt acagaagcaa gaacagcagc aaacacagca accccaaact 90660
gagtcttgcc atagtcagat gcacaggcca attaagggtg aacctggatg caagccacat 90720
gcctgtatgc acacagcacc accagaaaac aaaacatgga aaaaggtaac taagcaagag 90780
aatccacctg caagctgtga taatgtgcag caaaagagca tcattgagac catggagcag 90840
catctgaagc agtttcacgc caagtcgtta ttgaccata aggtctttac tctcaaatca 90900
cagaagcaag taaaagttga aatgtcaggg ccagtcacag ttttgactag acaaaccact 90960
gctgcagaac ttgatagcca cccccagct ttagagcagc aaacaacttc ttcagaaaag 91020
acaccaacca aaagaacagc tgcttctgtt ctcaataatt ttatagagtc accttccaaa 91080
ttactagata ctctataaaa aaattttattg gatacacctg tcaagactca atatgatttc 91140
ccatcttgca gatgtgtagg taagtgccag aaatgtactg agacacatgg cgtttatcca 91200
gaattagcaa atttatcttc agatatggga ttttccttct ttttttaaat cttgagtctg 91260
gcagcaatth gtaaaggctc ataaaaatct gaagcttaca ttttttgtca agttaccgat 91320
gcttgtgtct tgtgaaagag aacttcactt acatgcagtt tttccaaaag aattaaataa 91380
tcgtgcatgt ttatttttcc ctctcttcag atcctgtaaa atttgaatgt atctgtttta 91440
gatcaattcg cctatttagc tctttgtata ttatctcctg gagagacagc taggcagcaa 91500
aaaaacaatc tattaataatg agaaaataac gaccataggc agtctaattg acgaacttta 91560
aatatttttt aattcaaggt aaaatatatt agtttcacaa gatttctgga taatagggaa 91620
attattatct tcagcttcca tgagttgggg gaaatgataa tgctgacact cttagtgtct 91680
ctaaagtttc cttttctcca tttatacatt tggaatgttg tgatttatat tcattttgat 91740
tcccttttct ctaaaatttc atctttttga ttaaaaaata tgatacagc atacctcaga 91800
gatattgtgg gtttggtcc ataccacaat aaaatgaata ttacaataaa gcaagttgta 91860
aggacttttt ggtttctcac tgtatgtaaa agttatttat atactatact gtaacatact 91920
aagtgtgcaa tagcattgtg tctaaaaaat atatacttta aaaataatth attgttaaaa 91980
aaatgccaac aattatctgg gccttttagtg agtgctaatac tttttgctgg tggagggtcg 92040
tgcttcagta ttgatcgtg tggactgac atggtggtag ttgctgaagg ttgctgggat 92100
ggctgtgtgt gtggcaatth cttaaaataa gacaacagtg aagtgtgtga tcaattgatt 92160
tttcatttca caaaagatth ctctgtagca tgcaatgtg tttgatagca ttttaaccac 92220
agcagaatth ctttgaaaat tggactcagt cctctcaaac tgtgctgctg ctttatcaac 92280
taagtttttg taattttctg aatcctttgt tgcatttca gcagtttaca gcatcttcat 92340
tggaagtata ttccatctca aacattctth gttcatccat aagaagcaac tttctatcaa 92400
gttttttcat gacattgcag taactcagcc ccattctcag gctctacttc taattctggt 92460

ES 2 532 883 T3

tctcttgcta catctccctc atctgcagtg acctctccac ggaagtcttg aactcctcaa 92520
agtaatccat gaggggttga atcaacttct aaactcctgt taatgttgat atattgaccc 92580
cctcccatga attatgaatg ttcttaataa cttctaaatg gtgatacctt tccagaaggc 92640
tttcaatgta ctttgcccg atccatcaga agactatctt ggcagctgta gactaacaat 92700
atatttctta aatgataaga cttgaaagtc aaaagtactc cttaatccat aggctgcaga 92760
atcaatgttg tattaacagg cacgaaaaca gcattaatct tgtgcatctc catcggagct 92820
cttgggtgac taggtgcctt gagcagtaat attttgaaag gaggttttgg ttttgttttt 92880
tgtttttttt ttttgttttt tagcagtaag tctcaacact gggcttaaaa tattcagtaa 92940
actatgttgt aaaaagatgt gttatcatcc agactttgtt gttccattac tctacacaag 93000
cagggtagac ttagcataat tcttaagggc cttggaattt tcagaatggg aaatgagtat 93060
gggcttcaac ttaaaatcat caactgcatt agcctgtaac aagagagtca gcctgtcctt 93120
tgaagcaagg cattgacttc tatctatgaa agtcttagat ggcaccttgt ttcaatagta 93180
ggctgttttag tacagccacc ttcatcagtg atcttagcta gatcttctgc ataacttgct 93240
gcagcttcta catcagcaact tgctgcctca ccttgtcctt ttatgttata gagacagctg 93300
cgcttcttaa actttataaa ccaacttctg ctagcttcca acttctcttc tgcagcttcc 93360
tcattctctt catagaactg aaggagtgca aggccttgct ctggattaag ctttggettta 93420
aggaatgttg tggctgacgt gatcttctat ccagaccact aaagcgtctt ccatacagc 93480
aataaggcgg ttttgccttc ttaccttca tgtgttcaact ggagtaattt ccttcaagaa 93540
tttttccctt acattcacia cttggctaac tggcatgcaa ggcctagctt tcagcctgtc 93600
ttggcttttg acatgccttc ctcaacttagc tcgtcatatc tagcttttga tttaaagtgg 93660
caggcataca actcttccct tcaactgaac acttagaggc cactgtaggg ttattaattg 93720
gcctaatttc aatattgttg tgttttaggg aatagagagg cccagggaga gggagagagc 93780
ccaaacggct ggttgataga gcaggcagaa tgcacacaa atttatcaga ttatgtttgc 93840
accatttacc agattatggg tacggtttgt ggcaccccc aaaaattaga atagtaacat 93900
caaagatcac tgatcacaga tcgccataac ataaataata ataaacttta aaatactgtg 93960
agaattacca aaatgtgata cagagacatg aagtgagcac atgctgttga aaaaaatgac 94020
actgatagac atacttaaca cgtgggattg ccacaaacct tcagtttgta aaagtcacag 94080
taactgtgac tcacaaaaga acaaagcaca ataaaacgag gtatgcctgt atttttaaaa 94140
aaagcttttt gttaaaatc aggatatgta ataggtctgt aggaatagtg aaatatTTTT 94200
gctgatggat gtagatatat acgtggatag agatgaagat cttaattata gctatgcagc 94260
atagatttag tcaaagacat ttgaaaagac aaatgtttaa ttagtgtggc taatgacct 94320
cccgtgccat gttttccctc ttgcaatgag atacccaca ctgtgtagaa ggatggaggg 94380

ES 2 532 883 T3

aggactccta ctgtccctct ttgcgtgtgg ttattaagtt gcctcactgg gctaaaacac 94440
cacacatctc atagataata tttggtaagt tgtaatcgtc ttcactcttc tcttatcacc 94500
caccctatc tttccacttt tccatctttg ttggtttgca acagcccctt ctttttgctt 94560
gactctccag gattttctct catcataaat tgttctaaag tacatactaa tatgggtctg 94620
gattgactat tcttatttgc aaaacagcaa tttaatgtta tagggaagta ggaagaaaaa 94680
ggggtatcct tgacaataaa ccaagcaata ttctgggggt gggatagagc aggaaatfff 94740
atfttttaato ttttaaaato caagtaatag gtaggcttcc agttagcttt aaatgttttt 94800
tttttccagc tcaaaaaatt ggattgtagt tgatactaca tataatacat tctaattccc 94860
tcaactgtatt ctttgtttag tttcatfctat ttggttttaa ataatttttt atcccatatc 94920
tgaaatgtaa tatattttta tccaacaacc agcatgtaca tatacttaat tatgtggcac 94980
atftttctaaf agatcagctc atcaatctac tcatfttttaa gaaaaaaaaa ttttaaagtc 95040
actfttttagag cctttaatgt gtagttgggg gttaagcttt gtggatgtag cttttatatt 95100
tagtataatt gaggtctaaa ataataatct tctattatct caacagagca aattattgaa 95160
aaagatgaag gtcctftttta taccatctta ggagcaggtc ctaatgtggc agctattaga 95220
gaaatcatgg aagaaaagta attaacgcaa aggcacaggg cagattaacg tttatccttt 95280
tgtatatgtc agaattftttc cagccttcac acacaaagca gtaaacaaft gtaaatgtag 95340
taattattag taggcttagc tattctaggg ttgccaacac tacacactgt gctattcacc 95400
agagagtcac aatatttgac aggactaata gtctgctagc tggcacaggc tgcccactft 95460
gcgatggatg ccagaaaacc caggcatgaa caggaatcgg ccagccaggc tgccagccac 95520
aagggtactgg cacaggtctc aacgagaggt cccactctgg ctttcccacc tgataataaa 95580
gtgtcaaagc agaaagactg gtaaagtgtg gtataagaaa agaaccactg aattaaattc 95640
acctagtgtt gcaaatgagt acttatctct aagttfttct ttaccataaa aagagagcaa 95700
gtgtgatatg ttgaatagaa agagaaacat actatttaca gctgcctftt tttftttftt 95760
tcgctatcaa tcacaggtat acaagtactt gcctttactc ctgcatgtag aagactctta 95820
tgagcgagat aatgcagaga aggcctfttca tataaattta tacagctctg agctgttctt 95880
cttctagggt gcctftttcat taagaggtag gcagtattat tattaagta cttaggatac 95940
attggggcag ctaggacata ttcagtatca ttcttgctcc atttccaaft tattcatttc 96000
taaattagca tgtagaagtt cactaaataa tcatctagtg gcctggcaga aatagtgaat 96060
ttccctaagt gcctfttttt tgttgtfttt ttgtfttgtt ttttaaaaaa gcagtaggtg 96120
gtgctfttgg cataaggga gatatagtct atttctagga ctattccata tttccatgt 96180
ggctggatac taactatttg ccagcctcct tttctaaatt gtgagacatt cttggaggaa 96240
cagttctaac taaaatctat tatgactccc caagttfttaa aatagctaaa tttagtaagg 96300

ES 2 532 883 T3

gaaaaaatag tttatgtttt agaagactga acttagcaaa ctaacctgaa ttttgtgctt 96360
 tgtgaaattt tatatcgaaa tgagctttcc cattttcacc cacatgtaat ttacaaaata 96420
 gttcattaca attatctgta ctttttgata ttgaggaaaa acaaggctta aaaaccatta 96480
 tccagtttgc ttggcgtaga cctgtttaaa aaataataaa ccgttcattt ctcaggatgt 96540
 ggtcatagaa taaagttagt ctcaaatgtt caaatatttt gattgcctct tgaattcatt 96600
 tgctaattgt atgtgtgtgt gtttctgttg gtttctttta ggtttggaca gaagggtaaa 96660
 gctattagga ttgaaagagt catctatact ggtaaagaag gcaaaagtto tcagggatgt 96720
 cctattgcta agtgggtaag tgtgacttga taaagccttt ggtcttaaat cttgggcatt 96780
 ttgatttgta aatctgaccc tgagaattgg gttaccaga tcaaagactc atgccagtta 96840
 aaaagaacat tacctgtatt tttatcatg tgttatctct taagaagagg cagattagtt 96900
 ctaaaatcaa caaattgtat ttaattgaaa taatttagtg atgaggaaga ggtccattct 96960
 agtgcctgct aaatgtataa tccttcttag aatgtgaagt tgccttaaa cttttaaata 97020
 ccttcagtta atctttatat tgcattttat gaaaaccttg aactaagact tatgtatctt 97080
 tcatctagct ctggttttta tgaggttagc atttaattgt cccactgta ctgggtatag 97140
 tctgctaaac attaaggagt agttttgcat ctctccttgt tctgatacta gggtaaagc 97200
 ccacttttta tagatgggca gcaaaaggca cattggacat gctgataaat gttgccctaa 97260
 ttgtgatcta aacatgataa aatatacata cataagtgcc cttatctgct gcaagtgacc 97320
 cttgttttgt tttggttggg gtggggggtg tttgggatgg aatggtgac cagcaggtg 97380
 gttcgagaa gcagcagtga agagaagcta ctgtgttttg tgcgggagcg agctggccac 97440
 acctgtgagg ctgcagtgat tgtgattctc atcctggtgt gggaaggaat cccgctgtct 97500
 ctggctgaca aactctactc ggagcttacc gagacgctga ggaaatacgg cacgctcacc 97560
 aatcgccggt gtgccttgaa tgaagagtaa gtgaagccca gggcctctcc cctctttgcg 97620
 gccactgata ggaaagccca atctttggtt gaaaggaaga gagttcagcg tgcaacttta 97680
 cttttataaa atgggcatca aaatgcctgt ttggcagtca tgcgataaga agttgtattt 97740
 gctaattgtga ataacttgag atgatttcat tatctgaatt gtacagttta gccatttaatt 97800
 aggagcagtc agagtgtctg taaccacatg gcctcagtta taccataaac ttgaaattgt 97860
 ttatgtgctc acatgctaca agtgacggct cctgtgtgcc tggccactat attagtatgt 97920
 attgactcca cttccatggt gcagtatctg aaacagaaaag taagtctaag gagaaacttt 97980
 gggattccca ggtcaaatac cttccatag tatgtagcaa aaacaaaata caaagcctag 98040
 aagttctgta gaaatagaac tgatttttac tttcattcaa actattcatt atttccacaa 98100
 tagtaatcaa aactgcttct acttttactg ctgctaaatg atcagcaaat tactggatat 98160
 ggatatatat tattttccag gaatataaga atttagaata gaactgcaag agtatgcact 98220

ES 2 532 883 T3

taaatatatt tagtgcaccc agttgctaata gttttgtttt aaacaccatc cactttgcat 98280
 gaagtctaaa ccttcagttg gaaaaagcct catTTTTaat attcctctac tgtgctgata 98340
 atcctgtata acactaaaag aatagatgaa tgttcacggt gctacacaga aatgtttttt 98400
 tttttttttt tttttttttt gagatggagt ttcgctcttg ttgccaggc tggagtgcaa 98460
 tggcgcgac tttgttcacc gcgacctcca cctcccagggt tcaagagatt ctctgcctc 98520
 agcctcccta gtagctggga ttacaggcat gtgccaccac acccggttaa tttgtattt 98580
 ttagtagaga cagggtttct ccatgttggt caggctggtc tgaactccc gacctcagggt 98640
 gattgccac ctggcctcc caaagtgcct tacaggcatg agccgccggt cctggccaga 98700
 aatcttaca gttattttgc ccacgattgg ttttaaaata attttaattt tgcactattt 98760
 ccttttagtgt ctttttctct gcatccacca aactatagaa tcatttgctg agcttataag 98820
 aaatgctcat actgctcatt gcaacagcta gccaaatttg tcctttgctg tttaaaactc 98880
 taactagcat ggttttacta aatttatgtt aacacagttt ctctctctgg gttgtgggga 98940
 gacaaatcaa ttataaataa tctctttaga aaagtactc tttctatatg aaagtgtgac 99000
 ttgactttct atgataatta tgatccaaaa attttatggt gtgtacctga ccacttttac 99060
 aaatgattaa ttggaaggta gaaattgctg attcataaca tgtaacttat aaacttatga 99120
 tggactactt taagcataaa tttttttttt ttttttaaga cagagtttca ctctgtcacc 99180
 caggctggag tgcaatgggt cgatctcggt tcaactgcaac ctccatctcc tgggttcaag 99240
 caattctcct gcctcagcct cccgaatagc tgggattaca ggcattgact accacaccca 99300
 gctaattttg tatttttagt agagacaggg tttctccatg ttgatcaggc tggcttgga 99360
 ctctgacct cgggtgatcc gccgcctcg gcctcccaga gtgctgggat tacaggcatg 99420
 agccactgtg ccagcctga aatattttt taatctacco tgactctct tgccttttct 99480
 gaagaaaaat ttttaaaaat gtatgtagggt gcctttaatt agaaaaaaa ttaaaaatta 99540
 aggcaacttg tgctcatatt ggtaatagca tttctttcaa gaactcagta atactgcatt 99600
 gtctttaaag cataatatct cttagacttg acggtttgag attctaaatc actgaagaac 99660
 ctctgtgtaa aatgatagtt ttaaaatttc ttttcaaaaa tagtcttatt gcaaaatggt 99720
 tgattttctt gaagtttctt ggaaactata tttcattcat tgtaatgaat ttaattttca 99780
 ttaacataga tctctaatat tttctcagc tcaccacaac ctccacctcc cgggttcaag 99840
 tgattctcat gccacagcct cccgagtagc tagaattaca ggcaccacc cggctcattt 99900
 ttgtattttt agtagagaca gggtttcacc atgttgcca gattgatctc gaactcctgg 99960
 cttcaggtaa cccaccacc ctggcctccc aaagtgtggt gattacagggt gtaggccacc 100020
 atgccagcc agcttttcca taattcttat aaatgccaat gcctgaaatg gaattctgaca 100080
 tataaaaaat tacatgaaga acttttatta ttttgcattt gaaaaccatg aaaaatagtt 100140

ES 2 532 883 T3

ggaccagagt ctcagaaagc ttgtagtttg ttagtttaac tgctctaaat gtcaggcaga 100200
 tacaaaacta ttaaaagaca tgcttcaa atgaagacaa tttaaaagca cagctgtaca 100260
 cttttgcttt ttgtctagtt tcaaggtaaa gatgaataat catttagata atgcttaagc 100320
 tatgcttatg cataactaga gcaattctcc aaaataaaaa attttaatac ttaaatacat 100380
 gattaaaata gacacgtatc caatgtcaat acagacttta ctcagaaata gcttttgaag 100440
 tttcttctac ccataaata gattttat tttatggctggc agaaatgaaa attacaactt 100500
 tttgccaaga acagagaata gaataatctc aaattggggc tgctggactca gttttatggt 100560
 caaagctgtg tgaacctcat cactgagttc ttacaaatcc ctgtgtccac atgctccaaa 100620
 ccaccactg tgagttcaga aaagaactct gagtgcctt ttcagtagga aagtaaaaac 100680
 tgatttttac atttctttg agccaaacca gctgtttctt ctttaaagat ttccctttga 100740
 gatttccatt ttatgactaa gtctaaccag tatttttttg gcaagtaaga gttgtgggag 100800
 tgtatctgtc atcataagga aatcaaagcc agaaatgcct tctgccatgg tgggtgatgt 100860
 taaacatttc aaggaacttt atattataaa aattgtcaaa cataaaagga aaagtgcaat 100920
 ataatgaatt ccatggaccc atcacacagc atcaatattt atcaacattt tatcaatatt 100980
 ttttcatata tttttccac atccactccc actagtgttt gaaagcagaa gacagataac 101040
 ttaccatctt acctgttaac atttcaggat gtatttctaa caggtaaaga ctttatcatt 101100
 taatatattag actgtgtttg ttcaaattat ctgattagat tctatttcag aaaacacaca 101160
 cataaacaaa aatgataatg agaaaaagaa agcccttcca catgattgac acttctgagt 101220
 agtgtgatcc cagttcatgt ccattgtctg ggatagctat taaataaaac ttctctcat 101280
 aaaattctct ccatttagaa gataaattct gtgattcaca agcctctttt tatttataat 101340
 agcccttccc ctttctttat gaatttgaat ttgtttttta aagaaactgt gattttctct 101400
 gtaaaattcc ccacattctg gatttggccg atttcatctt ggttcttttg tttactttaa 101460
 cctattctct tatccccagt atcttctgtg gactggtagt ttgactgggt ctttttcttt 101520
 tctttttttt tttttttttt tttttttgag acaggctctc gctctgtcgc ttaggctgga 101580
 gtgcagtggc ccaatctcag ctcaactgcaa cctccactc ccaggttcaa gctattctca 101640
 tgctcagcc tcttgagtaa ctgggactgc aagcatgtgc cacctcatcc tgctgatttt 101700
 tgtactttta gtagagacgg ggtttgcca tgttggccag gctggtctgg aactcctggc 101760
 ctcaagtgat ccgccacct tggcctcca aagtgtctgg attacaggca tgagctatca 101820
 cgccagctg atttttaagt aatataagta tgtgtgcatg tatagtatac attggcaaaa 101880
 acattcata agtagtgcta aaatcatctt atttatatac atcaggagac acataatgtc 101940
 tgtttgtttc ccattttagt gatattaaga gtgttttagca tgtttagttg tcagcctgat 102000
 ccatcattat gttcttcac aaactttcac cagatagttt cacatcaatt gatgatcatt 102060

ES 2 532 883 T3

gcctgtttct attattttgt tttcaagttg acagttttct ctcacttgat gttgtgtaaa 102120
 tttagttata taaagttaaa ttattttgc tttttttcta tgctgtatac atttgaataa 102180
 ctgacctaat ttttacttta aaaatatattt acaattagaa gtccaaatag taaatcaaag 102240
 gttaagaatt tttgcagaaa tctgttatat agatgacatt ttaatatattg ccctttatat 102300
 catttaccat gagccaaatt tcaagtcata ttaaaatgac tgtcatgtgc taattctaac 102360
 aatatttgaa agacccttat caaaataaat atacctttta gtagccactt tattagaaaa 102420
 tcaactttaa gttattcccc catgtttttt tctaattgag atataattca cataccataa 102480
 aatttaccct tttaaagtat acaattcagt tgtttcagta cattcacaaa gctatgcaaa 102540
 tgtcacctct acctagtttc agaacgtttt catcattccc agaaggaaac cctgtattta 102600
 ttaggcagtc acttccccct ccccccttct tccttctctt aagtggcaac cacaataaaa 102660
 cattcagttt ctctggattt acctattctg ggcattttgt attagtgaat tcatgtattt 102720
 ggccctttct tctggcttct ttcattgtacc tcaatgtttt caagtctcat tcattttatt 102780
 aaaaaaaaa agtacctttt ttttttttct tttttttttt tttgtccacg tatatattca 102840
 caccacattt tttgagacag agtctcgtct tggtgccag gctaggggtgc aatgggtgaa 102900
 cctcagctca ctgcaacctc tgtctcccg gttcaagtga ttctcatgcc tcagcccca 102960
 agtagttggg attacagttg tgcaccacca caccagcta atttttgtat ttttagtaga 103020
 gacagggttt caccatgttg gctaggttg tctcaaactc agcctcaagt gatccttcta 103080
 ccttagctc ctaaagtgt gggattacaa gcatgagcca ctgtgccag ccacattttc 103140
 tttttccatt tattagttaa ttgacatttg gatcgtttct actttttggc gattataaat 103200
 tatgctgcaa tgaacatcg tgtacaagtt tttgtgtgaa catgttttca gttaccttg 103260
 gatatacacc taggagtgac attgttagta atatggtaac tttatgttta actttttgaa 103320
 gaactgccaa actgttttcc aaagtagctt tatgctttta cttttctgcc aacaatgtat 103380
 gaagggtcca gtgtatctcc acatcctcaa gaaaatgtta ttgtcttttt aattgtaacc 103440
 atccaagtgg gtatgaagtt tatctcgtga ttttgatttg ctttttcta atggtgata 103500
 ttgggcatct tttcacgtgt gtattgacca tgtatttttt tgagaaaagt ctacttatat 103560
 gtttttaatt gtattatttt tagagttgta agaatatgtt atgttgatac ttgaactttg 103620
 tcaaatgcct ggtttgcaga tattttctcc tatcccacag gttgtcgtt cactttgata 103680
 atgtccttaa agtacaaaag ttttaaattg attttgatga aactcaattt ctttttaatt 103740
 ggcagcttgt gcatttggg tcatatttaa gaaatcattg cctcattcaa gatctgaaag 103800
 atttacacct atgctttctt ctcagagtat tataacttta gttcttacat ttagattttt 103860
 aattaatgtt gagttaattt gatggtgaga gataagagtc caacttcatt cttttgcaag 103920
 tagctgtcca gttttctcag caccatttgt taaaagactg ttttttttca attaaactgac 103980

ES 2 532 883 T3

caagatgtat ggggtttatctt ctggactctt aattctgtta atctgcatga cttttcttat 104040
 gccagtacca cactgtgctg attcctgtag ttttgtagta aattttgaaa tcaagacagg 104100
 taagtcttcc aactttgtac ttttgccctac catgtttctt ggggtttccat atgcatttta 104160
 agatcagctt ctccgtttcc tttctggatt tttttttttt tttttttttt tttttttttg 104220
 gtggagctgg agtcttacta tattaccctaa gctgggtttg aactcctggc taaagagatc 104280
 ctccctccta ggcttcccag agagctgggg ttacaggcat gagccaccac atccaacccc 104340
 cttctgggac tttgactggg gttctgttga atctgttggc caatttggag agtattgata 104400
 tottaacatt aaagcttcca atttatgaac acaggctatt tttccattta ttcttaaatt 104460
 totttcagta atgttttggg tgaacatgt acaaagtcct gcacttttta ttttttttaa 104520
 gacagagtct tgctctgctg ccaggtccag agtgcagtgc tgccatctca gctcactgca 104580
 acotccacct ccgggttcaa gtgattctcc tgcctcagct ggaactacag gtgcgcgcca 104640
 ccatgcctgg ctaattgttt tgtgtttttg gtggagacag ggtttcacca tgttgccag 104700
 gctgggtctca aacacctggc ctcaagtgc ctgactgcct tggcctccca aagtactggg 104760
 attacaggca tgagccacca cgcctggcct gtacttctgt taaaattttt tctatgtatt 104820
 ttttttatcc tattgcaaaa tcaaattttt tgttgataat atatggtcat aaatttcatt 104880
 tttatatatt ggtctcatat cctaccaact tgctgaacta gcttattagc actaaacttt 104940
 tttggtagat tccttaggat ttgctgcata caagattatg tcactctaaa gtagagatag 105000
 ttttgtttct tcacttccaa tctgggtggc tttatgtttt tttcttgctt gattaccag 105060
 ttagaacttc cagaaaatgt caggtacaat taacaactgc aaacatcctt gtcttattca 105120
 ttttagaaaag aaatttttag tttttcacca ttaagtatga tactagtgtt aggttttggt 105180
 taaaaaaaaga ctgtgtcaag ttcagaagtt cccttctgtt gctagtgtgt tgaataattt 105240
 tatcacgaaa ggggtgtgaa cttttctcaa atgctgtggc tacatctaat gaaatgatca 105300
 tgogttcttc tcctttattc tattaatatg gtatattata ttgattcatt tttatacatt 105360
 agattaacat tatatttctg gaataaatcc cacttggcct cagtgtgtat tactttttat 105420
 atattgctgg agtctgtttg caggtatttc attgaggact ttgcacatct tgttgataag 105480
 gtatactgat ctttagttct cttgtgatat ctttggtttt ggtgtcagag taattctgag 105540
 ttcacaaaat gcattgggaa atgttccctt ctctatcttt tggaagagtt tacaaggat 105600
 tggtttaact ctttttttaa tgtttgagga aattctctac ccctgggctt tcctttgtgg 105660
 gaatttttaa acatttttaa aatagattat ttttaaagca attttagggg aaaagcacat 105720
 tgaatgaaaag gcacagagct tccttaagta catgctgccc ctgtatgtgc atagcctccc 105780
 tcattatcaa catcctttac cagaatggta catttggtgc agtcaatgaa cctgcattga 105840
 caattgtcga tgaaagttca tagtttagag ttcacctttg gtgttatgta ttctgtgagt 105900

ES 2 532 883 T3

ctggatccat gtttaaatgat actcattcac cattacagta tcattcagag taatttcaact 105960
 gccttaaaaag tcctctgtac cctacctatt tttctctcct accccactaa cccttagcaa 106020
 ccaatgatct ttttatctca ataattttgc ctattccaga atgtcatata gttggaatga 106080
 tacagtatat ggagcctttt cagactgggt tttgtcactt agtaataagc ttttaaat 106140
 tccacatgt catgatcgtt catttctttt cagcattgaa taatattcca ttgtctgggt 106200
 tatcacagtt gatttatcca ttcacatagt gaaagacatc ttagttgctt ccaagttttg 106260
 acaattatga ataaagctgt tataaaagta tgtagggttt tgtgtggaca aaagttttca 106320
 gtccttttga gtaaataaca cagagcacag tagcttgatt gacagtaaga gtaagaaata 106380
 ttttttctca gtctgtgtct tattttttca ttcacttgac agtgccattt gcagaacaaa 106440
 cagaaagttt taattttaat gaagtctagg ttatcagtta attcatgaat aatgtttttg 106500
 gtattgtatc taaaaagtc acaccaaggt catctatatg ttctgtgtta tcttccagaa 106560
 attttatagt tctgcatttt acatttaggg ctgtgaccca ttttgcatta attttgc aaa 106620
 agctataaag actatgtata gattcacttg tttgcatgtg gagttgtcca gttgttcccg 106680
 taccatttct taaagactat ctttgcctta ttgtattacc tttgctactt tgtcaaagat 106740
 cagttgatta taattaagtg gtctgtttct ggactcttta ttctgttcca ttgatataat 106800
 tgtctagact ttcaccaata ccacactatc ttgttaactt aggcctttaga gtaagtcttg 106860
 caatcatgta gtgtcagtc tctgacattg tttttctcct tcagtattga gttggctatt 106920
 cttttgccta ttactaagta aaaaaagcag tctgaaaagg ctatatatac agtcatttat 106980
 tggctttttg cctcttgata taaacttta aattactttg tcagtatcct caaaatcttg 107040
 caggaatttt gatagattgc actgcatttc tagattgagt tagaaatact gccatcttga 107100
 caatacacat cttctatcc atgaacatgg aacatctctt tcttgगतat ctttcattag 107160
 aattttgcat tttcccata tagaccatgt acatattaga tttatacata aatatttcat 107220
 ttgggggggt gctaattgga atgtattttt atctcagatt ctgcttgatc attgctggta 107280
 tgcagaaaag tgatcaactt ttgtatatta aacttgtttc ctgcaacct gttatataat 107340
 cacttttagat ccagtttttt tttttttgggt cattctttca tattttctag gtgatcatgt 107400
 catctagcaa agacaacttc tttctaactc gtataccttt tattttcttg tcttaatgta 107460
 ttagctagca tttccagtat gatgttgaaa ggcattgggt agaggcaaca tacttgcctt 107520
 gttcctgatc tcagcaggaa atcttcaatt ttatgttagc tctatgggtt tgtagatatt 107580
 ctttattttac attaaatag ttagctgtat gggtttgtat atattcttta tcaggttcag 107640
 gtagttcccc tcttttccca gtttactgag aggccttttga aaatcattaa tcagtgttg 107700
 attttgtaaa tacttttttt ccacctattg atattaccat atgatttttc tttagcttat 107760
 taacgaaatg gattacatta attgattttc aaattttgaa ctgactggc atacctggag 107820

ES 2 532 883 T3

caaatccac atggttgga tacattat atgaatgcat tcatggtcat ggttgctatt 107880
 agtctgtagt tatcttttat tgtaaagact ttggtggttg tattaaggta atgctgccct 107940
 catagaataa gttatgaagt attttctctg cttctgtctt aattgagatt gtagagaatt 108000
 catataat ttctcttaaa actttggtag aaatcagaat gaaccatctg tgtctggtac 108060
 tttgttttga aaagtatttg ctgattcaat ttctttcata gatataggcc tatttagatt 108120
 attattttgc ataaatattg gtagttgtgt cttcaagga attggtccat ttcaccttga 108180
 ttattaaatg tgtgggcaca ttgttcata atatttcttt attatccttt gtttttgaga 108240
 cagggctca ctctggttg ccaggctgga gtgcagtagt atgatctcag ctactgcag 108300
 ccttgacttc ctgggctcaa gtgatttacc cacctcagcc tcccaagtag ctggactac 108360
 aggcatgc caccatgcct ggctaatttt ttattatta ttagagatgg agttttccta 108420
 tgttgcccag tgtggtcttg aactcctgga ctcaagcaat ctgctgcct cagcctcaa 108480
 agagtgatgg gattgcaggc atgagccatc acacctagcc tgatggcaga actttttagg 108540
 aacaatagaa tggatatagg cattttcaaa aattgttttc cctcctcct atggaagcat 108600
 gaagggattt ttctctagta ttcatgtga gaacctcatc tggctcctga atgtagaaaa 108660
 ctcaaaaaac tgtgaggaac ctattatgac tggatgcctt tggagtgtt cactgaac 108720
 ctccagcaat tcatcaatta tatttcagat ttctctatcc caaactggt tcctacagag 108780
 gttctgtctc cagtaagctg taattctttt tatccatctg cttccttggg tgtgaggga 108840
 gtgattttcc ctgtgacctc atttctctga cagatctaag tagtcttgat tacatctttt 108900
 aacctgttgt aggtatatcc agattttcta ttctctctc agtcaatttt agtagttgt 108960
 gtttttctag aagtttgttc tctagctctg ctttagctcc atccaataaa atagagtat 109020
 gtgagttttt catttacaac aaggtatttt ctaatttcta tcatgttttt ttgattcctg 109080
 actgtatagg agtatatttt tacctattac ccaaatttgc ttgttattca tgtataattt 109140
 tatcagaaaa cacttttgc acaatttttg cagtgttaca ttattttaga cttgttttat 109200
 aactgacat acagtccatc ctggagaatg ttacagtggt gcttgagaag aatgtgtata 109260
 ttcagctgtt ggtgggtggc atgttttata gatgtctgtt agacctagtt ggtttatagt 109320
 gttttttaca acttctgttt tctttttaat cttctatcta ctttttagcca ttattgaaag 109380
 tggattagta aattatctat ttattccttt aattctgcca ttttttgctt catgtatttt 109440
 ggtgctctgt tgcttattac atgtatgttt acatttggtt catcatttta atggcttgaa 109500
 ctttttatta taaatgtgt atatcttgta gatatcgtat agttaaatct ttttaaaaat 109560
 tgatattgct agtctttgcc ttttaatttt tcaatttata tacatttaac ataattattg 109620
 ataaggtagg atttgtctgc cattttgtct gtatctgtgc tttttttgtg ttcaatagat 109680
 attttctagt gtactgtttt aattcccttg tcttttacta aattttttga tgttcttaat 109740

ES 2 532 883 T3

ggtttccctg gggattacaa ctaacttata acagctagtc tgaagtaata ccaatttcat 109800
 tacaatataa ggaaactttg ttcccatata gctacattcc ctctttttac tctgtgctat 109860
 tatacaaatt acattttatt ttatgcccat taacacagat tatgtttttt cttttaaatc 109920
 agattgatat tgtcatttaa atcaaatatg agaaaaatag ttacaaaaaa atacatatat 109980
 gatttcatat ttacctatgt aattatcttt actggtgctc ttttaagttct taggtgtatt 110040
 tgaggtagtg tctagtgtcc tttcctttca gcctgaagta tacatttagt attttttgta 110100
 ggacatgcct gaaaacaata aactcttatt tatcagagaa tgtcctaatt tattatataa 110160
 tacattttctg aaagatagtt ttgcaaaaata cagaattctt gggtggcagt ctttttcttg 110220
 tggttctatg tcattctact gccttctggt cttcattgtt tctgatcaga gatcagctat 110280
 taatcttatt gggaatcctg catacatgat aatcatacag ttttcatgat tttcttgtgt 110340
 tggctttcag cagtttggtt atgatgttta tatgtatgca tatctttggg tttatgttac 110400
 atggagttag ttgagcttct tggacatgta gattgatgtt gttcatcaaa tttgagaagt 110460
 tttcggccat tatttttcaa atattcttcc tattctttat tcttcacocct ctactttggg 110520
 gacctgcatt atgtctatgt tggtagctt tatggtcttc cacagatctc tgaggttctg 110580
 tttatgtttt catttttcag actgaataat ctcaattgac ttatcttcaa gtcccttttt 110640
 cccctccttt tcaactctgc tattgaaccc ctotaatttt tactgcagtt attacacttt 110700
 cagctttaga attctattta ataatatctt tttcttgagt ttatctcatg tatttaataa 110760
 aatgctgtag tcttacttta gttattttaa tacagttttc tttcattatt tgggcataca 110820
 tgaaatagct gacttaaagt ctttgtccag tggcctaaca tctggacttt ttcaggaata 110880
 gcctctattg actactttat aggggccata ctttgtttct gtttctctta attgtttaga 110940
 catttttaac taatgtaatg gctgagagca gtggctcgtg cctgtaatcc cagcacgttg 111000
 agaggccaaa gcaggagcat cacttaagcc caggagttca agactagcct gggcagcata 111060
 gtgagacct gtctctacaa aaataaaaaat aaataaaaata atataatctg gtaaatctga 111120
 aaatcagatt ctacccctg cccagaatat gttactgttt ctggtggttg ttgtttattt 111180
 ctttttaact actcctataa agtttgtatt gtttctcata gatagccatc gaagtctttg 111240
 cttggttaac ttagaggtca gctaaggatt agacagaatt ccttaggtgc ctgagatcaa 111300
 taagttagtc tttgacaaag gggctctgtat gtgtgttggg gcatgcattc aacactcagc 111360
 caggctattt gcagctctgg attagccttt attccctgct tgtgcagagt ctcaaggtta 111420
 gactgtggtg agagtttagg gctttctgag gtcttttctg ggcctacag ttgcatgtgg 111480
 ctttctaaat tcccaggaat atattttcaa agcctcctgt ggatcatctc atttcccagg 111540
 taatttactt ttaagctttt ttagttatct tatgttttgc tccagttatt agctacacct 111600
 gagtcagtga caatattcaa cagctgcta tgattatttg acaaatgcct ctgtggaaaa 111660

ES 2 532 883 T3

ggtgggttcac actaggtgaa ctccaagtta gataaagtaa agataacctt actagtggga 111720
 tcttccagga aactaccaa caggtcaa atgtgaaggt ctctgtgaat gggacttttag 111780
 agtatatcca accagtctag agtatatcca accaatctgg cctcctctag tggcagcctg 111840
 gctgctgctt ttcataataa atgtgggctg ttttgatttg aaggctacca tagagctgtg 111900
 gggaaagtta aaataccaca gagctcactc ttctcactga aatcctgtct ttttttccct 111960
 tgaacaaatt ctccctatat tgctgcaagc tttttgctaa tttccagatc tgaaaaagct 112020
 gattctgaca atatttatca gtacttttat tgcttttatg gaggataaaa ttttcagaga 112080
 tccttattct gccatttttg ctgacatgtg taaagtgatc atttctaatt gtaaaattcc 112140
 ttttgcatth attagctgga atactttaca ggacttttcc tcatcaaccg ttagttacca 112200
 tttaatatag tttgtaagaa tgatagaata atgcatggc aagaatcttt acttctcaa 112260
 tttcagagat tttgatggga aattatattt agagatcaca atcagtgtct agatgtgctc 112320
 cctgctatgg aggtgtcatt acttttaggc ttttttaatg ggcaaataca tgaagtaatt 112380
 attttttaga aagaaaatct gagattaact caaatcatta attcactactg atttttccta 112440
 ttcatagttg acagagtatt attatctttt gttctgcttc tcttgtacac tgaaattctt 112500
 gggttttgat attacaatt atttacttat atcacatat acatacatta atttaaaaat 112560
 aatttacagt gctacctgaa tttttttct tgtaagttgt tttatctctc tttgcttact 112620
 tgtatgttg tttattgtca ttagaatgta tcaaactagg gctataaagc tgtaatacta 112680
 tattttagcc agaaactagg acctagcact caaatgccca tcaatggtag aataattcat 112740
 cacattttta taagatggaa tatggtactc aatgaaaatg aataaagtac aactacatgc 112800
 agtgatttgg atggatatcc caaacataat ggaaaaagca cacacaaata agcttatatt 112860
 atataattcc atatacctat gtatatatca agtataaaaag taggcaaaac aagctactga 112920
 tggtggcaca cacctatagt tccagctatt tgggaggctg aggcgggaag atcacttgag 112980
 cccagaagtt caggttcaac ctgagcaaca tagcaagacc ccatctgtaa aaaagaaagc 113040
 attattaaca taaaaatagg cagaactact atattcttag agaagttact gttagggaga 113100
 cagacagtga gtgactgaaa ggcaaaatga ggggaaattc caggggatag taaatatttt 113160
 gtttcttagt gtgggttcta cttaactggg tattttccat ttgtaaaactg taaaattatg 113220
 tgcacttttc tgtatgtgta ttacattgca ataaaattgt ttaaaagtca attgaaatag 113280
 ttctgtgtgt ggttatgcca cagcttaata cagagttaga ttagacttct tttcaaactc 113340
 attttgcata tagacaccta taatatcagc tgcacagcct atataatgct atccatagca 113400
 atgaatttgg tcttttgatt tttcaggaga acttgccct gtcaggggt ggatccagaa 113460
 acctgtggtg cctccttctc ttttggttgt tcatggagca tgtactacaa tggatgtaag 113520
 tttgccagaa gcaagatccc aaggaagttt aagctgcttg gggatgaccc aaaagaggtt 113580

ES 2 532 883 T3

tgtttacttc ctgatgtata atcgctttat ttttcataga gaattcatta gcttagatga 113640
 agtgaacaat atgacatatc ttggtaagct cttattaatc aaagtttttc ccaaactgta 113700
 gatacacact attttttaag ttggcataat aatcatatta tgccaaaata atagataaaa 113760
 tttgagcaac aaaaacttcc tctttggtct tttatgttaa ttccaaagtt ttaaaggggt 113820
 gtcacttcat tgttaaaaact aaatgagaat tggatgatgtt tttcatattt tgactctgaa 113880
 ttatggaagt tacataagta ctacattcag aaaagaccat ttttagtcac atttatgtgc 113940
 aatgagattc aaataattta agtcactgt aatgaatgca ttttaataaag tcactgtaat 114000
 gaatgcattt aagtaactaa aacattttaga ttttaatatata actctgtaat ggaaataaat 114060
 ggacactaat ttctcactga agtcattgggt ttttgtcttg tctgtagaat acgtatttct 114120
 tataatttgc aaattgataa atttaacaac ttttgggtgg catgtagtct agagtataga 114180
 tacttcttga cttatgagga gactacattc ctataaatcc gttgtaaaat gaaaatccat 114240
 ttaatacccc caataaacc atcctaaagt aaaaaaaaaa cgaagccatt ataggtcagg 114300
 gactgtctcc gtactaattg aatgatgaga aaacctcagt atatttagca tttagctatg 114360
 accacatttt cagtcattct atacacttac aattatcttt tgaatttoga atacaattaa 114420
 aatattttcca tactatagat attataacat tgatgagtc ctttaaatga agaatttgtt 114480
 aaccttatta agctttcact tactattata gtcacagtta ataaagcaag tgcaaaaact 114540
 cctgaaatca cagtataagt tttttaaagg atgttttcaa taattaaagt ttacttaaat 114600
 gtgcgagaca tcatttcata agacaagaat atgaatatta ataacttaat gaaaagtact 114660
 gattttgcct gctgtcattt taattttcta cagataactt tttttttaac cactgtttta 114720
 tcaagtgata aatgtttatc actttcacga ggtttcatgt aaaccaaato cagaggatag 114780
 caagtaactt attgcctctg ttgggtagga gagctctgtt cagaaacctc ctcaccttct 114840
 aaaatttaca tctctgccag gtggttatgt ctcacaactt ttttttttta gagaaatata 114900
 aatctgaaat gaagacttct aagtataaat ggagcagcta aatatgatca cctaccattt 114960
 ttttaacagta tattacttgg aaaatctgtt cttcatgagc agggcaggtg ggggtgtaac 115020
 tgagcatttc ccttttcaag taaattctgc aaaggttttc atgtatcctg cattctagtt 115080
 ctgaagcatt ttatccatat ttgaagtgtc cagtaaattt tagttgtctc atggagagat 115140
 cattccaaat tattttaaata ctatctttat aaacataaaa tgtaaagatt agaaatagac 115200
 aaattaagct aaagaagttc ttttaatagt tcatcttcct tggtagctaa aaaatgtgac 115260
 ctctttaaga ccatacggt taattcccct aaccctactc ctggcacagg cttgtgtgta 115320
 taaaatgcaa aatatctgca tgcagttaga aaatcaatct tatgaaaaaa acaaatagct 115380
 agatattttac tagcacatat gaaattaaat gatagtcattg ttttaaagat gctttattta 115440
 gtaataaagg caccatatat tgtgtttggg attcaaatg taaggggaat aatctaactg 115500

ES 2 532 883 T3

atagtctctt ttacatagag aaaatggact tagaatttaa tatgtagaat tattcacttt 115560
 atacaggaag agaaactgga gtctcatttg caaacctgt ccactcttat ggcaccaaca 115620
 tataagaaac ttgcacctga tgcatataat aatcaggtaa gtttaaataa tcattggcag 115680
 caattgtaac aacttacttg ttactaatga cctatgtcca aaaatatattt tgaacaatg 115740
 atttttaaat attattctaa cttttcctct taattgttga aaccactgca gtgttcagtt 115800
 tcgagtatat aaaaattata ccatacaaaa gtacattttt tttgtctttt agctgtaaag 115860
 acatgcgctt ctaaaagtca caggctgttc tatctactaa tcttgttctc atatgaataa 115920
 ttttgtttct gtaaacagac tatggagatt acatcaaaat tatgtggccc aagctatagg 115980
 ttctaactac ctatttttac tgcaagtcta taagtataaa tgagtattca taagaattta 116040
 tagacttaca aatattcaca taaagctatg catatactaa cattgtaagt atatataattt 116100
 cgggtccagat gtgtcagatt ttgtgatct tccttttttg tttgacctg acttcataca 116160
 ccaagcaaaa acattttttt tttctatttt acatgtgtat tctaaactat agctagttaa 116220
 gacaggtaga tgatttggtc agaaatctct catcatgaag gcaaaaaact aaaatcttca 116280
 ctgtttcagt aacatcaaca acaaaagcat taagtgaag tctattacaa actaaacact 116340
 gtgttttagtc actgggaaca taaaggtagag cagtgccatc tctgtctgtc tttagaatt 116400
 ccgtctttgc tgggtacggt ggctcacacc ttaatccca acactttggg aggccaaaggc 116460
 aggtggatca cctgaggtca ggagttctag accagcctga tcaacatgga gaaacctgt 116520
 ctctactaaa aatacaaaat tagctgggtg tgggtggcagg cacctgtaat cccagctact 116580
 cggaaggcta aggcaggaga atagcttgaa cctgggaggt ggaggttgca gtgagccgaa 116640
 gtcaaaccat tgcactccag cctaggcaac aagagcgaaa ctccatctca aaaaaaaaa 116700
 aaaattcatc ttttaactggg tgcggtagtt tatgcctgta atcccagcta cccaggagac 116760
 caggagtctg aggctgcggt gagccatgat tgcactactg tgctccatcc tgggtgacaa 116820
 agatgacca gattctaaaa aaaaagcaaa aaacaaaaga attccttctt tagtggagac 116880
 agagacatat aaaataaata gcaatttttag aattacacag ttccagctgg aatagaagaa 116940
 tgtgcacatt tctaaaaaaaa tttaaaaaca aaacccaaaa gtagactaga tgtcacaagc 117000
 agccttagac gctaaataaa gatctttgaa ctttattctg taggtaacca ttgggtgtt 117060
 tcaagtgtgt gttggggatg gaagggtaaa gtgatgtaat tcgtattttg aaaaatttac 117120
 ttaaaagcca agtaaggga atataactta aatctatgta agattagaga gagaagaaag 117180
 ctattgcaat cattgggcaa gagattttta ggacctaaag aaatggcagg aattaagtat 117240
 gtacactaac taaggtggag cttagagaac ttggtgacta gatgtatgga tgagaaaaga 117300
 atttggagat acaacaaatt tccagtttg acaggtagtt ctattaacta gtatcagaaa 117360
 ttggaagaa atagtaagtt ttgggatggg gagaagatat caaaattttg gacatgctag 117420

ES 2 532 883 T3

gcttctaggt taattagatg gagaatcagg agaaaaattc aggctagcac tgtagatttg 117480
agagtcagaa tgctggcagg acttaaagtt gaatacatag gaatgaaagg aggttttcaa 117540
agtagagatt ataaagagga caaagggctg atgatgggat tctggagcca tcaatcattt 117600
taggcatgag tggaggaaga gaagccaatg aagtaagaac tgggggaggg agtagaagaa 117660
atgtagtagg aaaagtgaaa gagggagatg gatggatgga ggaaagctgg aatgatgaga 117720
agacaccag agcagagtat acaggagcaa taggtatggg gctctgggat gggtgctctg 117780
tcatttactt gataatatta aagactctcg tgggattaga ttagtttaca cagcagacat 117840
ggacaaggga ctaatcctaa aatgatttag ctactcttct tttccactgt ggactttaac 117900
gtcccaaaca tttttttttt tttttgggtc gaacaataga ggcaaattaa acgatggctt 117960
atttgtaagt tattttatgt caaattatgt ttttagaaat gtgtatgaat atctatgaaa 118020
agttttttaa cactattaat agttggatta atactgttat tttgttttagc tagtatcaca 118080
aagtataagg agtgctttga tactgtcgta aaagtttaat tctcagcaag aacttctgaa 118140
ataaatcaag ctataaaaat aaataaatga atgagtctat gttgctagat ttaaagttgg 118200
gtcattttct attaaatgaa tttttaatag gtgctgttaa tcaaatggct ttacttgagg 118260
cagaataaca aagcattgat gttctttttg ctcccttgat tcttattatg gaccgtctca 118320
tacttgaaac tattttatac atttcctaaa acttaagtac ccaaaatatg aagccatcaa 118380
atatgttcaa gttttaatat ttatatatga aaatgtgttg atgtaatgtc tagataaatt 118440
aagtcaatta atagttgtaa atggatgaga tgcttctgaa tggataaaat atttttatat 118500
tgcatggtag gtactattgg taatattcat ccatgtatgt taatatgctt tagagatcaa 118560
aataatagcc atgtgatgtt tccacacagt acacgggaag accatttgat gttatagatg 118620
ctgtcataaa acctactatt tgatctttac ctccctttcc caactgagtg tcttatctct 118680
atttctcaca tctgaatatt ctcccttgct ttattccttg atttcatgaa gtcttattgc 118740
taaagtttag ttggctctcc acagcatctc ttctgtcagt cccatggaat tagagcttca 118800
gttttctcaa cttaaagtgc ctttcttcgt gtctatccag tagacatata tttggctctg 118860
tcttttctat gcctgcctta caatttaaca gtagacctga aatagcagg gtcaatctca 118920
aaatcgtgtg ctatttatca tacatgaaga tgacatttta gacaaatgct tctaagagag 118980
ctttctatga agatggaaat attctctatt tatgctgttc agtgtaatag gcactagcca 119040
catgtgggta ttatttaaca gttgatacgt ggctagtgtta attgagttta aattaatgta 119100
aaaattaaca caaacagcca catgtggata atggttacca tagtgaacag cacaacctta 119160
gaccatgaga aagttatgca tttagaattg tcttccagac atttagatgg atttccagta 119220
attcattcac aaaatcctgc atggtatttt ttaggagatg gcataagtg aatttctagc 119280
tgattgtata tctgtttttg ttcaagaaac agaataaagc taactagacc acagcatgaa 119340

ES 2 532 883 T3

ctgaacggcc acaaagcaca catctatggt aaagagtagt tggtagcttc attttccttt 119400
 ggccaaagt ttatgaggtt agatagacaa atacatatat gaatccaaca gtaaaataata 119460
 tgaagccacc acaaaactttt atcctaattgc aagttcatct tctagccatg atggagtaaa 119520
 cagagactac atatgccgtt acacatttaa gaaaaaactg acaaaatata tgaaacaatg 119580
 gtttttagac atagaataag aaattcaaga gacagtggca ccagagagaa aggaagtaaa 119640
 aaggtgaacc tataaatacc ccagtttact tcctgaagag agtattaggc tccagtgtag 119700
 ccagtaggaa cccaaacaca cccagcctta tctctgtatt aaggagacaa agttcaaaat 119760
 ttggagaggc caaggtgacg agagttcact attcagaata tcagagagga gagagtgtta 119820
 ttgagaaaag ctccagagac ctgcagaggg ttctgatcca gtcttcagct gagtattaaa 119880
 cagcacatgc atgtgaaaaa actgccaaag ctaggtaggg aaagaacccat cagaagaagc 119940
 aggagaata atcccttgat ctcacacagg acctggaata gttcttgatc ataccagcca 120000
 gacggagaag acttcataat actattcata attgtattgc cttggtagta gaagtaaatt 120060
 tggcagttct gacctcatct aaaaatgctt aaaatgaaaa catagaaggg ccaaactgat 120120
 tctaagtaat ttaactgcat cacagtacaa aaattaaaaa aaaaatctac caacaaggta 120180
 aaatttatag tctagcatc catcagaaaa tacaaggcat acaagaaaaa aagaaaatat 120240
 aacctttact ggggaacagg cagaaatcaa tcaataaaaa tagtcccaga actgacatat 120300
 gtgatacaat atgtaataa gttcattaaa atggctatca tttttcatat gttaaaatgc 120360
 cagaggaaag catgagagtg ataaggaaag atcagaagat attaaaaaac cctacaatga 120420
 ccttctagaa gtgaaaaata tatatctaga ttaaaaatac actaggcgga attaacagat 120480
 taaggaaact gaagacatag taatagaaat ttttcagtat aaagaaaaaa ctgaaaaaaa 120540
 tgaatatata aaagacctat tagccaatat tgttacacta atatatgtgt aattggagta 120600
 ccagaaggag gtgggagaca gaaaaatatt taaagaaaca atggccaaat ttttttcaga 120660
 tttgttcaaa actgtgaacc cacagatctc agcagctcag caaaccocag attaaaaaac 120720
 aaagacataa aaaaagacta tcaaaaattt ataatacaat tgcttacaat ctgtgataaa 120780
 gagaaactca gaaaggcaaa tggagaaaaa aggacatatt acactagggtg ggaaaaaata 120840
 agacaggaga cttcattcag aaaaaggcaa gagagaagat gtaagagaaa catctttaac 120900
 atactaaaag aaaaaagact ctccaccag aaatatataa ccaatgaaaa caactctcaa 120960
 aaaagacagc aaaataaaga atattttttc agacatacat acaaaagctg aaagaattca 121020
 ccaccaacaa actagcactt taaaaatggt aaacgaaatc cttcaggaag aaagaacatg 121080
 ataccagaca gaaatccaga tcaacataat gaaatgaaca gtatcaaaaa tagtaaacat 121140
 ggtaaaaaga ctttttaaaa aatgataact tgctatctta aaaatatatt aacaatgtat 121200
 tatgaggttt ataacacgta gaagtagcac agaggctgag gaattgaaag tatattattg 121260

ES 2 532 883 T3

taaagtactt atacgatatg tggactgggt atattacttg gctgtaaact gtgagacggt 121320
 agagtacact gtgtacctta aaccactaaa aaaaaaaaaa aaagtatata gctaatacagc 121380
 cagtaaagac agaaaaatga aatcaatcca aaaatgtttt taaaaatata taggacccaaa 121440
 aaaagataaa tataaaaaata aaacaaatag caagatgggt tattttaaacc caactgtatc 121500
 aacaaccaca ttaaatgtaa atggttttta caccctaata tataaggcag agcttgtgat 121560
 attgaaaaaa aagcaaaaac caagaaaacc actttaaata taaagataca aataaattaa 121620
 aaagatatatt ttaacataaa aaatgatgtt gaaaagacat aacaggaaaa aatatgatta 121680
 ttgcagtagg tacagaaaaa ccatttgata atattcaaca ttcataaaag gaaactttct 121740
 caacctatta aatacataaa tggaaagcca aaagctaata ctatacttag tggtgaaaga 121800
 ctaatacttg accctaaga taaggaaaca gacaacaatg tccattttta accaactgct 121860
 tctattcaac atcaaactgt aaattttaga aagtgcagta aggcaataaa taaagcagtc 121920
 aagattgggt aggaaaaaat aaaactgtac ttatttgcag atgacatgtt tgtctacata 121980
 agaagtctca aaaaatctac cagaaaatga aattaatata tgaatttagc aaagttgtga 122040
 aatacaaaat tcaagtgtat ttttatatac tagcaataaa taaatcaaaa taaaccatta 122100
 aaatagcatc aaaatataaa attcttagac atacatttga caaaaatgta taagattata 122160
 tactggaaac taaaacattg ctgagataaa ttatagaaaa ottcagtaac tggagagata 122220
 cactatgtta atggatcaaa agactaaata ttattaagat gtcagttctc cccaaactaa 122280
 tcaatatgtt caatacatga tgtttcaaaa cccagcagg ttttttgaaa gaattggaca 122340
 agatggctgt aaaatatata tacttggaat tgcaaggac ttggaatagt caaataatat 122400
 tttaaaataa gggcagaatt tgagaactata tattgcatgg ttttcagatt tactgaaatc 122460
 tataattgct actgtctgtc aagacagttt gatattgccc aggcgcagtg gctcacgect 122520
 gtaattccag cactttcgga ggccgaggtg ggtggatcac ttgaggccag gagttttgag 122580
 accagcctgg ccaacatggc aaaactctat ctctaataaa aatacaaaaa attactgggg 122640
 catggtggcg cgtgcttata gtcccagctg cttgggaggt tgaggcctga gaatcgcttg 122700
 aatccaggag gcagaggttg cagtgaagcc agatcgtgcc actgcactcc agcctgggtg 122760
 acagagtggg actctgtctc aataaataaa taaaattttt aaaaagtgtg atattgacat 122820
 acctacatac acaccattat acacaagtgg atcagaatag agaatcotta agtagacca 122880
 acatatataa tatggtcaat tgatttttaa caaagatgat tcaattggga agggataacc 122940
 attttatcca gtagtatctg aacagttgga aagccataag ggaaaaaagg taatcttgac 123000
 ccttaatttc acaccattta taaaaattaa ctccaaataa atccatttat atgaaattct 123060
 agaaaatgaa aatctgtagt gatagattag tagttgtctg agaacaaagc aggaagcatg 123120
 aattatacag gggcatgagg aaatttttaa gagtaatgaa tatgtacttt attttggttg 123180

ES 2 532 883 T3

tgacaaatat atatcaaaac tcaaatagca tacttttatgg cctcaataac actataaaat 123240
 aaaaatttta ccatgtcaag atatttgctc tattttgtgt cattccattt tgtttctgga 123300
 tatatatatta agttcaaaac atttttttaa agttctaaat ggtctaaata ctagtgaagt 123360
 ttcggtgtaa gagtaaaact aactactttc gcattcacac acacttttat ttttcagatt 123420
 gaatatgaac acagagcacc agagtgccgt ctgggtctga aggaaggccg tccattctca 123480
 ggggtcactg catgtttgga cttctgtgct catgccaca gagacttgca caacatgcag 123540
 aatggcagca cattggtaag ttgggtgag gacagcttag cagctgttga gtcgtttctc 123600
 acactgctaa taaagacata tgcaagactg ggtaatttat aaaggaaaga gatttaattg 123660
 actcacagtt ccacatggct gtggaggcct cacaatcata gctgaaggca aatgaggagc 123720
 aaagtcacat cttacatggc ggcaaggcaag agaacatgtg caggggaact cccctttata 123780
 aaatcatcag atctcatgag acttactctc ctgagaacag catgggaaag atctgcccc 123840
 atgattcaat tacctccac tgggtccttc ccaaaacaca tgggaatttt gggagctaca 123900
 attcaagatg agatttaggt agggacacag ccagaccata tcagcagcat ctcatgttga 123960
 ggagcagaac actggaattt agtagcattc ggtagagta atatgttgct tgcaggtttc 124020
 actggacagc aatattttca tgaatgaatt cctgttgcaa agtgacctgc tttggcataa 124080
 ctagcactct catgataggt tggcacatta gtttcctgtc aattgtgttg acaagcacat 124140
 gagaatcatg gaaatccttg gtgttaatct aaaccagtga ctatgcattg ccagttacag 124200
 ttaacttcca ggaaaatctc aaaattcagt gccagttacc tggtagattg taatcagtta 124260
 agcaaaaagc caaatacaag ccattcacct tacagagaga gaagcatatt caccttacag 124320
 agagagaagc ataaatgaga aacacatcat cattgtcaca gtaactgtgg taacctattg 124380
 taaaagattc acagtgcaaa agagcctgac tacatattac agtgggtaaa atggatcggg 124440
 cttgtaattg gaggcagtgg tgaggggaaa atagatacat gttatatata tatatatata 124500
 tatatatgtt ctataccaac aaagggttca ggggtataatt ttgcatgtaa aggggtgacc 124560
 cagagtagag ataaagaaca aaatattctg ttgaaaaaac tatgaatcaa tcaacctaat 124620
 gaattatcaa catggatgta ggtgtagttg aagaagatgg tcagtgagaa tatggaaaca 124680
 gatatcagga attaaagtca tattctaggg cagaaaagca ttcattggagg tatttagatga 124740
 tagctgaagt aatttgaaga agctggtgtg aagtttttgt tgagaagcag agaagatatt 124800
 aatttaattg tctagatcag agattggaaa actcttctct ataaagggca agatggtaaa 124860
 tatttttaggg actgcaggcc acataggatt tctgtcacat tgtttggtgg ggtttttttg 124920
 tttattttgt tttttaaaaa ctcttgaaa atgtaaaaaac cattcttagt ttactggcca 124980
 taaaaacaca agctgtgagg cacattagcc gtaggttctg gtttcctaac ttctgatcca 125040
 gaagaacaaa cacaaggcct accaaccacc ccaacatcta aaatcatcac taatcatgta 125100

ES 2 532 883 T3

ctcagcacct gctcattatt aggaggctat gctagtttct gaaaagcaga agtagtaaat 125160
 gataactggg gctatagtgc atcctaatat aaccatgttt cattccagga aggtgacaga 125220
 gagtaagatg atgagaagga tgtttagaat caagaagaat ttgcctctga tagagcatgg 125280
 gttctgtgaa gtaaaatgga aaggagcact agataagaac tgaatagggg taaatatgta 125340
 tgggaaaagt aacaagggtgc tcagagacat gaatttgaag acttctgtgc agaaagtgc 125400
 aggctcatta ataccatctc atgttgaagt tatttctaaa gtcagtccat tgtgatcaca 125460
 tttctctcaa gaatatcttc taattttatt ttagatcaca ttagatcaca ttgtctccat 125520
 tgatcaaaaa cactaaatac taaaaagtta gtatttataaa accacaaata atcttttacc 125580
 aaagctagtg taattgtagt aactaaagca aaagtacca tttaattatc aaagcaacag 125640
 aggtagcttt cctccctcca ccccttacc ttttcagagt acccacttat atggctcatat 125700
 ttcagaaaag aaatgaagaa agagaaaagt taggtttgac agagtacaaa ggaggagaga 125760
 caagagagtg aaaatagtat taagttgcat attacctgta tcagccaaat ctttaccttt 125820
 tcatttttta tatttttact tcagttatct tatggaaatt tcttaaacag agagagttag 125880
 gtgtcaggta tgtgaaaaga catgaaatgt gtgttcagaa gtatgagatg aggcaaatgt 125940
 gatactacca aaaacagagg aagtcatttc gtagaaaaaa ctttttagcct gtttttgaag 126000
 aggcttcaca tctagcacat ctatttttga agtgtgaaaa gcaagagagt gcttcatttt 126060
 gggggagtgt tgcttcttcc catagacaga aacatatgtg aagaacaagg gtcaccacag 126120
 ctaactgttc ctgatagact cagagaaagg gtgggtgggc aatgtcaatt tgtcttatct 126180
 cctgtacca ttttgttgc attttcatta ataacaggta ggatggtttt atggtaatat 126240
 atatgtcact gatctggatc aactaggcca ccaacacaaa tctgaatact gagaggagaa 126300
 agatacacac acacacacac gttttctttg ggacctgtag ttgaggctgt aatgtcttac 126360
 ttccctacca ggtatgcact ctactagag aagacaatcg agaatttga ggaaaacctg 126420
 aggatgagca gcttcacgtt ctgcctttat acaaagtctc tgacgtggat gagtttggga 126480
 gtgtggaagc tcaggaggag aaaaaacgga gtggtgccat tcaggtagtg agttcttttc 126540
 ggcgaaaagt caggatgtta gcagagccag tcaagacttg ccgacaaagg aaactagaag 126600
 ccaagaaagc tgcagctgaa aagcttttct ccttgagaaa cagctcaaat aaaaatgaaa 126660
 aggaaaagtc agcccatca cgtacaaaac aaactgaaaa cgcaagccag gctaaacagt 126720
 tggcaggtaa atttaagtta aagcatttgt agataaatgt gttgtgtggt atattaaaaa 126780
 tgaaaattat tttggttttg ccccatcaa ottgtaagtt ctggggtaca catgcaggat 126840
 gtgcaggttt gttatacagg taaacatgtg ccatggtgat ttgctgcaca gatcaacca 126900
 ttacctaggt attaagccca gcatcttct gatgcacccc taccaatagg cgccagtgtg 126960
 tgtgtgcccc actccccac catgtgtcca tgtgtcttta ttgtaaaatg aacattgtta 127020

ES 2 532 883 T3

attttgaaaa gttatatcaa tcatggtctt agttctgtgc cagagtcttc tctaaagtag 127080
 caagggccag gctttgttct cagagatggt aatgagatat tgcaccatca acatggaaaa 127140
 catggaaaaag tctggatttt attctataat aaacagcaac tttttttaac aggtaagtga 127200
 tacgatgaaa ttcattgtaa tttggcagta ggccaaatta gtagaggagc taatagtttg 127260
 gagataaaca cagtaaacca gaactgaggt aacaagacct tgaattttgt tggttagtag 127320
 caaagatata gcaaaatgat gcaaatgagc tcttccaaaa tgggaaaaag aaaatacatt 127380
 ggtgacaaaa cactggaatg aaagagaaga aaagtttaaa gatgaccca aagttttaa 127440
 cctaaactta acctactgtt ttaggtttct aaaacagtac tatttattga aataagtaag 127500
 tttgaaaaata tgattgagag agagagaggg gagaatgaaa ctttttctct tagacatgtt 127560
 gagtctgtgg tttaggaggg gttctacatg tagattatgc tacaaaactt ttacccatca 127620
 aaatagatta cagctgtagt aataacaata gaacattatt catgaatact aagttattgt 127680
 ctttccatag cctcctgctt tatgtctgca gtttgtaaaa agaaaaaaaa tccaaaattt 127740
 gggatggtat tggcctggcc attaacaaaa gcaaaccagt ttgcttaaaa ctgacctct 127800
 ttgctgcttc atgaagtcaa atttctctac tgattcattt ccaagctcag aggaactaag 127860
 ttaataaatt tagaatatgc taaagatgct tgataagtgt ttattgactg gttgacttaa 127920
 cactaagtaa atactgttca cttaggtttag ctgtgaaata taattagata gaacctgtgc 127980
 tctgctccct tttaactggc ttctgcaggt aataatccct tctgttctca gaactgccat 128040
 tgcagtttca tctatttggt cttaaactcat atgacttttt aaagtgaggt caaaacagaa 128100
 gtatgacttt taaaagtttc atttaciaaag ctgaaagttt ctttaaagtg ttatctacia 128160
 ctgtgttaac ttctttctct gaaagcctgc ttataaagta gcacttggtg attatataag 128220
 atgctttttg tgtttaaata cgtgtcattc ttttttttca caacattccc gaattctaca 128280
 taataaatct tattttaatt atttagcaaa ttccattgca tgccaggcaa tgaagaagta 128340
 agtaaaataa aacatttttc ttcccattta ggaatttact taccagtggg ggtgaagaga 128400
 gggctaaaaa cataactata atacattgtg agtattgctt tatcagatct atctttgcag 128460
 ttgagtatta caaaagcact agaagatgag gtcaaagcgg tcccttgagg aagggatgac 128520
 tacaccaagg aaggataggg agagagggag gaaaagggag gcacttcaag cagaggcatg 128580
 ttcagaagtt ccaaagaaca ttttgccttc aatggaatgg ctttgatgtt ttattacatt 128640
 ttttttttca ctaagttttg tattttctaat gccttagaca aaaaattgtg ctggacaatg 128700
 atcagaaccc tgactttgct ctatcttttg cttaatgggt gtcgtatata actagtggag 128760
 tttcttacct acatttaagt atctcacta gccttcataa aataatcata aacatcaaag 128820
 atacctgttt ctgttctctc ttacctgtc cacagaactt ttgcgacttt caggaccagt 128880
 catgcagcag tcccagcagc cccagcctct acagaagcag ccaccacagc cccagcagca 128940

ES 2 532 883 T3

gcagagaccc cagcagcagc agccacatca cctcagaca gagtctgtca actcttattc 129000
tgcttctgga tccaccaatc catacatgag acggcccaat ccagttagtc cttatccaaa 129060
ctcttcacac acttcagata tctatggaag caccagccct atgaacttct attccacctc 129120
atctcaagct gcaggttcat atttgaattc ttctaattcc atgaaccctt accctgggct 129180
tttgaatcag aatacccaat atccatcata tcaatgcaat ggaaacctat cagtggacaa 129240
ctgctcccca tatctgggtt cctattctcc ccagtctcag ccgatggatc tgtataggta 129300
tccaagccaa gacctctgt ctaagctcag tctaccacc atccatacac tttaccagcc 129360
aaggtttggga aatagccaga gttttacatc taaatactta ggttatggaa accaaaatat 129420
gcagggagat ggtttcagca gttgtaccat tagaccaa atgtacatcatg tagggaaatt 129480
gcctccttat cccactcatg agatggatgg ccaactcatg ggagccacct ctgattacc 129540
accaatctg agcaatccaa acatggacta taaaaatggg gaacatcatt caccttctca 129600
cataatccat aactacagtg cagctccggg catgttcaac agctctcttc atgccctgca 129660
tctccaaaac aaggagaatg acatgctttc ccacacagct aatgggttat caaagatgct 129720
tccagctctt aaccatgata gaactgcttg tgtccaagga ggcttacaca aattaagtga 129780
tgctaattgt caggaaaagc agccattggc actagtccag ggtgtggctt ctggtgcaga 129840
ggacaacgat gaggtctggt cagacagcga gcagagcttt ctggatcctg acattggggg 129900
agtggccgtg gctccaactc atgggtcaat tctcattgag tgtgcaaagc gtgagctgca 129960
tgccacaacc cttttaaaga atcccaatag gaatcacccc accaggatct cctcgtctt 130020
ttaccagcat aagagcatga atgagccaaa acatggcttg gctctttggg aagccaaaat 130080
ggctgaaaaa gcccgtaga aagaggaaga gtgtgaaaag tatggcccag actatgtgcc 130140
tcagaaatcc catggcaaaa aagtgaacg ggagcctgct gagccacatg aaacttcaga 130200
gccacttac ctgcgtttca tcaagtctct tgccgaaagg accatgtccg tgaccacaga 130260
ctccacagta actacatctc catatgcctt cactcgggtc acagggcctt acaacagata 130320
tatatgatat ccccccttt tgttggttac ctcaattgaa aagaccacaa ccaacctgtc 130380
agtagtatag ttctcatgac gtgggcagtg gggaaaggtc acagtattca tgacaaatgt 130440
ggtgggaaaa acctcagctc accagcaaca aaagaggta tcttaccata gcacttaatt 130500
ttcactggct cccaagtggc cacagatggc atctaggaaa agaccaaagc attctatgca 130560
aaaagaaggt ggggaagaaa gtgttcgca atttacattt ttaaactctg gttctattat 130620
tgagcagat gatatgtaa tgtgatcccc ccccccgct tacaactcta cacatctgtg 130680
accactttta ataatatcaa gtttgcatag tcatggaaca caaatcaaac aagtactgta 130740
gtattacagt gacaggaatc ttaaaatacc atctggtgct gaatatatga tgtactgaaa 130800
tactggaatt atggcttttt gaaatgcagt ttttactgta atcttaactt ttatttatca 130860

ES 2 532 883 T3

aaatagctac aggaaacatg aatagcagga aaacactgaa tttgtttga tgttctaaga 130920
 aatggtgcta agaaaatggt gtctttaata gctaaaaatt taatgccttt atatcatcaa 130980
 gatgctatca gtgtactcca gtgcccttga ataatagggg taccttttca ttcaagtttt 131040
 tatcataaatt acctattcctt acacaagcctt agttttttaa atgtggacat tttaaaggcc 131100
 tctggatttt gctcatccag tgaagtcctt gtaggacaat aaacgtatat atgtacatat 131160
 atacacaaac atgtatatgt gcacacacat gtatatgtat aaatatttta aatggtgttt 131220
 tagaagcact ttgtctacct aagctttgac aacttgaaca atgctaaggt actgagatgt 131280
 ttaaaaaaca agtttacttt cattttagaa tgcaaagttg atttttttaa ggaaacaaag 131340
 aaagctttta aaatattttt gcttttagcc atgcatctgc tgatgagcaa ttgtgtccat 131400
 ttttaacaca gccagttaa tccaccatgg ggcttactgg attcaaggga atacgttagt 131460
 ccacaaaaca tgttttctgg tgctcatctc acatgctata ctgtaaaaca gttttataca 131520
 aaattgtatg acaagttcat tgctcaaaaa tgtacagttt taagaatttt ctattaactg 131580
 caggtaataa ttagctgcat gctgcagact caacaaagct agttcactga agcctatgct 131640
 attttatgga tcataggctc ttcagagaac tgaatggcag tctgcctttg tgttgataat 131700
 tatgtacatt gtgacgttgt catctcttag cttaagtgtc ctctttaaca agaggattga 131760
 gcagactgat gcctgcataa gatgaataaa cagggttagt tccatgtgaa tctgtcagtt 131820
 aaaaagaaac aaaaacaggc agctgggttg ctgtgggtgt tttaaactcat taatttgtat 131880
 aaagaagtga aagagttgta tagtaaatta aattgtaaac aaaacttttt taatgcaatg 131940
 ctttagtatt ttagtactgt aaaaaatta aatatataca tatatatata tatatatata 132000
 tatatatata tgagtttgaa gcagaattca catcatgatg gtgctactca gcctgtaca 132060
 aatatatcat aatgtgagct aagaattcat taaatgtttg agtgatgttc ctacttgtca 132120
 tatacctcaa cactagtttg gcaataggat attgaactga gagtgaaagc attgtgtacc 132180
 atcatttttt tccaagtcct tttttttatt gttaaaaaaa aaagcatacc ttttttcaat 132240
 acttgatttc ttagcaagta taacttgaac ttcaaccttt ttgttctaaa aattcaggga 132300
 tatttcagct catgctctcc ctatgccaac atgtcacctg tgtttatgta aaattgttgt 132360
 aggttaataa atatatctt tgtcagggat ttaacctttt ttttttgaat cccttctatt 132420
 ttacttgt 132428

<210> 2

<211> 2002

5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met	Glu	Gln	Asp	Arg	Thr	Asn	His	Val	Glu	Gly	Asn	Arg	Leu	Ser	Pro
1				5					10					15	

ES 2 532 883 T3

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

ES 2 532 883 T3

Gln Ile Asn Ser Ala Gln Thr Ser Asn Ser Glu Leu Pro Pro Lys Pro
 275 280 285
 Ala Ala Val Val Ser Glu Ala Cys Asp Ala Asp Asp Ala Asp Asn Ala
 290 295 300
 Ser Lys Leu Ala Ala Met Leu Asn Thr Cys Ser Phe Gln Lys Pro Glu
 305 310 315 320
 Gln Leu Gln Gln Gln Lys Ser Val Phe Glu Ile Cys Pro Ser Pro Ala
 325 330 335
 Glu Asn Asn Ile Gln Gly Thr Thr Lys Leu Ala Ser Gly Glu Glu Phe
 340 345 350
 Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Leu Gln Ala Pro Gly Gly Ser Ser Glu
 355 360 365
 Arg Tyr Leu Lys Gln Asn Glu Met Asn Gly Ala Tyr Phe Lys Gln Ser
 370 375 380
 Ser Val Phe Thr Lys Asp Ser Phe Ser Ala Thr Thr Thr Pro Pro Pro
 385 390 395 400
 Pro Ser Gln Leu Leu Leu Ser Pro Pro Pro Pro Leu Pro Gln Val Pro
 405 410 415
 Gln Leu Pro Ser Glu Gly Lys Ser Thr Leu Asn Gly Gly Val Leu Glu
 420 425 430
 Glu His His His Tyr Pro Asn Gln Ser Asn Thr Thr Leu Leu Arg Glu
 435 440 445
 Val Lys Ile Glu Gly Lys Pro Glu Ala Pro Pro Ser Gln Ser Pro Asn
 450 455 460
 Pro Ser Thr His Val Cys Ser Pro Ser Pro Met Leu Ser Glu Arg Pro
 465 470 475 480
 Gln Asn Asn Cys Val Asn Arg Asn Asp Ile Gln Thr Ala Gly Thr Met
 485 490 495
 Thr Val Pro Leu Cys Ser Glu Lys Thr Arg Pro Met Ser Glu His Leu
 500 505 510
 Lys His Asn Pro Pro Ile Phe Gly Ser Ser Gly Glu Leu Gln Asp Asn
 515 520 525

ES 2 532 883 T3

Cys Gln Gln Leu Met Arg Asn Lys Glu Gln Glu Ile Leu Lys Gly Arg
 530 535 540
 Asp Lys Glu Gln Thr Arg Asp Leu Val Pro Pro Thr Gln His Tyr Leu
 545 550 555 560
 Lys Pro Gly Trp Ile Glu Leu Lys Ala Pro Arg Phe His Gln Ala Glu
 565 570 575
 Ser His Leu Lys Arg Asn Glu Ala Ser Leu Pro Ser Ile Leu Gln Tyr
 580 585 590
 Gln Pro Asn Leu Ser Asn Gln Met Thr Ser Lys Gln Tyr Thr Gly Asn
 595 600 605
 Ser Asn Met Pro Gly Gly Leu Pro Arg Gln Ala Tyr Thr Gln Lys Thr
 610 615 620
 Thr Gln Leu Glu His Lys Ser Gln Met Tyr Gln Val Glu Met Asn Gln
 625 630 635 640
 Gly Gln Ser Gln Gly Thr Val Asp Gln His Leu Gln Phe Gln Lys Pro
 645 650 655
 Ser His Gln Val His Phe Ser Lys Thr Asp His Leu Pro Lys Ala His
 660 665 670
 Val Gln Ser Leu Cys Gly Thr Arg Phe His Phe Gln Gln Arg Ala Asp
 675 680 685
 Ser Gln Thr Glu Lys Leu Met Ser Pro Val Leu Lys Gln His Leu Asn
 690 695 700
 Gln Gln Ala Ser Glu Thr Glu Pro Phe Ser Asn Ser His Leu Leu Gln
 705 710 715 720
 His Lys Pro His Lys Gln Ala Ala Gln Thr Gln Pro Ser Gln Ser Ser
 725 730 735
 His Leu Pro Gln Asn Gln Gln Gln Gln Gln Lys Leu Gln Ile Lys Asn
 740 745 750
 Lys Glu Glu Ile Leu Gln Thr Phe Pro His Pro Gln Ser Asn Asn Asp
 755 760 765
 Gln Gln Arg Glu Gly Ser Phe Phe Gly Gln Thr Lys Val Glu Glu Cys
 770 775 780

ES 2 532 883 T3

Phe His Gly Glu Asn Gln Tyr Ser Lys Ser Ser Glu Phe Glu Thr His
 785 790 795 800
 Asn Val Gln Met Gly Leu Glu Glu Val Gln Asn Ile Asn Arg Arg Asn
 805 810 815
 Ser Pro Tyr Ser Gln Thr Met Lys Ser Ser Ala Cys Lys Ile Gln Val
 820 825 830
 Ser Cys Ser Asn Asn Thr His Leu Val Ser Glu Asn Lys Glu Gln Thr
 835 840 845
 Thr His Pro Glu Leu Phe Ala Gly Asn Lys Thr Gln Asn Leu His His
 850 855 860
 Met Gln Tyr Phe Pro Asn Asn Val Ile Pro Lys Gln Asp Leu Leu His
 865 870 875 880
 Arg Cys Phe Gln Glu Gln Glu Gln Lys Ser Gln Gln Ala Ser Val Leu
 885 890 895
 Gln Gly Tyr Lys Asn Arg Asn Gln Asp Met Ser Gly Gln Gln Ala Ala
 900 905 910
 Gln Leu Ala Gln Gln Arg Tyr Leu Ile His Asn His Ala Asn Val Phe
 915 920 925
 Pro Val Pro Asp Gln Gly Gly Ser His Thr Gln Thr Pro Pro Gln Lys
 930 935 940
 Asp Thr Gln Lys His Ala Ala Leu Arg Trp His Leu Leu Gln Lys Gln
 945 950 955 960
 Glu Gln Gln Gln Thr Gln Gln Pro Gln Thr Glu Ser Cys His Ser Gln
 965 970 975
 Met His Arg Pro Ile Lys Val Glu Pro Gly Cys Lys Pro His Ala Cys
 980 985 990
 Met His Thr Ala Pro Pro Glu Asn Lys Thr Trp Lys Lys Val Thr Lys
 995 1000 1005
 Gln Glu Asn Pro Pro Ala Ser Cys Asp Asn Val Gln Gln Lys Ser
 1010 1015 1020
 Ile Ile Glu Thr Met Glu Gln His Leu Lys Gln Phe His Ala Lys
 1025 1030 1035

ES 2 532 883 T3

Ser	Leu	Phe	Asp	His	Lys	Ala	Leu	Thr	Leu	Lys	Ser	Gln	Lys	Gln
1040						1045					1050			
Val	Lys	Val	Glu	Met	Ser	Gly	Pro	Val	Thr	Val	Leu	Thr	Arg	Gln
1055						1060					1065			
Thr	Thr	Ala	Ala	Glu	Leu	Asp	Ser	His	Thr	Pro	Ala	Leu	Glu	Gln
1070						1075					1080			
Gln	Thr	Thr	Ser	Ser	Glu	Lys	Thr	Pro	Thr	Lys	Arg	Thr	Ala	Ala
1085						1090					1095			
Ser	Val	Leu	Asn	Asn	Phe	Ile	Glu	Ser	Pro	Ser	Lys	Leu	Leu	Asp
1100						1105					1110			
Thr	Pro	Ile	Lys	Asn	Leu	Leu	Asp	Thr	Pro	Val	Lys	Thr	Gln	Tyr
1115						1120					1125			
Asp	Phe	Pro	Ser	Cys	Arg	Cys	Val	Glu	Gln	Ile	Ile	Glu	Lys	Asp
1130						1135					1140			
Glu	Gly	Pro	Phe	Tyr	Thr	His	Leu	Gly	Ala	Gly	Pro	Asn	Val	Ala
1145						1150					1155			
Ala	Ile	Arg	Glu	Ile	Met	Glu	Glu	Arg	Phe	Gly	Gln	Lys	Gly	Lys
1160						1165					1170			
Ala	Ile	Arg	Ile	Glu	Arg	Val	Ile	Tyr	Thr	Gly	Lys	Glu	Gly	Lys
1175						1180					1185			
Ser	Ser	Gln	Gly	Cys	Pro	Ile	Ala	Lys	Trp	Val	Val	Arg	Arg	Ser
1190						1195					1200			
Ser	Ser	Glu	Glu	Lys	Leu	Leu	Cys	Leu	Val	Arg	Glu	Arg	Ala	Gly
1205						1210					1215			
His	Thr	Cys	Glu	Ala	Ala	Val	Ile	Val	Ile	Leu	Ile	Leu	Val	Trp
1220						1225					1230			
Glu	Gly	Ile	Pro	Leu	Ser	Leu	Ala	Asp	Lys	Leu	Tyr	Ser	Glu	Leu
1235						1240					1245			
Thr	Glu	Thr	Leu	Arg	Lys	Tyr	Gly	Thr	Leu	Thr	Asn	Arg	Arg	Cys
1250						1255					1260			
Ala	Leu	Asn	Glu	Glu	Arg	Thr	Cys	Ala	Cys	Gln	Gly	Leu	Asp	Pro
1265						1270					1275			

ES 2 532 883 T3

Glu Thr 1280	Cys Gly Ala Ser	Phe 1285	Ser Phe Gly Cys Ser	Trp Ser Met
Tyr Tyr 1295	Asn Gly Cys Lys	Phe 1300	Ala Arg Ser Lys Ile	Pro Arg Lys
Phe Lys 1310	Leu Leu Gly Asp	Asp 1315	Pro Lys Glu Glu Glu	Lys Leu Glu
Ser His 1325	Leu Gln Asn Leu	Ser 1330	Thr Leu Met Ala Pro	Thr Tyr Lys
Lys Leu 1340	Ala Pro Asp Ala	Tyr 1345	Asn Asn Gln Ile Glu	Tyr Glu His
Arg Ala 1355	Pro Glu Cys Arg	Leu 1360	Gly Leu Lys Glu Gly	Arg Pro Phe
Ser Gly 1370	Val Thr Ala Cys	Leu 1375	Asp Phe Cys Ala His	Ala His Arg
Asp Leu 1385	His Asn Met Gln	Asn 1390	Gly Ser Thr Leu Val	Cys Thr Leu
Thr Arg 1400	Glu Asp Asn Arg	Glu 1405	Phe Gly Gly Lys Pro	Glu Asp Glu
Gln Leu 1415	His Val Leu Pro	Leu 1420	Tyr Lys Val Ser Asp	Val Asp Glu
Phe Gly 1430	Ser Val Glu Ala	Gln 1435	Glu Glu Lys Lys Arg	Ser Gly Ala
Ile Gln 1445	Val Leu Ser Ser	Phe 1450	Arg Arg Lys Val Arg	Met Leu Ala
Glu Pro 1460	Val Lys Thr Cys	Arg 1465	Gln Arg Lys Leu Glu	Ala Lys Lys
Ala Ala 1475	Ala Glu Lys Leu	Ser 1480	Ser Leu Glu Asn Ser	Ser Asn Lys
Asn Glu 1490	Lys Glu Lys Ser	Ala 1495	Pro Ser Arg Thr Lys	Gln Thr Glu
Asn Ala 1505	Ser Gln Ala Lys	Gln 1510	Leu Ala Glu Leu Leu	Arg Leu Ser

ES 2 532 883 T3

Gly	Pro	Val	Met	Gln	Gln	Ser	Gln	Gln	Pro	Gln	Pro	Leu	Gln	Lys
1520						1525					1530			
Gln	Pro	Pro	Gln	Pro	Gln	Gln	Gln	Gln	Arg	Pro	Gln	Gln	Gln	Gln
1535						1540					1545			
Pro	His	His	Pro	Gln	Thr	Glu	Ser	Val	Asn	Ser	Tyr	Ser	Ala	Ser
1550						1555					1560			
Gly	Ser	Thr	Asn	Pro	Tyr	Met	Arg	Arg	Pro	Asn	Pro	Val	Ser	Pro
1565						1570					1575			
Tyr	Pro	Asn	Ser	Ser	His	Thr	Ser	Asp	Ile	Tyr	Gly	Ser	Thr	Ser
1580						1585					1590			
Pro	Met	Asn	Phe	Tyr	Ser	Thr	Ser	Ser	Gln	Ala	Ala	Gly	Ser	Tyr
1595						1600					1605			
Leu	Asn	Ser	Ser	Asn	Pro	Met	Asn	Pro	Tyr	Pro	Gly	Leu	Leu	Asn
1610						1615					1620			
Gln	Asn	Thr	Gln	Tyr	Pro	Ser	Tyr	Gln	Cys	Asn	Gly	Asn	Leu	Ser
1625						1630					1635			
Val	Asp	Asn	Cys	Ser	Pro	Tyr	Leu	Gly	Ser	Tyr	Ser	Pro	Gln	Ser
1640						1645					1650			
Gln	Pro	Met	Asp	Leu	Tyr	Arg	Tyr	Pro	Ser	Gln	Asp	Pro	Leu	Ser
1655						1660					1665			
Lys	Leu	Ser	Leu	Pro	Pro	Ile	His	Thr	Leu	Tyr	Gln	Pro	Arg	Phe
1670						1675					1680			
Gly	Asn	Ser	Gln	Ser	Phe	Thr	Ser	Lys	Tyr	Leu	Gly	Tyr	Gly	Asn
1685						1690					1695			
Gln	Asn	Met	Gln	Gly	Asp	Gly	Phe	Ser	Ser	Cys	Thr	Ile	Arg	Pro
1700						1705					1710			
Asn	Val	His	His	Val	Gly	Lys	Leu	Pro	Pro	Tyr	Pro	Thr	His	Glu
1715						1720					1725			
Met	Asp	Gly	His	Phe	Met	Gly	Ala	Thr	Ser	Arg	Leu	Pro	Pro	Asn
1730						1735					1740			
Leu	Ser	Asn	Pro	Asn	Met	Asp	Tyr	Lys	Asn	Gly	Glu	His	His	Ser
1745						1750					1755			

ES 2 532 883 T3

Pro	Ser	His	Ile	Ile	His	Asn	Tyr	Ser	Ala	Ala	Pro	Gly	Met	Phe
1760						1765					1770			
Asn	Ser	Ser	Leu	His	Ala	Leu	His	Leu	Gln	Asn	Lys	Glu	Asn	Asp
1775						1780					1785			
Met	Leu	Ser	His	Thr	Ala	Asn	Gly	Leu	Ser	Lys	Met	Leu	Pro	Ala
1790						1795					1800			
Leu	Asn	His	Asp	Arg	Thr	Ala	Cys	Val	Gln	Gly	Gly	Leu	His	Lys
1805						1810					1815			
Leu	Ser	Asp	Ala	Asn	Gly	Gln	Glu	Lys	Gln	Pro	Leu	Ala	Leu	Val
1820						1825					1830			
Gln	Gly	Val	Ala	Ser	Gly	Ala	Glu	Asp	Asn	Asp	Glu	Val	Trp	Ser
1835						1840					1845			
Asp	Ser	Glu	Gln	Ser	Phe	Leu	Asp	Pro	Asp	Ile	Gly	Gly	Val	Ala
1850						1855					1860			
Val	Ala	Pro	Thr	His	Gly	Ser	Ile	Leu	Ile	Glu	Cys	Ala	Lys	Arg
1865						1870					1875			
Glu	Leu	His	Ala	Thr	Thr	Pro	Leu	Lys	Asn	Pro	Asn	Arg	Asn	His
1880						1885					1890			
Pro	Thr	Arg	Ile	Ser	Leu	Val	Phe	Tyr	Gln	His	Lys	Ser	Met	Asn
1895						1900					1905			
Glu	Pro	Lys	His	Gly	Leu	Ala	Leu	Trp	Glu	Ala	Lys	Met	Ala	Glu
1910						1915					1920			
Lys	Ala	Arg	Glu	Lys	Glu	Glu	Glu	Cys	Glu	Lys	Tyr	Gly	Pro	Asp
1925						1930					1935			
Tyr	Val	Pro	Gln	Lys	Ser	His	Gly	Lys	Lys	Val	Lys	Arg	Glu	Pro
1940						1945					1950			
Ala	Glu	Pro	His	Glu	Thr	Ser	Glu	Pro	Thr	Tyr	Leu	Arg	Phe	Ile
1955						1960					1965			
Lys	Ser	Leu	Ala	Glu	Arg	Thr	Met	Ser	Val	Thr	Thr	Asp	Ser	Thr
1970						1975					1980			
Val	Thr	Thr	Ser	Pro	Tyr	Ala	Phe	Thr	Arg	Val	Thr	Gly	Pro	Tyr
1985						1990					1995			
Asn	Arg	Tyr	Ile											
2000														

5 <210> 3
 <211> 311
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10 <400> 3

ES 2 532 883 T3

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

ES 2 532 883 T3

Pro Asp Ala Tyr Asn Asn Gln Ile Glu Tyr Glu His Arg Ala Pro Glu
210 215 220

Cys Arg Leu Gly Leu Lys Glu Gly Arg Pro Phe Ser Gly Val Thr Ala
225 230 235 240

Cys Leu Asp Phe Cys Ala His Ala His Arg Asp Leu His Asn Met Gln
245 250 255

Asn Gly Ser Thr Leu Val Cys Thr Leu Thr Arg Glu Asp Asn Arg Glu
260 265 270

Phe Gly Gly Lys Pro Glu Asp Glu Gln Leu His Val Leu Pro Leu Tyr
275 280 285

Lys Val Ser Asp Val Asp Glu Phe Gly Ser Val Glu Ala Gln Glu Glu
290 295 300

Lys Lys Arg Ser Gly Ala Ile
305 310

<210> 4

<211> 80

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Asn Asp Glu Val Trp Ser Asp Ser Glu Gln Ser Phe Leu Asp Pro Asp
1 5 10 15

Ile Gly Gly Val Ala Val Ala Pro Thr His Gly Ser Ile Leu Ile Glu
20 25 30

Cys Ala Lys Arg Glu Leu His Ala Thr Thr Pro Leu Lys Asn Pro Asn
35 40 45

Arg Asn His Pro Thr Arg Ile Ser Leu Val Phe Tyr Gln His Lys Ser
50 55 60

Met Asn Glu Pro Lys His Gly Leu Ala Leu Trp Glu Ala Lys Met Ala
65 70 75 80

10

<210> 5

<211> 22

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Cebador

<400> 5

20 tgaactccc acattagctg gt 22

<210> 6

<211> 24

<212> ADN

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cebador

<400> 6
 gaaactgtag caccattagg catt 24

 5 <210> 7
 <211> 25
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 10 <220>
 <223> Cebador

 <400> 7
 caaaaggcta atggagaaag acgta 25

 15 <210> 8
 <211> 25
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Cebador

 <400> 8
 gcagaaaagg aatccttagt gaaca 25
 25
 <210> 9
 <211> 25
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Cebador

 <400> 9
 gccagtaaac tagctgcaat gctaa 25
 35
 <210> 10
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Cebador

 45 <400> 10
 tgcctcatta cgttttagat ggg 23

 <210> 11
 <211> 22
 50 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador
 55
 <400> 11
 gaccaatgtc agaacacctc aa 22

 <210> 12
 60 <211> 26
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 65 <223> Cebador

<400> 12
 ttgatttga atactgatt tcacca 26

 5 <210> 13
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 10 <220>
 <223> Cebador

 <400> 13
 ttgcaacata agcctcataa acag 24

 15 <210> 14
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Cebador

 <400> 14
 attggcctgt gcatctgact at 22
 25 <210> 15
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 30 <220>
 <223> Cebador

 <400> 15
 35 gcaacttgct cagcaaaggt act 23

 <210> 16
 <211> 24
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador

 45 <400> 16
 tgctgccaga ctcaagattt aaaa 24

 <210> 17
 <211> 34
 50 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador
 55 <400> 17
 atactacata taatacatc taattccctc actg 34

 <210> 18
 60 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 65 <223> Cebador

<400> 18
 tgtttactgc ttgtgtgtg aagg 24

 5 <210> 19
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 10 <220>
 <223> Cebador

 <400> 19
 catttctcag gatgtgtgca tagaat 26

 15 <210> 20
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Cebador

 <400> 20
 cccaattctc agggtcagat tta 23

 25 <210> 21
 <211> 29
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 30 <220>
 <223> Cebador

 <400> 21
 35 agacttatgt atctttcatc tagctctgg 29

 <210> 22
 <211> 25
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador

 45 <400> 22
 actctcttcc tttaaccaa agatt 25

 <210> 23
 <211> 27
 50 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador

 55 <400> 23
 atgccacagc ttaatacaga gttagat 27

 <210> 24
 60 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 65 <223> Cebador

<400> 24
 tgtcatattg ttcacttcac ctaagctaata 30

 5 <210> 25
 <211> 28
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 10 <220>
 <223> Cebador

 <400> 25
 gatgctttat ttagtaataa aggcacca 28

 15 <210> 26
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Cebador

 <400> 26
 ttcaacaatt aagaggaaaa gtagaataa tattt 35
 25
 <210> 27
 <211> 25
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Cebador

 <400> 27
 35 tgtcattcca tttgtttct ggata 25

 <210> 28
 <211> 26
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador

 45 <400> 28
 aaattacca gtctgcata tgtctt 26

 <210> 29
 <211> 22
 50 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador
 55
 <400> 29
 ctggatcaac taggccacca ac 22

 <210> 30
 60 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 65 <223> Cebador

<400> 30
 ccaaaattaa caatgttcat ttacaataa gag 33

 5 <210> 31
 <211> 25
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 10 <220>
 <223> Cebador

 <400> 31
 gctcttatct ttgcttaatg ggtgt 25

 15 <210> 32
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Cebador

 <400> 32
 tgtacatttg gtctaattgt acaactg 27

 25 <210> 33
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 30 <220>
 <223> Cebador

 <400> 33
 aatggaaacc tatcagtgga caac 24

 35 <210> 34
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador

 45 <400> 34
 tatatatctg ttgtaaggcc ctgtga 26

 <210> 35
 <211> 23
 50 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador

 55 <400> 35
 cagagcttgc tggatcctga cat 23

 <210> 36
 60 <211> 25
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 65 <223> Cebador

	<400> 36	
	gcccacgtca tgagaactat actac 25	
	<210> 37	
5	<211> 28	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Cebador	
	<400> 37	
	tctaagctca gtctaccacc catccata 28	
15	<210> 38	
	<211> 25	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Cebador	
	<400> 38	
25	tgctcgctgt ctgaccagac ctcat 25	
	<210> 1	
	<211> 6869	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 39	
	cctgtgccatc ccaacctccc acctcgcccc caaccttcgc gcttgctctg cttcttctoc 60	
	caggggtgga gaccgcgga ggtccccggg gttcccagg gctgcacct tccccgcgct 120	
	cgccagccct ggccccact ccgcgctggt ccgggcgcac cactcccccc gcgccactgc 180	
	acggcgtag ggcagcccag gtctccactg cgcgccccgc tgtacggccc cagggtgccgc 240	
	cggcctttgt gctggacgcc cgggtgcggg ggctaattcc ctgggagccg gggtgaggg 300	
	ccccagggcg gcggcgagg ccggggcgga gcgggaggag gccggggcgg agcaggagga 360	
	ggccccggcg gaggaggaga gccggcggtg gcggcagtg cagcggcgag agccttggcg 420	
	gccgcgcgc cctcctcgc agcgccgcgc gcccggtcc cgtcgcgat caagtacgt 480	
	ccgccccctc ggcgcgccg ccccgagac ccggccccgc tgagtgatga gaacagacgt 540	
	caaactgcct tatgaatatt gatgcggagg ctaggctgct ttcgtagaga agcagaagga 600	
	agcaagatgg ctgcccttta ggatttgta gaaaggagac ccgactgcaa ctgctggatt 660	
	gctgcaaggc tgagggacga gaacgaggct ggcaaacatt cagcagcaca ccctctcaag 720	
	attgtttact tgcccttct cctgttgagt tacaacgctt ggaagcagga gatgggctca 780	
	gcagcagcca ataggacatg atccaggaag agcaaattca actagagggc agccttgtgg 840	
	atggccccga agcaagcctg atggaacagg atagaaccaa ccatgttgag ggcaacagac 900	
	taagtccatt cctgatacca tcacctcca tttgccagac agaacctctg gctacaaagc 960	
	tccagaatgg aagcccactg cctgagagag ctcatccaga agtaaatgga gacaccaagt 1020	
	ggcactcttt caaaagttat tatggaatac cctgtatgaa gggaagccag aatagtcgtg 1080	
	tgagtcctga ctttacaca gaaagtagag ggtattccaa gtgtttgcaa aatggaggaa 1140	
	taaaacgcac agttagtga cttctctct ctgggctcct tcagatcaag aaattgaaac 1200	
	aagacaaaa ggctaattgga gaaagacgta acttcggggt aagccaagaa agaaatccag 1260	
	gtgaaagcag tcaaccaa atgtccgatt tgagtataa gaaagaatct gtgagttctg 1320	

ES 2 532 883 T3

tagcccaaga	aaatgcagtt	aaagatttca	ccagtttttc	aacacataac	tgcagtgggc	1380
ctgaaaatcc	agagcttcag	attctgaatg	agcaggaggg	gaaaagtgct	aattaccatg	1440
acaagaacat	tgtattactt	aaaaacaagg	cagtgcataat	gcctaattgg	gctacagttt	1500
ctgcctcttc	cgtggaacac	acacatgggtg	aactcctgga	aaaaacactg	tctcaatatt	1560
atccagattg	tgtttccatt	gcggtgcaga	aaaccacatc	tcacataaat	gccattaaca	1620
gtcaggctac	taatgagttg	tcctgtgaga	tcactcaccc	atcgcatacc	tcagggcaga	1680
tcaattccgc	acagacctct	aactctgagc	tgcctccaaa	gccagctgca	gtggtgagtg	1740
aggcctgtga	tgctgatgat	gctgataatg	ccagtaaact	agctgcaatg	ctaaatacct	1800
gttcctttca	gaaaccagaa	caactacaac	aacaaaaatc	agtttttgag	atatgcccat	1860
ctcctgcaga	aaataacatc	cagggaacca	caaagctagc	gtctggtgaa	gaattctggt	1920
caggttccag	cagcaatttg	caagctcctg	gtggcagctc	tgaacggtat	ttaaaacaaa	1980
atgaaatgaa	tggtgcttac	ttcaagcaaa	gctcagtggt	cactaaggat	tccttttctg	2040
ccactaccac	accaccacca	ccatcacaa	tgtctcttcc	tccccctcct	cctcttccac	2100
aggttcctca	gcttcttcca	gaaggaaaaa	gcactctgaa	tggtggaggt	ttagaagaac	2160
accaccacta	ccccaaccaa	agtaacacaa	cactttttaag	ggaagtgaaa	atagagggtta	2220
aacctgaggc	accaccttcc	cagagtccta	atccatctac	acatgtatgc	agcccttctc	2280
cgatgcttcc	tgaaggcct	cagaataatt	gtgtgaacag	gaatgacata	cagactgcag	2340
ggacaatgac	tgttccattg	tgttctgaga	aaacaagacc	aatgtcagaa	cacctcaagc	2400
ataaccacc	aatttttgg	agcagtgagg	agctacagga	caactgccag	cagttgatga	2460
gaaacaaaga	gcaagagatt	ctgaaggggc	gagacaagga	gcaaacacga	gatcttgtgc	2520
ccccaacaca	gcactatctg	aaaccaggat	ggattgaatt	gaaggccct	cgttttcacc	2580
aagcggaatc	ccatctaaaa	cgtaatgagg	catcactgcc	atcaattctt	cagtatcaac	2640
ccaatctctc	caatcaaatg	acctccaaac	aatacactgg	aaattccaac	atgcctgggg	2700
ggctcccaag	gcaagcttac	accagaaaaa	caacacagct	ggagcacaag	tcacaaatgt	2760
accaagttga	aatgaatcaa	gggcagtccc	aaggtagagt	ggaccaacat	ctccagttcc	2820
aaaaaccctc	acaccaggty	cacttctcca	aaacagacca	tttaccaaaa	gctcatgtgc	2880
agtcactgtg	tggcactaga	tttcattttc	aacaaagagc	agattcccaa	actgaaaaac	2940
ttatgtcccc	agtgttgaaa	cagcaattga	atcaacaggc	ttcagagact	gagccatttt	3000
caaactcaca	ccttttgcaa	cataagcctc	ataaacaggc	agcacaaaca	caaccatccc	3060
agagttcaca	tctccctcaa	aaccagcaac	agcagcaaaa	attacaaata	aagaataaag	3120
aggaaatact	ccagactttt	cctcaccccc	aaagcaacaa	tgatcagcaa	agagaaggat	3180
cattcttttg	ccagactaaa	gtggaagaat	gttttcatgg	tgaaaatcag	tattcaaaat	3240

ES 2 532 883 T3

caagcgagtt	cgagactcat	aatgtccaaa	tgggactgga	ggaagtacag	aatataaatc	3300
gtagaaattc	cccttatagt	cagaccatga	aatcaagtgc	atgcaaaata	caggttttctt	3360
gttcaaacaa	tacacaccta	gtttcagaga	ataaagaaca	gactacacat	cctgaacttt	3420
ttgcaggaaa	caagacccaa	aacttgcata	acatgcaata	ttttccaaat	aatgtgatcc	3480
caaagcaaga	tcttcttcac	aggtgctttc	aagaacagga	gcagaagtca	caacaagctt	3540
cagttctaca	gggatataaa	aatagaaacc	aagatatgtc	tgggtcaacaa	gctgcgcaac	3600
ttgctcagca	aaggtacttg	atacataacc	atgcaaattgt	ttttcctgtg	cctgaccagg	3660
gaggaagtca	cactcagacc	cctccccaga	aggacactca	aaagcatgct	gctctaagggt	3720
ggcatctctt	acagaagcaa	gaacagcagc	aaacacagca	accccaaact	gagtcttgcc	3780
atagtcagat	gcacaggcca	attaagggtg	aacctggatg	caagccacat	gcctgtatgc	3840
acacagcacc	accagaaaac	aaaacatgga	aaaaggtaac	taagcaagag	aatccacctg	3900
caagctgtga	taatgtgcag	caaaagagca	tcattgagac	catggagcag	catctgaagc	3960
agtttcacgc	caagtcgtta	tttgaccata	aggtctttac	tctcaaatca	cagaagcaag	4020
taaaagttga	aatgtcaggg	ccagtcacag	ttttgactag	acaaaccact	gctgcagaac	4080
ttgatagcca	cacccagct	ttagagcagc	aaacaacttc	ttcagaaaag	acaccaacca	4140
aaagaacagc	tgcttctggt	ctcaataatt	ttatagagtc	accttccaaa	ttactagata	4200
ctcctataaa	aaattttattg	gatacacctg	tcaagactca	atatgatttc	ccatcttgca	4260
gatgtgtaga	gcaaattatt	gaaaaagatg	aaggtccttt	ttatacccat	ctaggagcag	4320
gtcctaattgt	ggcagctatt	agagaaatca	tggaagaaaag	gtttggacag	aagggtaaaag	4380
ctattaggat	tgaaagagtc	atctatactg	gtaaagaagg	caaaagttct	cagggatgtc	4440
ctattgctaa	gtgggtggtt	cgcagaagca	gcagtgaaga	gaagctactg	tgtttggtgc	4500
gggagcgagc	tggccacacc	tgtgaggctg	cagtgattgt	gattctcatc	ctggtgtggg	4560
aaggaatccc	gctgtctctg	gctgacaaaac	tctactcgga	gcttaccgag	acgctgagga	4620
aatacggcac	gctcaccaat	cgcgggtgtg	ccttgaatga	agagagaact	tgcgcctgtc	4680
aggggctgga	tccagaaaacc	tgtggtgcct	ccttctcttt	tgggtgttca	tggagcatgt	4740
actacaatgg	atgtaagttt	gccagaagca	agatcccaag	gaagtttaag	ctgcttgggg	4800
atgacccaaa	agaggaagag	aaactggagt	ctcatttgca	aaacctgtcc	actcttatgg	4860
caccaacata	taagaaaactt	gcacctgatg	catataataa	tcagattgaa	tatgaacaca	4920
gagcaccaga	gtgccgtctg	ggtctgaagg	aaggccgtcc	attctcaggg	gtcactgcat	4980
gtttggactt	ctgtgctcat	gcccacagag	acttgcacaa	catgcagaat	ggcagcacat	5040
tggtatgcac	tctcactaga	gaagacaatc	gagaatttgg	aggaaaaact	gaggatgagc	5100
agcttcacgt	tctgccttta	tacaaagtct	ctgacgtgga	tgagtttggg	agtgtggaag	5160

ES 2 532 883 T3

ctcaggagga gaaaaaacgg agtgggtgcc ttcagggtact gagttctttt cggcgaaaag	5220
tcaggatggt agcagagcca gtcaagactt gccgacaaaag gaaactagaa gccaaagaaag	5280
ctgcagctga aaagcttttc tccctggaga acagctcaaa taaaaatgaa aaggaaaagt	5340
cagccccatc acgtacaaaa caaactgaaa acgcaagcca ggctaaacag ttggcagaac	5400
ttttgcgact ttcaggacca gtcattgcagc agtcccagca gcccagcct ctacagaagc	5460
agccaccaca gcccagcag cagcagagac cccagcagca gcagccacat caccctcaga	5520
cagagtctgt caactcttat tctgcttctg gatccaccaa tccatacatg agacggccca	5580
atccagttag tccttatcca aactcttcac acacttcaga tatctatgga agcaccagcc	5640
ctatgaaact ctattccacc tcattctcaag ctgcagggtt atattttgaat tcttctaate	5700
ccatgaaccc ttaccctggg cttttgaatc agaataccca atatccatca tatcaatgca	5760
atggaaacct atcagtggac aactgctccc catatctggg ttcctattct cccagctctc	5820
agccgatgga tctgtatagg tatccaagcc aagaccctct gtctaagctc agtctaccac	5880
ccatccatac actttaccag ccaaggtttg gaaatagcca gagttttaca tctaaatact	5940
taggttatgg aaacccaaat atgcaggag atggtttcag cagttgtacc attagaccaa	6000
atgtacatca tgtagggaaa ttgcctcctt atcccactca tgagatggat ggccacttca	6060
tgggagccac ctctagatta ccacccaatc tgagcaatcc aaacatggac tataaaaatg	6120
gtgaacatca ttcaccttct cacataatcc ataactacag tgcagctccg ggcatgttca	6180
acagctctct tcatgccctg catctccaaa acaaggagaa tgacatgctt tcccacacag	6240
ctaatgggtt atcaaagatg cttccagctc ttaacatga tagaactgct tgtgtccaag	6300
gaggcttaca caaatatagt gatgctaatt gtcaggaaaa gcagccattg gcactagtcc	6360
aggggtgtggc ttctggtgca gaggacaacg atgaggtctg gtcagacagc gagcagagct	6420
ttctggatcc tgacattggg ggagtggccg tggctccaac tcatgggtca attctcattg	6480
agtgtgcaaa gcgtgagctg catgccacaa cccctttaa gaatcccaat aggaatcacc	6540
ccaccaggat ctccctcgtc ttttaccagc ataagagcat gaatgagcca aaacatggct	6600
tggctctttg ggaagccaaa atggctgaaa aagcccgtga gaaagaggaa gagtgtgaaa	6660
agtatggccc agactatgtg cctcagaaat cccatggcaa aaaagtgaaa cgggagcctg	6720
ctgagccaca tgaaacttca gagcccactt acctgcgttt catcaagtct cttgccgaaa	6780
ggaccatgtc cgtgaccaca gactccacag taactacatc tccatatgcc ttcactcggg	6840
tcacagggcc ttacaacaga tatatatga	6869

REIVINDICACIONES

1. Método *in vitro* para diagnosticar un tumor mieloide o un tumor linfóide en un sujeto, que comprende la etapa de analizar una muestra biológica de dicho sujeto:

(i) detectando la presencia de una mutación en el gen del miembro 2 de la familia de proteínas Ten Eleven Translocation (TET2) que codifica el polipéptido que presenta la secuencia SEC ID nº:2, en el que dicha mutación se selecciona de entre el grupo que consiste en supresiones, inserciones y mutaciones de punto, tales como mutaciones que afectan a sitios de corte y empalme, mutación de aminoácido y mutaciones finalizadoras, y/o

(ii) analizando la expresión del gen TET2;

en el que la detección de tal mutación de TET2, de la ausencia de expresión de TET2, o de la expresión de una TET2 truncada es indicativa de un sujeto que desarrolla o está predispuesto a desarrollar un tumor mieloide o un tumor linfóide.

2. Método según la reivindicación 1, en el que dicho tumor que se debe diagnosticar es un tumor mieloide seleccionado en el grupo que comprende síndrome mielodisplásico (MDS), leucemia mieloide aguda (AML), enfermedad mieloproliferativa (MPD) y síndrome mielodisplásico/mieloproliferativo, preferentemente un síndrome mielodisplásico/mieloproliferativo y más preferentemente dicho síndrome mielodisplásico/mieloproliferativo es una leucemia mielomonocítica crónica (CMML).

3. Método según la reivindicación 1, en el que dicho tumor que se debe diagnosticar es un tumor linfóide seleccionado en el grupo que consiste en linfoma, preferentemente linfoma de linfocitos T.

4. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 para diagnosticar una mielofibrosis (MF) en un sujeto, en el que dicho sujeto sufre policitemia vera (PV) o trombocitemia (ET), y en el que la detección de una mutación de TET2 o la subexpresión de TET2 es indicativa de un sujeto que desarrolla o está predispuesto a desarrollar una mielofibrosis (MF).

5. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en el que dicho sujeto sufre síndrome mielodisplásico (MDS), y la detección de una mutación de TET2 o la subexpresión de TET2 es indicativa de un sujeto con un buen pronóstico.

6. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicha mutación se detecta en uno o en ambos alelos del gen TET2 que codifica el polipéptido que presenta la secuencia SEC ID nº:2.

7. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que dicha mutación se selecciona en el grupo que consiste en una supresión o inserción y da como resultado la ausencia de expresión de la proteína TET2 o la expresión de una proteína TET2 truncada.

8. Método según la reivindicación 7, en el que dicha proteína TET2 truncada no comprende por lo menos una de las dos regiones muy conservadas compartidas por las otras proteínas TET y que corresponde a i) la región de 310 aminoácidos situada próxima al centro de la proteína TET2 (aminoácidos 1134 a aminoácido 1444, SEC ID nº:3), o ii) la región de 80 aminoácidos situada próxima al extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4), preferentemente la región de 80 aminoácidos situada próxima al extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4).

9. Método según la reivindicación 8, en el que dicha supresión o inserción se selecciona en el grupo de supresión o inserción presentado en la tabla I, que se refiere a SEC ID nº:39 para la posición de ácido nucleico y a SEC ID nº:2 para la posición de aminoácido.

Tabla I

Cambio de nucleótido	Consecuencia
del1264_1666	p.Glu135 FS
delC 1642	p.Ser261 FS
del1893_1896	p.Lys345FS
delC 2448	p.Gln530 FS
delA 2505	p.Thr549 FS
delC 2524	p. Pro555 FS
Ins 2540_2544	p.Leu560FS
delT 2685	p.Ser609 FS

Cambio de nucleótido	Consecuencia
delA 2815	p.Gln652FS
del 2834_2835	p.His658 FS
delA 2935	p.Glu692 FS
delT 2944	p.Leu699 STOP
delG 2994	p.Glu711 FS
delC 3009	p.His717 FS
insA 3009	p.His717 FS
del 3131_3137	p. Leu757 FS
insC 3151	p.Gln764 FS
delA 3166	p.Gln769 FS
delT3215	p.Phe785 FS
insA3350	p.Gln831FS
insT3995	p.Glu846 FS
delA3430	p.Asn857FS
insT 3465	p.Pro869 FS
insA 5757	p.Gln891 STOP
insCT 3581	pGly 908 FS
del CA 3756_3757	p.Gln966 FS
dupT 3914	p.Glu1026 STOP
delT 3998	p.Leu1046FS
delA 4130	p.Lys1090 FS
delG 4271	p.Glu1137 FS
delA4327	p.Asn1156 FS
delG 4527	p.Ala1223 FS
-	p.del 1237-1239
delG 4932	p.Glu1357 FS
insG 5119	p.Leu 1420 FS
delG 5133	p.Asp 1425 FS
insA 5177	p.Arg1440FS
dupA 5177	p.Arg 1440FS
delC 5222	p.Leu1457 STOP
del5521_5524	pThr1554 FS
insA 5540	p.Tyr1560 FS
del 5583_5605	p.Pro1575FS
delT 5570	p.Leu1637 FS
del5828_5843	p.Met1656 FS
del6049_6050	p.Asp1830 FS
delC 6360	p.Gln1834 FS
del6396_6531	p.Val1846 FS
delA 6507	p.Thr1883 FS
insC 6507	p.Thr1883 FS
del6511_6512	p.Pro1885FS
DelC 6555	p. Leu1889FS
sitio de corte y empalme insC	mutación del exón 8 de sitio de corte y empalme
Del: supresión; ins: inserción; FS: desplazamiento del marco	

10. Método según la reivindicación 7, en el que dicha mutación de aminoácido está situada en el marco de lectura abierto de la proteína TET2, preferentemente en por lo menos una de las dos regiones muy conservadas compartidas por las proteínas TET y que corresponde a i) la región de 310 aminoácidos situada próxima al centro de la proteína TET2 (aminoácidos 1134 a aminoácido 1444, SEC ID nº:3), e ii) la región de 80 aminoácidos situada próxima al extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4), más preferentemente en la región de 80 aminoácidos situada próxima al extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4), y todavía más preferentemente dicha mutación de aminoácido se selecciona en el grupo que comprende o que consiste en I1175V, L1197N, H1219Y, E1235V, C1271W, K1299E, L1340P, R1302G, G1370E, A1344E, N1387S, V1417F, H1868R, G1869W, L1872P, I1873T, R1896M, y S1898F.

11. Método según la reivindicación 7, en el que dicha mutación finalizadora está situada en el marco de lectura abierto de la proteína TET2, preferentemente antes o dentro de por lo menos una de las dos regiones muy conservadas compartidas por las proteínas TET y que corresponde a i) la región de 310 aminoácidos situada próxima al centro de la proteína TET2 (aminoácidos 1134 a aminoácido 1444, SEC ID nº:3), e ii) la región de 80 aminoácidos situada próxima al extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4), más preferentemente antes o dentro de la región de 80 aminoácidos

situada próxima al extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4), y todavía más preferentemente dicha mutación finalizadora se selecciona en el grupo que comprende o que consiste en Q232Stop, Q321Stop, S354Stop, Q417Stop, R544Stop, R550Stop, Q557Stop, Q574Stop, Q635Stop, Q642Stop, Q685Stop, L699Stop, S792Stop, Q891Stop, Q943Stop, E1026Stop, R1067Stop, R1216Stop, Y1225Stop, R1404Stop, L1457Stop, R1465Stop, R1516Stop, Q1524Stop, Q1542Stop, N1624Stop, Y1724Stop, Y1751Stop, L1819Stop, y Q1834Stop.

12. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que dicha mutación en el gen TET2 induce una ausencia de expresión o una subexpresión del polipéptido que presenta la secuencia SEC ID nº:2, preferentemente la ausencia de expresión o subexpresión de por lo menos una de las dos regiones muy conservadas compartidas por las proteínas TET y que corresponde a i) la región de 310 aminoácidos próxima al centro de la proteína TET2 (aminoácidos 1134 a aminoácido 1444, SEC ID nº:3), e ii) la región de 80 aminoácidos situada próxima al extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4), más preferentemente de la región de 80 aminoácidos situada próxima al extremo carboxi terminal de la proteína TET2 (que corresponde al aminoácido 1843 hasta el aminoácido 1922, SEC ID nº:4).

13. Utilización de un kit para diagnosticar *in vitro* un cáncer mieloide o un cáncer linfóide en un sujeto, en la que dicho kit comprende por lo menos una sonda de ácido nucleico u oligonucleótido o por lo menos un anticuerpo, que se puede utilizar en un método como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 para detectar la presencia de una mutación en el gen TET2 y/o analizar la expresión del gen TET2.

14. Utilización según la reivindicación 13, en la que dicho oligonucleótido es por lo menos un cebador de PCR, preferentemente un conjunto de cebadores de PCR, que permite amplificar una región del gen TET2.

MEQDRTNHVEGNRLSPFLIPSPPICQTEPLATKLQNGSPLPERAHPEVNGDTKWHSFKSYYGIPCM
 KGSQNSRVSPDFTQESRGYSKCLQNGGIKRTVSEPSLSGLLQIKKLKQDQKANGERNNFGVSQERN
 PGESSQPNVSDLSKKESVSSVAQENAVKDFTSFSTHNCSPENPELQILNEQEGKSANYHDKNIV
 LLKNKAVLMPNGATVSASSVEHTHGELLEKTLSQYYPDCVSIQVKTTSHTINAINSQATNELSCEI
 THPSHTSGQINSAQTSNSELPPKPAVVSEACDADDADNASKLAAMLNCSFQKPEQLQQQKSVFE
 ICPSPAENNIQGTTKLASGEFCGSSSNLQAPGGSSERYLKQNMNGAYFKQSSVFTKDSFSATT
 TPPPPSQQLLLSPPPPLPQVPQLPSEGKSTLNGGVLEEHHHPNQSNTTLLREVKIEGKPEAPPSQS
 PNPSTHVCSPSPMLSERPQNNCVNRNDIQTAGTMTVPLCSEKTRPMSEHLKHNPPIFGSSGELQDN
 CQQLMRNKEQEILKGRDKEQTRDLVPPTQHYLKPWIELKAPRFHQAESHKLRNEASLPSILQYQP
 NLSNQMTSKQYTGNSNMPGGLPRQAYTQKTTQLEHKSQMYQVEMNQGSQGTVDQHLQFQKPSHQV
 HFSKTDHLPKAHVQSLCGTRFHFQQRADSQTEKLMSVPLKQHLNQQAASETEPFNSHLLQHKPHKQ
 AAQTQPSQSSHLPPQNQQQQQKLQIKNKEEILQTFPHQPSSNNDQOREGSFFGQTKVEECFHGENQYS
 KSSEFETHNVQMGLEEVQNNRRNSPYSQTMKSSACKIQVSCSNNTHLVSENKEQTTHPELFAGNK
 TQNLHMQYFPPNNVPIKQDLLHRCFQEQEQKSQQASVLQGYKNRNQDMSGQQAQLAQQRYLIHNN
 ANVFPVPDQGGSTQTPPQKDTQKHAALRWHLQKQEQQQQTQQPQTESCHSQMHRPIKVEPGCKPH
 ACMHTAPPENKTWKKVTKQENPPASCDNVQQKSIETMEQHLKQFHAKSLFDHKALTKSQKQVKV
 EMSGPVTVLTRQTTAAELDSHTPALEQQTTSSSEKTPTKRTAASVLNNFIESPSKLLDTPIKNLLDT
 PVKTQYDFPSCRCVEQIIEKDEGPFYTHLGAGPNVAAIREIMEERFGQKGKAIRIERYITGKEGK
SSQGCPIAKWVVRSSSEEKLLCLVRERAGHTCEAAVIVILILVWEGIPLSLADKLYSELTETLRK
YGTLTNRRCALNEERTCACQGLDPETCGASFSGCSWSMYNGCKFARSKIPRKFKLLGDDPFKEE
KLESHLQNLSTLMAPTYKKLAPDAYNNQIEYEHRAPECRLGLKEGRPFSGVTACLDCAHAHRDLH
NMQNGSTLVCTLTREDNREFGGKPEDEQLHVLPLYKVSVDVDEFGSVEAQEEKKRSGAIQVLSSFR
 KVRMLAEPVKTCRQRKLEAKKAAAEKLSLENSNKNKEKKSAPSRTKQENASQAKQLAELLRLS
 GPVMQSSQQPQPLQKQPPQPPQPPQPPQPPQPPHHPQTESVNSYSASGSTNPYMRPNPVSYPNSSH
 TSDIYGSTSPMNFYSTSSQAAGSYLSSNPMNPYPGLLNQNTQYPSYQCNGNLSVDNCSPYLGSYS
 PQSQPMDLYRYPQDPLSKLSLPIHTLYQPRFGNSQSFTSKYLGYNQNMQGDGFSCTIRPNVH
 HVGKLPPYPHTEMDFHMGATSRLPPNLSNPNMDYKNGEHHSPSHIHNYSAPGMFNSSLHALHL
 QNKENDMLSHTANGLSKMLPALNHDRTACVQGGLHKLSDANGQEKQPLALVQGVASGAEDNDEVWS
DSEQSFDPDIGGVAVAPTHGSILIECAKRELHATTPLKNPNRNHPTRISLVFYQHKS MNEPKHGL
ALWEAKMAEKAREKEEECEKYGPDYVPQKSHGKKVKREPAEPHETSEPTYLRFIKSLAERTMSVTT
 DSTVTTSPYAFTRVTGPYNRYI-2002

Figura 1

PACIENTE **nAML2**

PACIENTE **MDS03**

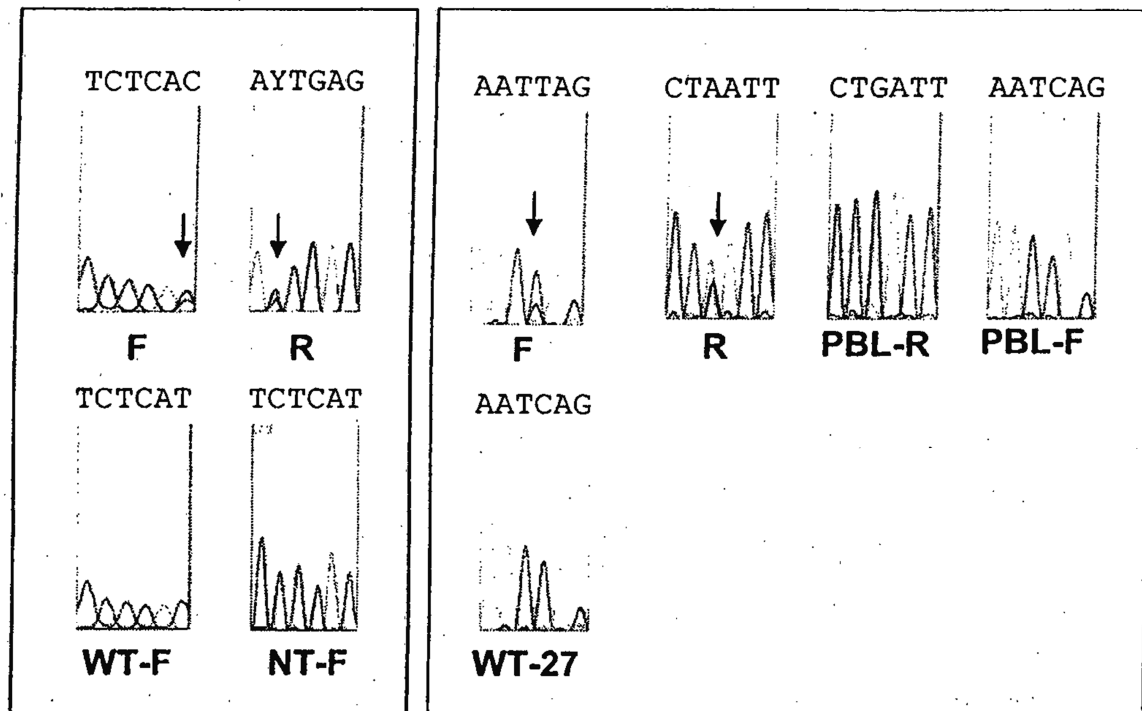


Figura 2

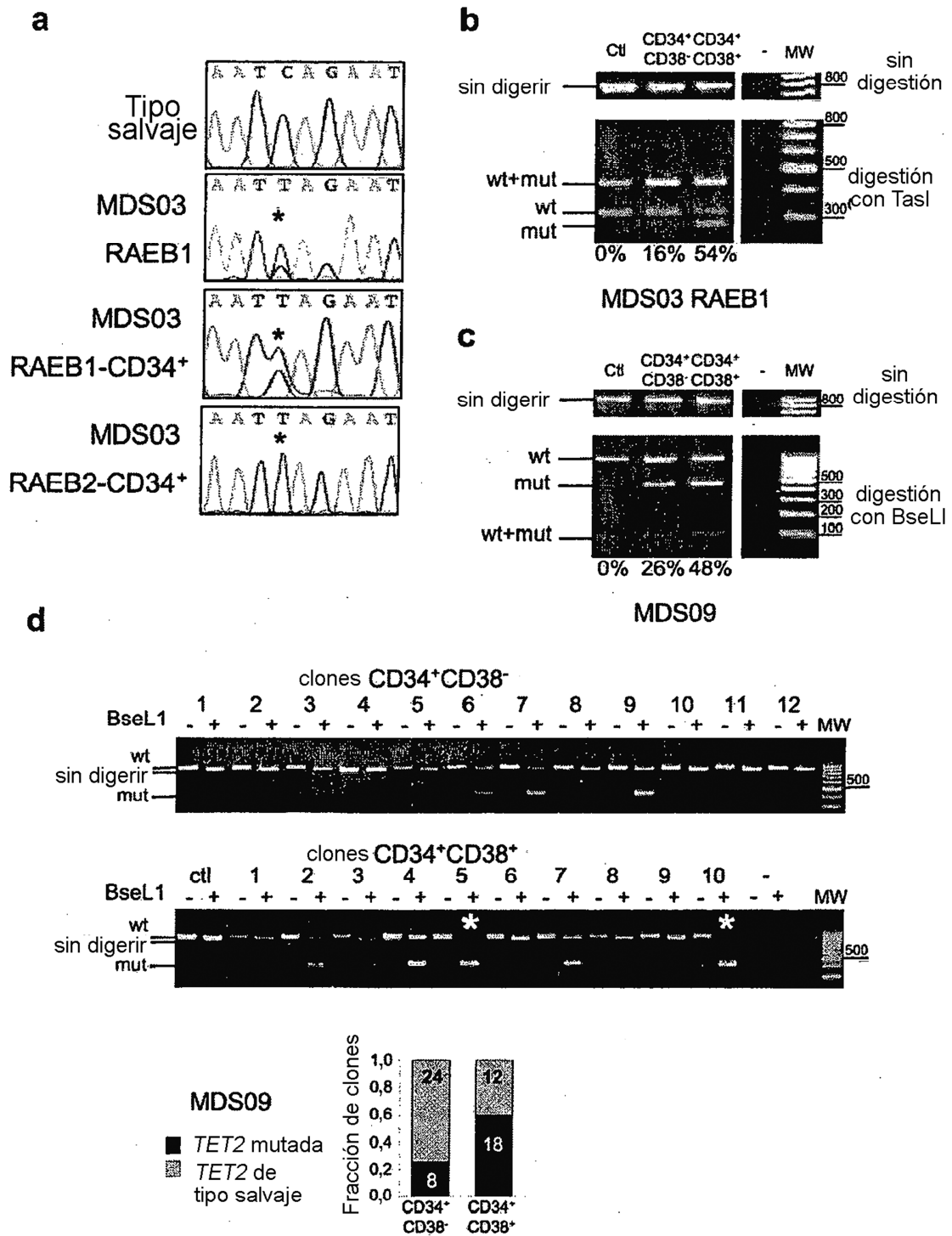


Figura 3

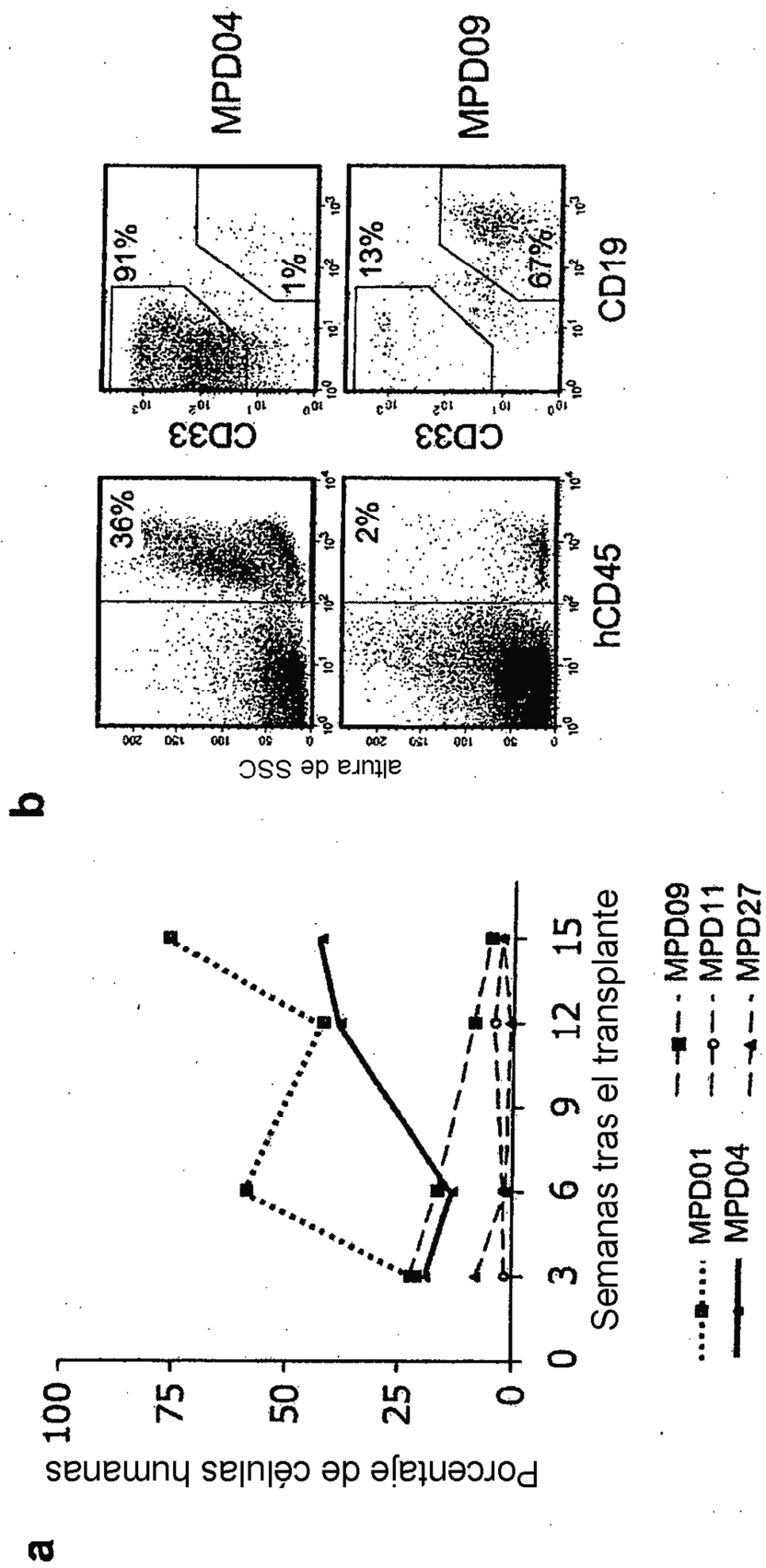


Figura 4

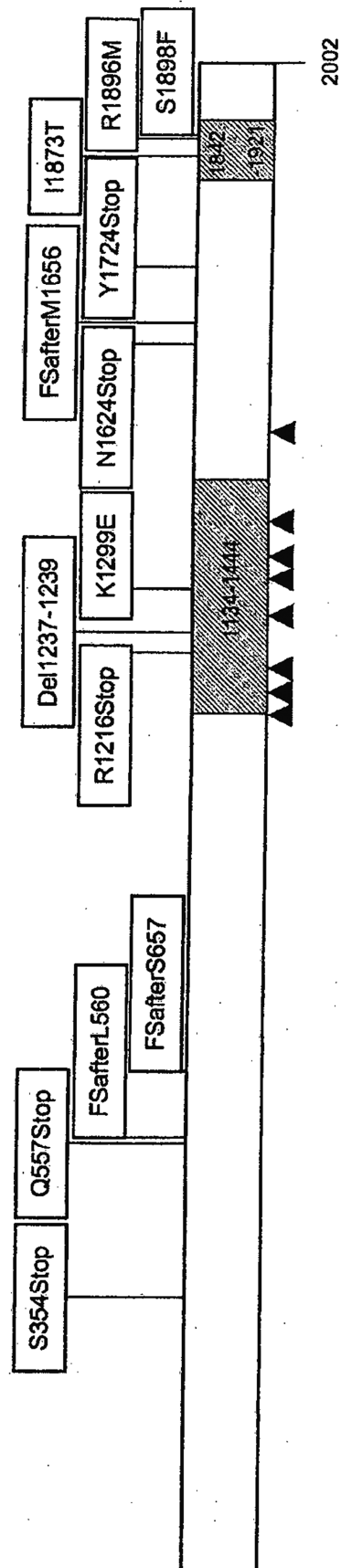


Figura 5

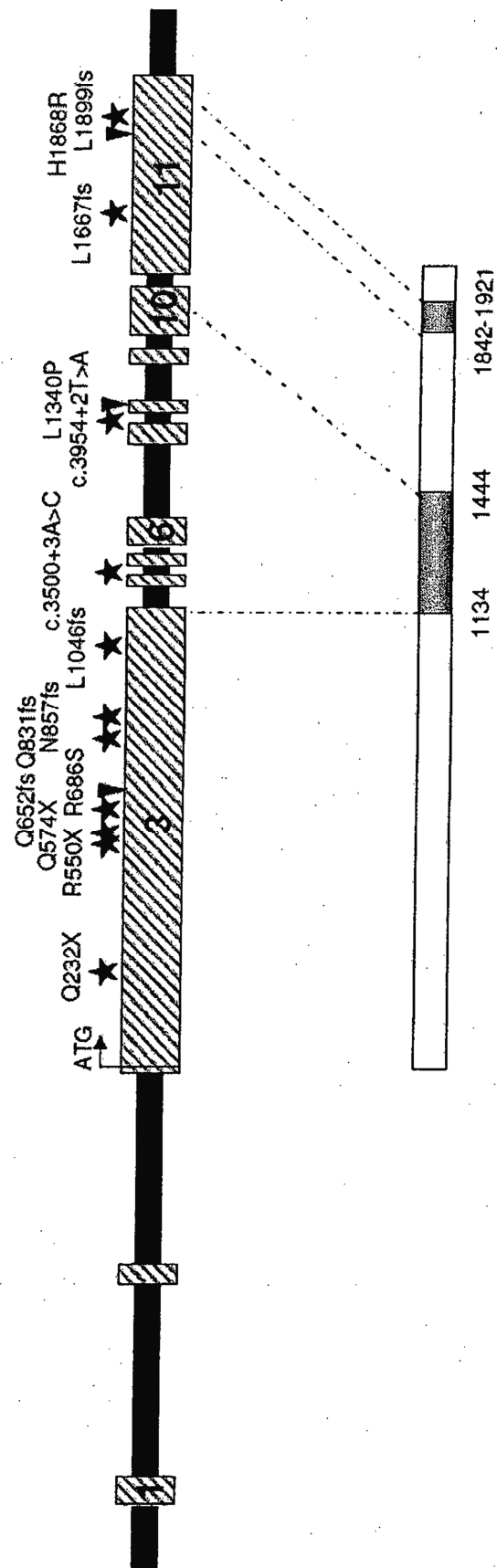


Figura 6

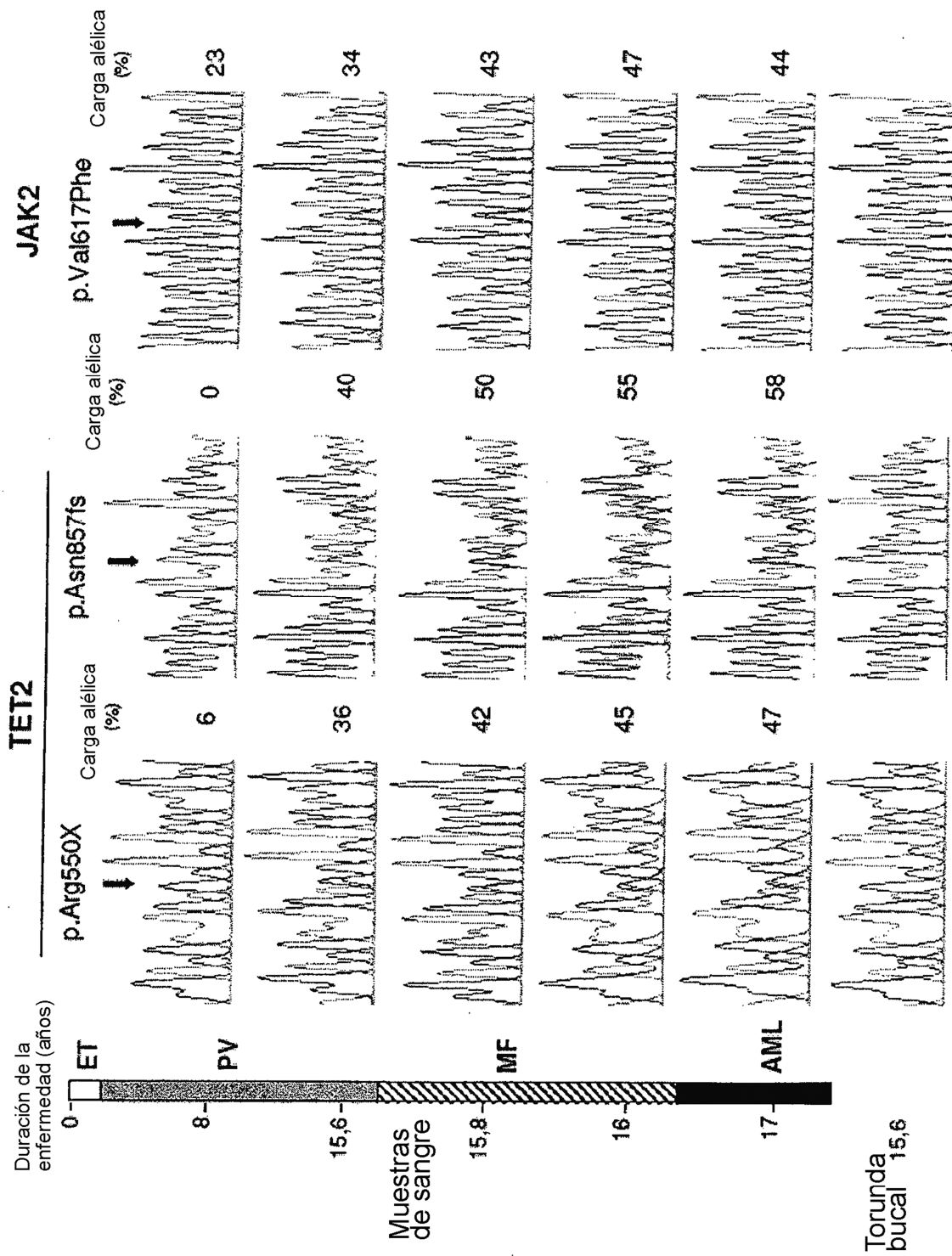


Figura 7

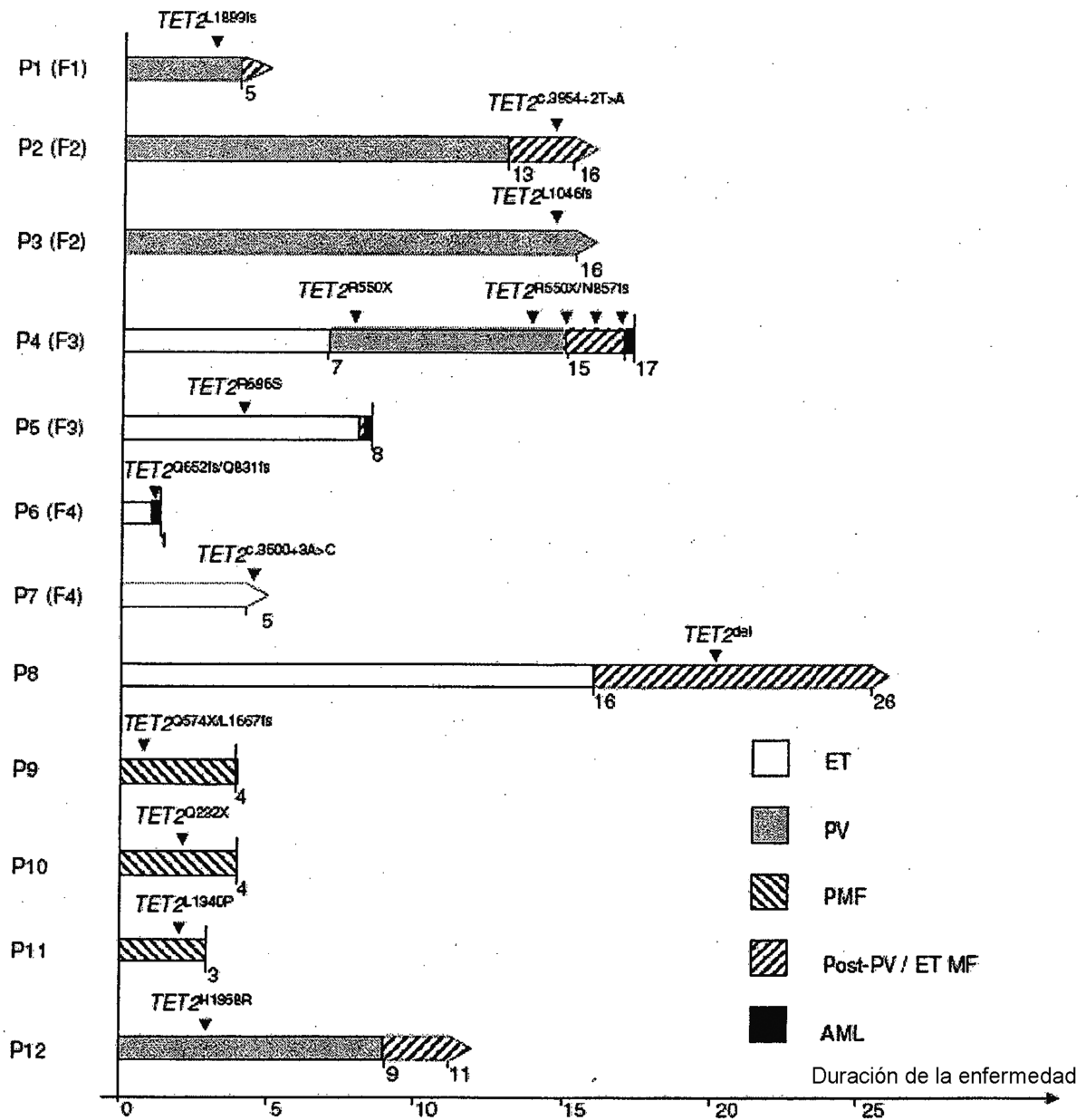


Figura 8

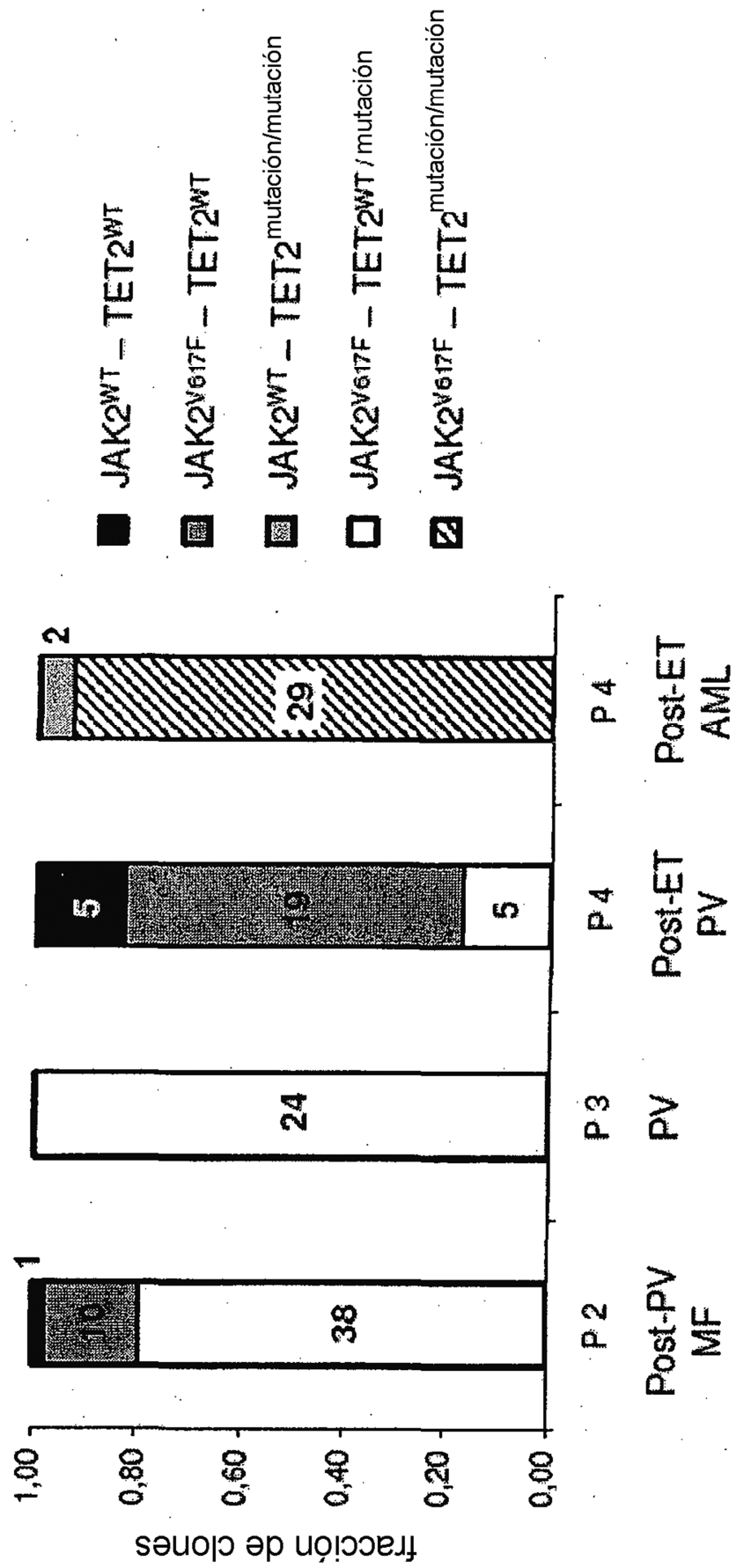


Figura 9

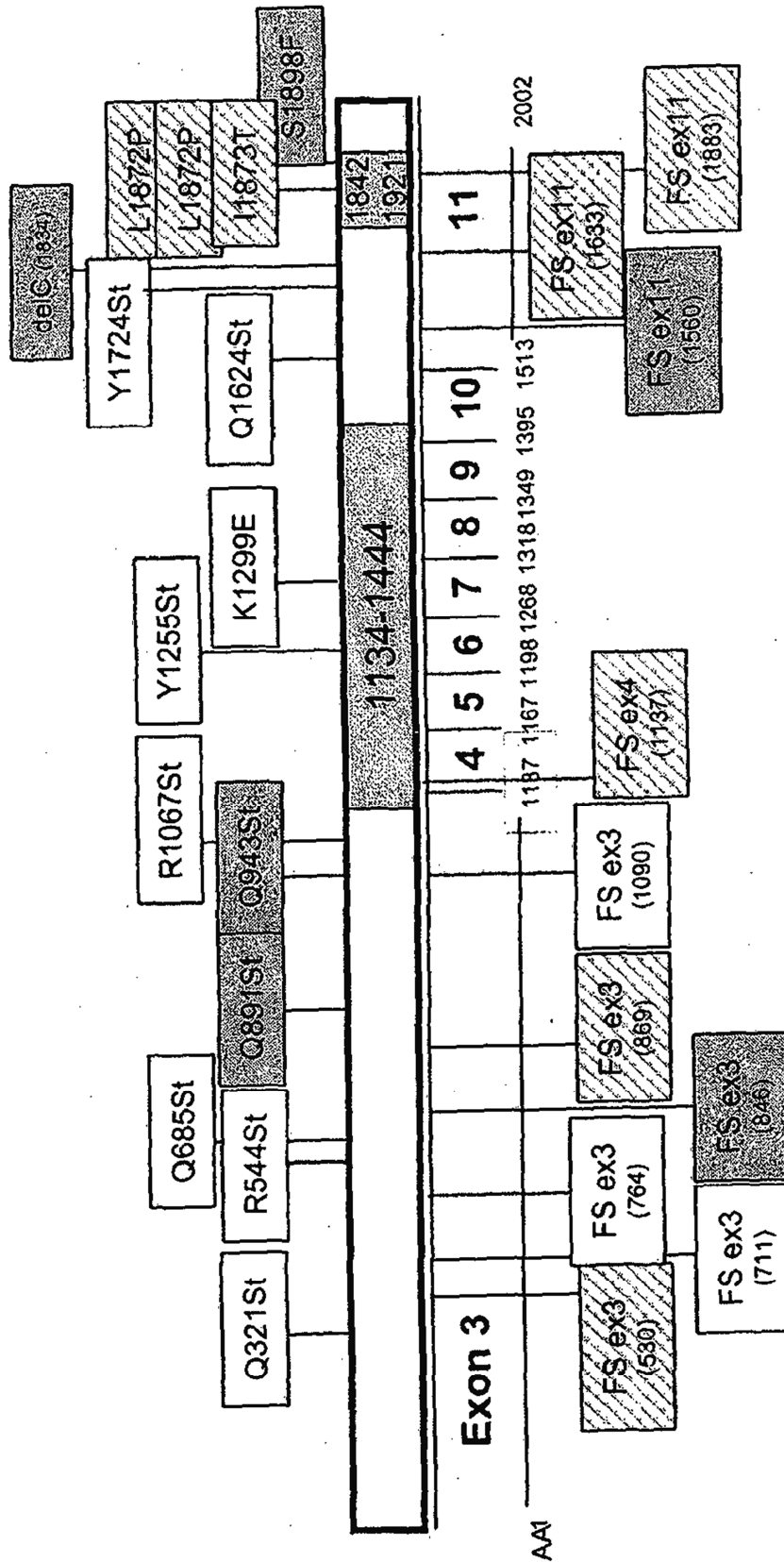


Figura 10