

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 742 648**

51 Int. Cl.:

**C12Q 1/6881** (2008.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.11.2013 PCT/EP2013/074642**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.05.2014 WO14080017**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.11.2013 E 13795265 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.05.2019 EP 2922968**

54 Título: **Procedimiento epigenético de identificación de linfocitos T citotóxicos CD3+ CD8+ heterodímeros para CD8**

30 Prioridad:

**23.11.2012 GB 201221133**

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

**17.02.2020**

73 Titular/es:

**EPIONTIS GMBH (100.0%)  
Rudower Chaussee 29  
12489 Berlin, DE**

72 Inventor/es:

**OLEK, SVEN**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 742 648 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Procedimiento epigenético de identificación de linfocitos T citotóxicos CD3+ CD8+ heterodímeros para CD8

- La presente invención se refiere a un procedimiento *in vitro* para identificar una subpoblación de linfocitos T citotóxicos, que comprende analizar la convertibilidad por bisulfito de las posiciones 40, 63, 95, 135, 142, 169, 194, 213, 216, 232, 245, 273, 339, 345, y 393 en el amplicón N.º 2007 de acuerdo con la SEQ ID NO: 5, en el que una convertibilidad por bisulfito de dichas posiciones es indicativo de un linfocito T citotóxico CD3+CD8+ heterodímero para CD8. Los análisis de acuerdo con la invención pueden identificar linfocitos T citotóxicos CD3+CD8+ heterodímeros para CD8 a un nivel epigenético y distinguirlos de las demás células en nuestras complejas, tal como, por ejemplo, otras células sanguíneas. Además la presente invención proporciona un procedimiento mejorado para cuantificar linfocitos T citotóxicos CD3+CD8+ heterodímeros para CD8 en nuestras complejas, en particular basándose en la comparación de la convertibilidad por bisulfito de genes alfa y beta de CD8 con una convertibilidad por bisulfito de al menos un marcador seleccionado entre el grupo de linfocitos auxiliares CD3, CD4, FOXP3, NKT, NK, T y/o GAPDH. El procedimiento se puede llevar a cabo sin una etapa de purificación y/o enriquecimiento de células, de preferencia en sangre completa y/o tejido no tratado con tripsina.
- Además, la presente invención se refiere al uso de un kit para llevar a cabo los procedimientos mencionados anteriormente. Un objeto de la presente invención es proporcionar un medio novedoso y más robusto para detectar y medir cuantitativamente subconjuntos particulares de linfocitos CD8+ de la sangre dentro de cualquier órgano o tejido sólido o cualquier fluido corporal de un mamífero. Empleando este procedimiento, los inventores proporcionan medios nuevos, no conocidos previamente, para determinar, cuantificar y medir de forma rutinaria los linfocitos T citotóxicos CD3+CD8+ para CD8 alfa/beta.

**Antecedentes de la invención**

- CD8 (grupo de diferenciación 8) es una glicoproteína transmembrana expresada en la superficie de los linfocitos T citotóxicos, pero también de linfocitos citolíticos naturales, timocitos corticales y células dendríticas. CD8 forma un homo- o heterodímero formado por cualquiera de cadenas CD8 alfa y/o CD8 beta. CD8 interactúa con los receptores de MHC de clase I durante la activación específica de antígeno, funciona como un correceptor que se asocia con la proteína tirosina quinasa p56<sup>lck</sup> y participa en la activación mediada por el receptor de linfocitos T. De acuerdo con la investigación actual, los homodímeros solo existen como cadenas alfa/beta y son expresados por los linfocitos CD3+/-CD8<sup>+</sup> (linfocitos T citotóxicos, linfocitos NKT), mientras que el heterodímero alfa/beta solamente es expresado por linfocitos CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>. En seres humanos, las moléculas alfa y beta de CD8 están codificadas por el gen alfa CD8 y el gen beta CD8.

- Los linfocitos T son un componente principal del sistema inmunológico de los mamíferos. Los linfocitos T CD3+ CD8+ citotóxicos son una parte importante de la inmunidad celular y, por lo tanto, median la defensa inmunitaria citotóxica. Los linfocitos T CD8+ citotóxicos someten las células a lisis que presentan epítopos de antígenos extraños en su superficie para matar las células infectadas, cancerosas o dañadas para prevenir el cáncer, la autoinmunidad o la infección. Los linfocitos citolíticos naturales, timocitos corticales, y células dendríticas no pertenecen a los linfocitos T citotóxicos, sino que también expresan la proteína CD8.

- Aunque casi todas las células de un individuo contienen exactamente el mismo complemento de código de ADN, los organismos superiores deben imponer y mantener diferentes patrones de expresión génica en los diversos tipos de tejido. La mayor parte de la regulación genética es transitoria, dependiendo del estado actual de la célula y los cambios en los estímulos externos. La regulación persistente, por otro lado, es un papel principal de la epigenética - patrones reguladores heredables que no alteran la codificación genética básica del ADN. La metilación del ADN es la forma arquetípica de regulación epigenética; sirve como memoria estable para las células y desempeña un papel fundamental en el mantenimiento de la identidad a largo plazo de varios tipos de células. Recientemente, se descubrieron otras formas de regulación epigenética. Además de la "quinta base" de 5-metilcitosina (mC), se puede encontrar una sexta (5-hidroximetilcitosina, hmC), séptima (5-formilcitosina, fC) y octava (5-carboxitosina, cC) (Michael J. Booth y col. Quantitative Sequencing of 5-Methylcytosine and 5-Hydroxymethylcytosine at Single-Base Resolution Science 18 de mayo de 2012, Vol. 336 n.º 6083 pp. 934-937).

- El objeto principal de las modificaciones de ADN mencionadas es la secuencia de dos nucleótidos Citosina-Guanina (un "sitio CpG"); en este contexto, la citosina (C) puede sufrir una simple modificación química para llegar a estar formilada, metilada, hidroximetilada o carboxilada. En el genoma humano, la secuencia CG es mucho más rara de lo esperado, excepto en ciertos grupos relativamente densos llamados "islotos de CpG". Los islotos de CpG se asocian frecuentemente con promotores génicos, y se ha calculado que más de la mitad de los genes humanos (Antequera and Bird, Proc Natl Acad Sci USA 90: 11995-9, 1993).

- La metilación anómala del ADN se asocia frecuentemente con la transformación de células sanas a cancerosas. Entre los efectos observados se encuentran la hipometilación de todo el genoma, el aumento de la metilación de genes supresores de tumores y la hipometilación de muchos oncogenes (revisado, por ejemplo, por Jones y Laird, Nature Genetics 21: 163-167, 1999; Esteller, Oncogene 21: 5427-5440, 2002; y Laird, Nature Reviews/Cancer 3: 253-266, 2003). Se ha reconocido que los perfiles de metilación son específicos del tumor (es decir, los cambios en

el patrón de metilación de genes particulares o incluso los CpG individuales son diagnósticos de tipos de tumores particulares), y ahora hay una amplia colección de marcadores de diagnóstico para cánceres de vejiga, mama, colon, esófago, estómago, hígado, pulmón y próstata (resumido, por ejemplo, por Laird, *Nature Reviews/Cancer* 3: 253-266, 2003).

5 Para una de las modificaciones de la citosina que se han descrito recientemente, la 5-hidroximetilación, se mostró la utilidad de la secuenciación oxidativa con bisulfito para formar mapas y cuantificar 5hmC en los islotes de CpG (Michael J. Booth y col. *Quantitative Sequencing of 5-Methylcytosine and 5-Hydroxymethylcytosine at Single-Base Resolution Science* 18 de mayo de 2012, Vol. 336 n.º 6083 pp. 934-937). Se encontraron altos niveles de 5hmC en  
10 islotes de CpG asociados con reguladores de la transcripción y en elementos nucleares intercalados durante mucho tiempo. Se sugiere que estas regiones puedan sufrir una reprogramación epigenética en células madre embrionarias.

Se cree comúnmente que la cuantificación de las células inmunes es relativamente fácil y completamente estandarizada, ya que las células no adherentes, no matriciales en la sangre periférica pueden ser notables con anticuerpos y cuantificarse por vía citométrica por flujo. Siempre y cuando las células no sean adherentes, y haya  
15 disponibilidad de suspensiones de células individuales, antígenos de superficie específicos del tipo de célula e intactos, la citometría de flujo es una herramienta de cuantificación celular altamente precisa.

Sin embargo, para muchas aplicaciones en investigación y rutina médica, no se dan los requisitos previos mencionados para mediciones tan precisas:

20 1. A menudo, el material/muestras medidas no se obtienen a partir de sangre periférica y, por lo tanto, no se satisface la propiedad de solubilidad y suspensión de células individuales. Es decir, por ejemplo, es cierto para todos los análisis de biopsia, tal como los realizados en la rutina patológica.

25 2. Incluso si el analito es sangre periférica, el requisito previo de tener células intactas es difícil de satisfacer - con el fin de mantener su integridad estructural ("integridad") - estas células no se deben congelar ni almacenar como EDTA-sangre durante más de 6 horas, antes de que las subfracciones, tal como granulocitos, comiencen a disgregarse.

30 3. A diferencia de la percepción común, no existen antígenos altamente específicos (de superficie) para todos los tipos de células inmunes y, por lo tanto, la identificación de los tipos de células no es tan inequívoca como se podría esperar. Dado que la expresión de antígeno no es un proceso digital, se deben definir umbrales para decidir si las células pertenecen a la fracción positiva o a la negativa. Para los linfocitos T, este problema es particularmente evidente:

35 Por lo tanto, para muchas aplicaciones, los enfoques de procedimiento actuales para una determinación cuantitativa de las células inmunes siguen siendo problemáticos, tal como para ensayos de rutina en aplicaciones clínicas, que generalmente requieren algunos tiempos de retraso y, por lo tanto, la solidez y la estabilidad del analito. Como se ha mencionado, los procedimientos citométricos de flujo usados para la medición de células en sangre periférica no son adecuados para las células inmunes que se infiltran en otros tejidos, incluyendo los tejidos sólidos durante el desarrollo del tumor o en/después de inflamación. Por lo tanto, los procedimientos de citometría de flujo no se aplican en estas áreas y los procedimientos sustitutos (en su mayoría de histoquímica inmunológica) son como máximo procedimientos semicuantitativos.

40 Hamerman y col. (en: Hamerman JA, Page ST, Pullen AM. Distinct methylation states of the CD8 beta gene in peripheral T cells and intraepithelial lymphocytes. *J Immunol.*, 1 de agosto de 1997; 159 (3): 1240-6) describen el correceptor CD8 tal como se expresa en linfocitos T tanto inmaduros como maduros como cualquiera de un heterodímero alfa-beta o un homodímero alfa alfa. Los timocitos y los linfocitos T periféricos expresan CD8 alfa-beta, mientras que los linfocitos intraepiteliales (IEL) TCR alfa-beta+ expresan CD8 alfa alfa o CD8 alfa-beta, y la mayoría de de los IEL TCR gamma-delta+ portan CD8 alfa alfa. La presencia de CD8 beta mejora las propiedades de  
45 señalización y adhesión del correceptor CD8 alfa-beta y es necesario para el desarrollo eficaz de los linfocitos T en el timo, pero no es necesario para la maduración extratímica de los IEL CD8 alfa alfa+. Para abordar si los IEL CD8 alfa alfa+ expresan CD8 beta durante su desarrollo, Hamerman y col. examinaron el estado de metilación de las citosinas en la región reguladora en la posición 5' del gen de CD8 beta para identificar aquellos para los cuales el estado de metilación se correlaciona inversamente con la expresión de la proteína CD8 beta. Identificaron cuatro de  
50 estas citosinas que estaban desmetiladas en timocitos y linfocitos T que expresan CD8 beta. De forma interesante, estas citosinas también se desmetilaron en linfocitos T de ganglios linfáticos CD4+ que habían expresado de forma transitoria CD8 beta durante su desarrollo. El estado de metilación de estas citosinas se examinó en ADN purificado a partir de IEL TCR alfa-beta+ CD8 alfa alfa+ y TCR alfa-beta+ CD8 alfa-beta+, así como partir de IEL TCR gamma-delta+ CD8 alfa alfa+ y CD3- CD8 alfa alfa+. El patrón de metilación para el ADN de IEL TCR alfa-beta+ CD8 alfa alfa+ fue distinto del observado para el ADN de células de ganglios linfáticos CD4+, lo que sugiere que los IEL TCR  
55 alfa-beta+ CD8 alfa alfa+ no han expresado previamente CD8 beta. El análisis de ADN de los IEL CD3- CD8 alfa alfa+ indicó que el patrón único de metilación del gen CD8 beta en el ADN de IEL TCR alfa-beta+ CD8 alfa alfa+ No se debía a la transcripción del gen CD8 alfa o a la influencia del microentorno intestinal.

60 S. Werwitzke y col. (en: "CD8alpha+beta(low) effector T cells in systemic lupus erythematosus, *Scandinavian Journal of Immunology*, vol. 67, n.º 5, 1 de mayo de 2008, páginas 501-508) desvela el análisis de expresión génica, pero no la metilación.

Dimitris Kioussis y col. (en: "Decision making in the immune system: Chromatin and CD4, CD8A and CD8B gene expression during thymic differentiation", Nature Reviews Immunology, vol. 2, n.º 12, 1 de diciembre de 2002, páginas 909-919), no se refieren a la región específica y sitios tal como se identifica en la presente invención.

5 El documento EP 1 213 360 describe un procedimiento para identificar una célula, tejido o núcleo, que comprende recoger información sobre el patrón de metilación del ADN aislado de la célula, tejido o núcleo y analizar la información resultante.

10 El documento WO 2008/132755 describe un procedimiento de kit de ensayo para el cálculo de linfocitos T CD4+/CD8+ basándose en la detección de anticuerpos monoclonales anti-CD4+, anti-CD8+ llevará a cabo en un portaobjetos de vidrio de microscopio. La tinción adicional visualiza los linfocitos T para una enumeración adicional bajo un microscopio.

El documento WO 02/083162 describe un procedimiento para tratar, inhibir o prevenir el rechazo dirigido por el sistema inmunológico de tejido o células injertados en un hospedador receptor mediante la administración de una cantidad farmacéuticamente eficaz de un agente inhibitorio de linfocitos T CD8+.

15 El documento EP 2058399 describe procedimientos y reactivos para vacunación que generan una respuesta inmunológica de los linfocitos T CD8.

El documento EP 1753452 describe un procedimiento para alterar la proporción CD4/CD8 y el infiltrado celular mononuclear en un tumor de modo que el nivel de linfocitos T CD8 disminuye en gran medida.

20 El documento EP 1616016 describe vectores de terapia génica que tienen una reducción de la inmunogenicidad basándose en la cadena CD8 alfa que encuentra uso en la ampliación de la supervivencia de aloinjertos de trasplante y tratamiento de la enfermedad de injerto contra hospedador en receptores de trasplante.

25 Las invenciones que se han mencionado anteriormente requieren una cuantificación precisa con respecto a CD8 y sus subpoblaciones, lo cual es proporcionado por la presente invención mediante una nueva metodología para detectar y cuantificar linfocitos T citotóxicos CD3+CD8+ heterodímeros para CD8 de manera eficaz. Además, la presente invención permite preparar estrategias de tiempo preclínicos flexibles que no dependen de un procesamiento rápido de la muestra sino que en su lugar permite un almacén de mito de la muestra a largo plazo Y una coordinación individual entre la recogida de la muestra y el procesamiento de la muestra.

30 Además, las explicaciones de Melvin y col. (Hypomethylation in IFN-Gamma Gen correlates with expression of IFN-G, including CD8 cells., Eur J Immunol., febrero de 1995; 25 (2): 426-30), Landolfi MM y col. (CD2-CD4-CD8- lymph node T lymphocytes in MRL lpr/lpr mice are derived from a CD2+CD4+CD8+ thymic precursor J Immunol. 15 de julio de 1993; 151 (2): 1086-96), y Carbone AM y col. (Demethylation in CD8 suggests that CD4+ derives from CD8+ cells. Role of methylation pattern during cell development. Science. 25 de noviembre de 1988; 242 (4882): 1174-6) desvelan la metilación en relación con la expresión y la diferenciación.

35 El documento WO 2008/132755 describe la identificación de CD8 usando procedimientos histológicos inmunes. Aunque la medición y la determinación de los linfocitos CD8+ generalmente es fácil y normal en que se consigue mediante el análisis de la expresión de CD8 en la superficie celular, clínicamente, sigue siendo desafiante Para detectar, identificar, discriminar, y cuantificar de manera específica los linfocitos CD3+CD8+ alfa/beta reales de las células CD8+ completas. En la actualidad, la aplicación de rutina clínica se limita a la detección de linfocitos CD8+ mediante la detección de CD8 alfa y por lo tanto carece de un procedimiento establecido para diferenciar entre CD3+CD8+ y CD3+/-CD8+ así como para detectar CD8 beta.

40 En vista de lo mencionado anteriormente, un objeto de la presente invención es proporcionar un procedimiento mejorado y en particular robusto basándose en el análisis de convertibilidad de citosina por bisulfito como una herramienta superior con el fin de detectar, identificar, discriminar, y cuantificar linfocitos T citotóxicos CD3+ CD8+ heterodímeros para CD8 de una manera más conveniente y confiable.

45 La presente invención resuelve el objeto mencionado anteriormente al proporcionar un procedimiento *in vitro* para identificar una subpoblación de linfocitos T citotóxicos, que comprende analizar la convertibilidad por bisulfito de las posiciones 40, 63, 95, 135, 142, 169, 194, 213, 216, 232, 245, 273, 339, 345, y 393 en el amplicón N.º 2007 de acuerdo con la SEQ ID NO: 5, en el que una convertibilidad por bisulfito de dichas posiciones es indicativo de un linfocito T citotóxico CD3+CD8+ heterodímero para CD8.

50 En la actualidad, no existen datos que describan los linfocitos CD8+ beta/beta. Sin embargo, en una realización preferente de lo mismo, la presente divulgación permitirá por primera vez la detección de células de ese tipo.

Además, se espera que el nuevo marcador para CD8 beta desvele una nueva visión científica sobre el origen celular y el estado celular de las células que expresan la cadena de CD8 beta.

En la actualidad, en la bibliografía se describe que los linfocitos NKT CD3+CD8+ expresan la cadena de CD8 beta. Sin embargo, los resultados de los presentes inventores indican que para una parte de estas células puede existir

una regulación epigenética diferente que no simplemente refleja o corresponde al patrón de expresión de proteínas conocido actualmente.

Como se ha mencionado anteriormente, tres nuevas modificaciones de citosina se descubrieron recientemente. Por lo tanto, se espera que los descubrimientos científicos futuros corrijan los patrones epigenéticos de modificación descritos en el pasado. Estos patrones pasados de modificación de citosina incluyen citosina convertible (no metilada, no modificada) y no convertible (metilada, modificada) por bisulfito. Es necesario corregir ambos términos, como se describe. De acuerdo con los nuevos descubrimientos científicos (i) citosina no convertible por bisulfito incluye 5-metilcitosina (mC) y 5-hidroximetilcitosina (hmC), y (ii) citosina convertible por bisulfito (es decir, la "convertibilidad por bisulfito") incluye 5-formilcitosina (fC), 5-carboxicitosina (cC), así como citosina no modificada.

Además, las invenciones anteriores se basan en (i) la proporción de citosina convertible por bisulfito con respecto a la cantidad total de cromatina (locus de ADN convertible por bisulfito al 100%, independiente del tipo celular) o (ii) en la proporción de citosina convertible por bisulfito (fC, cC, citosina no modificada) con respecto a citosina no convertible por bisulfito (hmC y mC). Estas proporciones caracterizan el tipo celular, la diferenciación celular, el estadio celular y los estadios celulares patológicos. Por lo tanto, las nuevas técnicas darán como resultado nuevas proporciones más específicas y podrían complementar los patrones actuales específicos de la célula, específicos del estado de la célula y patológicos de modificaciones epigenéticas y, por lo tanto, definir nuevos biomarcadores potenciales. Las nuevas proporciones que se van a descubrir como biomarcadores se pueden definir como:

$$\text{Proporción de Biomarcador} = a/b$$

$$a = \sum (C \text{ y/o } mC \text{ y/o } hmC \text{ y/o } fC \text{ y/o } cC)$$

$$b = \sum (C \text{ y/o } mC \text{ y/o } hmC \text{ y/o } fC \text{ y/o } cC),$$

de modo que a y b se diferencian entre sí en uno a cuatro tipos de modificaciones. Nuevas modificaciones de ADN aumentarán estos números.

Para la finalidad de la definición de la presente solicitud, se hace referencia a las "modificaciones epigenéticas" en la secuencia de ADN mediante la terminología de (i) citosina convertible por bisulfito (5-formilcitosina, (fC) y/o 5-carboxicitosina (cC)) y (ii) citosina no convertibles por bisulfito ((incluyendo 5-metilcitosina (mC), 5-hidroximetilcitosina, (hmC)). Como ambos tipos de metilación, mC y hmC, no son convertibles por bisulfito, no es posible distinguir entre estos 2. Del mismo modo, fC, cC, así como la citosina no modificada, son convertibles por bisulfito y tampoco se pueden distinguir entre sí. El término ADN "metilado" incluye mC así como hmC. El término ADN "no metilado" incluye fC, cC y ADN no modificado. Se espera que en el futuro se descubran nuevas variantes de modificaciones de ADN. Cada tipo de modificación será convertible o no por bisulfito. Sin embargo, dado que el presente procedimiento distingue de manera confiable entre los dos grupos, estas nuevas modificaciones también se podrán usar como marcadores.

Además, aparte de las modificaciones de ADN, las histonas también sufren modificaciones posteriores a la traducción que alteran su interacción con el ADN y las proteínas nucleares. Las modificaciones incluyen metilación, acetilación, fosforilación, ubiquitinación, sumoilación, citrulinación y ribosilación de ADP. El núcleo de las histonas H2A, H2B y H3 también se puede modificar. Las modificaciones de histonas actúan en diversos procesos biológicos, tales como regulación génica, reparación del ADN, condensación cromosómica (mitosis) y espermatogénesis (meiosis). Además, para estas modificaciones, un patrón específico de modificación es específico para diferentes tipos de células, etapas celulares, estado de diferenciación y dicho patrón se puede analizar para determinar la convertibilidad por bisulfito o procedimientos similares con el fin de identificar ciertas células y etapas celulares. La presente divulgación también incluye un uso de estas modificaciones.

La presente divulgación se basa en la identificación sorprendente de una región del gen CD8 por los inventores, en particular la región del gen CD8 beta y alfa, como marcadores epigenéticos específicos, permitiendo por primera vez la identificación de subpoblaciones de CD8 de cadena de CD8 beta y alfa que portan células, así como la aplicación de rutina clínica de dicho análisis.

En el contexto de la presente divulgación, en el presente documento la región genómica de acuerdo con la SEQ ID NO: 1 se denomina "región convertible por bisulfito específica de cadena de CD8 beta", que permite la identificación de linfocitos T citotóxicos CD3+CD8+ (linfocitos CD8+ alfa/beta), y en el presente documento la región genómica de acuerdo con la SEQ ID NO: 2 se denomina "región convertible por bisulfito específica de cadena de CD8 alfa", que permite la identificación de linfocitos CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> (linfocitos CD8+ alfa/alfa). De manera sorprendente, el patrón discriminatorio de la citosina convertible y no convertible por bisulfito se limita de forma exclusiva a la región genómica de acuerdo con la SEQ ID NO: 1 para los linfocitos CD8+ que portan CD8 beta como se muestra usando los amplicones de acuerdo con la SEQ ID NO: 5 y/o SEQ ID NO: 6, y para la región genómica de acuerdo con la SEQ ID NO: 2 para los linfocitos CD8+ que portan CD8 alfa como se muestra usando el amplicón de acuerdo con la SEQ ID NO: 7.

Se desvela un procedimiento, en el que se analizan ambos genes para CD8<sup>+</sup> alfa y CD8<sup>+</sup> beta, de preferencia analizando amplicones obtenidos a partir de la SEQ ID NO: 1 y de la SEQ ID NO: 2, y/o la región no metilada

específica de CD8 alfa obtenida a partir de la SEQ ID NO: 3 y/o la región no metilada específica de CD8 beta obtenida a partir de la SEQ ID NO: 4.

5 En el procedimiento de acuerdo con la presente invención para identificar una subpoblación de linfocitos T citotóxicos (identificación de linfocitos CD3+CD8+ heterodímeros para CD8), dichas posiciones en CpG son 40, 63, 95, 135, 142, 169, 194, 213, 216, 232, 245, 273, 339, 345, y 393 en el amplión N.º 2007 de acuerdo con la SEQ ID NO: 5.

10 El concepto de la invención se basa en la convertibilidad específica por bisulfito de la región específica de CD8 beta en células positivas para CD8. Usando un procedimiento de PCR cuantitativo simple y preciso, los inventores muestran que el patrón específico de modificación de citosina de dichas regiones genéticas representa un marcador específico para los recuentos de células CD3+CD8+ y CD3+/-CD8+ en sangre o tejidos. Se desvela una región altamente discriminativa del gen de CD8 beta y CD8 alfa que se designa mediante la secuencia de nucleótidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 3, y SEQ ID NO: 4, que presenta una convertibilidad por bisulfito diferencial cuando las células CD8+ alfa/beta y alfa/alfa se comparan con todas las demás células.

15 Los inventores podrían demostrar que en las células que portan CD8 beta los motivos CpG son casi completamente convertibles por bisulfito (es decir, más de un 70 %, de preferencia un 80 %, de preferencia, más de un 90 % y lo más preferente más de un 95 %), mientras que los mismos motivos están completamente metilados en todos los linfocitos CD8- y CD8+ alfa/alfa. En el mismo contexto, los inventores pudieron demostrar que en los linfocitos que portan CD8 alfa los motivos CpG también son casi completamente convertibles por bisulfito (es decir, hasta más de un 70 %, de preferencia un 80 %, de preferencia, más de un 90 % y lo más preferentemente más de un 95 %), que  
20 los mismos motivos están completamente metilados en todos los linfocitos CD8-.

La metilación diferencial de los motivos CpG dentro de las regiones mencionadas anteriormente se correlaciona con la expresión de las cadenas de CD8 alfa y beta. Por lo tanto, la determinación de la convertibilidad por bisulfito del locus de CD8 alfa y beta es una herramienta valiosa para identificar subpoblaciones de linfocitos CD8+, como será necesario/o al menos de algún valor para identificar y cuantificar dichas células en enfermedades autoinmunes, rechazos a trasplantes, cáncer, alergia, inmunodeficiencias primarias y secundarias tal como, por ejemplo, infecciones por VIH y SIDA, injerto contra hospedador (GvH), neoplasias hematológicas, artritis reumatoide, esclerosis múltiple o un estado inmunitario relacionado con linfocitos T citotóxicos en cualquier contexto de diagnóstico imaginable. El ensayo permite la medición de subpoblaciones de CD8+ sin purificación ni ningún procedimiento de tinción. Incluso informa en tumores sólidos u otros tejidos sólidos el número de células convertibles por bisulfito en dicha región, mostrando de ese modo la cantidad total de subpoblaciones de CD8+ infiltrantes de tumor.  
25

Los inventores encontraron que una convertibilidad por bisulfito en el locus de CD8 beta y alfa humano está limitada a los linfocitos CD3+CD8+ y CD3+/-CD8, respectivamente, cuando se someten a ensayo frente a todos los principales tipos de células de sangre periférica. Estos datos indicaron que las modificaciones epigenéticas en el locus de CD8 beta y alfa sirven como marcadores valiosos para la identificación de subpoblaciones de CD8+, independientemente de la expresión de las cadenas de CD8 beta y alfa.  
30

Otro aspecto preferente del procedimiento de acuerdo con la presente invención comprende además una cuantificación de la cantidad relativa de linfocitos T citotóxicos CD3+CD8+ heterodímeros para CD8 basada en la comparación de la cantidad o cantidades relativas de ADN convertible por bisulfito en regiones específicas para CD8 beta como se describe y analiza en el presente documento con la cantidad o cantidades relativas de ADN no convertible por bisulfito de regiones específicas de células. Por lo tanto dicha cuantificación se consigue basándose en la relación del ADN convertible con respecto al ADN no convertible por bisulfito en las regiones genéticas de CD8 como se describe y analiza en el presente documento. Lo más preferente es una cuantificación de la cantidad relativa de linfocitos T citotóxicos CD3+CD8+ heterodímeros para CD8 que se basa en un análisis (preferentemente paralelo o simultáneo) de la cantidad relativa de ADN convertible por bisulfito de regiones específicas de células para CD8 alfa y/o beta, y de la cantidad relativa de ADN convertible por bisulfito de genes no específicos de células (denominados preferentemente "genes de control" o "regiones de control", tal como, por ejemplo, el gen para GAPDH). El análisis además comprende de preferencia un análisis de la convertibilidad por bisulfito de al menos una posición de CpG en un gen seleccionado entre genes específicos de células de linfocitos T CD3, linfocitos T CD4, linfocitos T reguladores, monocitos, granulocitos, linfocitos B, GAPDH, Th1, Th2, Th9, Th17, Th22, Tfh, NKT, y NK.  
35  
40  
45  
50

Además en otra realización preferente del procedimiento de acuerdo con la presente divulgación, dicho análisis de convertibilidad por bisulfito comprende la amplificación con al menos un cebador de pares de cebadores adecuados que se pueden diseñar de forma adecuada basándose en la SEQ ID NO: 1.

55 A diferencia de las mediciones de FACS y ARNm, usando los procedimientos de acuerdo con la presente invención, la medición o mediciones y los análisis se pueden realizar independientemente de la purificación, el almacenamiento - y en cierta medida - también de la calidad del tejido.

De preferencia, la amplificación implica una enzima polimerasa, una reacción de PCR o de amplificación química, u otros procedimientos de amplificación tal como sabe la persona con experiencia como se describe a continuación,

por ejemplo, en el contexto de MSP, HeavyMethyl, Scorpion, MS-SNUPE, MethylLight, secuenciación con bisulfito, ensayos de restricción específicos de metilo y/o PCR digital (véase, por ejemplo Kristensen y Hansen PCR-Based Methods for Detecting Single-Locus DNA Methylation Biomarkers in Cancer Diagnostics, Prognostics, and Response to Treatment Clinical Chemistry 55: 8 1471-1483 (2009)).

5 Con el fin de analizar la convertibilidad por bisulfito de las posiciones de CpG, se puede usar cualquier procedimiento para analizar la modificación del ADN. En una realización preferente del procedimiento de acuerdo con la presente invención, el análisis de la modificación del ADN comprende un procedimiento seleccionado entre tecnología de una sola molécula en tiempo real (SMRT), cinética de la polimerasa dependiente de la modificación del ADN, secuenciación de ADN por medio de nanoporos, secuenciación de hebras, secuenciación de exonucleasa, 10 hibridación de ADN dependiente de modificación de ADN, digestiones enzimáticas específicas de metilación, secuenciación con bisulfito, análisis seleccionado entre metilación de promotor, metilación de islote de CpG, MSP, HeavyMethyl, MethylLight, Ms-SNuPE u otros procedimientos que dependen de una detección de ADN amplificado. Estos procedimientos son bien conocidos por la persona con experiencia, y se pueden encontrar en la bibliografía respectiva.

15 En una realización preferente del procedimiento de acuerdo con la presente divulgación, dicho procedimiento Es adecuado para aplicaciones de rutina, por ejemplo, en un chip de ADN. Basándose en la información mencionada anteriormente y en la bibliografía respectiva, la persona con experiencia será capaz de ajustar el procedimiento como anteriormente a los entornos de ese tipo.

20 Además en otra realización preferente de los procedimientos de acuerdo con la presente invención, dicho procedimiento se lleva a cabo sin una etapa de purificación y/o enriquecimiento de dichas células que se van a identificar, de preferencia usando sangre completa y/o tejido no sometido a tripsina.

25 En otra realización preferente del procedimiento de acuerdo con la presente invención, la identificación comprende la distinción de dichos linfocitos T citotóxicos CD3+CD8+ heterodímeros para CD8 a partir de todos los tipos de células de sangre periférica principales y/o células no sanguíneas, de preferencia, pero no limitado, de linfocitos B CD19+, linfocitos T CD3+CD8+, granulocitos CD15+, monocitos CD14+, linfocitos citolíticos naturales CD56+ y linfocitos T 30 citolíticos naturales CD3+CD56+, y linfocitos T auxiliares CD3+CD4+, y otros tipos de células obtenidas a partir de otros órganos distintos a la sangre.

30 Además en otra realización preferente del procedimiento de acuerdo con la presente invención, la muestra se selecciona entre un fluido corporal de mamífero, incluyendo muestras de sangre humana, o una muestra de tejido, órgano o una muestra de leucocitos o una fracción purificada o separada de un tejido, órgano o leucocitos de ese tipo o una muestra de tipo celular. De preferencia, dicho mamífero es un ratón, rata, mono o ser humano. Si fuera necesario las muestras se pueden combinar de manera adecuada.

35 Otro aspecto preferente del procedimiento de acuerdo con la presente invención entonces comprende además la etapa de conclusión sobre el estado inmunológico de dicho mamífero basándose en dichas subpoblaciones de CD8+. Las subpoblaciones de CD8+ se deben cuantificar y se pueden usar como un banco de pruebas para cuantificar relativamente además las subpoblaciones detalladas (pero que no se limitan a, CD4, Th1, Th2, Th9, Th17, Th22, Treg, Tfh), o se puede usar como un factor de detección predictivo y/o de identificación sistemática y/o de diagnóstico y/o de pronóstico y/o de sucesos adversos, o se puede usar para detectar por último esta población para determinar el estado de actividad inmunológica general.

40 Otro aspecto preferente del procedimiento de acuerdo con la presente divulgación se refiere al uso del análisis de modificación de citosina de genes específicos de células para linfocitos CD3+, CD4+, linfocitos T reguladores, Th1, Th2, Th9, Th17, Th22, Tfh, NKT, NK, monocitos, granulocitos y/o linfocitos B para la detección y para asegurar la calidad y control de linfocitos CD8+ alfa/beta.

45 Además en otra realización preferente del procedimientos de acuerdo con la presente invención, el mamífero padece o es probable que padezca enfermedades autoinmunes, rechazos a trasplantes, enfermedades por infección, cancer, y/o alergia, tal como, pero no limitándose a, infección por *Trypanosoma cruzi*, malaria e infección por VIH; Neoplasias hematológicas tales como, pero no limitadas, leucemia mielógena crónica, mieloma múltiple, linfoma no Hodgkin, enfermedad de Hodgkin, leucemia linfocítica crónica, enfermedad injerto contra hospedador y hospedador 50 contra injerto, micosis fungoide, linfoma extranodal de linfocitos T, linfomas de linfocitos T cutáneos, linfoma macrocítico anaplásico, linfoma de linfocitos T angioinmunoblástico y otras neoplasias de linfocitos T, linfocitos B y linfocitos NK, deficiencias de linfocitos T tales como, pero no limitadas a, linfocitopenia, inmunodeficiencia combinada severa (SCID), síndrome de Omenn, hipoplasia de cartílago-cabello, síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y afecciones hereditarias tales como síndrome de DiGeorge (DGS), síndromes de rotura cromosómica (CBS), esclerosis múltiple, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, síndrome de Sjögren, esclerosis sistémica, dermatomiositis, cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante primaria, colitis ulcerosa, 55 enfermedad de Crohn, psoriasis, vitíligo, penfigoide ampolloso, alopecia areata, cardiomiopatía idiopática dilatada, diabetes mellitus de tipo 1, enfermedad de Graves, tiroiditis de Hashimoto, miastenia grave, nefropatía por IgA, nefropatía membranosa y anemia perniciosa; y trastornos combinados de linfocitos B y linfocitos T, tales como, pero no limitados a, ataxia telangiectasia (AT) y síndrome de Wiskott-Aldrich (WAS); y carcinomas tales como, pero no

limitados a, cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, cáncer de páncreas, carcinoma hepatocelular, colangiocarcinoma, melanoma y cáncer de cabeza y cuello.

5 Se desvela un procedimiento como se ha mencionado anteriormente, que además comprende medir y/o monitorizar la cantidad de linfocitos CD3+ CD8+ y/o CD3+/-CD8+ como respuesta a sustancias químicas y/o biológicas que se proporcionan a dicho mamífero, es decir, como respuesta a un tratamiento de dicho paciente. Dicho procedimiento comprende las etapas como se ha mencionado anteriormente, y comparar dicha cantidad relativa de dichas células tal como se identifica con una muestra tomada anteriormente o en paralelo del mismo mamífero, y/o con una muestra de control. En función de los resultados proporcionados por el procedimiento o procedimientos de la divulgación, el médico que prescribe será capaz de llegar a una conclusión sobre el estado inmunológico del paciente y ajustar el tratamiento de la enfermedad subyacente en consecuencia.

De preferencia, dicho procedimiento se lleva a cabo sin una etapa de purificación y/o enriquecimiento de células, de preferencia en sangre completa y/o tejido no sometido a tripsina, o cualquier otra muestra biológica que potencialmente contenga dichas subpoblaciones de linfocitos CD8+ como por ejemplo una muestra para transferencia celular en un paciente.

15 Otro aspecto preferente del procedimiento de acuerdo con la presente divulgación a continuación se refiere a un procedimiento como se mencionó anteriormente, que además comprende la formulación de dicha subpoblación de células tal como se identifica para su trasplante en un paciente. Las preparaciones farmacéuticas para estos fines y los procedimientos para su producción se llevan a cabo de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica de la medicina de trasplantes.

20 Se desvela un oligómero de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID NO: 8 a 13, un oligómero diseñado basándose en la SEQ ID NO: 1 o 2, la región no metilada específica del gen CD8 alfa y/o beta de acuerdo con la SEQ ID NO: 3 o 4 o un amplicón seleccionado entre cualquiera de las SEQ ID NO: 3 a 7.

25 Además otro aspecto preferente de la presente invención a continuación se refiere al uso de un kit que comprende a) un reactivo de bisulfito, y b) materiales para el análisis de la convertibilidad por bisulfito de las posiciones 40, 63, 95, 135, 142, 169, 194, 213, 216, 232, 245, 273, 339, 345, y 393 en el amplicón N.º 2007 de acuerdo con la SEQ ID NO: 5 a la identificación, cuantificación, y/o monitorización *in vitro* de linfocitos T citotóxicos CD3+CD8+ heterodímeros para CD8 en un mamífero de acuerdo con el procedimiento de acuerdo con la presente invención.

Se desvela el uso de oligómeros o amplicón o un kit de acuerdo con la presente invención para identificar y/o para monitorizar linfocitos CD3+CD8+ y/o CD3+/-CD8+ en un mamífero como se describe en el presente documento.

30 En resumen, usando el marcador de CD8 beta y alfa, los inventores identificaron de forma muy específica, Cuantificaron en particular diferenciaron ambas células positivas para CD8 como tal y sus poblaciones y en su relación con otros tipos de células en una muestra, por ejemplo con respecto a linfocitos T usando los marcadores epigenéticos para CD3, o su asociación con los linfocitos auxiliares T CD4 usando el marcador CD4. Con tales medios por ejemplo los linfocitos T positivos para CD4 entonces se podrían distinguir además de los linfocitos CD8. Esto no era posible antes de la invención, ya que la expresión de proteínas del marcador CD8 beta y alfa no se puede usar para identificar y cuantificar de manera confiable los linfocitos alfa/beta y alfa/alfa positivos para CD8, ni era posible, a partir de una muestra de sangre completa o tejido (recién preparada, embebida o congelada) sin medios específicos de conservación, proporcionar una tecnología de rutina para la cuantificación de estos tipos de células. Además, hasta ahora no se había descubierto marcador para linfocitos CD8+ alfa/beta que identificara y cuantificar a dichas células.

A continuación la invención se describía además basándose en los siguientes ejemplos y con referencia a las figuras adjuntas y el listado de secuencias, sin quedar limitado a esto. En las Figuras y Secuencias,

45 La Figura 1 muestra el análisis de sitios de CpG en los amplicones N.º 1482, N.º 1483, N.º 1484, N.º 2006, N.º 2007 (SEQ ID NO: 3), N.º 2008, N.º 2009, N.º 2010, N.º 2011, y N.º 2012, respectivamente, dentro del gen de CD8 beta. Los números en la parte izquierda indican la posición de CpG respectiva en el amplicón respectivo. Las abreviaturas en la parte inferior indican linfocitos B (CD3-CD8-)(BLC), linfocitos T citotóxicos (CD3+CD8+)(CTL), granulocitos CD3-CD8- (GRC) y monocitos CD3-CD8- (MOC), linfocitos NK (CD3-CD8+)(NKC), linfocitos NKT (CD3+CD8+)(NKT11), linfocitos NKT CD3+CD8- (NKT14), y linfocitos auxiliares T (CD3+CD8-)(THC), respectivamente.

50 La Figura 2 muestra el análisis de sitios de CpG en los amplicones N.º 1474, N.º 1475, N.º 1476, N.º 1477, N.º 1478 (SEQ ID NO: 3), N.º 1479, N.º 1480, N.º 1481, N.º 2002, N.º 2003, N.º 2004, y N.º 2005, respectivamente, dentro del gen de CD8 alfa. Los números en la parte izquierda indican la posición de CpG respectiva en el amplicón respectivo. Las abreviaturas en la parte inferior indican linfocitos B (CD3-CD8-)(BLC), linfocitos T citotóxicos (CD3+CD8+)(CTL), granulocitos CD3-CD8- (GRC) y monocitos CD3-CD8- (MOC), linfocitos NK (CD3-CD8+)(NKC), linfocitos NKT (CD3+CD8+)(NKT11), linfocitos NKT CD3+CD8- (NKT14), a y linfocitos auxiliares T (CD3+CD8-)(THC), respectivamente.

La Figura 3 muestra la posición de las regiones convertibles por bisulfito específicas dentro del gen de CD8 beta,

y los alineamientos de los amplicones tal como se analizan (cuadrados de color gris) frente a esta región.

La Figura 4 muestra la posición de las regiones convertibles por bisulfito específicas dentro del gen de CD8 alfa, y los alineamientos de los amplicones tal como se analizan (cuadrados de color gris) frente a esta región.

5 La Figura 5 muestra la comparación de las mediciones de qPCR y FCM. (A) Proporción de linfocitos T CD8<sup>+</sup> con respecto a CD3<sup>+</sup> en (%) como se determina mediante FCM (eje x) y medición de qPCR epigenética (eje y) en sangre periférica de controles sanos (círculos de color negro) y pacientes con VIH<sup>+</sup> (cuadrados de color gris; triángulos de color blanco). (B) Diagramas de Bland-Altman para concordancia de procedimiento de linfocitos T CD8<sup>+</sup> con respecto a CD3<sup>+</sup>. Se representa la media de las proporciones determinadas con ambos procedimientos (eje x) y las correspondientes diferencias con su porcentaje (FCM-qPCR). La línea sólida representa la diferencia media calculada, las líneas discontinuas representan los límites de concordancia superior e inferior calculados.

10 La SEQ ID NO: 1 muestra la región convertible por bisulfito específica de cadena CD8 beta como se desvela.

La SEQ ID NO: 2 muestra la región convertible por bisulfito específica de cadena CD8 alfa como se desvela.

15 La SEQ ID NO: 3 muestra la secuencia de la región no metilada específica de CD8A (alfa); la secuencia contiene el amplicón 2004 discriminatorio (AMP2004), y está confinada en el extremo en las posiciones 5' y 3' por AMP 2003 y AMP2005 no discriminatorios, respectivamente.

La SEQ ID NO: 4 muestra la secuencia de la región no metilada específica de CD8B; la secuencia contiene los solapan que es discriminatorios AMP2007 y AMP2008. La secuencia está confinada en el extremo en la posición 3' por los amplicones no discriminatorios AMP2011 y AMP1479 (cerca del gen CD8 alfa).

20 La SEQ ID NO: 5 y la SEQ ID NO: 6 muestran las secuencias de los amplicones Amp 2007 y Amp 2008 para CD8 beta (solapante), respectivamente.

La SEQ ID NO: 7 muestra la secuencia del amplicón Amp 2004 para CD8 alfa.

La SEQ ID NO: 8 a la SEQ ID NO: 13 muestran las secuencias de oligómeros específicos como se desvela.

25 La SEQ ID NO: 14 a la SEQ ID NO: 25 muestran las secuencias de oligómeros específicos como se desvela; la SEQ ID NO: 14 muestra el cebador directo (nmF1.3) para AMP 2007; la SEQ ID NO: 15 muestra el cebador inverso (nmR1.5) para AMP 2007; la SEQ ID NO: 16 muestra el cebador directo (mF1.3) para AMP 2007; la SEQ ID NO: 17 muestra el cebador inverso (mR1.9) para AMP 2007; la SEQ ID NO: 18 muestra la sonda (nmP1.2), y la SEQ ID NO: 19 muestra la sonda (mP1.2); la SEQ ID NO: 20 muestra la secuencia genómica/posición del cebador directo (nmF1.3) para AMP 2007; la SEQ ID NO: 21 muestra la secuencia genómica/posición del cebador inverso (nmR1.5) Para AMP 2007; la SEQ ID NO: 22 muestra la secuencia genómica/posición del cebador directo (mF1.3) para AMP 2007; la SEQ ID NO: 23 muestra la secuencia genómica/posición del cebador inverso (mR1.9) para AMP 2007; la SEQ ID NO: 24 muestra la secuencia genómica/posición de la sonda (nmP1.2) para AMP 2007, and SEQ ID NO: 25 muestra la secuencia genómica/posición de la sonda (mP1.2) para AMP 2007.

## Ejemplos

### Ejemplo 1

35 Los inventores han purificado diversos subconjuntos de sangre mediante clasificación por FACS incluyendo linfocitos B (CD3-CD8-)(BLC), linfocitos T citotóxicos (CD3+CD8+)(CTL), granulocitos CD3-CD8- (GRC) y monocitos CD3-CD8- (MOC), linfocitos NK (CD3-CD8+)(NKC), linfocitos NKT (CD3+CD8+)(NKT11), linfocitos NKT CD3+CD8- (NKT14), y linfocitos auxiliares T (CD3+CD8-)(THC). El ADN de las células purificadas se trató con bisulfito y se analizó en diversos motivos de dinucleótidos CpG dentro del gen CD8 alfa y del gen CD8 beta. Los inventores a

40 continuación compararon la convertibilidad por bisulfito (T para citosina que no estaba metilada en la secuencia original con respecto al hallazgo de C como para Citosina que estaba metilada en la secuencia original (genómica)).

45 Los datos de CD8 beta (Figura 1) mostraron diversas posiciones de CpG en el Amp 2007 del gen CD8 beta (véase la SEQ ID NO: 1) que no estaban metiladas en linfocitos T citotóxicos CD3+CD8+ y que estaban parcialmente no metiladas en linfocitos NKT CD3+CD8+ mientras que estaban metiladas en todas los otros tipos de células sanguíneas analizadas. La región génica de Amp 2007 modificada por citosina diferencialmente para CD8 beta se muestra en la SEQ ID NO: 5.

50 En la actualidad, se describe en la bibliografía que los linfocitos NKT CD3+CD8+ expresan la cadena CD8 beta. Sin embargo, los resultados de los presentes inventores indican que para una parte de estas células puede existir una regulación epigenética diferente que no simplemente refleja o se corresponde con el patrón de expresión de proteínas conocido en la actualidad. Esto también se mostró anteriormente para células Treg y para células Th17 (Véanse los documentos EP1826279 y WO2013/057202). Además, se espera que el nuevo marcador para CD8 beta desvelará un nuevo conocimiento del origen celular y el estado celular en las células que expresan la cadena CD8 beta.

Los datos de CD8 alfa (Figura 2) mostraron diversas posiciones de CpG en el Amp 2004 del gen de CD8 alfa (véase la SEQ ID NO: 2) que no estaban metiladas en linfocitos T citotóxicos CD3+CD8+ y en linfocitos NKT CD3+CD8+ mientras que estaban metiladas en todos los otros tipos de células sanguíneas analizadas. La región génica de Amp 2004 modificada por citosina diferencialmente para CD8 alfa se muestra en la SEQ ID NO: 7. Al igual que para el patrón de conversión por bisulfito de CD8 beta, también para el gen de CD8 alfa se produjo una metilación parcial encontrada para células que en la bibliografía se describen como células que expresan proteínas de CD8 alfa (linfocitos NK). La clasificación por FACS mediante expresión de proteínas no refleja el estado de regulación epigenética real. Los futuros estudios científicos sobre el patrón epigenético en el gen de CD8 alfa usando el presente marcador de CD8 alfa epigenético profundizará adicionalmente en la comprensión de, por ejemplo, el origen y el estado de dichas células.

## Ejemplo 2: Evaluación de linfocitos T CD8<sup>+</sup> CD3<sup>+</sup> en sangre periférica humana

Los nuevos ensayos epigenéticos se compararon con ensayos de citometría de flujo para la detección de células CD8 y CD3 y proporciones de las mismas. Como ambas técnicas determinan la misma variable biológica, Deberían ser básicamente concordantes.

La sangre periférica humana se obtuvo a partir de voluntarios sanos. El ADN de la sangre venosa se purificó cuando el Kit DNeasy Blood&Tissue (Qiagen) de acuerdo con asistentes del fabricante. Además, se hicieron aplicaciones puntuales de sangre capilar en tarjetas FTA® (Whatman) y se secaron a temperatura ambiente durante la noche. El ADN se extrajo a partir de aplicaciones puntuales de 6 x 6 mm usando el Kit de ADN QIAamp (Qiagen). A continuación, el ADN se convirtió con bisulfito: hasta 1,5 µg de ADN genómico se convirtieron aplicando los Kits de bisulfito Epitect (Rápido) (Qiagen) de acuerdo con el protocolo del fabricante. El ADN de la sangre completa se purificó usando un Filtro de centrifugadora Microcon®-30 (Millipore). qPCR: las qPCR dependientes de metilación altamente específica del tipo celular para cuantificación de los linfocitos T CD3<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> se desarrollaron y se llevaron a cabo como sigue a continuación: se usó un conjunto de oligonucleótidos (es decir, cebador directo/inverso y sonda de hidrólisis) específico para la variante TpG o CpG. Las reacciones se llevaron a cabo por triplicado en un volumen total de 10 µl usando 2xProbe Mastermix (Roche), 15 pmol de cada cebador, 1,25-2,5 pmol de sonda, 25 ng de λ-ADN (NEB) y hasta 82 ng de ADN o plásmido molde a 1 x 95 °C durante 10 min, y 50 ciclos a 95 °C durante 15 s. y 61 °C durante 60 s. Para TpG de CD8B, se añadió MgCl<sub>2</sub> hasta una concentración final de 4,7 mM. Los puntos de cruce de la amplificación se terminaron usando el software LightCycler480 (Roche) haciendo uso del procedimiento del máximo de la segunda derivada. Los percentiles de las células diana se calcularon como se ha descrito anteriormente (Sehouli, J. y col. 2011. Epigenetic quantification of tumor-infiltrating T-lymphocytes. Epigenetics 6: 236-246). Para las muestras de sangre, la normalización de los valores de qPCR ( $x_N$ ) se llevó a cabo como sigue a continuación:  $x_N = \text{qPCR}_x / \text{qPCR}_{\text{Cal}} * \text{FCM}_{\text{Cal}}$  usando un calibrador (Cal) con un valor de FCM determinado ( $\text{FCM}_{\text{Cal}}$ ). Plásmidos: las regiones diana sintetizadas para ensayos de qPCR en tiempo real se insertaron en el plásmido pUC57 o pJet1.2 (Genscript Inc.). Los plásmidos linealizados se diluyeron en 10 ng/µl de ADN λ-fago (NEB) para obtener patrones de qPCR de 31250, 6250, 1250, 250, 50, y 30 copias por reacción.

Oligonucleótidos: qPCR: las secuencias de los cebadores de amplificación son las que siguen a continuación:

Cebador directo (nmF1.3) AMP 2007: GGT TAA GAA ATT AAT AGG AAA AAG AAT (SEQ ID NO: 14)

Cebador inverso (nmR1.5) AMP 2007: CTT CCC CAC CAC AAT ACA ACA (SEQ ID NO: 15)

Cebador directo (mF1.3) AMP 2007: GGT TAA GAA ATT AAT AGG AAA AAG AAC (SEQ ID NO: 16)

Cebador inverso (mR1.9) AMP 2007: CCC CAT ATT ACT TCC CCG (SEQ ID NO: 17)

Las secuencias de las sondas son las que siguen a continuación:

Sonda (nmP1.2): TGT TTG TGA GGT ATT TAG TTG ATG GGA GTT TTG (SEQ ID NO: 18)

Sonda (mP1.2): CGT TTG TGA GGT ATT TAG TCG ACG GGA G (SEQ ID NO: 19)

Las posiciones genómicas de los cebadores y sondas de amplificación son las que siguen a continuación:

Cebador directo genómico (nmF1.3) AMP 2007 GGTTAAGAAACCAACAGGAAAAAGAAC (SEQ ID NO: 20)

Cebador inverso (nmR1.5) AMP 2007: CGTTGTATTGTGGCGGGGAAG (SEQ ID NO: 21)

Cebador directo (mF1.3) AMP 2007: GGTTAAGAAACCAACAGGAAAAAGAAC (SEQ ID NO: 22)

Cebador inverso (mR1.9) AMP 2007: CGGGGAAGCAACATGGGG (SEQ ID NO: 23)

Sonda (nmP1.2) AMP 2007: CGCCTGTGAGGCACTCAGCCGACGGGAGCTTTG (SEQ ID NO: 24)

Sonda (mP1.2) AMP 2007: CGCCTGTGAGGCACTCAGCCGACGGGAG (SEQ ID NO: 25)

Las posiciones de qPCR para CD3 y GAPDH de los cebadores y sondas de amplificación se han descrito anteriormente (Sehouli, J. y col. 2011. Epigenetic quantification of tumor-infiltrating T-lymphocytes. Epigenetics 6: 236-246).

Citometría de flujo: clasificación celular: las muestras de sangre periférica se fraccionaron en un protocolo de clasificación de MACS/FACS (Baron, U., Floess, S., Wiczorek, G., Baumann, K., Grützkau, A., Dong, J., Thiel, A., Boeld, T.J., Hoffmann, P., Edinger, M., y col. 2007. DNA demethylation in the human FOXP3 locus discriminates regulatory T cells from activated FOXP3(+) conventional T cells. Eur J Immunol 37: 2378-2389) para granulocitos

(CD15<sup>+</sup>), monocitos (CD3/CD14<sup>+</sup>), linfocitos NK (CD56<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup>), linfocitos B (CD19<sup>+</sup>), linfocitos T CD8<sup>+</sup> (CD3<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>/CD4<sup>-</sup>). Recuento celular: 50 µl de sangre periférica se tiñeron en tubos TruCount™ (Becton-Dickinson) con APC anti-CD3 FITC, anti-CD4 PerCP y anti-CD8. Después de la tinción y la lisis de eritrocitos, las células analizaron en FACS-LSRII (Becton Dickinson). Los recuentos absolutos de linfocitos T CD3<sup>+</sup> y CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> por microlitro de sangre periférica se calcularon mediante la proporción entre células analizadas y perlas TruCount™ fluorescentes de acuerdo con las sensaciones del fabricante. La tinción con PE anti-CD45 se llevó a cabo para la evaluación de los recuentos celulares relativos.

Análisis estadístico: para las representaciones de Bland-Altman, los errores se proporcionaron en porcentaje (FCM-qPCR). Se llevaron a cabo ensayos t bilaterales para evaluar si las diferencias medias (sesgo) eran significativamente diferentes de cero. La regresión lineal se llevó a cabo para obtener la pendiente y la intersección. Los ensayos de Shapiro-Wilk Y las representaciones de Q-Q se usaron para evaluar las suposiciones de normalidad de los residuales de regresión. Los residuales inspeccionaron por vía visual con respecto a la dispersión homogénea. Los valores de p < 0,05 se consideraron significativos. En el análisis de ROC se determinaron el valor del punto de corte óptimos y la precisión como valor minimizando la distancia Euclidea con respecto al punto de coordenadas con una sensibilidad y especificidad óptimas. Todos los valores de p corresponden a ensayos bilaterales. Los software estadísticos SPSS 21.0 (IBM) y R 2.14 se usaron.

Recuentos de linfocitos T en sangre periférica. Las muestras de sangre periférica seleccionadas de forma aleatoria y con ocultación de 39 donantes sanos y de 86 donantes con VIH<sup>+</sup> se sometieron a ensayo con ensayos epigenéticos assays para CD3 y CD8B y se compararon con los procedimientos concordantes de recuento de linfocitos T basado en Citometría de Flujo (FCM). Los sujetos sanos y con VIH<sup>+</sup> tenían una edad media de 55 (intervalo: 19-67) y 46 (intervalo: 23-75) años, respectivamente. Un 87,2 % de sujetos con VIH<sup>+</sup> se trataron con terapia anti-retroviral y un 17,4 % tenían infecciones oportunistas.

Acuerdo de procedimiento para la proporción CD8/CD3. La proporción CD8/CD3 media en sujetos sanos fue de un 21,0 % en ensayos de qPCR (FCM: 27,6 %) con una variación de un 9,1 %-34,7 % (FCM: 15,1 %-52,6 %) mientras que los pacientes con VIH<sup>+</sup> presentaban una media de un 41,5 % (FCM: 64,6 %) con una variación de un 25,1 %-60,9 % (FCM: 34,1 %-94,0 %, Figura 5A). La correlación de Pearson entre los datos de qPCR y FCM se encontraba en 0,94 (p < 0,001). La diferencia media calculada en el diagrama de porcentaje-diferencia de Bland-Altman indicaba una medición de qPCR más pequeña de un 34,1% en comparación con FCM (LoA: 66,6 % y 1,6 % (Figuras 5B)). Los inventores también sometieron a ensayo del acuerdo de las qPCR epigenéticas para la proporción CD8/CD3 entre sangre venosa y sangre capilar seca de seis donantes sanos (véase la Tabla A).

Cuando se usan estos ensayos en sangre completa, se observa un buen acuerdo de procedimiento Entre las proporciones celulares obtenidas mediante qPCR y FCM. Además, se observó una concordancia para puntos de corte de FCM usados clínicamente y de qPCR determinados experimentalmente. Las qPCR también se llevaron a cabo a partir de aplicaciones puntuales de sangre seca y mostraron datos equivalentes a dos de la sangre venosa.

**Tabla A:** Evaluación del rendimiento de qPCR a partir de aplicaciones puntuales de sangre seca en comparación con sangre recién extraída de acuerdo con el procedimiento de Bland-Altman.

	CD8/CD3 [%]	
	Sangre venosa	DBS
Donante 1	15,4	13,9
Donante 2	25,1	23,7
Donante 3	28,4	28,1
Donante 4	22,5	20,5
Donante 5	19,8	24,3
Donante 6	21,6	22,3
Media	22,1	22,1
DM		0,00
LoA superior		4,8
LoA inferior		-4,8
DM - diferencia media, LoA – límites de acuerdo.		

**LISTADO DE SECUENCIAS**

<110> Epiontis GmbH

<120> Procedimiento epigenético para la identificación de subpoblaciones de linfocitos T CD8+, en particular linfocitos T CD8 alfa y beta

5 <130> E31647PCT

<150> GB 1221133.0

<151> 23-11-2012

<160> 25

<170> PatentIn versión 3.5

10 <210> 1

<211> 46586

<212> ADN

<213> *Homo sapiens*

<400> 1

15

```

gccaagctca atggttccct tttcccggtc tttaggattt tgggcaaatt tattcaagat      60
ggatacattt ggttccacaa ggggggacact ttggggttca caaggatggg ggccacagct      120
caccagggca gaacttgagc cccctatgac ttgggggggtt gatggtggca gagaagtctc      180
tgctgggtgt gtgggaggat ccctctgagc gagggaggaa tctggtaaaa gtagtaaaga      240
tccactcatc aggacctgtg cttcttgccct atgttttcag gatccatggg ttaagcagct      300
tctgtgaggt tgtagtattg ctgtagtatc catgcaggca ttgggggaca aaggttcctg      360
atataccttc cccttgaggc cttgcaaaaa gaaaaacaag agagtctcaa tacatgcacc      420
aagtcaaggt gttggttact tattaagtaa tgactgattt ttttctgtga ctcagtcgag      480
tcagatgttg tgtcaaattc aacacagaaa gagccaggca tatagcactt gataggccta      540
gggttaccac aggatccaac cacatttgat tcaggatctc aaagccagaa acctctgttt      600
ctgtttcttg tgatttcttc tcagaaagag gaaaccacac acagagaatt acctgctcag      660
ttattcccca aagttaatat catttgggaa agcgggtgag ggttttatcc ttccctcttg      720
ggcatcactg tcaattttat tgccatgggt aatcaaggtg aatttcaata gtgtctgacc      780
tgcaaattag ttttctgcca tttggaatca aggatgtacg ggtcaacagc tgcaggagac      840
ttcagagagg tccccatgct taaaaaattt ctctcaggag agtagtaagg taggggtggct      900
attgtcatca caggttggaa gacaagatgg tcacaaatgt tagagaattt attctgatgg      960
aaacttctcc tccgggggtac tttataatgg acatgaagac tcaacttcag gaagatgtaa     1020
gttttcccca gttaatctac agatccagtg cattcaaaat gcccaaccaga ttttgctcac     1080
aagctgatta tcaaattcat atggaagtat aaagggccaa aaatagctga ataattttgc     1140
tgaagggtaa gggggggacc cattattcca catatcatga tttataaact ctagtaattt     1200
    
```

ES 2 742 648 T3

aaacacaaat agaacaatga aagagagtag ggggcctaga aaatacagat gtgaacatgt 1260  
 tggagatggc tgggcactcc tgtgggtaaa ggattcgatc attagtgctg tgacattggc 1320  
 ttcccatgtg ggaaaaacgt aaaacttgaa ctctatctca aaccattcac aaatgtatac 1380  
 tccagataga ataaatatga aaagcaaagt ttcaaaactt ttttaaaaaa tgtgttttta 1440  
 agacagagac atgataaggc acagaatttc ttggtcaaaa tataaaagga caagccataa 1500  
 aagtgtgatg ttaccattcg aacatttgtt taaagtatgc agggcaaaaa ccaatacaaa 1560  
 gttaaaggac aagtctcaaa ttagtagaag atatttgcag tgcataaaag caacagaaga 1620  
 tctttatcca taacatatca gactctcaca aagtaataag ttaaagacag cagaattaa 1680  
 aatgggcaaa gtacgtgacc aagccaatat ccaaataaaa agatgccaaa cttacttga 1740  
 atcagtgaga tgcaaatgaa aacaaccaat atcattttat attcaaatta gcaaaatgaa 1800  
 caagaccaat aacatcaagc atgagggagg atatgacca ataactgtga tgcagtgttg 1860  
 atgggatgt aaattgttac aactgcagtg gagataattt gggatatcta gtaaaaatat 1920  
 ctattaaanaa tgaagatgct ctggccccag aacttccact tccagattca ttgctcagag 1980  
 aagttttgat gtataagagt gttcacagaa gcacaaacia cagaaattgg aaaattgtaa 2040  
 taataattat aaactaatat ctaatagggg aatgaataaa attgtaatac attaataaaa 2100  
 tatgacacaa taatgaact agatccacag gcatcaacac aggtaaatct caaaaatag 2160  
 ttgaatgaaa taagcaaatt ttaaaagtgc atgtacactc tgacattatt tataaaaaat 2220  
 aaaagcacat gccatatatt attcattatt atgtcattgt ttatagatac ttacataata 2280  
 agagaatcac aagtataaaa aaagcctgga ggcagaacc acaaatttca agatagggtg 2340  
 tgcagtatgg aggatggaat aggggtgaag aaggggtctc aacacaaaca ttttattgct 2400  
 tgaataaaaa gactgaagca aatttgga aagttaaatt tgctaaatct gacagattta 2460  
 tttagcaaat ctgctaattt gctaaataaa cttgaagcta gtatgttacc ttcagttagt 2520  
 ttctttatat ttggcataat tcataattca tgggaggagg taattacata ttaaaaatat 2580  
 atattcactg gctgggtgca gtggcttatg cctgtaatcc cagcactttg ggaggccaag 2640  
 atgggtagat cacctgagtt caggagttcg agaccagcct ggccaacatg atgaaaccct 2700  
 gtttctacta aaaatataaa aattagccgg gcgtgggtgc gggcacctgt ggtcccagct 2760  
 actcaggagg ctgaggcagg agaattgctt gaactgggag atggagggtg ctgtgagccg 2820  
 agactgtacc actgcacttc agtctgggtg acagagcgag actccatctc aaaataaata 2880  
 aataaataaa aataaataaa taaagtatat attcataatt aacagagtaa ctgtatgtaa 2940  
 tgagtacctg ctgtgttcca ggcactgttt aaagtacagg catacctcat tttattgcac 3000  
 tttatTTTTT tattgtgctg cacggatggt gtatTTTTag caaattgaaa gtttgtggca 3060  
 accctgcctg gagcaaatct atcaatgctg ttttcaata gcatgtgttg actttgtgcc 3120

ES 2 742 648 T3

tctggatcac	ctttaataa	ttcttgcaat	acctcaaact	tttccattat	tattgtgtct	3180
gttctggtga	ctgtaatcag	ttatTTTTga	tgttactatt	ttaattgttt	tagggcacca	3240
tgaaccatgc	ccatttatga	cagtgaactt	gatccataaa	tgttgggtgt	gttctgactg	3300
ctccatgacc	agccattctg	tatctccttc	tccttaggcc	cccctatgcc	ctgagccaca	3360
aaaatattaa	aattaggcca	attaataacc	ctacaatggt	ttctaagtgt	tcaagggaaa	3420
ggaagaattg	cgcatctctc	actttaaatc	aaaagctaga	aatgattaag	tttagtgagg	3480
aagggatgct	gaaagtggag	acaggctgaa	agctaggtct	cttgtgtcaa	ataatgagcc	3540
aagttgagaa	ggtagagaaa	aagttcttga	aggaaattaa	aagtactaat	ccagtgagca	3600
catgaatgat	aagaaaacga	aatagcctta	ttgctgatat	ggagagagtt	ttagtggtct	3660
gggtaaatcg	gaacagccac	aaaattccct	taagcaaaaag	cctaatccag	agcaaagtcc	3720
caactctctt	aaatTTtatg	aaagctgaag	tggtgaggaa	gctgcagaag	aaaagtttga	3780
agctaggaga	ggttggttga	ttcaagtggg	ttaagggaaag	ataccatctc	cttaacatca	3840
aaatgcaacg	tgaagaagca	ggtgctaata	tagaaactaa	taggtgctgc	agcacagcag	3900
gttatccaaa	agagctttct	aagattattg	acaaaggtgg	ctacactaaa	caacagattt	3960
tcaatgtaga	caaaacagcc	ttatattgga	agaagatgct	actaggtctt	tcatagctag	4020
agagaagtca	atgcctggct	tcaaaggaca	gctgacctct	cttgttaggg	gctaattgcag	4080
ctggtgactt	taagttgaag	ccaatgctca	tttaccattc	taaaaaccct	aagtccctta	4140
agaattatgc	taagtctact	ctacttatac	tctgtaaattg	gaatagcaaa	gcctggatga	4200
cagcacatct	gtttagagca	tggtttactg	aatattttaa	gccactggt	gagactcgct	4260
caggaaaaaa	gattcctttc	aaaatattac	tgctcattga	aatgtgcct	ggtcacccaa	4320
gagatctgat	ggagatgtac	aaggagatta	atattgtttt	tcatgactgg	taaaacaaca	4380
ttgattttac	atggaccaag	gagtaatttt	gactttcaat	tcttattaag	aaatacattt	4440
cgtaaggcta	gagctgccac	agatgatgat	tcctctgata	gatctgggtg	aaaccttctg	4500
gaaaggattc	accattctag	atgcaacaaa	gaacatttgt	gattcatggg	agcagggtata	4560
aataccaaca	ttaggaggag	tttgaagca	ggtgattcca	attctcctgg	atgagttgga	4620
ggagttcaag	acttcagtgg	aggaagtaac	tgcaagtatg	gtagaaatag	caagagaact	4680
agagatagaa	gtggagtctg	aagacgtggc	tgaattgttg	caatcccgtg	atcaaaactta	4740
acacatgagg	agtttattct	ctctgatgag	caaagaaggt	ggtttcttga	aatggaatct	4800
actcctggtg	aagatggtgt	gaacattggt	gaaatgacaa	cagaagatag	agaatgttac	4860
ataaacttag	ttgagaaaga	ggcgtcagta	tttgagagga	gtgactccaa	ttttgaaatgc	4920
tgttctactg	taggtaaaat	gctatcaaac	agcatcgcat	gctacagata	aatcttttgt	4980

ES 2 742 648 T3

gaaaggaaga gtcaatcaat gtggcaagat ttgttgttgt cctattttac gaaattggca 5040  
 cagccacgcc agcctttggc aaccaccatt ctgatcagtc agcagccatt gacatcaagg 5100  
 caagatgccc tccatcagca aagaaattat gactcactga aagctcaggt gatttttagca 5160  
 tgtatttggg aataaattat tttttgatta agacgtactt tttttttcag acataatgtc 5220  
 tttgtacact tagtagacta ctttataggg taaacataac ttttatgtac actgggaaac 5280  
 caaaaaatga atgtaactgg ctttattgtg atatttgctt tattgtgggtg gtctgggaact 5340  
 gaacctgaga tatctctgag gtttgcctat actggaattt ccaagggttag tgaaacatcc 5400  
 tttctgcagc ctgagtgggt agatttaggc tagtctcaa aatataaaaa ataactagaa 5460  
 tataatgtaa taacagtgat cattaagata acaatgctag cagctacat tgactgagta 5520  
 gtatgtgcca tgcaactctgc aagcaactatt ttattaatgc tcatgtgtga ggtagatatt 5580  
 atcattatc ttgttttata ttcaaggttc agagaggtta attcacttgc tcagagtcac 5640  
 acaggtagcc cagatctgct atgtgccagc cctaattact gagccatcct gtctgtccca 5700  
 cttttctga cccaactccc cacttotgaa ccacaggcgg tgtagctggc tttgaatata 5760  
 ggtgctcttt ttatataggt actcttgaaa ggatcaactt tacttttttt ttttttttca 5820  
 aataatccaa taactttgac tttttattag gttacactgg cattctccca agtttttcat 5880  
 caaactcatg aagcctgctg ctccctcaat tctcaaggcg ttggagtgag gccgcctggg 5940  
 gtgaatcgaa gctttcggat ttatcaaagtg tgggtgtgatt tctaagacgc cattgagccc 6000  
 tgctaaagga gttgctaata tccacctcgt tctgcgggta agaaaccaac aggaaaaaga 6060  
 aogcacaact ccagcacag tgctggcgcc tgtgaggcac tcagccgacg ggagctttgt 6120  
 tcttcgttgt attgtggcgg ggaagcaaca tggggccttg tcctgcgga acacttgagt 6180  
 taagatcaca ctggggctcc ttcaggccct gggccaagtt ggggcacag cagagttcgg 6240  
 ttgttgctgt agcctcagaa ccaccagag ttgactgaag aactcgggg gcctccataa 6300  
 ctgagagcag gcagaggcat tgtttttaac ccagtgtgga cccccaaatg gaacattttc 6360  
 cttccctagg tgaacgcctt cggaaacctc cgaaaatcgc agtttcactt ttagcaaaga 6420  
 gccccgctgc agcaggggaa agccccaca accccgctcc tctccaaagg gaatgttccg 6480  
 agccccctgc ttctccacc cttctcttcc cctgtggtta ttctctcct ccagctcgtt 6540  
 ctgccttctt tctttctttg ctttttcgag gcccgctctt ctctgatttt gaagggctgg 6600  
 cgcaggcttg ggcacttctt tcaggttctg tattgtatgt ctgccctgtg gcttctcctt 6660  
 ttgcaactcc gagcaactct gtgcttggat tgcagctccc aacagtctg ccctgacttg 6720  
 cccagtcac agggcagaga tgaaccaggg actgtacca gggttttgag ttctgcat 6780  
 atttatagca tcaactctcc tttagctctt gggaaaaagg gttttaaagt gctgcaatct 6840  
 tctaacacaa aattatatca gtgctgaaaa tgtgttttcc acttataccc cagcagga 6900

ES 2 742 648 T3

aaaaaaaaaag atgatatctg tttcaggtaa gagtcatgat gacctcagaa agcaatatca 6960  
 gaagctatca aaatgtttat acctgtatat tcagtagtcc attctggaac atttctccag 7020  
 tggatgtaat cttagtcttg gcacaataga gtatgaacag agatgttaaa tgttaaaagc 7080  
 aatggaaatg ttcagaaata aagcaatatt taagtaaaca atgataatgc attcaatata 7140  
 attttaggca ttaacatgat gatgttttag aattatgaaa cctatggaaa ggttgacaag 7200  
 gaaaacgcag acagcatgct tgatataaac atacattcag catgattata actatgtaaa 7260  
 atgtaaaaaa tgttttttaa acattagaag aaaatacacc aagatgcggt tcccttgctg 7320  
 ttgtttctag tggctaattt ttgcaatgtg tattactgca gttatatcac ctttacaat 7380  
 ggaaagctta aaaataactc acttcccttc ccagagagca atgttcagtg caaagccaca 7440  
 ctccactcca gggatggcct tcagcactgg actttttggg agccagaatc aagcagtatg 7500  
 tgtcacttct tatctcatgt tgttgggtgc acttactcat atgttgtctc atcattctgc 7560  
 agttgtttaa tgtgtttata tctttctcta caaccatttt ttaaagcta tttttaaant 7620  
 tgtggcaaaa tgtatgcata acataaattt accatttttag tcatttctaa gtatacactc 7680  
 cactggcatt aagtatattt atatttttgt gcaatcatta ccaccatgca tccacagaac 7740  
 tttttcatct tcctaaacta aaactctgta cccactaagc accaactccc cattccccct 7800  
 cccccagttc caggtaaccg ctatgatatt ttcagtttct ctgacgaatt cagagacacc 7860  
 actcttggtc cctcctgcaa gtagaatcat actgtattta cctttttgca caatcatttt 7920  
 ttaaaaactta aaaaaaattt ttaattaatt tttttgagac agtctcactc tgtcaccag 7980  
 gctggttggt gtttgacagt gcacgatcat ggctcactgt agccttcacc tegtgggctc 8040  
 aagtgatctt cacatctcag actcccagat atttgggact acaggcacc accacgggtgc 8100  
 ccggctaatt ttttaatttt ttgtggagat gaggtcttac tatgttgccc aggctggtct 8160  
 caaactccta ggccaaggg atcctcctac ttcagccttt caaagtgctg agattacaaa 8220  
 gcgagccaca agcctcggcc tgcacaatca ttataaaaag ctctctgagg ataaggacca 8280  
 aggccctgat ttgttttcat tgtaaacata atgttcattt gctcattgat ttgatattga 8340  
 ctgtgcaccc acacgtgtgc tgggcactgt tcgaggcagg gttaagaaa cgctcaagaa 8400  
 gcacatgtgg tctctcaagg ggacggtgta gtggacagag ataacaaaga aaaacacaga 8460  
 gaagaaagaa tgacggagag tgagaagtgc tgtaagtgca gtgacagaca ccgccccagg 8520  
 gcctcctgga caggctgcat gttttagga tgatggggag tggctcctgga gaagactgag 8580  
 gaggagccct ggggggtcca ggcagagaga ggaggggcac agagctggag gacggaaggg 8640  
 cctttgtaca gcatgtgtgt gtgtgtgtgt atgctggggg acacgcaggg agatggcagg 8700  
 cctcagcact ggggagagct ggagtgcatt ctagatgcag cagggagctg gagcagggac 8760

ES 2 742 648 T3

cctcttctcc ctgcctggcc tgagagcagg gaaggaggcc ctgggctgtg gctgattgca 8820  
gtcaacactg aggaacaagt gccaatgctt catgcagggc acaacctctg ccacactttt 8880  
acctatgtga ccttctgggc cagggtactgt gaggtgcttc atttctcaga tagcaaggct 8940  
gaggctcaga tcaatgctgc tttgcacaca gctggaagtg gccaaatcag cccgaaaccc 9000  
ccattttgtt ctgcatcttt gtgcagggtt ggggtgctgt gtgtgcaatg tctggtgtgc 9060  
tggacatgca acaggaaagc aattggtacc tctaattttt aggaggccaa agggcaagaa 9120  
gccacgtgct ccaggccaaa gagcagctaa gggaatgaag agtaaactctg tgattgaatg 9180  
aatgagcaga tgaaaagaga aaaagcctcc ccctgcacaa acctgcaacc cattcccttc 9240  
ctggggctct gtggggaggg ggcttttcat cagtgcctctg ggtcagggaa gagagagggg 9300  
ggccttgtgg tggagggaag gggaggagag ctccaccatca gaggtggaaa gaaggttcta 9360  
gtccctccag agcacactca gggatgcttt cttgtgcttc tgtcccaagg cettgtctcg 9420  
accttgctta ctataaacac agtgctacat cctgcttttc ctttacttca ttgcataaac 9480  
cttccctgaa tcgcttccag aatctttaga accaccgttt ttaaggtttg aatacttgta 9540  
taccaagtaa atgaccacag cttattgaaa ctctcttcta tagtcaacca cttaggttgt 9600  
tctattgtta tttctagaac acataactaa tgccaataaa taatgatgat ggcacagatt 9660  
agtatttctt gaggatggat ctcttgctgt ggttccaaag ctctaagcaa tttatatggg 9720  
ccctggagtt tccctccacag ctccctaaggc agctctggca catgaggagg ctgggaaaag 9780  
agcaggggtg atgggtgcat ctgccttggc aagtgaactt gttggttctg tcccacgcag 9840  
cttgggtgtc ggtgtggggg gtgtgctgct ggggttgagg aggggcccgc ctacataacg 9900  
tccccacata aaaggggcag gtgtgcaggt ggtcccaggg atggcggcag ctctgtctga 9960  
ctcccccta ctggggggct atgggggctg tgggagtgga gggtgaggat caccgtcctc 10020  
caggatcccc caaccctcc ttggccattc ctttgactt ccttgggaaa gagtccaggc 10080  
ttcagaggat tctttgctca tttcaatctg accccatttg aatccccaaag ggtcgcagta 10140  
aaccocaggc acacaaagac agaggcttgt ggctggcttg cggttgctgt gatcacgatg 10200  
gaatcagaca acggctgccc tggcaggcag caccaggca cctctcaggt gggaaaagac 10260  
tgagccaggt gaatgtccca gagctccagc cagctcaggc tcctatgggt gataactgca 10320  
ctagacacct ctccgaagaa gccaacagaa actgcatgca gcggcaacat gagcaaagat 10380  
aagtgttggg acccgttctt cgctgccacc tccaagtctg aacagcagge tctaaggggg 10440  
gcatgggagc ccctcagaaa gggccactgc ccattgctca cctcctgccc gccactccac 10500  
tctttattgt cctacctgac tgtaacaggc tgcatgctca acatggtgtc agctgcccc 10560  
aagagcacca ggaggagaca ggggtgccat tgggacatga acaggagctc ctacctgaat 10620  
gtgcagacct ccgccactgg agctctcggg gggaaaacat ccattgacagc ctccctgagc 10680

ES 2 742 648 T3

cttgaaacat ttgcagacca agcaggctca ggtgcccgctg tttgcaggcg gttttttaga 10740  
 acgtatcatt tgtcttatat tgatgtaccc ttcaaagccc gggaggaagt gtggctctgt 10800  
 ggggagctct gtgcaggcaa catgagagtc tgtattgtct tcctagctct gccccggttg 10860  
 tcagaggagt ccatctgggc cacaggggtg aggagccgtc acccctgcct tttgtttagc 10920  
 cggtgacacc tccccagttg tgtggcgggt gatgcagcaa taatgccac gagctcctct 10980  
 caacaatcaa aacaaaacag agagccactc taaaacagtg gctttcttgc aatggaata 11040  
 tgctgagaat ctgtgacatg tgcaggctcg taagtgagaa ggaaacagga accaccaatc 11100  
 gattctgaca atgtagaaaag cagtggaggt ttggggccag gagaacaaaa gacctatggg 11160  
 agagggcggg acccaggaag ggtggccatg gacttgggtg catcacctga gccctgtcac 11220  
 ttggaagaa ccctaacgac catcttaatc ctgcctgtat agatacctta ctgtgccgct 11280  
 gctgggtgtg aagcgtggct actaaaaatg ttcacttcat ttttaagaag tagaacaggt 11340  
 tcaaggttat tcctgtagac gacagtgtcg ctctgccca agtacactgt gggaggcttc 11400  
 cttagcagga tcgaaagggg tggattaca gtgggactg gaattggctg tggttcacac 11460  
 atgtagacat gactgtgaat ttcttgttt ttttttttt tgagacgggg tctcactctg 11520  
 tcaccagggc tggagtgcag tggcatgac tcggctcact gcaacctctg cctctcgggt 11580  
 tcaagcgatt ctctgcttc agtctcctga gtagctggaa ttataggcac ctgccaccac 11640  
 acccagcaat ttttgtat ttagtagaga gagggtttca ccatgttggc caggctggtc 11700  
 tccaactcct gacctcaggt gatccactcg cctcggcctc ccagagtgtg aggattacag 11760  
 gcatgagcca ctgtgcctgg ctgactgtgg attttgtggc agcaaagagt tcatcttggg 11820  
 tcatcagcta agactgtgct caagtgtaag ccactgagta gacttgttta tgagtgattc 11880  
 ttggaagctt gcaaggactt cttttgagtt aaaaaaaaa aaaccttctg gtagagttaa 11940  
 acatgaattg gcttgccctg agagttcggg ttttatgtca cgagaggtag ttaaattgtg 12000  
 gctggggggc tgggtgtggtg gctaatacct gtaatcccaa cacattgga gactgaggtg 12060  
 ggtggattgc ttgagcccag attgagacca gcctggccaa catggtgaaa ccccatctcc 12120  
 acaaaagtta aaaaaattag ccaggcatgg tggcatgtgc ctgtggccc agctactcac 12180  
 gagctaagtg ggaagatcac tggagcccag gaggcagaga ttgcagtgag ccgagagggc 12240  
 accactgcac tccagcctgg gtcacagagc aagaccctat ctcaaaaaaa aaaaaaaaaa 12300  
 tgtggggtag acaaatatgg ggcaggggtg ctgtaaaggg tgttcacggt ttattttggg 12360  
 agctgaataa tgtagacttt aaattgttt tgcaacatag agatctacag ctctggacta 12420  
 atggatcaga ttttgctagt tgcaaagatt tttgaat ttt aattgcagtt tgctgctgtt 12480  
 tcaccacaaa caaaagtaga ggaagaactc atagcttata tgcaagtatc atgaactctg 12540

ES 2 742 648 T3

gggctttgta gatgagacta ggaaaacttg tgcaggacct gaagttgaac tgccttgget 12600  
 cttgttccca tgtgctgggg gatggggcaa ggacatctca ccaggatatca gtgggtgggc 12660  
 tacactatth gagtaaaagtc ctatccttat agtggttgctt tcctgcctgg tgacttgact 12720  
 gagtttaggc ttagcgacct gcttataaaa tggcaagagt acgtacttgc ataagcggtt 12780  
 aattgacata atgcaggtaa atggaacagt accaaacgct taataacaaa tgcttaataa 12840  
 atgaagatgg tggctggcaa gtggggggcga atgtcaataa acaacatgta aaaatatgga 12900  
 tcatctggtc actttaaaact tttagtgaga tcaaagtggg gcaaaaatttc tctacaaata 12960  
 actggaattg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg cgtgtctgga cccacagaga 13020  
 agtttttaat gtagatatat aaagtagata atctcattta tattttggaa aatttttaatt 13080  
 tttaaaaaatt tttgttattt gatgatgatg atttgtttcc ccttcagagg aggttttcca 13140  
 gctctaggag atgctgttga caatctctct tctgaagtta aggggccctt tgagtggctc 13200  
 tggccactga gaagtgaac cctgggagca gctagagatg gccagcctat gatattcaca 13260  
 gccaatgtgt taagtgtgaa gttctgtgca agtaggtttt aaataggtac agcctaaaat 13320  
 acataattht cttattatca aaatcatgtg cctttttaag gaaaaatcta agaaacacag 13380  
 aaaagcaaag agaagaggaa aataaagtat tcatatgggc ctacctcaa agatgcaacc 13440  
 agcaacctct actttattat cttctggatt cctttactct cttaaaaatg gggtcctact 13500  
 ctagttgttc taataactct tcatcacttt ttaaaaacag taatttgtht cttgtcatta 13560  
 tatcttctcc atatatacat acacactctt tttttttttc aaaatggaga ttgcattgtht 13620  
 gttttgcctg gctgtcagtg taatactcag atggaagtac tgcacatgca taaacaagac 13680  
 gataaagatc acttgtaatc tgccccacac caaccctgt cacatttgga gttaccattt 13740  
 tggcatatgc tctttacttt tttttttttt tttttttttg agacggagtc ttgctctgtht 13800  
 gccaggctg gagtgcagtg gtgtgatctt agctcactgc aacctcogcc tcctgggtht 13860  
 aagcgatthc ccccgctta gcctcagcct cctgagtagc tgggactaca ggtgcatgcc 13920  
 accatgcccg gctaatttht tgcattthtag tagagacagg gthtcaccac attggcaagg 13980  
 atggtcttga tctcctgacc tegtgatctg cctgtctcag cctctcaaag tgctggaatt 14040  
 acaggcgtga gccaccgcgc ctggctggca tatgatcttt ctgaatattt tgtttactgt 14100  
 ggattcctaa ttagggaaaa aggagtcagg ctggggggag tcaggcgggt gggagcaagg 14160  
 gaaaataaaa agagaaagca gataagcaac aagtctgcct ttctttatgg tccaggacac 14220  
 acagccctcc tgagcaagta actctcacca gacacgtgca agttagctca ctgcaacctt 14280  
 ggcgthatta atactacaca aagccctctt caacagatag cataaacgct accctgthaa 14340  
 atcaccagca agcctthgtc tccttgagct cagthtctct ctgctgcctg cctattgtcc 14400  
 ctctggcaat gtatthtcta ataaatcttc tgccttcttt tacctgcaac tgtthcggta 14460

ES 2 742 648 T3

aatcttttac	ctccacacca	ccggctgtca	ttccccatg	acatttaaca	catgtttctt	14520
acacacagat	aatttctctc	ctcttctgcc	gagagctggg	ttcatagaat	atctaacgtt	14580
tgataatctg	ctttttaaat	ttaataatgc	attgtgaaca	tctttccact	tattaaacat	14640
tcttgcacag	cattatttta	atgtcattta	ttaccttgca	tggatgtatt	ctcatttatt	14700
tcactggtag	atatgtagtt	tttagcatgt	ttttcttttt	tttgagacaa	ggtctcgcctc	14760
tgtcacctag	gctggagtgc	agtggtaacg	tcctggcaca	ctgcagcctc	agcctcctgg	14820
gctcaagtga	tcctcccacc	tcagcctcct	aaagtgtctg	gattacaggc	atgagccaca	14880
ggtcccagcc	agtttttagc	atgttttcaa	tatgcttaca	atactctgat	gcatgtcttt	14940
gccactaata	attcttgtgg	ggccaggcat	ggtggctcac	acctgtaatc	acagcacttt	15000
ggcgagtcat	ttgaggccag	cagttcagag	ccagcctagc	caacgtggcg	aaaccctatc	15060
tctactaaaa	atacaaaatt	tagccagggtg	tggtagcata	tgccgtgaat	cccagctact	15120
tgggaggctg	aggcatgaga	attgctttaa	cctggcaggc	agaagttgca	gtgagccaag	15180
atcgtgccac	tgactccag	cctaggggac	agagtgagac	tctgtctcca	aaaaaaaaaa	15240
attattatta	ttattgtgca	taaccaataa	tatcatgaat	atcttctgta	tatattcata	15300
gaagtgaat	tgctggttca	aaaaaaaaata	cacaaatttg	aggctctaga	tatgtattgc	15360
caaattgcc	ctcagaatgg	tgggaccagc	ctggactccc	agcagtggat	tatgaatggg	15420
cccgtttatc	agcactctta	tctatctgaa	atgctatatt	atggtacaat	ctggtaaaat	15480
ccatttaaaa	atgcattcct	tttgtttatt	attttaataa	ttccaattta	tattagaaac	15540
cagtttgcat	ttaattttat	tagattttgt	tattaattaa	attactaaat	ttctggtttc	15600
tgtcctttta	agaaacgta	ttattttaa	tcatttagaa	tttcttttgg	tgtcagatat	15660
gaagggctaa	aactccattt	tttccaaata	tttaaccaat	tgtctcggca	ctctttatta	15720
taatctatta	tttttgtttg	tttgtttttg	agacggagtc	ttgctgtgtt	gtccaggctg	15780
gagtgcagtg	gtgcgatctt	ggctcactgc	aacctccacc	tcttgggttc	aagagattct	15840
cctgcctcag	acttccaatc	gctgggatta	taggcacctg	ccatcatgcc	cggctaattt	15900
ttgtgttttt	gtagaaacgg	gtttcaccat	attggccagg	ctggtcttga	actcctgacc	15960
tcaggttatc	tgccctgcctc	gacctccga	aatgctagga	ttacaggcat	gagccaccat	16020
gcctggcttc	tataatctat	tctttcccca	tgtatgtgac	tgctacattt	gtcatgtaat	16080
ccacatgttc	aatggagtc	tattcatgca	tcacttcagt	gattgaaatc	agcaatttaa	16140
aattgatcag	taaatatcta	gcagctgata	atcccatgag	gagagagaaa	cttcttttgc	16200
ctttgagaaa	gaaaatgttt	tccttctgat	tctaaaagaa	taggtgagtt	gctttcctct	16260
atctctgcaa	ttttccctc	tgctgggacc	cacagatggg	gaaaatgaga	cctctgatga	16320

ES 2 742 648 T3

ggcagcagaa acccagaagc cagaacaccg ctaaccagta atgaagctgt gggatcactg 16380  
 aagctcccct gccccaggga gacacgggtg gtcaaagtag aaactgaaga tcagcctcag 16440  
 agactcccag actgaggagt cagcctaatt ttctgataag aaattaaaga ctaggggctg 16500  
 ggggagtgag agaagtatta ttctcaaact tttaggaaaa aaaacaaaat gaaacaaaac 16560  
 agtgaaaaga atgatcagga agtcagtaac ttcatgtgtc ctgtgcttac aatgccatct 16620  
 ttttaactgt aggaattggc cattgtaata acaaatgcca ctgctgtaag gaaggtatca 16680  
 gtgagtggga aagggtctta attgtgctgt ctcatctgac gagcttgagt gttcacacca 16740  
 cgcagccaca gccagagcag cacactctat ctggggtggt gaattgtaat tttaggcaaa 16800  
 tatcagagga gaaaataaat taccttgagt gattataaaa ctaaaaatag taagagaagg 16860  
 ataggtgcag tggctcacgc ctgtaatccc agcactttgg gaggctgagg aggggtgatc 16920  
 acctgaggtt aggagttcaa gaccagcctg gccaacatgg tgaaacctcg tctctactaa 16980  
 aaatacaaaa ttagccaggc atggtggtgt gtgcctgtaa tcccagctac tcaagaggct 17040  
 gaggcgggag aatcgcatga acccgggagg cagaggcttc agtgagccaa gatcatgcc 17100  
 ctgtactcca gcctgggtga cagagtgaga ctcgatctca aaaaattaaa aaaaaaaaaa 17160  
 gagatatcat atcaataag aggaagggca eggccacatg aggtttttat gcagcaccaa 17220  
 ataacctgct cgagtgggga ataatgccg aacttcagg ttgtgagcca ctatgatacc 17280  
 cacttttctt gccccaccc tcccttctgt tgttggtttg ccccccaatt tactgctccc 17340  
 tgtgtgggtt gagctttgta agctgcccc aatccttttt gggaattaga caatgcaagg 17400  
 ataaataaaa acattgattc ttaggagctt ttcaatgtat tataaaattg aattttaaca 17460  
 gacaggtaa taaaaataa aagaggaata cttttgtttt gatctcttgt tatttaaatg 17520  
 aaatttatcc cttttccagg ggaaagtttt tgttttgaca ctcatggtca gcaactggtct 17580  
 cctctcctct cctctcctct cctcccctct cctcccctcc cctctcctcc cctcccctcc 17640  
 cctcccctct tctctcctct cctcttctct ctctcccctct tcccctcca cccttctct 17700  
 tgctgcagcc tctcacagc gtcataggca caggaacaca gctacagaca tgaagatgct 17760  
 ttctgtgtt acaaaaaagg atagtttaa taattccctg catcctgctt ttctctctta 17820  
 atagtacact ctggcagtgt tgccaagtta atctgtcttt tttttttttt ttttgagatg 17880  
 gagtctcact ctggtgcca ggctggagtg cagtgggtgt atcttggtc actgcaacct 17940  
 ctgcctccta ggttcaagtg attctctgcc tcagcctccc gagtagctgg gattacatgc 18000  
 ccggctaatt tttgtatfff tagtagagac agaattttgc catggtggcc aggctggtct 18060  
 caagctcctg acctcaggtg atggcccacc ttggcctccc gaagtactga aattacaggt 18120  
 gtgaggcacc gcacccggcc ctctcctctc ctctcctccc ctcccctccg ctctcctccc 18180  
 ctcccctccg ctctcctccc ctcccctccg ctctcctccc ctcccctctc tctcctccc 18240

ES 2 742 648 T3

tttctctctc	accctttccc	ctccgccc	ttctccctct	ttttccctcc	ctccctccct	18300
cccttccctc	cttcccttct	tccttttctt	ggggggcagt	ggggacagag	ccttgctctg	18360
ttgccttggc	tggagtgcag	tggcttgctg	taacctcaaa	cttctggact	aaagtgacct	18420
tcttgcoctc	gccttccctag	tagccgggac	tataggcatc	caccacctatg	cctggctaaa	18480
ttttgtattt	ttaatagaga	tggggtttca	ccatcttgac	caggctggtc	tcaaactcct	18540
gacctcgtga	tccgcccacc	tcagcctccc	aaagtgctgg	ggttacaggg	gtgagccacc	18600
gtgcccgggc	aatcattct	ttttaagtca	ttcttttgat	ggctacacga	tatttttggg	18660
tatagataga	cagcaactta	ttaaatgatt	ccctattgat	tatcttgggg	ttgtttccca	18720
tttttatttt	gccccaaaca	tatggataga	atcatctttg	tatatttatt	ctgatgcaat	18780
gatgcttcta	ctttcccggg	gaccatttcc	caggagtgct	gagtgcagct	ccctaattca	18840
tattaaacac	tactagatgg	tgccacctg	ttttccacaa	agctgtagcg	ctcgcttatt	18900
ccagcatcag	caacacctgt	gtgcccttgg	ccacaagctt	tccagcagtg	agcagcatca	18960
ctgttttaca	tttttactca	gtgacatttg	tatgcaaagt	acagattatt	atttttctgg	19020
aaaatgtatg	cttaacctatg	ccagggctcat	aactcatgct	atgaaaaga	ttttggtgta	19080
gaggtcatgg	cagaagaaat	gagaacgtgt	gaatcagctt	tcttctctta	cacacacaca	19140
cacacacaca	aaagtcttaa	ctgagcttgg	atattaaag	cagtgtgggg	gagaggggtg	19200
ggaggtttgg	agttaccatc	aggagcgtct	gaccaggctc	aaacgtggga	tagctgtcca	19260
ttgaacagcc	ctgtatgtca	caatgactag	gaaaaattta	taagacagac	gttccaggcc	19320
gggcacagtg	gctcacgcct	gaaatctcag	cactttggga	ggccaaggca	ggaggatcat	19380
gaggtcagga	gttcgagacc	agcctgacca	acatggtgaa	accccgctctc	tactaaaaaa	19440
tacaaaaatt	agctgggcat	gatggcgcg	acctggaatc	ccagctactt	gggaggctga	19500
ggcaggagaa	tcgcttgaac	ccgggaggcg	gaggttgag	tgagccaaga	tcgtgccact	19560
gcactccagc	ctgggcaaca	gagcaaaact	ctgtctcaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	19620
aagacaagcg	ttcccctgca	cccgcaccac	caaatcgctt	gccacacaca	gaagcacgca	19680
cagggcact	ctgaaattac	acagataaaa	ggccgacagt	attactccct	ctcccactga	19740
taagetctt	tctgtgctgg	gtggggctgg	cggactttct	gatggaggaa	gatggaactg	19800
ccagagttag	cactggctct	ggtctgagcc	actgtgagcc	tttcttctct	cctccttcat	19860
cccctacacc	acaagataga	ccaccaaca	tggctttctg	agtttctagg	gagctgggct	19920
ttgagcaggg	cccacaaaag	gacttcaacc	aaagcctgct	tgtcttggg	aagccacct	19980
acctccctgt	ttccaaacca	gaagcatcag	tgtggctgca	gggtaggtac	tcggatagag	20040
gcagggacga	cccaaactcc	atcttctgcc	ctggcccagc	tagagccttc	gtgatccgaa	20100

ES 2 742 648 T3

ggcaggeccg ccttttgtgc tgatcacggt tactgttgct ctcccctccc tatgtccccc 20160  
 aaacttggct gaggtgagg taaggggtgga ggggtgggag tcatggcctc ccttttgcct 20220  
 ggtctggtct tgcccagaca gcaggcctag cccagcaggc agcttcaggc ttgcaggatg 20280  
 ctgaaggggt gctggggagg ggtgtgtggg gaagaggagc ctccaccctc ccaccaacac 20340  
 cacctcacat cttcccctcg taactttgcc ctcacccaac cgcagagacc tccacaaaat 20400  
 ctgtaagagg ctgtgaacaa cactcccagc caaacataac ttttttgaga aggcaatcca 20460  
 tgccctctgc ttgtgttggc atcacccggg tctttctctg gtctgtccgg ggctggcatg 20520  
 aggctgcagc cagtgaggca ctgaggccac tcaactcttg agccacgcaa gtgccagcct 20580  
 tgagcctgtg tccccccggt catgagaatg aaagcccgtg gggttagggc catcttctga 20640  
 gccaaatctt tagtgtctga aacacatgcc tgattgagat ctgagttggt gaacttggtt 20700  
 ctctaagggg attgtccatt gtacttggca gagtaaacad cccgagtggc cctcacagcc 20760  
 ttgaggagca cagaaagggt ggtgggtgga tgggtggggg agccagcagg ggaggtgctg 20820  
 ggaggggagc tggagagggc gggctgtgct cccagcttgt gggggcctaa ggactttcta 20880  
 tctgagcctt ttgctttggt cattcattca tttcagttct ggccctcaggc ttaggagtga 20940  
 tttgtacagg tggcaggaaa gagccagagg acccccacag gcctcggccc tgggctacta 21000  
 gggaggggaa tgaggcctag aggctgtaag caagactgcg agccctgggg gcccaactat 21060  
 gtccatcctg gccatgccgc acccctagtc ccagcacagg gctggctggg cacacagaag 21120  
 tttccccaaa tagatatatt tgaaccagca tcaagaaact taagggattg ggcattggtg 21180  
 ctcatgctg taatcccaac actttgagag gctaagggtg gaggatcgct tgagctcagg 21240  
 agtttgagac cagcctgggc aacatagcga gacctcatct ctaccaaaaa taaaaaaaaa 21300  
 ttagctgggc atgtgtgtgc gcacctgtag tcccagctac ttgcttgagt cagggaggctc 21360  
 aaggctgcag tgagccatga tggogccact gcacactagc ctgggcaaca gagcactgta 21420  
 cacacacagc cacacccccca aggaagagga gaattgagtg cagagttgtg ggtattagtt 21480  
 cagtcataaa tggggacagc agtggaaatg gtctacaatt aaaaatgcat gaaaaggcca 21540  
 ggtgctgtgg ctcatctctg taatcccagg actttgggag gccgagatgg atggattgct 21600  
 tgagcccagg agttcaagac cagcctgggt gacatgggga aaccccatct ctaccagaaa 21660  
 tataaaaaat tagccagggt tggtagtgca tgccatagt cccagaaaact caggaggctg 21720  
 aggtgcaagg atcgcttgag cctgggagac agagcctgca gtgagctata agtgcgccac 21780  
 tacactccac cctgggtgac agagcaacac cctgtctcaa acaacaacaa aattatgtag 21840  
 aagaatggac atggtttcct ttcaaattta gaagtctaag caaagctctt aaaagggtac 21900  
 tcgcttgtga aaggcagtaa actaatggga aaagcaggat ccaggagagc caacagtact 21960  
 gtggagggtg taagtgtctt tttcagcgcc tctgctttca gctttacagg aatcacacgt 22020

ES 2 742 648 T3

gtcgtgcata tttctgtgaa tctcaaaccg acgcagggct ggggaatatg gtttccttct 22080  
 gtttgagtta tgtaactggg aggactccag gaaccagtga ctcacagttc cccgggagtg 22140  
 tcagtgacgc atcgaaggag gtttccaag aagcgacaga ggaaatatct tttggaaggc 22200  
 ctctgaagac agggctcttt ctgtctttcc ctttgactgg gtggtagatt cggatcagct 22260  
 ttgcagccca cgcggggctg gggatcactt tctgaaaaca agttgccac ttctacagc 22320  
 tagagacaca agctgcgggg cgggggtggg gatgagtaag gatgaaaggg agggggtggt 22380  
 gtaggacccc ctttcttctt ttgaacaggc cgggggtggc tccacacctg caggtactt 22440  
 cccactgaaa ggaagggggc ggggggaggg gggaacacca gtgctgctcc cagaccatt 22500  
 aaggctcaca gaaaaacaca gaaaaggaag tactatagat gttctcttc agggcagaga 22560  
 acccaggctc acctaagggt gctggagtgc agcccacccc tgccacgagc ccagcccat 22620  
 gtgaacttcc agacaagtaa atgcaattgc aatgtagct cgcccaaagt ctacagctgg 22680  
 taaagaccca ggctgtgctg tctggccacc tgggacctgc ctaccctga tttccatggt 22740  
 tcagatTTTT ttaatttatg aataaatctt tcgtttgtgg atatTTTTat tgattccaat 22800  
 ttcttattat aacaatggcc agaggttctt ttttccaaa cttttaattg cttttcccc 22860  
 aactacaaaa gtaatacatg atgtaaaaat tcacacaagg aactgtacaa agcagaagtg 22920  
 gaaattccgc agagtaactg caattaacag ctgaaagtaa atccttacag accttttct 22980  
 gtacatatat aaacaaatat acccggaggc cttgatttat tattagagaa aaaagatcaa 23040  
 atctgcagaa caatattaga agatgtaatt ttctatattc tctatTTTTat gtattatatt 23100  
 ctcaagattt caattttatg ttttaaaaaa tatgggaaga aaaaaaaca agaaactttt 23160  
 tagaaaaaat ttatTTTTga gacaaggctt gtctgtgttg cccaggctgg agtgcagtgg 23220  
 cgtgatcaca gctcactgca gtctgaaact cctgggggtca ggagatcctc ccacctcatc 23280  
 ctccctaata gctgggacta caggcaagca ccaccatgcc cagaaaaaaa tttaaaaatt 23340  
 ttttgtagag tcgaggctct gctatgttgc ctaggctgct ctcaaactcc tgagctcaag 23400  
 tgatcattct gtgtgggect cccaaagtac tgggattaca ggctgagct gtaatccat 23460  
 gtgcttgctg aagaaacttc caaataccaa ttttacacat ttctacaatg ttctgtactt 23520  
 ggattttaaa aagtctcttt cttgaagtat aatttacatc tatatccata gctctaaagt 23580  
 caacatatct gagtgtacag cttgatgact tttactaatg aaacacactc atataagtga 23640  
 ttcccagatt gagaagcaga aatgctcacc ttcaaacctc atgctccctc ctaatgacca 23700  
 cactggacc aagggtact gtatcctaac ttctaacaac atatatttgt tttgcttgtt 23760  
 ttcttttgtg cttgaatttt aacagtgact acatattgtg ccatatattg tattaagaat 23820  
 aatctataca gatgttttaa aaatatatgc atttgcata accatcattt gatatcagca 23880

ES 2 742 648 T3

tatatggatc tagctcattc cttagcagcc gcctaaaccc cettattaga ctgtgtctga 23940  
atztatctga ccagtccectt ttgatggaca tttggattat ttcccatttt tagctagtaa 24000  
gcaacactag aaggaacaat ctgatgcgta tttctttgtg catgccactt tttgatgtat 24060  
ttctttcaga taaatgccaa caagtggaat tgctagtcaa aagatagctg gatggagttt 24120  
ggggggcata tttcatcata atggccctat agagtgtagt agcagctcag ctocctcttc 24180  
aaacaaaggt caggtgctgg gtgcagacct totcaccgca gccccacca ttggcagccc 24240  
agcctgctcc agctccctgg gcagccggag ctgagcccgc ctggcaggt gcctgctgca 24300  
cagaaaactg acagaggagc gcaaaccacc cctgccccca gcccacccc atgagaactt 24360  
gtgaacaagt acatgcaatt gcaaagacag cagcagggag acggtcaaat ttcaaagcct 24420  
gcagtgggac aagaggcctt gtggcctgtt ctacttccg ctgtgcactg ggtgtgagcc 24480  
ttcaaggagg gcagaccatg tgcactgcag gcettaatct cttatttgtt tgtgatgggc 24540  
cgggtgaggg gcccacctga aacacgaacc cttagaggag ctggtccagc tgaccccaat 24600  
tctttcacc ctcacctcag ccttgggaagg cagcctgtcc ctgtcctca gagctgatgg 24660  
gcagagcttt tgtttctttt gaacacctct tgctgaggca ggagtctagg gtctgggggc 24720  
aggaatcta aggccaattc gtgctgaatc aaggagaaac atctatgtcc gggggcaggg 24780  
aatctgaggc caatttgtgc tgacttctca aagctggatc aaatggaaa cacctgggtc 24840  
tgggggcagg gcatctaagg ccaattcgtg ctgaatgaag gagaaacacc tacgtctggg 24900  
ggcagggaat ctgaggccaa tttgtgctga cttctcaaag ctggagcaa cggaaaacac 24960  
ctgggtctgg gggcagggca tctaaggcca attaacatac accaaaagga aaaacccat 25020  
ctccccacac tgagtaacca aggatcaaag gctactctcc ctacaaccct ccccttcca 25080  
ctgcatctca gatggaaagg gagacggccc tggattgacc acagaccaag cacgggcat 25140  
cccttcatcc gcatagggcg tcaattcacc tcagcctttc attagccatg gaccaaattc 25200  
ttcaccaga taaggggtag ccaacaggta cctcaaaagg ggtacttaa acccagaaaa 25260  
ctttgcaatt gggcccatgg gctatctgct tagggccac tcctaccatg tggagtgctt 25320  
tctcaactca ataaattctt ccttttgotg cttttattcc tttattactt tgtatgtttt 25380  
gttcagttct ttgttcaaaa tgccaaggac ctggacaact tacactcaag gccctccttc 25440  
cggtaacact gcatctatgc ctttctaact ccaccacca cacctcattc tgctgcggcc 25500  
gcacccaga tgccaggaga aggtcacact gcccttccc cagagtcgtc tttcctttcc 25560  
tgtttttttt gtaacatttc ttacattctg tggttgtcac aggtaactga acataacctg 25620  
at ttgtcaat gtccttcttt gagctggcca ggaaaagcag gtgaggctgg attctccctg 25680  
gacctggagc tgggtgcttct gttaatgcag cctcaggttg cagtgtttta tggtgcaata 25740  
gctcctagcc tgctaaagct caggtagggg cggctaagat ggtctcagg cactttttca 25800

ES 2 742 648 T3

aaccaggca cgaggctctg ctcttcactc tccactcctg ctgagcactt tctccttgct 25860  
ttttccttct ccaactgtca aggctaagaa tcaataagaa aatgaagaga catgtgacag 25920  
aaccctcat gcctcctacc ttctgtttgg tgcctgactt gaagccaggg atccctgcgg 25980  
ttcaaccgc ggtagaaatg aacacgtgct agttcagctt gggagtgggc tgggagaggg 26040  
gcctgaggca cctgcagcct ggctctgggt gccctgggcg ctccctagcc tctctaggac 26100  
tctccacacc tacaacgtcg ggcaaatgag gatctcaggt gcaaaaggag gatgtacaaa 26160  
ttttctcctt ctgggtttctg ttccacggag cactgatgtc ttgctgtag atgggctttc 26220  
gcacgtttat gtcacaggag ccgtttgtta tctttaacct gggactttat ttgtacaact 26280  
aagacatttg tataaaacaa acagaaaatg aaagaagcat taagccatgg gagagtagaa 26340  
atgggagctg agaaacttaa gtagtagaat gggagctgag aagatgaagt gaactcctat 26400  
cctcaaaccg gcaagttccc ggccccaaag gaagccctca gagactgata tgccttctgg 26460  
gaactggaca gccctctca gcaagcctca ttcccaacct gcacctggcc tctctgcgag 26520  
gaaggtcagc cccagcctgg gaagaccaag agggagccag cccagcatca ccccatgaaa 26580  
gaccaggac ccaatgttac tgccctacca gggcaaagca acctgcaaag atggtggcta 26640  
aatggccacc actaaaggtc ccagttcagg gaaagcacag gagccggaag cgggtggcatg 26700  
ggcagcattt ctactcagt cctccagcac actctgtgaa gtgccctggg ggcaatgaaa 26760  
ccttctcctt agtattcccg atgaccacg aacaagttgc tcccatgcac atcacacaca 26820  
gaaaggcctt gcagcagtga aaagcaggca gcttcagcag ccattgaact ctccagggtt 26880  
gaatgtgtcc cttctctcat tttccacat cgtgctcgtt actgaccgat gtctttttgt 26940  
agcaggacac caaaaccgta ttctctgctc atttgtaaaa tctgaaaaca acagcaagtt 27000  
gtgaaaccac ttattttcag gcaaacgata ttgaatttcc tgtaacagag acaaatggca 27060  
aatgagaatg cagagttcta ctccaagtag cctggggccg agagtttttt gttagtatgt 27120  
ttctagggcc catcttagtc attaaaaaga ttgtaaggc taaaaacaa aacaaaacaa 27180  
aactgcagct caaagaacgg tagctttgaa ttgggttact tcctgtagta cctctaagat 27240  
aatctaagag aatcacaat ttatatcaag gggccagaag aaattagcct gcagatggga 27300  
tgattttcta aggacagtta gaggtgggg aacaactacc tcaaatcgca actcagatct 27360  
gtgagcacca caggctatth cctccatgcc tggatcatga gagcaaaacc agaggtggtt 27420  
ttcaagcttt tttgaagcca caaaccttt tgttcaaatg acatgttaca ggtaagtgta 27480  
aaccagaca atagaagaga gtacgtctgt tcaaatgaa gagagtgagg aggtctcagg 27540  
gtccccccac gaccaccag agccccctcc ctgcctcaag ctgatcctgg gcttgcaaaa 27600  
gcatgaggtc ctgcatccag cctccccaaa actggcatca gatcactggg gagcaagtta 27660

ES 2 742 648 T3

aaatgaaggg gtggggacag acccagacca cagttagtac cagagagggga cttactttcc 27720  
 atgaaaggtc atcatgggag acattttgaa aggaactttc tttttttttt tgagacagag 27780  
 tttcactctt gttgccagc ctgcagcgga atgggtgat ctctgctcat tgcaacctct 27840  
 gcctccgggg ttcaagtgat tctcttacct cagcctctcg agtagctggg attacatagg 27900  
 cgcctgccac cacgtccagt taattttttg tatttttagt agagatgggg tttcaccatg 27960  
 ttggccaggc tggctctcaa ctctgacct caggcgatct acctgccttg ggcctcccaa 28020  
 agtgctggga ttacaggctt gagccactgc acccggcctt gaatggaact ttctagaggt 28080  
 ctggcctgag acagctacac tcaagttatt atctcttggg tagggggcag cttctaaatc 28140  
 caacacacaa ggtgaaaatt gtacacaatt aaaatatcat tgaaaattgc ccataaaatc 28200  
 cagcaggcat gtttaagcca ctctcgatat aaatataatg tgtacaacaa tgcagagcat 28260  
 atagtaatat gaatttatat ggctatttac aatttttagag tattcaaaaa tacattttgt 28320  
 ttgtccattg ctgcacttgc agagtggaat ttactgaagt gacttgagct tgtgctctga 28380  
 ctccgggggc ctggggccac atgctttaag gataataccc cagtgagtc tcaactgac 28440  
 tgtgagattg gcactgttag ctcatttaac agacgagaaa tccgagactt ggagacgtga 28500  
 agtgacttgc tggctgtcac atggtgattg gcagacggga ttcaaaccga gccctgtctc 28560  
 cacctaaagc tggagctttt gagcaggaga acctgttgcc ctcttcaatt tagagttgtg 28620  
 tacttttgct ccccaaaaca tttctgtata gagggggttg ttctaaggat caaatgtaat 28680  
 taactggata ggagatgtg aaacagtctc tgttgtgagg aacaaaaatc aaatgcagga 28740  
 atgctgccct ggcccaggat ggcttccaac agcctcatga aagaccagg acctaatgtc 28800  
 actgccctac cagggcaaag caacttgcaa aggtggtgac taaatggcca ccaactaaagg 28860  
 tcccagccca gccagggta agtacaggct ctttctcagc ttagtggggc ccaagagtgc 28920  
 tatgtgactc tgtcaactcc tgggaccag atggggtcga gggcagcagg tgggacaaag 28980  
 gcagctccta ggaagggaa gcaatggctg gtagaagagg ctggtcttca aatccgattc 29040  
 cagtagtctc tccactgatc tgtcaaatga gggtgataac cccttatctc acacagtacc 29100  
 aaggggatga aataataggt gggatgaaat aacggatggg atgagtttg gatactctgc 29160  
 ggtattctgt gcatgcaaag cctgattgct ctctcagga gagctaagaa tgttcttgaa 29220  
 atacatttaa cttactggtc aggtttttgt ttgttttagt tatctcttag gttcctgaac 29280  
 tctatcacc catctattta tacagtctgt aattttttt tttagatgga gtctcactct 29340  
 gttgccagc ctggagtga gtggtaccat catagctcac tgcagccttg aactcctggg 29400  
 ctcaagtgat cctcctgctt cagcctccc agtagctgtg actacaggtg tgcactacta 29460  
 tgcccggccg agtctatgat ctttgggaaga tgaggtctga ctttggctcc togetgcagt 29520  
 tagaggctgc aagctgcagc aggggctgag gaaccaagg ccacaccag gttatacact 29580

ES 2 742 648 T3

tactgtttca tgaaacgaag ccgggctctc ctccgccggc ctggaagagg aaagcaaggg 29640  
cgccagtcag tgtgggctgt gggtcactgc gctgagcccc agaggccaag gaggattgtc 29700  
acaggggcag ctgacacctc agcccacctc cctggtccca gaccctggcc caaacacttt 29760  
acacatttta atccccttaa tgctcactga aaacctgagt tggatactac ttttaagatc 29820  
tccattttat atgtgggaaa ctgagacaca gagtgagtga attactggat aacatgccca 29880  
aagtcatgca gctagtaagt gggaaagcca gaattcaaac tcaattagtc agctgcagag 29940  
tctgtgtcct taaacacacc tgcttgccct tcacagcagg tcagacatga aaggtcccag 30000  
agacaggcag tctcaggcta gggcaattgc attcagaggg tgagcgagat ttcccactgg 30060  
gagttaggaa gaaaataaaa gcatgtctat tgacatttgt attcagcct ttattacttt 30120  
tgattttcat ttattttttt aggaatgggg tcttattatg ttgtctaggc tagacttgaa 30180  
ctcctgggct caagtgatcc tccctcctca gcctctcgag tacgggcaact tgccactaca 30240  
cccaacttac ttttcatttt gaagcacatt taataacata cataaaatat taaataagta 30300  
aatacagcca actgctgcat ttactttata atattcaatt agctgtattc gcttatttaa 30360  
tattttatgc atgttattaa atgtgtttca aatatattta ccaatgagtt ccttccttga 30420  
tcgagagagt ttgcaaacca ctgaaattta tgggtttctt agaatggggc acatgggccc 30480  
ctctgtgggg aacaattgta ggcaaaagta tgctcctggg tgcatctctg tggggagagg 30540  
tccgttattt tcatcgtatg ttcaaagggg tctgtgacct acaaaagta agagccactg 30600  
atctagttca tgcccttgct gtcccacctg cccatttcat agatgcgcag agaggggaag 30660  
gggcttgctc gaggtggcac aggtgagcag aagaaccggg gtagagtctg ggctctgggc 30720  
tctagggcag ccatgcaggc ctcccctctg gctccccgtc tttcttgtga acccagtgct 30780  
gtgcagagct tggggtgggg gccatagaag gagacagtcc cgtctctggg gtggctggga 30840  
gcagcagtca tttctgtttc ccacagcctc atcaatatcg gtgtcgtgga gaggatttct 30900  
agcttctagg aacacaacac aaaccccata ggcaaacctt tctggacact gggctttggt 30960  
ctcaactgct cacgtgagtt cccactcact gacacgtgcc gggtgccagg catttggggt 31020  
aggaatttac aacagcaac tctgggaggt agctaatgtc ctacccccat ctgaggcagc 31080  
cgaggctcag agagaccggg gcaactggatc aggaaacagc cacgttgcaac tcaaaccag 31140  
gtttgcttga ctccagggac agggtagtct ttggttttgg ctgctgtagcc ccaggccaag 31200  
aactacctct ggaaataccg taggttctct gaggcaaatt cccaccaggc tgccatctgc 31260  
tctgctcccc tagagaagaa aatatcccag ggacacttca aacagcaaac agggacaccc 31320  
aacaacccaa gaggagacia ctcacagcac aggtggatgg ccaactcccag gaaaccagc 31380  
agaaccagga cgccagccac cagcaggcca aggtgatgg ggctacaaag tgggcctgga 31440

ES 2 742 648 T3

aaacacacat gtgacatgtg ttcaaacacgg aacatttttc tgcacgagac acgcagaaaa 31500  
 atacaaggag cgaaaaattc aactggaagc cccacctccc agagaatacc accatttgta 31560  
 tttcgatgta atgtattttt cctcaagtat tttttttttt tttttttttt tttttttgag 31620  
 acagagtctt gctctgtcac ccaggccgga gtgcagtggg gcattctcag cttactgcaa 31680  
 cttccgcctc ctgggttcaa gggattctcg ttcttagcct cccgagtagc tgggactaca 31740  
 ggcattgtgcc accatgacctg gctaattttt gtatctttag tagagagagg gttttatcat 31800  
 gttggccagg ctgggtctcaa actcctggcc tcaagcaatc cgcccacctt ggcctcccaa 31860  
 agtgctggga ttacaggcct gagccacctat gtcgggcat cgtctagtct ttgtaagcac 31920  
 tttaaacatt attgaaatca ttttattata aaatttcattg tcccacattc aaatttttaa 31980  
 gaagtagaca attttcatgc ctggtaatga gtcttttact atttattttt aaaactttta 32040  
 atttcacaag aatagactga atatattttc attgtaagac atttaaatat aggattagag 32100  
 tgctccctga catctttgct ccttcacaga attaatcacc actgataatt tagtaacttt 32160  
 ctctttccat gcctatgtaa tttttatata tacatatagg gtttggtcgt ttgtttgttt 32220  
 gttttgacac agagtctcgc tctgtcacac acagtctcgc tctgtcggcc aggctggagt 32280  
 gcagtggcgc aatcttggct cactgcaacc tccgccttct gggttcaagc gattctcctg 32340  
 cctcagcctc tcaagtagct gggattacag gcgtccgccc tcatgcctgg ctaatttttg 32400  
 tatttttagt agagacgggg tttcaccacg ttggccagga tggctcfaat ctctggcct 32460  
 caagtgatcc acccgctca gcctcccaaa gtgctgggat tacagggtgtg agctaccgca 32520  
 actggcctta aatacatata gttttaaaaa atatatagag tggattatac tgtacaaatt 32580  
 gttcttttgt acctttattt tttcaacgtg ccttttttcc ttcacttagt caatgtgttc 32640  
 tttcttcag cagagtaaca tctgacagca tggatgtacc atgagttact tgtcatcagt 32700  
 gggccttttg attgttctct gtgttttact tttacaaata actctgcaga aaacaacctg 32760  
 tatatttctt taaaaaggca ccttctgag gtaaatactg agaacgggaa ctactaaacc 32820  
 acagactttg cccattttaa attgtgacag atgctgtcaa atgcctccct aaaaggcggc 32880  
 actgacttcc gtccccaccc accaatagtg caccttctctg acccttgata tcatcaaaat 32940  
 gttttagttt ttgccagtca agtggggaaa aatgttattt cacttaaatt ccctaatttc 33000  
 ttataagctt tggcctattt tcatatattg ggaacttgta tgatttttct tctacgagtt 33060  
 gactatctgt tcctttgtcc attttgtgtg ctatttaaac agcagacttt acactatcaa 33120  
 tgtcccaaat cctcctctga cacccttcag gccctgtgg ctggtcctt gagtagctga 33180  
 ggggcagagc agggcccatg ggtgaaaggg caaggctgca gatttgggct tgaggttcgg 33240  
 aaaattggaa agcattgtgg atgtcaagga agagagagaa tttttactga atacatatgt 33300  
 gctaagtaca tactaaatgc aaactccat cttgtgagga agaaaggat tggattttt 33360

ES 2 742 648 T3

aaattattta tttatttatt tatttattta tttttgagac ggagttttgc tgttggtgcc 33420  
 caggctggag tgcaatggca agatctggac tcaccgcaac ctctgcctcc tgggttcaag 33480  
 cgattctcct ttctcagcct ccttagtagc tgggattaca ggcacatctgc accacacctg 33540  
 gctgattttt gtgttttttag tagagatggg ttttcacat gttggccagg ctggtctcga 33600  
 gctcctgacc ttatgtgatc cacctgcctt ggccctccca agtgctggga ttacaggtgt 33660  
 gagccaccgt gcctggcttg ccattatttt tacctctcat ttcacagttc aaaaaacaaa 33720  
 aacaacaaga ttcaaagagg ttaaattata taaccaaggt caccagcta ctaaaaggca 33780  
 ggaccagggg gtggacacag atcctccgag ttccaagccc ctgtgggtcc cacctcagct 33840  
 gcatgagggc atgagaggta caggagggaa gggagtgggc tgctacatgg gtggcagccc 33900  
 actgtcacta gaggggaaca agccaaggct ggatggctgg ggtgtggaga ggagattcat 33960  
 acacggacag ggaggctgga tgaggggccc ctctgagatg ctgagggcat ctgctgggct 34020  
 ccctctcacc tcctatttgt tctccaacc tggatgaacc tcaaacatg gtgctaagtg 34080  
 aaagaagcca agcatgaaag accccatggg gtgtgattcc acttctatga gatgccctgg 34140  
 ggaggcaaat ctgcagaggt agacggtaga ttagtggctg ccaggggctg ggaacagaga 34200  
 tgagctgtga acaagcacag ggaatcttac tgggggtgatg gaaaccttct aaaactagat 34260  
 taoggtaacg gtgcgccaac ttggtaaatt tacccaaat cattgaattt gtatgcttaa 34320  
 aatgggtgaa ctttgcggtg tgcaaattat atctcaacta aggtgttttt tttttttttt 34380  
 tttgagacag ggtcttgctc tgtcgcccag gctggagtgc aatggcgtga tctcggctca 34440  
 ccacaaacct cgcctcctgg gttcaagcga ttctccttcc tcagcctcct aagtcgcttg 34500  
 gattacaggt gccaccaca atgccagct aatttttgta tttttagtgg agacggggtt 34560  
 tcgccatggt gatcaggctg gtctcgaact cctgacctca ggttatccac cagctttggc 34620  
 ctcccaaagt gctgggatta taggtgtgag ccaccatgcc tagctcaact aagtttttaa 34680  
 aaactgtaat ggaggtgggt gcaggtcaca gggatgtaca gggcggcacg gctccttct 34740  
 gaggagaggt catggttaag accactgtgg aggccagcaa tgtagctaca ggtctcctct 34800  
 ggagcactgt ctcccatcca aaatttgact ctccgggaaa agctgctgct gcaaataacg 34860  
 tgcttgggta aggggccatt tgccagagcc acaccaacga cccccccagc ccagccttcc 34920  
 tcatottacc ggggcctcag ggtctcctga gctctggatc tgcactctgc tcctgagtct 34980  
 atggtttaga aatgggtccc cagcacctaa ggggtgtgtc ttaggaacag acctaagcct 35040  
 caaggggcag tgccttctca gtgaccccat gggtttcatt catgataaca ggctttgagg 35100  
 tctgtgtgga cgcgccacaa gctctgagtg cctgggtgat aatagcatct catttagccc 35160  
 tgeatcccc attttacaga caaggaaact gaggttcata gaggctgaat cacctattca 35220

ES 2 742 648 T3

gtgtctcata gtacaggcag tggtagacag agattcagac ctaggcctga ctgacttgcc 35280  
 actaggctac actgaccag gccactctc ctcaagttaa cctccaccta ctttccccac 35340  
 acccatcccc agccttactc cactagggtca ccttcacaca catccggggtt attcttaata 35400  
 acctattaat gtttggtttg cattttgccc tgggaattta ctgaggggta gtacaagaaa 35460  
 tgatgcaaga gccagggcgt agtggctcac gcctgtaatc ccagcacttt gggaggccaa 35520  
 ggcaggtgga tcacctgaag tcaggagctc aagaccagct tggccaacat ggtgaaaccc 35580  
 tgcctctact aaaaatataa aaattagcca agcgtggtgg tgggcacctg taatcccagc 35640  
 tactctggag gctgaggcag gagaatcact tgaacctggg aggcggagggt tgcaatgagc 35700  
 tgagatcacg ccactgcact ccagcctggg caacacagtg agactccatt tcaaaaaaaaa 35760  
 aaaaaaagaa agaaagaaa gaaattatgc aagaaatctg aagacctttg tttttgcat 35820  
 catttataaa agtatgactg agtttgccgt cattcagctg tccttacatg aagatgaatg 35880  
 ggcagattgc ttctcgaatt tagtgctagg atgaaggttt cttcttttgg tggcaggttg 35940  
 tttctttcta tcaactgggt tggggtgcca tacaacttgg ggtcttccct ttgtttaaac 36000  
 tgatggtgcc gggttctcca cagccgtagc acacaaccgg ttcttgccgc ctcatcttag 36060  
 tggctctatt gtatttgccct tttatatacct ttttatggta gtctgcctga aatcgtttag 36120  
 gtgaaggggt cagggcatgg gactttataa aataagggtta ctcttaagct ccttaagact 36180  
 ttactcttct gtacattggt tctgattttc ttttactgt gacctcatgt gacggcagct 36240  
 tcccacctg gtctcccaga tcctattcag tgccgtcctc aataatttct ggtgcttaaa 36300  
 atatttaaga caaagcaaac tgagcagtg caggcagtg tccaggggct gcttgtgggt 36360  
 tgttttctgg gtagcagcag atggcacttt ctgtttgc caagtgactt ttgctgggct 36420  
 gaggtcagta ttttccaga aacacgtttg ggctgatggg ttttaaggaaa acgtgtgcat 36480  
 gggcatgtgt gtctgtgtgt gtgtgtatgt ggcatacact ccagctgagg tgtctgggtgt 36540  
 agcatagaga agcaaatgtg ttcatttgca acaaacatg tattcatgaa ctagcacata 36600  
 ctgtgtatta ggtcctctgt taggtattaa aactggaac tttttttga gacaggtct 36660  
 ggctctatca cccaggctgg agtgcagtg caggatctca gctcaactca atctccacct 36720  
 cccaggctca aggcattcac ctcaacctcc tgagtagctg ggactacagg catgtgccac 36780  
 cacgcccagc taattttttt acattttcgt agagacagag tttcaccgtg ttgcccaggc 36840  
 tggctctctaa ctctgagct caaggcgatc caccatctg ggctcccaa agtgcaggga 36900  
 ttacaggtgt gagccaccac atctggccaa aactggaaaa gtttaaagt ctggctcctt 36960  
 gagtggattt tttgtttgtt aacagcttta ttgagttata atttacgtat aaagtcccct 37020  
 tgtttaaagt gtacaatgtc atggttttta gtgtattcat ggagttgtgc aaccattatc 37080  
 ataatgtaat ttcagaacat ttaaattccc ctaaaaagaa accttatacc cattaggaat 37140

ES 2 742 648 T3

cactccccat ttctttccca agcccccagc cttaggcagc aaccaatcta cattctgtct 37200  
 ctacagagga tcatatgctg gatattccat aatcatggaa tcatatagta tatggatttt 37260  
 tgtgactggc tcctttcatt ttattcttta ttatggccaa acaatattcc acgataataa 37320  
 ataagccaca ttttgtaaat cagctcatta gctgggtgat gtttgggtag tttctgcttt 37380  
 tggctagtat gaataatgaa gctatggaca tttgtgtgca ggggtgtggg tggagatctc 37440  
 ctccattaag ctttgtccag taacaattta tgagtctgtc tcccacgaga ctgtgagttg 37500  
 ctggcacact cagcatcctt tctgacccta gcttaggccg gggagatagg ctctagagtt 37560  
 gacacttggg aagtgcctgg ggaaggaagg aggggaggga gggagggcaa ggggatgtct 37620  
 gccttgtttc tgaggggtgca gagggatagg gaactcaccc ttctgggtct ctggcctggg 37680  
 taaccggcac actctcttct tgaggggtga cttcttgggtg ggctgggcag tgggtgggaag 37740  
 gaaatcaact acagaaagaa agcaagacac atatcttagc caagtgaaca ccacgtggac 37800  
 tcaaagacaa aactttgtct tatggcgggt gcggtggctc atgcctggaa tcccaacact 37860  
 tccggaggcc aaggcaggag atcatttgag ctccaggagt tgagaccagc ctgggcaaca 37920  
 tggtgaaacc ccctctctac aaaaaataaa aagtttagcc aggcgtgggtg gcatatgcct 37980  
 acagtcccag ctaccagga ggctgagggt agaggatcac ctgagcttgg gaagtcaagg 38040  
 ctgaagtgag ccatgatcat gcaactgcac tctggcctgg acgacagagc aagaccctgt 38100  
 ctcaagagca aataaatgaa caaatgaaca aaatttgtct tacatccaag tactgaagtc 38160  
 cttatgactg ttccccaggc tgctacaggg cttgaaggtc acagagcaat agaatgtttg 38220  
 atctgctttc tgaattctca gatgttggga aaggggtgag ggccctagaga tggggttcag 38280  
 cttgggtgtcc tggagagagg aaggctctgg agccacacag aactgagcag agcctacacc 38340  
 tctgatttat ttatTTTTat ttatttattt atttatttat tttttgagac aaagtctcgc 38400  
 tctgtagccc aggctggagg gcagtgccac gatctcggct cactgcaacc tttgcctccc 38460  
 aggttcaagc aattatcctg cctcagcctc cagagtagct gggattacag gcacgtacca 38520  
 ctgcattcgt cgtgccactg cattcgtcgt gccactgcat tcgtctaatt ttttgtattt 38580  
 ttagtagaga cggggtttca ccatgttggc caggctggtc ttgaaactcct gatctcaggt 38640  
 aatccactca cctcggcctc caaaagtgt agtattacag gtacgagcca ccgcaccccg 38700  
 ccgacctaca ccctgatta accgctgtgt gacttgggac aagtcatagc atttttctgt 38760  
 gccttgattt ccttatctgc tgaaataatg ataactgcca cctccttctt gggattatct 38820  
 gagaatgaaa gggacagtgt gtccaaaaaa agtttcagta gatgtggctc cacctggctg 38880  
 aagaccttga gccccagggc tggatcggcc agccttggc acaacgagcc cctccgcca 38940  
 actcggcatt ccctaagcac atggaggaag ctcatggaag gaggggtgct ccttttctgc 39000

ES 2 742 648 T3

atgtagagta ccacacaggt gtcataatg gggattgggt ttcctttctca gatggcccta 39060  
aatatataat ataataccag agctaagga agttcagctc caaactttaa tttcaaaggt 39120  
gaacgccaga gatgagggga gctggccctt gcagcccaaa gtggtgagtg ctgtgttggg 39180  
accccaaacc cctgtcctga ctctggatg ggtcaccctt ctcttcatt tttaccagt 39240  
gaccctgct gaagtgttg gaggggcagt gggccagcac ccagagcaaa ggaagacagc 39300  
tgtggctctg atgcctactg gggatgaagg gggcactgct ggccacagag tccaaccctt 39360  
gcctttgttg gtaaggaag cagatctctc tgactgatt ttctccaaa tggtaggaga 39420  
gggagtaagg agacaccatg aacctaaact ctagagtcag ggggacagaa aaaaaaaaa 39480  
gaaaagaaaa gaaatattaa ggctgggcgc ggtgactcac gcctgtaatc ccagcacttt 39540  
gggaggccga ggcaggcaga tcacctgagg tcaggagtcc aagaccagcc tggccaacat 39600  
ggcaaaacc tgtgcctact aaaaatacaa aaattagttg ggcgtggtgg cacgtgcctg 39660  
taatcccagc tactcaggag gctgaggcag cagagtcgtt tgaacctgtg aggcagaggt 39720  
tgcagtcagc caagatcctg ccaactaaact ccagcctggg tgacagtgac tccgtctcaa 39780  
aaaaaaaaaa ggttttgggg ggttgaagg ggaacaggc aggggaagcc cacagatcag 39840  
tcatttttgg gctggcatct tctatataaa agtagacatt ttaaccctc acctctctga 39900  
gcctcctctg gaaagcggag agaacacgat ctgtttctc gcttcaagac attgatggga 39960  
agaagcaact aggatgaaag tgcactaagc tccaaccatg tgtggggagc agtgcctgagc 40020  
ctttcagcat aagtttactg gacacaacaa cttttggggc aggcactggt gtccccattt 40080  
tatccaggag gaagcctagg ctccagagagc tgaataatg tgtccaaagt tagacagcca 40140  
ctggctgcag agccagtatc tgcacaaaa gacctgatt ctagaacctg tgcttctcgt 40200  
tctgccacac tacctcacgt gcaaagattt tctgacaaaa gttgaacact ttaggtccac 40260  
ccaaggccct ggtcatcat agtgctgagg gcaactattg taagaggaaa ctgtcatcag 40320  
cagggctgga gagcgtgcaa cgagcctggc cctctcctgg gagtggtgcc tcttcaatc 40380  
ctcatggccc tagaagtagt tctgtttgac ttattttcta cccgaggaag cagggacgtc 40440  
tttcagatgg tcagtgtgga gccagaggg gagccaactc tttgggcctt cagtgccttg 40500  
gctgggcacc gccgcctggg tctagtggga gactcaggtt gggggactgt tctgttttaa 40560  
attcttcttg cctagagcca ggtccccctg gattcctcct gagcaccag ttaatctct 40620  
ccctctctgt tcttaaaagg aataaaactt cgagcccatg atatacttaa gggcctgaaa 40680  
aaggccctgt ctttcccaaa acactttctc aacctccca gctttgtcct ctaaaaggcc 40740  
tttcttgggt gagaaggtgg ggttcggctc cgaagaaggc ctggttgcaa gccctgggga 40800  
gaagcaggtt tggtgcaag ccagagctgg agagaggcat tgacattcct atagtgcctg 40860  
gaggggtttg ggttttgaa acacggaagt caggagtgag tgcggttggg atggaggcgg 40920

ES 2 742 648 T3

tgggaagctc tggaaactag ctgtgtttat tgtaccctcc accttctcag actctgaaat 40980  
 ctcatgagtg gaaaggtgtg gggcttacag agacaaaaac aataagctaa agccaaaacc 41040  
 caaaccccaa accccaaact cccaaagtcc atttttcaat acgaaaatca gtggaccccc 41100  
 acgtgaaggg atgcctcagc ttcttgccctg caatacacc ccccaggcta gcaagaggtg 41160  
 gcggggcatc actttggttt gtgtcttctt aattgtgctg ctgtccccag ctgcccctgc 41220  
 acttcctcac gctgagtggc ctaatttctg ggtccccttg tggcttttag tgcctcaag 41280  
 tgagcaggaa gcagggcagt gggagccctg gaggggggtg gctccagcct tgggccaaagc 41340  
 tggaggtggg gctagagcca gagccaggct gtgagagtta ccaccataa ctaaagtcc 41400  
 tctgtccaat atgccacagg tgctgctgag cacatgaaat gtggccagtc tgaatcgaga 41460  
 tgagccatat gttttatgta aaatgctcat cgaacactta gtatgaaaa tgaatgtaaa 41520  
 atatttcagc aatacttttt atattgatta catgttgaga tgaaaatata gtaataaaat 41580  
 tgagttaaat ataacattat ttaaattaat tttacttgct tctttttgct tttttaaaaca 41640  
 agactttaaa aatttagaat ttcactctgtg gcttgaaatg tgctgtctgct ggacttgctg 41700  
 acttaagtca gaggtctgca gcttctctgg gattaagtgg gtcattggagg ccatcagcac 41760  
 ccccggtgta cacagaagag aacactgagg cccaggggag aaagcatggc aagtttgcaa 41820  
 gcagagctgg gcctggetca gtctccttac taacttcgac tcaggatga attogagctg 41880  
 taggccctca cagagaacat aagggcacct gccctagaa atgcctcac tgggtatatac 41940  
 agggcagtga gggcctcctt tccctgtgtg cacactctgg ggatttctaa caccactata 42000  
 aggccaaggg gctcagccca atccagccgt agctttgaat gtcctgatg tggcctgaa 42060  
 gacagcactg ccctgtcccc ataagaagaa taatgcctgg ccaggcatgg tggtcacgc 42120  
 ctgtaatcct agcgctttgg gaggctaagg tgggtggatc acttgaggtc aggagtcaa 42180  
 gaccacctg gccaacatgg tgaatctcg tctccactaa aaatacaaaa aattagccag 42240  
 gtgtgggtggc tcatgcctgt aatcccagct actcgggaag ctgaggcagg agaactcactt 42300  
 gaaccceggga agcagaggct gcagtgagcc aagatcgac cactgcaccc cagcctgggc 42360  
 aacacagtga ggctctgtct caaaaaaat aataataata aataaataaa aaagagaagc 42420  
 acaatgctca tctctgactc tggcccgtct cttctagttt catcttattc ccacctaaag 42480  
 tggttaggtg atagacctac cttccagggg ggttggcagc attaagcaag ctaactatgt 42540  
 aaacacttgg aggggcttgg cctgggtaag tctccacatg ttctttctgt tactattagc 42600  
 agcagtgcc aatagtcagg ctgcagagt gggcacactg aagcctggtg gtcccagtc 42660  
 ctggcacgtg cctggcacac aatcgggtct cactgatagc attgagcctg cttcttacc 42720  
 aactcagct gagttccctt cccgaaggtc agctcggggc tcccagcagat catgcagaag 42780

ES 2 742 648 T3

tagatgccac tgtcttccgg cttcacgctt gtgagattga gaatgaaccg gcttgcaccc 42840  
cgaaacacag ctatcttctc ctgttccacc tcttcaccgt ggatagtccc ttttgcggaa 42900  
tcccagaggg ccaggaactc gtggtgactg tcaactgctcg gtgcctggcg ctgtctcagc 42960  
cagtagatgc gcatgttact gagggagatt ttagcctcgc aggacagcat caccatcttg 43020  
ttggtttgca cctttatgta tgcaggggct tgcctggagga ctgagttgcc atggagaact 43080  
aggaaaagcc aagaacagag acatcacaca ttttccctagc cacagctgtg ggaccttgca 43140  
gtcacactga gtcaagtgtc aaaggaaaag ccatggaagg acctgcccag ttactgggtc 43200  
cagggagtgt gttgagcgc gctggtggct cctggactca gaggttcacat accccacctc 43260  
ccaggagatc atctggaagg gaggtgtttg ctaagttcag ctttaciaaag gtacagggga 43320  
gagagctgcc atttgtttat tgtgtactta tatgcctggc ccttgcataa aggaactcaa 43380  
tcaagcctca aactggcttt ggaatTTTTT aaaagacatg gggctctgtt atgttgccca 43440  
ggttgagtg gagtggctac tcacaggcac tatcatagta cacttcagcc ttgacctcct 43500  
gggctcaatc tatcttccca cctcagcctc ccaagtagct gagagtatag gcatgtacca 43560  
ccacaaaagg atagatccag gatttttaat cctcattaca cagatgagga aactgaggca 43620  
tgaagttact tgttcaaagt cccacttaca gtatgtaagt ggcctaggag tcaaactcaa 43680  
ggatttgaag tctgaagcca aagctggttg cctttcacct ccctggctg ccaactggatg 43740  
tacagccctt cggtaggctc caaactgccg aaggagacc aggacaggct gggagaggag 43800  
cccagaatca cagcagagca tgtggctggt ctgtccgttg ctggacagac cctggtaggt 43860  
acaattacag cccatgacct ccgagcccag caactgatgg gtcaactggat ccctattccc 43920  
cagtggaagg acagacacca cagaagcagg gctgggagtt catcttagac tctgacgaga 43980  
agcaccggc aagcagggc ttattcatga ggagctagag caggactcac agacctggcc 44040  
ctgaaccag cctctggccg tgcagctgt gagacctcag gccagtcacc gagcctctgt 44100  
cttcttatga acggaggaca gcttggggct gttgtcctgc ctgcctctga gggttggaaa 44160  
taaatgaaat gctgtccaaa aaagcacact gtaaactgta tggccatgta cacaggtaaa 44220  
tactgtccct gtgtctcata tcacaggggtt gttactggag gtaaattaaa tctcaaggag 44280  
aaggatcaga acaggtcca tacacaccaa ggctgcacag cttccaacaa acacaatctg 44340  
acctggtgag cccttcattt tggctgtgga gcaaaggag acattgcagg ccagggcaga 44400  
gatgcaggag ttgggaggca cagagaggac acagacctgg gtaggcagag ggggccagag 44460  
ggcatgtgtg tgtgccccag aggagccagc ttactgagca cctcatgttt aaaatcctgc 44520  
ctgcacttgc agctcaggct ccgtggcccc ataatggcct tctccaacac tgatgaaatg 44580  
aacttcgact ttttgacttc gctcctggac cactcttagc tttcgctcgc atcaagaatg 44640  
aaatgatggg gccgggtgtg gtggctcatg tttgtaatca cagcactttg ggagatcgag 44700

ES 2 742 648 T3

gcaggaggat cacttgggct caggatatcg agaccagcct gggcaacata gtgagacctt 44760  
gtctctacta agaatacaaa aattatccag gcatgatggc gcgtgcctct aatcccagct 44820  
actagggagg ctgaggcagg agaatcgctt gaaccggga ggcggagatt gcagtgagcc 44880  
aagattgcgc cactgcactc cagcctgggc gacagagcaa gactccatct tggaaaagaa 44940  
aaaattatta aaaaataaaa ataaaaataa aaacaagaag gaaatgatgc ctggggcaca 45000  
agtggctgct ggacttcctc ttgtttccc aaacaccaca ctgcggttcc agcagagcag 45060  
aggtttttcc ttgctttggg tcaactcactt cttgggggag ttaataagaa ccaataatgc 45120  
cagtttattg agctgtgcct ggcatggcgc atacattatc tcatttgatc ctcaccaaact 45180  
cctgtggggg agatactgtt ttgcacctac tttacccatg aggaaagaga gactcaggag 45240  
ggttaaagat gtgctcaagg tcacacagtg atccagatta aaaccagct tgtgggaccc 45300  
caaacctga ctttgaacca ctgaattgaa gaaacctgca atcctctccc tgatggtggt 45360  
tatgtgctca cgagcacaca gtggggctgc aagtacacag gtgcccgaag cccttccggg 45420  
aaaaccaga agcgcactcct gtaagagcaa ggctgggct gtgagtgtgc atttctctc 45480  
ctggctgaga cacaccccg ctcttcccg ggcccacttg cttttgtcc cctaggaact 45540  
gaatactccg ggctgtggcc aaggccctgc tgtgtgctgg acatggagcc aggcctcact 45600  
gcatgttccc ctcgtaacc caggaattcc attctcagag ggacctgatg tttctagatc 45660  
catcagtaat gactttagtg ctctgaacgg cctgggctgt ttctatttat gatgttgac 45720  
tcactgggcc agaacccccg gcgggcaggc cttgtcacc cctggcaaga tgaccagctt 45780  
tgggcttttt gggcacgaga gcaaatcgac cagtttgggt agttttccgg gtgtgtggag 45840  
gcttcttcca aaaggcagtc tggctgggct tattcagaag gacaatccag atgccccatc 45900  
caactccaac aaccacact ccaggctgct tcctagggag ccacgctacc catgaccccc 45960  
aacaccagcg acatcagggg gaacgggagc cagagggatc accctgccct agccctccga 46020  
gaactgagaa cgcccgatgt ttgtctgatt gtactacaaa cacttccccg gaagtaataa 46080  
aaatgtgtcc acaggacca tggcctggcc aacctcctc cgagcacatc ctgcggggac 46140  
cctgggcagg gacctgttc ctccccctgg tgacctcag cgacctctc tttccttccc 46200  
tcactcgctc cccttttcc tgccctcccct tctcctgct ccaggctttt gaggggaggt 46260  
ggcctcagtc caggggctct ccggctcccc ggggtaatgc gatatggggg tattttattt 46320  
ccacccttag ggaccgtgcc tgccaagctg cctcccgggc gccccgccac cgcgggctcg 46380  
acgctgcacc ctgccaggac cagggccagg acagccactt atcacctccc cgtcaggcc 46440  
ccgggagcgc agacccttg gtagcccgcg cgcggccgcc ttacctgtca gctgcgcggc 46500  
caagaggagc cacagccgcg gccgcatcgt ggcgccccc ggacacctgg ccccgggggc 46560  
tcggcggaga cagtcgcggc tggggt 46586

ES 2 742 648 T3

<210> 2  
 <211> 23791  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 2

cggatgctgt ttaccatta aagaggatgc taaaaatggt tattcattaa agccactcat 60  
 aacagcatag tacaacccta tttaaaaaag aaagacatat tttacatgta tgtgtagaaa 120  
 ataatcagga agaatgtaca ccatattaac aggagattat tccctaagggtg aagaattatg 180  
 agtggttctt atttcottat ctacttaagt tttttctctc caatgggcag gcattgcttg 240  
 taccatacct taagcaagga agtgcattgt tgggacagca gtttgggctc tcagcctcct 300  
 taagagagtc aggtctgcct catccctgta tctgctagtt gagcagaggc cagggctgtg 360  
 tgaggggctc tccaacaatt gtctttacaa agtataaaaa gtcattcagtg atcccaggaa 420  
 catgtttgta tctcaaattc agagattcaa gagggcotta gtttaacctc actgatgctc 480  
 aaattctatt tgtaaagggg tagcctgtcc tctttcatgg gccctctctc aatgcaaggg 540  
 ctgggagagc aattccgctc ccacataggg gtttcacaga gattttcttt agagatagag 600  
 ggattcattt tccagggta agctcaaccac ttcattttat tttagggtcta tacaatttta 660  
 ggcttgatta taaaaaaaaa aagtctgata ttgtttacat tatagaactc tgccaaaggc 720  
 agttctcttc ttttaattcat tacctcctcg aggctctggg cacagtatcc caggtatcaa 780  
 gaagtacttg ttcccttgcc gttggagact caagcacctc accctgagac aggggcctcg 840  
 gaaagaaaga cctgaatggt gtggaggaaa gagccctgag ctgggagaca aggtccctcc 900  
 agctactgct ccaaccctga cttgctgtgt gcccttgatc aagctgtctc tgggctttag 960  
 cctccccctt tgtaaaacgg gcggggaaga ggttgagatg gcatgggtgc ctccagctct 1020  
 ctcagcatga ttctgagaac tctgcgggta gctctggcct gccctttcc acgccctacc 1080  
 gcgatgtgcg cacaacagta ttgtgacct tgtgggtgtac tgtagathtt acctagtttt 1140  
 gtttcccgtc aaacacataa agaaaaagta atctttccca ccccgcccc actaaaataa 1200  
 taatcatgag aatgaataca cagggaggaa gactggaaaa aatgaaaggg aaggacttgc 1260  
 tcctcaaaa ggaaggatct cagtttgaag taatgtagtg gctggtgcac agggttagac 1320  
 gtatctcgcc gaaaggctgg gcttgtctcc cgatttgacc acaggcctga aagagaggaa 1380  
 agcgaccatc attgtagcca gaaccccgcc agtgcagcat ccatccagcc acgtccagcc 1440  
 tcccaatccc ccagcctttg aaaggctctga gaacctgttc ctggggcacc agcatgggac 1500  
 tgggtgaatg acgtcagcac agcaccctg ctaaatgcct tacttgacc atctcatgta 1560  
 atcctcacag cagccttaag ggtgggcact gagattgaga agttaaactt gcccaaggtc 1620

ES 2 742 648 T3

acacatctag gaggtggctg agccaggatc taaaccgagt tagtctagct tcctggagcc 1680  
 cctgtcaagg tctccacaga ggtgtgagag tgagactgat aaccaaaagtc attagctgac 1740  
 ctgattctca gccccggagg atgacagga gagaggagga tgtgagcaaa tcaccacat 1800  
 cagccaaatg atgttacgct aaaaacgtgt taattcagca ccaggctagc accttgtaaa 1860  
 catgctaatt catcatgagc gtcatgtctg cactctcagc cctctaaaaac ctctctgttg 1920  
 aagctgagcg gccaccatc atcactgagt atattaactc ggggtgttga atttcccagg 1980  
 tgtgtttaat ctgtatagct ttgtatttta aggcagaact ttattctcag ttattcatct 2040  
 caaaatgaga gttttcagaa aagatcgaga aaagggatgg tccttctgca aaagttccaa 2100  
 agtgcaccct gaataataaa aatgctaaaa actggccggg tgcggtagct cagcctata 2160  
 atcccagcac tttgggaggc caaggcgggc ggatcacgag gtcaggagat cgagaccatc 2220  
 ctggctaaca cggtgaaacc ccgtctctac taaaaataca aaaaattagc cgggtgttgt 2280  
 ggcgggtgcc tgtagtcca gctacttggg aggttgaggc aggagaatgg cgtgaacccg 2340  
 ggaggcggag cttgcagtga gccgagatcg caccactgca ctcaagcctg ggcgacatag 2400  
 cgagactccg tctcaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaagaaa gaaaagaaa gaaaagctaa 2460  
 aaacttcccc ccccactttt tttttttttt tttgtgagat ggaatcttgc tctgttacc 2520  
 aggctggagt gcagtgttac gatctcagct cactgcaacc tccgcctccc acgttcaagc 2580  
 gattctcctg cctcagcctc ctgagtagcc cggattatag gcatgcacca caatacccg 2640  
 ctcattttca aagtctttat ccccttggtat tatcacctgt aacatatgca ttggaaatcc 2700  
 attgcatttc cattgctaaa aacaacaatg tgtaaagtcc tgaacttggga ttccctcaga 2760  
 aaaatgtaaa ggagtataaa atgcaaaactc caggataaaa atgtaaaata tttcatctac 2820  
 tgaaaagaac tgggtgtacac agtcggttat ccttaacact tcagcctgca gccatgggga 2880  
 aggtgtctga gctttggatg gaagttgcag ctcccgggca gtatgacctt ggacaaatca 2940  
 ctaaagtgtc taagcctcag tttccttacc tgtaaaatgc aggtaatcat gactacttta 3000  
 aaagttgtca taaaacttaa aattaaaaaa aatctataaa gcaagtaacg tgcgtttag 3060  
 gctttcatca aatggttatt actattgata atctgagttt aatgtgcctt tgccacttta 3120  
 ctaatccctg agccatgaga tggcacaag ttgctgtgag gattaagaga gatggggagt 3180  
 attacccta tcacagtgcc tgactagagc aggcacttgt tagatgctac cacagggatg 3240  
 cctcagccaa cgggtggaga gaggttttta acagagagg agagagagag agagtgtgtg 3300  
 tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgatcatggg ctgaaactgg atgaggcagt cacttgagct 3360  
 gccagatagc caattgtccc tgcactcgt tcccctttt tctactccag tccttggcag 3420  
 caaaccaagg tcctacatga cacagagaag ttagcaacca aagccattat tattttggtt 3480  
 cagctgataa aagattggct ctccctcaaa aaactagacc agccaagtag gaaaaaaat 3540

ES 2 742 648 T3

tgttttctta	agaaaacaac	aaaaccaga	tggaataatc	agaataaaga	ggaggtcagg	3600
tcctacgagg	agctaggata	aattggggga	atccctcagg	tttttttttt	ttttttttgg	3660
aagtgccagg	tcaaataaga	tgagattta	ctggagtcac	actgctggtg	gcacccgcct	3720
aaocggggcc	tcctttttct	caaagacaca	ggccagatgc	cagccttggc	ctctctttgc	3780
tcaggaactg	gctgactccc	tgccccagga	tttcacggcc	atgacctctc	tctgggaaaa	3840
gttcccacta	tttgctgctg	gggaaaccag	gaccccaccc	cagggctggc	caaggtgagc	3900
aggctgagtt	caaaagagac	tcacggggga	catttgcaaa	cacgtcttcg	gttccctgga	3960
taaggaaaaa	gaaggaaaaa	agtgagtgcc	cctatccatc	aatagtcccc	aaagacagtg	4020
tattttttgt	tgttgctggt	gttggtgctg	ctgttttttg	gttttcaaaa	aatcatttc	4080
agaacgatca	tgggctgaaa	ttggatgagg	caaataggga	attgcctcta	cgaattctcc	4140
ttcctttccc	ctattttctt	gaggattata	actcttgaga	gccgggtaag	ggcttcttat	4200
ccatccttgc	tctcaagcat	caattaaana	aaattgcaac	tacagacgcg	ggcgaaagcg	4260
gggagcctgc	agacctgatc	cggcacctct	cttgcatggg	acccaaagca	gggtgggocg	4320
ttogccgaag	agggccaaag	acgaacctca	aactgatggt	ggttttgact	aaccctcctg	4380
ggcacttgac	tcggccacag	cggccccctc	ccggcgggcg	ttgtcatgt	gtccagacat	4440
gtgcgcgcgc	gctgcgggct	tcgtcgacgg	aacacacccg	ctgcagcggc	tctgggaacg	4500
cggctttgtc	tcccaaaacc	tctccgagag	cgcaaggagc	gggaagggct	ttctcgcatt	4560
ctatctccca	gaaagaagtg	cctgtacctg	cggggcagct	cgggagtccc	agaaaactca	4620
accccaagct	ccccctcgc	aaggctccgc	tggagctagc	agagccaagg	gcaggagcgg	4680
ggccgactcc	ttcccgccgc	gattcctcgg	gacttactgt	ggttgcaata	aagggtgata	4740
accagtgaca	ggagaaggac	cccacaagtc	ccggccaagg	gcgcccagat	gtagatatca	4800
caggogaagt	ccagccccct	cgtgtgcact	gacgacacca	aagacgccga	catttaggag	4860
agggcccggg	acctcccaac	cgccccaccg	tcccgggaac	gtctctccgc	ctcagatctc	4920
ggtttccac	cacttgaca	gcccttgact	ctacctacag	tatcagggct	gtccctggca	4980
tgggctctcc	ccgcggtgcg	tgccgcccc	gccccgggcc	cccgcacgcc	tcacctgcgc	5040
ccccgcgcgc	tggccggcac	gcctctgggc	gcagggacag	gggctgcgac	gcgatggtgg	5100
gcgcccgtgt	tgggtggtcgc	ggcgtggcg	tcgtggtggg	cttcgctgca	agagcaacag	5160
agcgtggttg	ggggccaggc	tggggttatg	gaggcgcccc	agccccggcc	tcgcgcacct	5220
ttccccacgg	ggacgcctcc	ccccggtttt	cctgggagaa	gggatagcag	aggagacagg	5280
atggggaccc	cgggatgcgc	gcggaccctt	gtgctcgggc	ctcggctcag	cccagcgcac	5340
ccggcgccca	gagccggagc	gcaggagcca	gctcccctgc	acctggcctc	tctcccgggc	5400

ES 2 742 648 T3

tgaaccagca accctggagc gcgggttgat tgctgtccgc attttaccba cgagcaaacg 5460  
 gagggcgaga taatttaagt catttgccca gaatcacaca agaatccgaa ctcgagtcca 5520  
 gatcggccgg acgtaaaaag ccatccccag tccctactca gcctcgcggt agcctcagtt 5580  
 tgctgtgtct gtgaaatggg aacagtatct aagtcgcttc caggtgcgct aagaggcttg 5640  
 aaagcagggc ccaggtgtgg aaaacaggtt gaggtgaacc ccaagcccca cgcggagagg 5700  
 tgccgcaacc cggcgcgcgg acctggcagg aagaccggca cgaagtggct gaagtacatg 5760  
 atggagtgtc tcagggccga gcagaaatag tagccctcgt tctctcggcg gaagtcgctc 5820  
 agggtgagga cgaaggtgtc ccccaacctc ttgcccgaga accgctgggt gtccagcccc 5880  
 tcggccgcct tgggcttgtt ttgggagagg tataggagga aggtgggact ggcggcggcg 5940  
 ccgcgcggct ggaagagcca cgagcagccc gacgtcgggt tggacagcag cacctggcac 6000  
 ttcagctcca ctgtctcgcc caggttcag gtccgatcca gcggcgacac ccggaactgg 6060  
 ctcggcctgg cggcgtctgc aggcggcaag cagcgaggct gagcccgcag tcccgcgccc 6120  
 cccgcccccc gcccgcccca tcccctgcct tcccggcgt ctcaaactca cggagcagca 6180  
 aggccagcgg caggagcaag gcggtcactg gtaaggccat gacgcgctcc ccaggacgct 6240  
 gcttggtctg aagctcgggc gcgaggggag gcgcgcggga gccggtgggg cgcaggggg 6300  
 ggaaagtgtc gccctcggc cggccccgag cctgatttcg catttgagg atgtgatgtc 6360  
 aocgaagcc cccgcccagg agagtcaccc tccttttcgc ggttgcgccc ttccagcccc 6420  
 gcgaggaggc tggggcccgt gaatagggcc gtcgaggcag cctggccagg caactggggg 6480  
 cagctgaaaa ctgcgggtt ggggatgagg aaaagggtt ggaaatagtc cttggaaatg 6540  
 gttgtcttgt gagagtgaca gagtgggtga agggagacca aagatttcaa gaagtgaggg 6600  
 cgagagttag cagcaaagga ggggagtgtc ccttcctttg ccttcaactaa aggcgtctct 6660  
 tgtactgtca ccttgggact ttttattggc aaaatgggca ctgagggctg aaaaggaaga 6720  
 ggaactagcg acctgcccgc ttctgaggaa ctgcctagag cagccccagt tttaccgag 6780  
 gaaggacct ctccctccc ccaggagatt tccatgagag cggcagcagc cgaagctttg 6840  
 ggtgtcggtg tcagtgcgct gctgaacctc ttcttcggc ctttcatcca ggggctaacc 6900  
 tcaccacaca gcctcatctc ttcttgagc cattgcaaca gccttcaatt cacaccagtc 6960  
 tctctcctga tcagtcctcc agccacgttg ttataaaaat tattattctc acaaagggga 7020  
 tctgacagcg tcaactgtgc agcctccat ggcctgcatt gctggatgga aattcaacct 7080  
 ccagcttggg tgaccagccc ttgggtgctg gctcctccc gcctccgac agccccctgc 7140  
 cctgcctttc ccatacacct gcagctgcag cttcacaggc ttgaagtcac tcaaccctg 7200  
 cgctctgtgc tttcacgccc ttgcaactgc ggtccctcgg cctggaatgc tggctctgtt 7260  
 aagccctgga ggcagctcct gtgctgtctc atttggacct catttctttc acccccagct 7320

ES 2 742 648 T3

ctgggtgctc tgcagggagg tgtgggtgat gtgggtgaat gcttgggtag aggcggtttt 7380  
 ctcttttctg tccctaacac atgtgtgtcc ccttcctttt tgtttcttta aaaaataaaa 7440  
 taaaataaaa aagactggag tctcgtctgt ttgctcaggc tggccttggg actcctgagc 7500  
 tccagtgatc ctcccacccc agccccctga gtagctggga ctacaggetc atctttcctt 7560  
 tttgactggt gctgtcctga aaccttccag ctccagtggc atgccctctt cccatttctt 7620  
 cagggtttct gagtctttcc actttgaatc ccatagtggc tgcacctcac attgctactg 7680  
 ctgataccta gagacaagac acctggcatt ctgtgttcca tgtgtctgcc ccaccatta 7740  
 gttctgctgg gcgaggacca tgccgagact tcatgatgtg tcctccatcc ccagaaacac 7800  
 agcatgggct gagctgtgct tgttgaactg cattctcctt gtccttgtga agtacaaaact 7860  
 taagtgttgg atgggttctt tgtcgttgtt gctatttttt tttttgagat ggggtctggc 7920  
 tgtgttgccc aggctggagt gcagtgtggc accacctcgg ctcaactgcag cctctacctc 7980  
 ccaggctcaa gtgatccttc cacctcagcc tcccaagtag ctgggaccac aggagcacac 8040  
 caccatgccc agctaatttt ttgtattttt ggtagagatg gggtttcacc atgttgccca 8100  
 ggctggtctc caatgccoga ggtcaggcgc tttgccccgc cttggcctcc aaagtgttga 8160  
 gattacaggt gtgagccacc atatcagggc ctggatgggc tttttttttt ttttttaatt 8220  
 attttgattt cagtacctcc ttccagctcc ctcaaagcat ccaagatgct tattctagca 8280  
 tggaacatgt aacattttat attcagaaat ttttaaaaat gtcttttaag tgacaacagt 8340  
 gcaatatatt cttgtacgaa acaaacaca aagttccctg tctcaactct cctcaactgc 8400  
 acctgctccc cacagaaaac cactgttaca gttgaatgtg tccttagat attatctgta 8460  
 cataaacaga tgtttataca tcatcttaga cacatgggat tgtatgagat aaatattttt 8520  
 ttgcaacctc tcttgtttca cagtagaagg agagcgttca gcagatgaag atccacccca 8580  
 ttcttataaa tgggtgcatt atatatgggt gttccataat ttaattctgc tgttagtgga 8640  
 catttaggcg atttctcatt attgcaacac tagcaaggct gtggtagata taatgtatct 8700  
 gtatcaactga gggcttgcac cagtacctgc agctttttca aatgggagat gagggagttg 8760  
 ggaagaaaa cacctttaca atgatggtta taactggcct atcgatgtat gcatgtgtgt 8820  
 gtgtgtgtgc atggatgag ggtccctcgc tgtgtagaca cagtgtgtgc cctcaactca 8880  
 catgaatgag ggagacaagg aagcaatcaa gtccagacag gccaccaaca catcaattct 8940  
 tgctgtagat ggtagtttgc cattttgctc agcaccacca gcactgtatc aggagtgtca 9000  
 aatggccctg ctggccaaag gctacaatca acaggggtgg aaggaagatg gctagacacg 9060  
 aaactgcact tgcccagtgg tggaagcact gagggggcca gagtcaacct ccacctattt 9120  
 ggatcttgag aatcaggccc ctgagtgtga tgatggccag atttgggggt gtactgcttt 9180

ES 2 742 648 T3

aaaatagact agttccatct tagtctcacg gaaatcagct tgggggcctt ctagccctgc 9240  
 agctcagaaa agtgtcagcc agtgggggtgg cagccccctt gtacagagca ccatgggggt 9300  
 tgggggtggg aggataaggc aacatgtcaa acccatcaag gaggctttgt gaccccagtg 9360  
 atatTTTTTg cagaacgtgg tggattttcg atgtgaccac aatgacatcc gccttgagtg 9420  
 ggcagaacag atgcaattgc acaagttctg gagaaacttt ctgtagacca ggtgtgcaga 9480  
 gggctgggtt gggcctgtcc atcaactgcc ggtaagttcc caaaccocac actgtagcac 9540  
 tgacttggga tggcatgaag aaatgtgaat gactgcactc ctttaagcaa gcccttatt 9600  
 taaaaaata tccagaagta gatagagtaa gatagtaacc agtttctatg ctgatttaaa 9660  
 ctggtccatg gaaatggaaa actttaatgt agattaaaga catattcaaa atgcaaaacc 9720  
 gggcagagca gtggtaggaa atccatcagg gttctgtgcc actgctccta agacatgaac 9780  
 tgcagggaca acttggaatc atggctggga aattgcctgc tgtgtcccca tgcceaattc 9840  
 aggtctatgg agatgttact gttcttggaa ggagttagct tgtccagggc tagaaactct 9900  
 agagttatca gggcttgttt tatcttaatt ggaaatacca atcaatttgg cctcacttct 9960  
 gtcacctttc ttttctcca ccccgagttc cccaagttca tctagctgct gtccttcttt 10020  
 cctggacttt tgcaatggcc tcttaactgg ccaaccocat ttctgctctg gtccttctta 10080  
 gagaaaatct catcatgcc accccctgct tcaacctgaa aggacttctt ggtgtcccta 10140  
 gtagaatgtc ggggatccct aatgttgctt gtgaggccct gcacacttgg tttcatagtc 10200  
 tctgtcctct tgtctgtcac cttcttcaact cctcctaggt tccgcactct tcatttctca 10260  
 agcggaccct agtcctttcc acttcagagc cattaacat gctattccct cagccaagaa 10320  
 tgttctcacc tctgctctct gcttaccaaa ctctctccc ttaagacca gctcaagcat 10380  
 ctcttctctg tggggttag ctcttcccc ctccactcc cagacagtac agaccacatc 10440  
 cttctcttct ctgtgtcacc cggaccttgg gtatctgcag actggagcac aatggtttgt 10500  
 ttgcctgtcc agcttgacaa ccaaaccctt ggtcccttga ggaaggagcc ttgtccctct 10560  
 catgtttaca ccagggtgcc aaacagaggg cttggcacac acttgagtgg cacacactca 10620  
 agaaattctt gctcagtaaa agctaaagga aggtagaagt aggttacagc agaccagagg 10680  
 aggcttagat agttcattcc aagtaagagt ggtcaggaaa ggcttcacat atagttgggt 10740  
 ttgaagataa aggaagaatt aggagagagg ttgtttagaa tgaggcattt gatatgtctg 10800  
 atcaagatca gctgatacca tgctttaaca tatagcaatg gtatagttaa aaacaaaaga 10860  
 agaggaggaa ggggagaagg cagatgtact caaaagcaag ataaacgtct tcaaggatgt 10920  
 agttgcagga caatggctgg aatcaggggc tggcttgcct ggatctgttc ttagcaaacc 10980  
 attcttgggc ctgggtcttg agggctctgt cttagtgtag aggcaccaag agtttgactc 11040  
 cttcagctaa cagagtttca cagtgccttg cctatagagg aaggctggag ccaggctctc 11100

ES 2 742 648 T3

tgcttgaaac agggatttgg atctgatttt ctcttgattg aaagagagcc cacagccacc 11160  
 catgtaaggc ctagttctga ctgtgggccc tggaaagtca gaggctactt taaaaaactc 11220  
 aggaaaagag agagtaaaga gaggaagaga ttttcaaaaa tttctattca agataaccct 11280  
 gcacacacac tcgaaattca aagtatacat aaaaaagact caacaagtgg aatgtgaatt 11340  
 cacttcctaaa aagaggcaaa ttattgaaca atttgaaaaa tgtttaaaac aaagagaaca 11400  
 acaaatgtag aaaatgcaga aattaaagaa gaacagttga agatgataaa tactgagcat 11460  
 actggaaatg aacctctac atattaaaca aggatatact ctaggttgga catagttgaa 11520  
 gggataatta atgaattgga agctagcatt gagaaattca tagagaatgc aacacagggg 11580  
 gatgaagaca gaagcagttt gaaaaagctg ttgagatgta tattagcatg gtgaagtgtt 11640  
 taataggatt tcagaaaggg gagaacaaag ggaatgtgga gaagaaatat gggagaaag 11700  
 catggctgaa aatttttcac aattaaagac aaacattctc agatcaaaaa tactcttagt 11760  
 gccaaagtata aaaacatata catctttgca catatcaagg tgaattataa acatcaagag 11820  
 taaagagaag agggcatccc aggaagctag gatgtttgaa atataattgg gagaatcctt 11880  
 gttgcagttt ggattgggca gagagggtaa gaagctgaac tgtaatgggg aaaaataac 11940  
 acattttggg tacaccttgc attgactctc tgtcatcccc tcccttggtg ctgacacatg 12000  
 cttactgtaa aactgatcca atgatcccat agagttgatg tttgtggttt ctttgaataa 12060  
 acatataaat tgatccttgc cttcttaaaa cctgagaaag ttacatttgt cttatctgag 12120  
 ttcctttcta gggaaaccaa ctatcaggcc tcccagatgg tagcaatgag ctgaaactca 12180  
 ccagatcact tattatgaac aataagacgt cagactcttc acctggtatg atggcctaac 12240  
 taacctctg tttctgttg tccaactcct tttccttact cctcccaact tcctgttttc 12300  
 ccacacatga ttacatgtct tccctgctat ataaaccct taattttagt caggtcagag 12360  
 ggatggattt gagactgatc tcctatctcc ttggctgcag cacctgacta aattcttctt 12420  
 ccttggcaat acttgttgtc tcagtgattg gctttctgtg aggtgagcag aaggacctag 12480  
 atggatcccc cgggtgttcg gtaacaaaat tgttttggat ctttaatctc agtaaacctg 12540  
 aaacagaagc gttctgaatg caactggaga gccaggattt gagttcagaa gaggggtcag 12600  
 ggctggggat gtagccttgg gaaggaggtg ataagttgtg agagtgggtg tcattgcaaa 12660  
 gggaggtggt gtggaaagaa catacagaag agtatatgga accttcaggg aaggctcgta 12720  
 ttgaagagca ggaataaaaa cattggcaag gaatccaggt agtgcaggaa attcagaatg 12780  
 gggcttgaga aggtggaaga acttcacagg ggaggtttgg gctataagag aagcacagag 12840  
 aggacatcaa agcctgtggc aggtagagat tgtaagctca tgtctgcccc tgaccacat 12900  
 gaggatgtcc cacatgtttg ccattggtgg atgataagat gaggaggact cacaggagaa 12960

ES 2 742 648 T3

aggccaacaa gggagggtag gggcagcatg gggacttgtg gagggcaatg tcagatgaag 13020  
 tgatggtgac ttctgaactt cattcattat tcaactcattt aatattttct gctatttcaact 13080  
 tttttaaaaa aaagttttga aaacatttta acatagaaca atatgtcaaa taatataaaa 13140  
 tgcccactct ttataagtgt tagcattttg tgcatttcc ttcacatgaa cattacagat 13200  
 aaaactgtac cctcccaagt accaccccac cgccttctc atgaaaagct aaatttggag 13260  
 ttttgttcat taattatgac agaaagatgg taagtttttt aatttttaat ctgttaacct 13320  
 ttcctatgga gctgagagag aaggatgccg aatgtccaat gagtgtggat ttgtctattt 13380  
 ctccctttta ttcagttcat attttgtctc ctatattttg aagctttggt attaggtgca 13440  
 tacacattta gaattgtgcc ttctggatga attcaactct ttatcattat gaaatgttcg 13500  
 tctttacctc tgcctctggt aatactttgt tgtgaagtct accttttatt cataaggaac 13560  
 agagctttct ttcttttttt ttttttgag atggagtctt cctcttggtg ctgaggttg 13620  
 agtgcaatgg caogatgttg gctcaccgca acctccacct cccaggttca agctattctc 13680  
 ctgcctcagc ctcccagta gctgggatta caggcatgca ccaccacgtc cggctaattt 13740  
 tgtattttta gtagagacag ggtttctcca tgttggtcag gctgggtctcg aactcccaac 13800  
 ctgagtgat ccacctgcct cagcctccca aagtgtctggg attacaggca tgagccactg 13860  
 tgcccggcca gaaacacaac tttcttatgc ttcccgtttg cataatgtat cttttccttt 13920  
 ttcttttttt tttttgagc agagtctagc tctgttgccc aggctgcagt gcagtggtgc 13980  
 gatctcatct cactgcaacc tttgcctcca gggttcaagc aattctctctg tctcagcctc 14040  
 ctgagtagct aggactacag gtgcaaggca ccatgccag ctaattttta tatttttagt 14100  
 agagatgggg tttcactatg ttggccaggc tggttttgaa ctctgacct caggcaatct 14160  
 gccacctg ccttccaaag tgetgggatt acaggcatga accactgtgc ccagcctgca 14220  
 taatgtatct tttctatcc atttactttc aacttcccct tctctgtttt gaaatgttta 14280  
 ctagatatgt atacatgtat atgtgtatat atatctataa atgctatata attttatttt 14340  
 ctgagagttt caaaatacag aaatgtcatc atattgtgtg tctttgagct atgttgatac 14400  
 atatagattt attttaaag ctgtgtgggtg tattatcctg tgaatgtgcc acagtttcat 14460  
 gttcagtggt tcttgaacca gagtgttcat ctctctggaa gtatatggag gctgtccttg 14520  
 gggatacaca taattttaag gaaattgttt tccagattct caactcccat tggttctctt 14580  
 ctcataaaat ggacctgcc aagaacaagt cctgtgttt aggctttgtg ctggttctcc 14640  
 tttctggcct attctttcat gattatttta tttcccactt taaaactgaa aggcaactt 14700  
 cccgccctcc tgttccttac tatgctccag aggtgggcac gtaatcctct gggccaccaa 14760  
 taaaaagaca aatccaaaca tttttcatgt aatttccatc cgttagaaat tgccaaagaa 14820  
 tgcatttctc ctgagcagag tcccagat ccaggtagag tcatctgggg gccgggcag 14880

ES 2 742 648 T3

gtggctcacg cttgtaatcc cagcactttg gaaggccgag gtgggaggat cacgaagtca 14940  
ggagatcgag accatcctgg ctaacacggt gaaaccccat ctctaccaa aatacaaaaa 15000  
attagccggg cacggtggcg ggcgcctgta gtcccagcga ctcgggaggc tgcggcagga 15060  
gaatggcttg aaccgggaa gtggagcttc cagtgaacca agatcacacc actgcactcc 15120  
agcctgggag acagagcgag actctgtctc aaaaaaaaaa gaaagaaaag agtcatctgg 15180  
gagggatgca ggaggcagag tgcctcacag caggctttgg ggcctcatcc ctctactcag 15240  
ctctctatca tcgagctaga attcagaggt gagacagtca ttatgaggat gcatattaac 15300  
gtgttcatta tgattacaaa aggaatcaga attctttttt ttttttttaa cagaaattaa 15360  
gtctgagttg ttaattgggt tgacattgaa gaccagcttt gccaatgagg ttaatggcag 15420  
tattttaact ttccttgaat ctagtgaact aaatctttag ctccaagggt ttgatgagaa 15480  
tcaagtttag cgctaaagaa acagcttaga aaaagaaaga aaagaaaaca cttttaacaa 15540  
gtttaaaatc tatgataaga taaaagcatt ttggccagggt gcggtggctc atgcctgtaa 15600  
tcccagcact ctgggaggcc gcagtgggtg gatcacaagg tcaggagttt gagactagcc 15660  
tggccaacat ggtgaaaccc cgtctctact aaaaatacaa agaaaattta gtcgggcatg 15720  
gtggcaagcg cctgtaatcc cagctactca ggaggctgag gcaggagaat tgcttgaacc 15780  
caggaggtgg aggtagcagt gagccgagat cacaccactg cactccagcc tgggogacag 15840  
aaaaaaaaaa aaagaaagaa aaaaaaagat aaaaacatta tatcacaata ttgtttgtat 15900  
tggaattttgt cttgaaatta aattaaat atttctaata cccaacact ttccaagtta 15960  
atcaatttca gcaatcgttt ttaagtgaag gaagaatgat gtcattgatg gctacttgggt 16020  
aggcttcggg aaaacctagt ttagggcttc caaaaccaa gaaagtgaat aaatctaaaa 16080  
atggtaacaa acccatgtgc aggtcagtgg ttccaagtg tttgctttca acaaaattgg 16140  
aagaaggcct tctagatttg gcaactatca caggttgaat tgtgtcccc caagtatatt 16200  
tgttgaagtc ttatactcta gcatctcaga atgtgacctt atttggagac aaggtcctta 16260  
cagaggtaat caagttcaaa tgaggccaat aggatgggtc ctaatccaat ataactgggt 16320  
tccttgtgga aaggggcaat caggacacac acacagagaa catcatctga aaacaaggca 16380  
gagatgggggt gatgtttcta caagtcaagg aatgccaaag attgccagca actgactaga 16440  
agctaggtga gaagcatgga acaaatcct tctgtagccc tcagaaggaa cacaccagc 16500  
tgacaccttg atcctgaact tctagcttct agaactgtga ggcaataaat ttcttttgg 16560  
gaagccacct agtttgggt actttgttaa aacagccctg gcaactaat acagcaacta 16620  
atagatcatt aaaattaatt tttgatgata gataacattg tctccctccc tcctgcctc 16680  
cctcccttcc ttccttctt cctccttcc cgctctctt ctctctctt ttttccctt 16740

ES 2 742 648 T3

ctccccttct ctctctctct ctctttctcc cttggagaaa ggtcttgca ctttcgccc 16800  
ggctggagtg cagtggagtc actgcagcct caacctcctg ggctcaaaca gtccctccac 16860  
ctcagcctcc caagtagctg ggactatggg tgcacaccat catacctggc taaatthttg 16920  
tagagatggg ggttcacat gttgccagc ctggtcttga actcctggac tcaaggaatc 16980  
catccatcca ccttggcctc caaaatgctg ggattacaga cgtgagccac tgcacctggt 17040  
tcatgctttt gtctttttga aaaaaaagg aaaaagttaa aagatttagt gattctgctg 17100  
taacaaagcc aactatthtat ttatggagac aaaatthctc agtacttaca ttgtatgaca 17160  
aacaaaagca aaacaaaatt aatactgaac tctgtctcat tctagcaatc aataaataaa 17220  
ataaatcctg ttatthttatg ggttcattaa ttaattggac cacaaaatc atthgtgggg 17280  
ggtccatthc attaagagct gaatthtccc ccaaattat gthttaaaa gctthttttg 17340  
agataattgt agattgacat gcacatacaa gaaagggtac agagaattcc atacccttca 17400  
cccagthtcc cctaacaaag gttactthta taththta ththththta gagacagagc 17460  
atthctctgt tgcccaggct ggagtgagc ggtgtgatct gggcccactg caacctccgc 17520  
ctcctggatt caagtgagtc tcttgcttca gctccctag tagctgggat tacaggcacc 17580  
cgccatcatg tctggctaath ththgtatth ttagtagaga caggatthca ccatgthtagc 17640  
caggctggtc tcaaacctcct gaactctagt aatctgcctg cctcggcctc ccaaagtgtc 17700  
gggattacag gtgtgagcca ccatgocctg ccaaaggthta cththtaathgt tcatthattt 17760  
tgaagacttg cagththatt atgctataaa ggacaattgt gcactathaa tagtgcgaath 17820  
gatgacataa tctaagactt thaatathta gaaacttatg gttgcaggaa athaaaaatt 17880  
catctcatgt gctthtttg cagagaagta tgaaathatt atcaathataa ggtcctthaa 17940  
catatgcacc ththaaactt ttatggagga agtagaathag aathcataag tccatthgtt 18000  
ththactctth aththtttg gacagagctc cactctgccc cccaggctgg accgcagthg 18060  
cacaathctc actcactgca acctctgcct ccttggthca agtgatthct gtgtctcagc 18120  
cacctgagta gctgggattg ctactcaggt gtgcaccacc acaccgcact aathththgta 18180  
thththtagtag agatgggatt tccccctth ggccaggthg gtcttgaact cthggcctca 18240  
agtgatctgc ctgccttggc thcccaaat gctgggatha cagggtgthaa ccatcgcgcc 18300  
tggcctagaa thcataagth taaggagaaa aaggagthgat gaaaaathct caaaagthaa 18360  
gaactththc thgtaththta aaaatgagth acggtthgaaa caaaathgat athththta 18420  
tgtgctatta gaaathatta aaaagaataa ggtththctth ththaaaaatc aacaththact 18480  
thggaaatha thgcctthtat agtgatgaaa aathththgat thcaagthaa aagthgagthaa 18540  
agaagthacath cathththata acagcathth thcacagthagc thaaathgtgg thagcaacccha 18600  
agthththatt actggagthaa thagathaaaca aathgtggac thcaggcatct ctctctgthg 18660

ES 2 742 648 T3

ctcataccca aaggaaatga aatcaccacc tcaccaaggt atctgtactc ctgtgtttat 18720  
 tgtagcatta ttcataataa ccaagatatg gagacaacct agacaacccat caatggacga 18780  
 atggtttaag aaattgtggt acggatatat acaagggaat tcagccttaa aaaaggagga 18840  
 gatagcattt gccataacct agacgggcct ggaggacatt atgctaaatg aaagaagcca 18900  
 gacacagaaa aaaaatattg cacgatctta cctgtatgtg gaatctttta tttatttatt 18960  
 ttcttagacg gagtctcact ctgttgccca cgctggagtg cagtggcgca attttgctc 19020  
 accgcaacct ctgcctcctg ggttcaagta attctcctgc ctcagcctcc tgagtagctg 19080  
 ggactacagg cacctgccac cacacctggc taattgtatt tttagtagat atggggtttt 19140  
 gccatgttgg ccaggctggt ctcaaactcc tgacctcaga tgatccacct gccttggcct 19200  
 cccaaagtgc tgggattaca ggtgtgagct accatgcctg gcctgtggaa tcttttaaaa 19260  
 aggtcaaata tatagagaat aaaacagtgg ttatcaagat tggagttaga gagaggaaat 19320  
 gggcagatgt aggcctaagg atacgaagta gcaaacatat aggatgaaca agtcaaataa 19380  
 agtacaatat gaagactaca attaataata gcatattatt ccaggatttt tgctagatga 19440  
 gcatagttgc ttttgctaca ggaggaaata aatgggtaac taagtगत gatgcataag 19500  
 tcaatttggt tcactatagt atccattcta ctaaataatgt gtgtcttata ccatgatggt 19560  
 gtatatacct tatatataca caataaaatt tatttaaca aacaaaatgt ggtatataca 19620  
 tagagtggaa tattattcag ccttaaaaag gaagttctga cacatgccac aatatggatg 19680  
 aatcttgagg atattatgct aagtgaatta agccagtcac aaaaaaccaa atactgtatg 19740  
 attctatgta tttgaggtat ttaaagtagt caaataata gagacagaaa gtagaatggt 19800  
 ggttgggaca ggctggggag agggaggagt gggagttatg tttaacggtt atagagtttt 19860  
 agtttttcta gatgaaaaga gttagagaga aggatggtgg tgaaggttgc acaacaatgt 19920  
 gcatgaactt aataccactg aactgtacac ttaaagtta aatggtaag attgttatgt 19980  
 gtattttgcc acaataaatt agtattatta ttttttttag agacagagtc tagctctgtc 20040  
 aaccaggttg agtgcattgg tgtgataaca gctcactgca gcctccaact cttgagcccc 20100  
 caactcctgg cctcaagcag tctcctgcc tcagcctccc aaagtgctga gattacaggg 20160  
 gtgagccatt cactgttcct tgctaaatct tttttttttt tttttttttt tttttgagac 20220  
 agagtctgct tctgtcaccg aggctggagt gcagtgggtg gatctcagct cgctgcaagc 20280  
 tccacctcct gggcctaaat gattttccta cttcagcttc ctgagtagct gggattacag 20340  
 gcacacgcca ccatgcctgg ctaatttttg tattttagt agagacagag ttttgccatg 20400  
 ttggccagac tggctctgaa ctctgacct caagtgatcc acctgcctaa gccttcctaa 20460  
 gtgttgggat tacaggcatg agccaccaca cctggcctaa attttttttt ttaatgagtg 20520

ES 2 742 648 T3

aaggagtcca tagtctttca tactttgggg tgatacaaga aaaggaaaaa ggtttaatga 20580  
caactgccac tttcatttat toattccttt gttgatgtac ttttgggctg ggttttgctg 20640  
ttataagcta aactacaatg gacatccttg tacacattcc ctagagtcca agtacaagat 20700  
tttctctagg gtgttttcct ggaaaaggaa tgacttgagg agtatggcaa ccttgtgaga 20760  
aatgactgat tcgaaagatg tgtoccatag cttttgatac atttttctcc gaagtcatgg 20820  
ttccagtcca cactcacacc agctgtggag gagttttcat ttaccacoga gctttgttat 20880  
ttctggtttt gtcagtcttt tcaattctgc caatctcata ggggtgtgatg gtatctcgtt 20940  
gtttaaacct gacttctctt gttaaggttg agaccgagca tctggcccca tgtttgctgg 21000  
ctattcagct ttctctctct gcagactgcc cgtttgtcca ctgctctgtt tcagtaactt 21060  
ccatatacca agaactctct gccttcata actcacatca cttaaaatac gaattttttt 21120  
gatgcttaga gaacctgatt tccttccaac caattgtgct ctcttaatte caacaaccaa 21180  
atgaagcttc aactcttctt tttgttcaga gccctcctga gtctgtcct actcacagta 21240  
aaggctgtgg caaaataaat aaataagtaa ataaagggga aaaatacaact gcatccaaaa 21300  
aaggctcgtt tctttttctt tctttctctc tctctcttcc tttttctttt tctcttggtg 21360  
tgacaattgt cacaacaaaa tgtgtatgtg acaatttgtt atcttaaaac agtttaccca 21420  
aaatagaaac cttacaaagc cagtggaaac ttttcttttt gcataagttg gtttaattctt 21480  
ttgagtgtcg gcctgggatc catgaaataa cctcaactcg accataaaac ttttactcc 21540  
cacgttatgc aaacggtgat gaccttgttg gtggcaagcc ccccggtgga ctttccgagg 21600  
ggatctgagt ggtgcaaggt ggaggacgca gtgatggaaa cattgcgaga ggggaaggcgt 21660  
ctgtttccac ccacttacc cagagcatg agggctgggc gaaggctctg actcctgtag 21720  
ggggtgacct atttctagga ctatagaagg agaggtgtgg acctggaaaa aggaaggaaa 21780  
gaccacggca aggaaagtca agaagtggga gaagtcaagg gctctctcct cccttctctc 21840  
ttgtccttgg cctgcagcaa ctctcttctc tctttttgtg gggacagact gaagaggatt 21900  
tcttagtatg gtttgtacct tcccagtaga gcaggaaaa gaggaacgag ctgctccctc 21960  
cacacctcag acgctgaggt caactgcctt ttgggogggg cacgttggct cacgcatcta 22020  
atcccagcac tttgggaggc cgtgagggga gcatcacttg agcccaggag ttggagaccg 22080  
gcctgggcca catagtgagg cccatcctc cggcttgccac cactcaaatt cctcgtaaa 22140  
gtcacacggg gagcttgccc ccagcaaggt cgtcagtttg caaaacatgg gagtgaaaag 22200  
ctttatggtg gagttaggtt tatttcatgg atcccaggcc agcaocccaaa agaattaacc 22260  
atcttgtgca aaaagaaaat tttocactac ttttttaaag tttctatfff gggtaaatcg 22320  
tttcaagata acaaattgga gagagacctc gagagaaatg agccttttta agatgcagtt 22380  
tattttgcc catgatgttt ttgtttttgt ttttgccaga gcctttactg tgagtaggac 22440

ES 2 742 648 T3

aggactcagg aggcctctga acaaaaagaa gcggtgaagc ttcatttggg tgttggaatt 22500  
 gggagagcac aattggttgg aaggaaatca ggttctctca aaaaataaaa taaaataaaa 22560  
 taaaaaaaaa agccagcgtg ctggcgcggg tccatggtcc aagctacttg ggaggctgag 22620  
 gtggggggat cgcttgagcc cggaagtcca ggctgtagtg agccgtgatt gcaccactgc 22680  
 actccagcct gggcgataga acaagaccct gtctcttaa acaacaaga aacaaaacaa 22740  
 aacaaacaac aaaaaaattc atttgggaat gtttctgcgc gtgccataa gcagagccat 22800  
 gctataggat ctcccctgtg cccaacaat cagcttctta cttggagggt agagaacggt 22860  
 gcttccccac gctgctgtgc aatggatagg agctatgtga agctggcgta tgggtggggt 22920  
 ttgcaggctt cgtccggctt catcgccggc tgctgaccgg gcaccaattc ctggtctgca 22980  
 ggtctcaccg cagaggggca cgccagccat gaggacagat gagggaacac gtgatgccac 23040  
 gatgggggtg ccaggatgag gtgggtgagg tgcgggacag gcgcacgagg agcccagcgg 23100  
 agcggccacc ggagcaggcg cggaggaggg ctggggaggg ccaccaaggc gacgagagcc 23160  
 ggtgtgcctg aatcagccta aaggagacgg aggaggagtg tgggtgggcgc aggggcaggg 23220  
 agctggggga agggcggggg gctagcccag gctgaaggca ggcaggagca gggccgcgat 23280  
 gtcagacaag aaacggcagc agtgtgtttg ggaacctagc accaaccgca ccggtggaga 23340  
 cagggtctgc tgtagaggag gtggggccgg gtcccagcta agtaaggcgg tggatcttgc 23400  
 agcccttcca tctcagccg ctctattctgc gcaaatctcg gggccagcct tgggtggagcc 23460  
 gtaaagcgtc caccagaacc tggatccctc cgccaccttt cccatgaatt cacctttctg 23520  
 tacacagcaa gcgcctgagc ggagacggcc gacacgtttc cactgttac ccaggaaac 23580  
 cgcggtcct gagggggtca gggcctgggc agggggcaga gctcagcgcg ccgtactgag 23640  
 gcagaaacgg ggtccagaga ggggtggggtg ggggtacagg gaagggtcgc ccgaagggtcc 23700  
 ctggcgcagg gaggacagag gagggatcta gaattcgtag gggagaagag aactcagaaa 23760  
 agatccggcc cagcgcattt attttacaga g 23791

<210> 3  
 <211> 692  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 3

5

ES 2 742 648 T3

aaaggaagga aagaccacgg caaggaaagt caagaagtgg gagaagtcaa gggctctctc 60  
ctcccttctt ccttgtcctt ggccctgcagc aactcctctt tctctttttg tggggacaga 120  
ctgaagagga tttcttagta tggtttgtac cttcccagta gagcaggaaa aagaggaacg 180  
agctgctccc tccacacctc agacgctgag gtcaactgcc ctttgggagg ggcacgttgg 240  
ctcacgcctc taatcccagc actttgggag gccgtgaggg gagcatcact tgagcccagg 300  
agttggagac cggcctgggc cacatagtga ggccccatcc tccggcttgc accactcaaa 360  
ttccctcgta aagtccacagc gggagcttgc ccccagcaag gtcgtcagtt tgcaaaacat 420  
gggagtghaa agctttatgg tggagtgtag gttatttcat ggatcccagg ccagcaccca 480  
aaagaattaa ccatcttgtg caaaaagaaa attttccact acttttttaa agtttctatt 540  
ttgggtaaat cgtttcaaga taacaaattg gagagagacc tagagagaaa tgagcctttt 600  
taagatgcag tttattttgc cccatgatgt ttttgttttt gtttttgcca gagcctttac 660  
tgtgagtagg acaggactca ggaggcctct ga 692

<210> 4

<211> 16040

<212> ADN

<213> *Homo sapiens*

5

<400> 4

ES 2 742 648 T3

agccccttag	tcgaagcgcg	tcctgctgcc	agctactacc	aagtccttag	gccgagcccg	60
tttctctcct	ggtgatgtga	atcctcgttt	tttgttggtg	ttggtgctgt	ttactgaagt	120
cccgggctga	ttagacacag	caatggaagc	tgggggtggc	ctgggccctg	cattgaattt	180
gtgacttttag	caagtcacct	aattcctctc	tgcctcactt	ttgctgtctt	ttttaggtta	240
aaaatatttt	ggagaataga	aaacagaaca	aaacaaaaat	aatggcttat	agtgccaata	300
tggaattata	gtcactccta	acattttggt	atattgtttt	gcatttgctt	tgtttctatt	360
ctatgcttat	atatttttaa	tttttttcca	tcactgtcat	catatttctt	attcaggtct	420
ccagcctgct	ttaaaaattt	tttaatcata	aagttccata	aaaattttat	ttcagccaat	480
ttcttttata	acacgttctt	catgaatctt	atctgatatc	tgcataatat	tccactcata	540
ctttgcacaa	ttagacatta	aggctgtgtg	tactttttaa	attatgatac	agcaatttct	600
aaatagtgtg	taatttcaat	ttttgtttct	tagttatcat	aacagttctt	aaaaggtgat	660
aacaaatttt	taagtggata	cattttttcc	cccttctttg	gtttataatt	ttattgctct	720
gtggctgag	aatgtggctg	tatttacgct	ttttgaaatt	gaagtttttg	attgatggtt	780
gatttcgtaa	ataagtttag	gcacagtttt	gtataaatga	ttgggcacaa	aattctttat	840
attagatcaa	gctttgtaaa	atgtattatc	catatctgct	atgtcttttt	aaaattttta	900
tctacttgat	ctaatttctg	aaagagctgt	aagtttttta	aatgtgtttg	tggatttact	960
atttcttctt	tatatatata	tatatatata	tatatatttt	tttttttttt	tttttttttt	1020
tttttttttg	agacggagtc	tcgctctgtc	gcccaggctg	gagtgccagt	gcgtggctct	1080
ggctcactgc	aagctccgcc	tcccgggttc	acgccattct	cctgcctcag	cctcccaggt	1140
agctgtgggt	actggcgccc	accaccacac	cgggctaatt	ttttgtattt	tttagtagag	1200
acgggggttc	accgtgtag	ccaggatggt	ctgcatctcc	tgacctcttg	atccgcccac	1260

ES 2 742 648 T3

cccggcctcc caagtgctgg gattacaggc gtgagccacc ggcctggcc tcttgtttat 1320  
 atttctaaca gtttgtgcat tatatatttt aaagtgatgt tatggagtat aaaaaccata 1380  
 tggctgtaa agtaataaac aaagaacat tttggcttat atatcttttt gtgcatttga 1440  
 attattttct tggtttgaat ttttagaagg aatggctct taaaggcaag ttggcctttt 1500  
 aaagatttga cagatgtata ctgttgctg catcagagtt cttctttcac taaccctgg 1560  
 tcagccccag gaattaaaa acaaattaca cacacacaca cacatacaca cagatacacg 1620  
 catatagtaa gtcttcactg tcatccatag gttcttgga actgcaactt taagccaaac 1680  
 aacatataat aaaaccagtt tttcaatcaa cattgtaaca aaacaacatt gaatgaaaa 1740  
 atactttttg aggatctgct gtatgttatt ttgcttaaaa tcacagttc caagaacct 1800  
 tacatgatgt taagtgagga cttagatgt gtggtgtgtg tgcgtgtgtg tgtgtgtgtg 1860  
 tgtgtgtaca tgcacagtg ttattttggg agaagcaaga agtgggataa tttttacaat 1920  
 ctctttgat ttttattgcg gttgacggtt tttctgtaga tctgtaatca cttgaatttt 1980  
 cttttttgtg tgtggattgt ctgttcttgt cttttgtgc ttctgttttc taactttta 2040  
 ctgaaggagg ttaatgtctt tcagctctta aactgtagg aattacattg ctatttcttc 2100  
 taccacaaaa caccttattg aaaaagaaa actccagcac accaaacaga tgcctcaaat 2160  
 tcaccctgac tgcctctgct cccctggat cttagcagaa atttcagtgt ggcaaacaaa 2220  
 gcagatagag ttctatggg gctaaagct tatgcaattt gggaaacttc ttaaccatt 2280  
 ttttttttga gtagtgagat ttagcatat tttggctaaa atatgggaa aaataatgcc 2340  
 cagtgagatt acatgatttt cctgggattg atagattcat gtctcaattt ccatcagaga 2400  
 aagggagtgg ggtggtgagg aagggaaagt agtatggaga gttaggacc tttgccttct 2460  
 ttcaggataa gaaagaaaag gaatagccga gcttgccata cacaagcggc cccattcatt 2520  
 tgtaatattc ctctggatc cttttattgt ctgtgagatc catagtgat atctctcttt 2580  
 tgtttctgat atgagtaatt tttgccttct ctcttttttc ttggttagat tgactagagg 2640  
 tttaccaatt ttactgatct tttcaaagaa atagcttttg tttattttc tctattgttt 2700  
 cctgttttca gtttcattga tttctetaat tttattatt tttattcttc tgcttgcttt 2760  
 aggcttgtat tgctcttct tctcttgttt cctaaggtgg aatttttagat ggtcaatttt 2820  
 agatctcttt tcaaaatatg tgtatttaat gctataagtt tccctcgaag tactgcattg 2880  
 ctgcatocca tgaattttga gaagttgcat tttcatttag ttcaaaatat tttaaaatat 2940  
 ctcttgagac gtcttctttg acccatgtgt tatttagaag catggtgttt aatcttcaaa 3000  
 tatttggaga cttttcagct ctctttttgt tattaatttc tagtttaatt ctggtgtggt 3060  
 ctgacagcat actttatatg atttctgttc atttcagttt gttaaagtgt gttttatggg 3120

ES 2 742 648 T3

aaagaatgca atctcttttg gtaaagtgc catgtgaact tggagaata tgtattttgt 3180  
tgttgatag agtattctat aaatgtcaat tagatcaaac tgggtgagag tgctgttgag 3240  
gtcaattaaa tcattactga ctttctacct gctagattta tcaattattg agagagaagt 3300  
attgaaatat ccaactataa tagtgacttt gtgtattttt ccttgcatac ctatcatttt 3360  
ttctctcagg tattttgatg ctttgctaata acatgtatgc atgttaagga ttgttttgtc 3420  
ttcttgagaga attgaccctt ttaatattat gtaatgtcct tctttatccc tgatgatttt 3480  
ccttgctatg aagtctgctt tgtctgaaat tagctactcc agctttcttt tgatagtgtt 3540  
aacaagatat atctttctct attccttata acccatctga gtcttacatt taagggtgggt 3600  
ttcttgaggga cagcatatgg ttaggccttg ctttttact actctgacaa tctctgtctt 3660  
ttacttgat atatttagac cattcacatt gaaagtgggt attgatatag ttggattagt 3720  
atctactatg ttctgtaactg ttttctattt gttacagttg ttttttgtct cttctttccc 3780  
ctgtcccgtc cattgtaatg actgtttatc aacgttttcc caaagattgc ctgagctctc 3840  
aaccagtatc atgtctatct ctgtgtgcag caaatatac ttctcatac ctgtgcataa 3900  
taaggcagggt gcgaagggtg tcatgcagca ctgcctttaa agtgggaaaa cccagtcttc 3960  
atcaatgggg caataggaat ttaaattatg gttcacccgac ctacaggaat accaggaggc 4020  
agtcaaacat aagccaatac atctatatgt cctggaatat agcaaattct gacatatatt 4080  
gtcaagtaaa aaaagctagt tgcagaccaa tatatatatt ataactcttt taggtaaaaa 4140  
tcgtgtgtgt gtgtgtgtgt ctgtgtgtga atgtctaaat gcacagaaaa atgtgtgtct 4200  
aaatgcagag aaaaatctct aggtttatc aaactgtgtg tttttacaaa ctgatggcag 4260  
atttgggaaa gcaaagaaat attaattata tttttctga caaaacttat attcatgtat 4320  
ttgtaagctt taaacacaca cacacacaaa cacacacaca cacacacaca cacacgcaca 4380  
acttatttaa gaccagactg gccaacatgg tgaaccctg tctctacaaa aatacaaaat 4440  
ttagccaggc atgatgccag gcgctgtaa tcccagctac tggggaggct gaggtggaag 4500  
aattgcttga acccggaag gtggagggtg cagttagcca agatcacacc accgcactcc 4560  
agcctgggca acagagtgag actctgtctc aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa agggctgggc 4620  
atgggtgctca tgcctataat cccaacattt tgggaggctg aggcaggcag gttgcttgag 4680  
cccaggagct caaggccagc ctgggcaaca taaggagacc ccgtgtctac aataaataca 4740  
aaaatttgcc aggtgtggtg gtgtgcacct gtagtctcag ctaccagga ggctgaggtg 4800  
gaagaattgc ctgagcctgg gaggtcaacg cttagagttag ccgtgattgc accactgcac 4860  
tccagcctgg gtgacagagt gagacctgt ctcaaaaata aaaaataaat taaaagtagg 4920  
ccgggcctgg gtggttcatg cctgtaattc cagcactttg ggaggccgag gtggttgaat 4980  
cacctgaggt caagggttcg agaccaacct ggccaaacat ggtgaaacct cgtctctact 5040

ES 2 742 648 T3

aaaaatacaa aaattaacca tgtgtggtgg catgtgcctg tagtcccagc aggcagaggc 5100  
 aggagaatca cttgaaccca ggaggcagag attgtagtga gcccaagatcg agtccctgca 5160  
 ctccagcctg ggtgacagcg agactccgtc tcaaaaatat ataaataaat aaaaaaata 5220  
 aatTTTTaaa aagcaaagaa gcttaaaaac gctttccttc acaaggaaag aacatctgcc 5280  
 tgacataagt aaccctctct aacctcagca tttggcggct gttctgaaat gggTggtcca 5340  
 tactcatagt gatctggtgc tagagatgca ggaagcaaag atgttccccca gtacttgcca 5400  
 agctcaatgg tcccttttc ccggtcttta ggattttggg caaatTTatt caagatggat 5460  
 acatttggtt ccacaagggg gacactttgg ggTtcacaag gatgggggcc acagctcacc 5520  
 agggcagaac ttgagcccc tatgacttgg ggggttgatg gtggcagaga agtctctgct 5580  
 gggTgtgtgg gaggatccct ctgagcaggg gaggaatctg gtaaaaagtag taaagatcca 5640  
 ctcatcagga cctgtgcttc ttgcctatgt tttcaggatc catgggttaa gcagcttctg 5700  
 tgaggTtgta gtattgctgt agtatccatg caggcattgg gggacaaagg ttcttgatat 5760  
 accttccctt tgaggccttg caaaaagaaa aacaagagag tctcaataca tgcaccaagt 5820  
 caaggTgttg gttacttatt aagtaatgac tgattTTTT ctgtgactca gtcgagtca 5880  
 atgtTgtgtc aaattcaaca cagaaagagc caggcatata gcacttgata ggcctagggt 5940  
 taccacagga tccaaccaca tttgattcag gatctcaaag ccagaaacct ctgtttctgt 6000  
 ttctTgtgat ttcttctcag aaagaggaaa ccacacacag agaattacct gctcagttat 6060  
 tccccaaagt taatatcatt tgggaaagcg ggtgagggtt ttatccttcc ctctTgggca 6120  
 tcactgtcaa ttttattgcc atggttaatc aaggTgaatt tcaatagtgt ctgacctgca 6180  
 aattagTTTT ctgccattg gaatcaagga tgtacgggtc aacagctgca ggagacttca 6240  
 gagaggTccc catgcttaaa aaatttctct caggagagta gtaaggtagg gtggctattg 6300  
 tcatcacagg ttggaagaca agatggTcac aatgTttaga gaatttattc tgatggaaac 6360  
 ttctcctccg gggTacttta taatggacat gaagactcaa ctTcaggaag atgtaagttt 6420  
 tccccagtta atctacagat ccagTgcatt caaatgcca accagatttt gctcacaagc 6480  
 tgattatcaa attcatatgg aagtataaag ggccaaaaat agctgaataa tttTgctgaa 6540  
 gggtaagggg gggaccctt attccacata tcatgattta taaactctag taattTaaac 6600  
 acaaatagaa caatgaaaga gagtaggggg cctagaaaat acagatgtga acatgtTgga 6660  
 gatggctggg cactcctgtg ggtaaaggat tcgatcatta gtgctgtgac attggcttcc 6720  
 catgtgggaa aaacgtaaaa cttgaactct atctcaaacc attcacaat gtatactcca 6780  
 gatagaataa atatgaaaag caaagtttca aaactTTTT aaaaaatgtg tttTtaagac 6840  
 agagacatga taaggcacag aatttcttgg tcaaaaata aaaggacaag ccataaaagt 6900

ES 2 742 648 T3

gtgatgttac cattcgaaca tttgtttaaa gtatgcaggg caaaaaccaa tacaaagtta 6960  
 aaggacaagt ctcaaattag tagaagatat ttgcagtgca taaaagcaac agaagatctt 7020  
 tatccataac atatcagact ctcaaaaagt aataagttaa agacagcaga attaaaaatg 7080  
 ggcaaagtac gtgaccaagc caatatccaa ataaaaagat gccaaacatt acttgaatca 7140  
 gtgagatgca aatgaaaaca accaatatca ttttatattc aaattagcaa aatgaacaag 7200  
 accaataaca tcaagcatga gggaggatat gaccaaataa ctgtgatgca gtgttgatgg 7260  
 ggatgtaa atgtttacaact gcagtggaga taatttggga tatctagtaa aaatatctat 7320  
 taaaaatgaa gatgctctgg cccagaact tccacttcca gattcattgc tcagagaagt 7380  
 tttgatgtat aagagtgttc acagaagcac aaacaacaga aattggaaaa ttgtaataat 7440  
 aattataaac taatatctaa taggggaatg aataaaattg taatacatta ataaaatag 7500  
 acacaataaa tgaactagat ccacaggcat caacacaggt aaatctcaaa aatatgttga 7560  
 atgaaataag caaattttaa aagtgcattg aactctgac attatttata aaaaataaaa 7620  
 gcacatgcca tatattatc attattatgt cattgtttat agatacttac ataataagag 7680  
 aatcacaagt ataaaaaag cctggaggca gaaccacaa atttcaagat agggatgca 7740  
 gtatggagga tggaaatagg gtgaagaagg ggtctcaaca caaacatfff attgcttgaa 7800  
 ataaaagact gaagcaaatt tggcaaaagt taaatttgct aaatctgaca gatttattta 7860  
 gcaaatctgc taatttgcta aataaacttg aagctagtat gttaccttca gtagttttct 7920  
 ttatatttgg cataattcat aattcatggg aggaggtaat tacatattaa aaatatatat 7980  
 tcactggctg ggtgcagtgg cttatgcctg taatcccagc actttgggag gccaaagatgg 8040  
 gtagatcacc tgagttcagg agttcgagac cagcctggcc aacatgatga aaccctgttt 8100  
 ctactaaaaa tataaaaatt agccgggctg ggtggcgggc acctgtggtc ccagctactc 8160  
 aggaggctga ggcaggagaa ttgcttgaac tgggagatgg aggttgctgt gagccgagac 8220  
 tgtaccactg cacttcagtc tgggtgacag agcgagactc catctcaaaa taataaata 8280  
 aataaaaata aataaataaa gtatatattc ataattaaca gagtaactgt atgtaatgag 8340  
 tactgtctgt gttccaggca ctgtttaaag tacaggcata cctcatttta ttgcacttta 8400  
 tttttttatt gtgctgcacg gatgttgtat ttttagcaaa ttgaaagttt gtggcaaccc 8460  
 tgcctggagc aaatctatca atgctgtttt tcaatagcat gtgttgactt tgtgcctctg 8520  
 gatcaccttt taataattct tgcaatacct caaacttttt cattattatt gtgtctgttc 8580  
 tgggtgactgt aatcagttat ttttgatgtt actattttaa ttgttttagg gcaccatgaa 8640  
 ccatgccat ttatgacagt gaacttgatc cataaatggt ggggtgtgttc tgactgctcc 8700  
 atgaccagcc attctgtatc tcttctctct taggcccccc tatgcctga gccacaaaaa 8760  
 tattaataat agccaatta ataaccctac aatggtttct aagtgttcaa gggaaaggaa 8820

ES 2 742 648 T3

gaattgcgca tctctcactt taaatcaaaa gctagaaatg attaagttta gtgaggaag 8880  
 gatgctgaaa gtggagacag gctgaaagct aggtctcttg tgtcaaataa tgagccaagt 8940  
 tgagaaggta gagaaaaagt tcttgaagga aattaaagt actaatccag tgagcacatg 9000  
 aatgataaga aaacgaaata gccttattgc tgatatggag agagttttag tggctctgggt 9060  
 aaatcggaac agccacaaaa ttcccttaag caaaagccta atccagagca aagtcccaac 9120  
 tctcttaaat tttatgaaag ctgaagtggg gaggaagctg cagaagaaaa gtttgaagct 9180  
 aggagaggtt ggttgattca agtggtttaa gggagatac catctcctta acatcaaaat 9240  
 gcaacgtgaa gaagcaggtg ctaatataga aactaatagg tgctgcagca cagcaggtta 9300  
 tccaaaagag ctttctaaga ttattgacaa aggtggctac actaaacaac agattttcaa 9360  
 tgtagacaaa acagccttat attggaagaa gatgctacta ggtctttcat agctagagag 9420  
 aagtcaatgc ctggcttcaa aggacagcct gcctctcttg ttaggggcta atgcagctgg 9480  
 tgactttaag ttgaagccaa tgctcattta ccattctaaa aaccctaagt cccttaagaa 9540  
 ttatgctaag tctactctac ttatactctg taaatggaat agcaaagcct ggatgacagc 9600  
 acatctgttt agagcatggt ttactgaata tttaaagccc actggtgaga ctogctcag 9660  
 aaaaaagatt cttttcaaaa tattactgct cattgaaaat gtgcctggtc acccaagaga 9720  
 tctgatggag atgtacaagg agattaatat tgtttttcat gactggtaaa acaacattga 9780  
 ttttacatgg accaaggagt aattttgact ttcaattctt attaagaaat acatttcgta 9840  
 aggctagagc tgccacagat gatgattcct ctgatagatc tgggtgaaac cttctggaaa 9900  
 ggattcacca ttctagatgc aacaaagaac atttgtgatt catgggagca ggtataaata 9960  
 ccaacattag gaggagtttg gaagcaggtg attccaattc tcctggatga gttggaggag 10020  
 ttcaagactt cagtggagga agtaactgca agtatggtag aaatagcaag agaactagag 10080  
 atagaagtgg agtctgaaga cgtggctgaa ttgttgcaat cccgtgatca aactaacac 10140  
 atgaggagtt tattctctct gatgagcaaa gaaggtgggt tcttgaaatg gaatctactc 10200  
 ctggtgaaga tgggtgtaac attgttgaaa tgacaacaga agatagagaa tgttacataa 10260  
 acttagttga gaaagaggcg tcagtatttg agaggagtga ctccaatttt gaatgctgtt 10320  
 ctactgtagg taaaatgcta tcaaacagca tcgcatgcta cagataaatc ttttgtgaaa 10380  
 ggaagagtca atcaatgtgg caagatttgt tgttgccta ttttacgaaa ttggcacagc 10440  
 cagccagcc tttggcaacc accattctga tcagtcagca gccattgaca tcaaggcaag 10500  
 atgccctcca tcagcaaaga aattatgact cactgaaagc tcaggtgatt ttagcatgta 10560  
 tttggtaata aattattttt tgattaagac gtactttttt tttcagacat aatgtctttg 10620  
 tacacttagt agactacctt atagggtaaa cataactttt atgtacactg ggaacccaaa 10680

ES 2 742 648 T3

aaatgaatgt aactggcttt attgtgatat ttgctttatt gtggtggtct ggaactgaac 10740  
 ctgagatata tctgaggttt gcoctatactg gaatttccaa ggtagtgaa acatcctttc 10800  
 tgcagcctga gtggtgagat ttaggctagt ctcaaaaata taaaaaataa ctagaatata 10860  
 atgtaataac agtgatcatt aagataacaa tgctagcagc taccattgac tgagtagtat 10920  
 gtgccatgca ctctgcaagc actattttat taatgctcat gtgtgaggta gatattatca 10980  
 ttattcttgt tttatattca aggttcagag aggttaattc acttgctcag agtcacacag 11040  
 gtageccaga tctgctatgt gccagcccta attactgagc catcctgtct gtcccacctt 11100  
 ttctgaccca actccccact tctgaaccac aggcggtgta gctggctttg aatataggtg 11160  
 ctctttttat ataggtactc ttgaaaggat caactttact tttttttttt ttttcaaata 11220  
 atccaataac tttgactttt tattaggtta cactggcatt ctccaagtt tttcatcaaa 11280  
 ctcatgaagc ctgctgctcc ttcaattctc aaggcgttg agtgaggccg cctggggtga 11340  
 atcgaagctt tcggatttat caaatgtggt gtgatttcta agacgccatt gagccctgct 11400  
 aaaggagttg ctaatatcca cctcgttctg cggttaagaa accaacagga aaaagaacgc 11460  
 acaactcca gcacagtgct ggcgcctgtg aggcactcag ccgacgggag ctttgttctt 11520  
 cgttgtattg tggcggggaa gcaacatggg gccttgcctt gggacacac ttgagttaag 11580  
 atcacactgg ggctccttca ggcctgggc caagtgggg cacaggccga gttcggttgt 11640  
 tgctgtagcc tcagaaccac ccagagttga ctgaagacac tcgggggcct ccataactga 11700  
 gagcaggcag aggcattggt ttttaaccag tgtggacccc caaatggaac atttccttc 11760  
 cctaggtgaa cgccttcgga accctccgaa aatcgcagtt tcacttttag caaagagccc 11820  
 cgctgcagca ggggaaagcc cccacaaacc ccgtcctctc caaagggaat gttccgagcc 11880  
 ccctgcttcc tccaaccttc tottccccct ggtaattcc ttcgtccag ctggttctgc 11940  
 cttctttctt tctttgcctt ttcgaggccc gctcttctct gatthtgaag ggctggcgca 12000  
 ggcttgggca cttctttcag gttctgtatt gtatgtctgc cctgtggctt ctcttttgc 12060  
 aactccgagc aactctgtgc ttggattgca gctccaaca gtctgccct gacttgcccc 12120  
 agtcacaggg cagagatgaa ccagggactg taccaggggt tttgagttcc tgccatattt 12180  
 atagcatcaa ctctccttta gctcttggga aaaagggttt taaagtgtg caatcttcta 12240  
 acacaaaatt atatcagtgc tgaaaatgtg tttccactt ataccccagc aggaaaaaaaa 12300  
 aaaaagatga tatctgtttc aggtaagagt catgatgacc tcagaaagca atatcagaag 12360  
 ctatcaaaat gtttatacct gtatattcag tagtccattc tggaacattt ctccagtgga 12420  
 tgtaatctta gtcttggcac aatagagtat gaacagagat gttaaatggt aaaagcaatg 12480  
 gaaatgttca gaaataaagc aatatttaag taaacaatga taatgcattc aatataattt 12540  
 taggcattaa catgatgatg ttttagaatt atgaaacctc tggaaagggt gacaaggaaa 12600

ES 2 742 648 T3

acgcagacag catgcttgat ataaacatac attcagcatg attataacta tgtaaaatgt 12660  
 aaaaaatggt tttaaaacat tagaagaaaa tacaccaaga tgcgtttccc ttgctgttgt 12720  
 ttctagtggc taatTTTTGc aatgtgtatt actgcagtta tatcaccttt acaaatggaa 12780  
 agcttaaaaa taactcactt cccttcccag agagcaatgt tcagtgcaaa gccacactcc 12840  
 actccagggg tggccttcag cactggactt tttgggagcc agaatcaagc agtatgtgtc 12900  
 acttcttata tcatgttgtt ggtgccactt actcatatgt tgtctcatca ttctgcagtt 12960  
 gtttaatgtg tttatatctt tctctacaac cattttttta aagctatfff taaaattgtg 13020  
 gcaaaatgta tgcataacat aaatttacca ttttagtcat ttctaagtat aactccact 13080  
 ggcattaagt atatttatat tttgtgcaa tcattaccac catgcatcca cagaactfff 13140  
 tcatcttctt aaactaaaac tctgtacca ctaagcacca actccccatt cccctcccc 13200  
 cagttccagg taaccgctat gatattttca gtttctctga cgaattcaga gacaccactc 13260  
 ttggtacctc ctgcaagtag aatcatactg tatttacctt ttgacacaat cattttttta 13320  
 aacttaaaaa aaattttttta ttaatttttt tgagacagtc tcaactctgtc acccaggctg 13380  
 gttggtgttt gcagtgccac gatcatggct cactgtagcc ttcacctcgt gggctcaagt 13440  
 gatcttcaca tctcagactc ccgagtattt gggactacag gcacccacca cggtgcccgg 13500  
 ctaatttttt aattttttgt ggagatgagg tcttactatg ttgccaggc tggctcctaaa 13560  
 ctctagggcc caagggatcc tctacttca gcctttctaaa gtgctgagat taciaaagcga 13620  
 gccacaagcc tcggcctgca caatcattat aaaaagctct ctgaggataa ggaccaaggc 13680  
 cctgatttgt tttcattgta aacataatgt tcatttctc attgatttga tattgactgt 13740  
 gcacccacac gtgtgctggg cactgttcga ggcagggttt aagaaacgct caagaagcac 13800  
 atgtggtctc tcaaggggac ggtgtagtgg acagagataa caaagaaaa cacagagaag 13860  
 aaagaatgac ggagagtgag aagtgtctga agtgcagtga cagacaccgc cccagggcct 13920  
 cctggacagg ctgcatgttt gtaggatgat ggggagtggc cctggagaag actgaggagg 13980  
 agccctgggg ggtccaggca gagagaggag gggcacagag ctggaggacg gaagggcctt 14040  
 tgtacagcat gtgtgtgtgt gtgtgtatgc tgggggacac gcaggagat ggcaggcctc 14100  
 agcactgggg agagctggag tgcattctag atgcagcagg gagctggagc agggaccctc 14160  
 ttctccctgc ctggcctgag agcagggag gaggccctgg gctgtggctg attgcagtca 14220  
 aactgagga acaagtcca atgcttcatg cagggcacia cctctgccac acttttacct 14280  
 atgtgacctt ctggccagg tactgtgagg tgcttcattt ctgagatagc aaggctgagg 14340  
 ctgagatcaa tgctgctttg cacacagctg gaagtggcca aatcagcccg aaaccccat 14400  
 tttgttctgc atctttgtgc agggctgggt ggctgtgtgt gcaatgtctg ttgtgctgga 14460

ES 2 742 648 T3

catgcaacag gaaagcaatt gttacctcta attttagga ggccaaaggg caagaagcca 14520  
 cgtgctccag gccaaagagc agctaaggga atgaagagta aatctgtgat tgaatgaatg 14580  
 agcagatgaa aagagaaaaa gcctccccct gcacaaacct gcaaccatt cccttcctgg 14640  
 ggtcctgtgg ggagggggct tttcatcagt gccctgggtc agggaagaga gagggaggcc 14700  
 ttgtggtgga ggggaagggga ggagagctca ccatcagagg tggaaagaag gttctagtcc 14760  
 ctccagagca cactcagggga tgctttcttg tgcttctgtc ccaaggcctt gtctcgacct 14820  
 tgcttactat aaacacagtg ctacatcctg cttttccttt acttcattgc ataaaccttc 14880  
 cctgaatcgc ttccagaatc tttagaacca ccgtttttaa ggtttgaata cttgtatacc 14940  
 aagtaaataa ccacagctta ttgaaactcc tctttatagt caaccactta ggttgttcta 15000  
 ttgttatttc tagaacacat aactaatgcc aataaataat gatgatggca cagattagta 15060  
 tttcctgagg atggatctct tgogtgggtt ccaaagctct aagcaattta tatgggccct 15120  
 ggagtttct ccacagctcc taaggcagct ctggcacatg aggaggctgg gaaaagagca 15180  
 ggggtgatgg gtgcatctgc cttggtaagt gaacttgttg gttctgtccc acgcagcttg 15240  
 ggtgtcggtg tgggggggtg gctgctgggg ttggagaggg gccgccctac ataacgtccc 15300  
 cacataaaag gggcaggtgt gcaggtggtc ccagggatgg cggcagctct gtctgactcc 15360  
 cccctactgg ggggctatgg gggctgtggg agtggagggg gaggatcacc gtccctccagg 15420  
 atcccccaac ccctccttgg ccattccctt tgacttccct gggaaagagt ccaggcttca 15480  
 gaggattctt tgctcatttc aatctgacct catttgaatc cccaagggtc gcagtaaacc 15540  
 ccaggcacac aaagacagag gcttgtggct ggcttgcggt tgctgtgatc acgatggaat 15600  
 cagacaacgg ctgccctggc aggcagcacc caggcacctc tcaggtggga aaagactgag 15660  
 ccaggtgaat gtcccagagc tccagccagc tcaggctcct atgggtgata actgcactag 15720  
 acacctctcc gaagaagcca acagaaactg catgcagcgg caacatgagc aaagataagt 15780  
 gttgggacct gttcttcgct gccacctcca agtctgaaca gcaggctcta aggggggcat 15840  
 gggagcccct cagaaagggc cactgcccat gcctcacctc ctgcccgcca ctccactctt 15900  
 tattgtccta cctgactgta acaggtgca tgctcaacat ggtgtcagct gccccaaaga 15960  
 gcaccaggag gagacagggg tgccattcgg acatgaacag gagctcctac ctgaatgtgc 16020  
 agacctccgc cactggagct 16040

<210> 5  
 <211> 464  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 5

ES 2 742 648 T3

cctgctgctc cttcaattct caaggcgttg gaggtaggcc gcctggggtg aatcgaagct 60  
 ttcggattta tcaaatgtgg tgtgatttct aagacgccat tgagccctgc taaaggagtt 120  
 gctaatatcc acctcgttct gcggttaaga aaccaacagg aaaaagaacg cacaactccc 180  
 agcacagtgc tggcgcctgt gaggcactca gccgacggga gctttgttct tcgttgatt 240  
 gtggcgggga agcaacatgg ggccttgtcc tgoggacaca cttgagttaa gatcacactg 300  
 gggctccttc aggcctggg ccaagttggg gcacaggccg agttcgggtg ttgctgtagc 360  
 ctcagaacca cccagagttg actgaagaca ctggggggcc tccataactg agagcaggca 420  
 gaggcattgt ttttaaccca gtgtggaccc ccaaatggaa catt 464

<210> 6  
 <211> 475  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 6

ccaccagag ttgactgaag aactcgggg gcctccataa ctgagagcag gcagagggcat 60  
 tgtttttaac ccagtgtgga cccccaaatg gaacatttct cttccctagg tgaacgcctt 120  
 cggaaacctc cgaaaatcgc agtttcactt ttagcaaaga gccccgctgc agcaggggaa 180  
 agccccaca aaccccgctc tctccaaagg gaatgttcg agccccctgc ttcctccacc 240  
 cttctcttcc ccctggttaa ttccttcgct ccagctcgtt ctgccttctt tctttctttg 300  
 ccttttegag gcccgctctt ctctgatttt gaagggctgg cgcaggcttg ggcacttctt 360  
 tcaggttctg tattgtatgt ctgcctctg gcttctcctt ttgcaactcc gagcaactct 420  
 gtgcttggat tgcagctccc aacagtcctg cctgacttg ccccagtcac agggc 475

<210> 7  
 <211> 318  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

10

<400> 7

gggacagact gaagaggatt tcttagtatg gtttgtacct tcccagtaga gcaggaaaa 60  
 gaggaacgag ctgctccctc cacacctcag acgctgaggt caactgccct ttgggcgggg 120  
 cacgttggct cacgcatcta atcccagcac tttgggagggc cgtgagggga gcatcacttg 180  
 agcccaggag ttggagaccg gcctgggcca catagtgagg ccccatcctc cggcttgca 240  
 cactcaaatt ccctcgtaaa gtcacacggg gagcttgccc ccagcaaggt cgtcagtttg 300

15

caaaacatgg gaggtaaa 318

<210> 8  
 <211> 23  
 <212> ADN

<213> *Homo sapiens*  
 <400> 8  
 cctactactc cttcaattct caa 23  
 5 <210> 9  
 <211> 22  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 9  
 aatgtttat ttgggggttt at 22  
 10 <210> 10  
 <211> 22  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 15 <400> 10  
 ccacccaaaa ttaactaaaa ac 22  
 <210> 11  
 <211> 20  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 20 <400> 11  
 gttttgtgat tgggtaagt 20  
 <210> 12  
 <211> 22  
 <212> ADN  
 25 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 12  
 gggatagatt gaagaggatt tt 22  
 <210> 13  
 <211> 23  
 <212> ADN  
 30 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 13  
 tttcactccc atatttaca aac 23  
 <210> 14  
 <211> 27  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 35 <400> 14  
 GGTTAAGAAA TTAATAGGAA AAAGAAT 27  
 40 <210> 15  
 <211> 21  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 45 <400> 15

ES 2 742 648 T3

CTTCCCCACC ACAATACAAC A

21

5 <210> 16  
<211> 27  
<212> ADN  
<213> *Homo sapiens*  
<400> 16

GGTTAAGAAA TTAATAGGAA AAAGAAC  
27

10 <210> 17  
<211> 18  
<212> ADN  
<213> *Homo sapiens*  
15 <400> 17

CCCCATATTA CTTCCCCG  
18

20 <210> 18  
<211> 33  
<212> ADN  
<213> *Homo sapiens*  
<400> 18

TGTTTGTGAG GTATTTAGTT GATGGGAGTT TTG  
33

25 <210> 19  
<211> 28  
<212> ADN  
<213> *Homo sapiens*

30 <400> 19

CGTTTGTGAG GTATTTAGTC GACGGGAG  
28

35 <210> 20  
<211> 27  
<212> ADN  
<213> *Homo sapiens*  
<400> 20

40 GGTAAAGAAA CCAACAGGAA AAAGAAC  
27

ES 2 742 648 T3

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

5 <400> 21

CGTTGTATTG TGGCGGGGAA G  
21

10 <210> 22  
<211> 27  
<212> ADN  
<213> *Homo sapiens*

<400> 22

GGTTAAGAAA CCAACAGGAA AAAGAAC

15 27

<210> 23  
<211> 18  
<212> ADN  
<213> *Homo sapiens*

20 <400> 23

CGGGGAAGCA ACATGGGG  
18

25 <210> 24  
<211> 33  
<212> ADN  
<213> *Homo sapiens*

<400> 24

30 CGCCTGTGAG GCACTCAGCC GACGGGAGCT TTG  
33

35 <210> 25  
<211> 28  
<212> ADN  
<213> *Homo sapiens*

<400> 25

CGCCTGTGAG GCACTCAGCC GACGGGAG  
28

40

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Un procedimiento *in vitro* de identificación de una subpoblación de linfocitos T citotóxicos, que comprende analizar la convertibilidad por bisulfito de las posiciones 40, 63, 95, 135, 142, 169, 194, 213, 216, 232, 245, 273, 339, 345, y 393 en el amplicón N.º 2007 de acuerdo con la SEQ ID NO: 5, en el que una convertibilidad por bisulfito de dichas posiciones es indicativa de un linfocito T citotóxico CD3+CD8+ heterodímero para CD8.
- 10 2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho análisis de la convertibilidad por bisulfito comprende un procedimiento seleccionado entre una digestión enzimática específica de metilación, tecnología de una sola molécula en tiempo real (SMRT), cinética de polimerasa dependiente de modificación de ADN, secuenciación de ADN por medio de nanoporos, secuenciación de hebras, secuenciación de exonucleasa, hibridación de ADN dependiente de modificación de ADN, secuenciación con bisulfito, un análisis seleccionado entre metilación de promotor, metilación de islote de CpG, MSP, HeavyMethyl, MethylLight, Ms-SNuPE, y otros procedimientos que se basan en una detección de ADN amplificado.
- 15 3. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, que además comprende un análisis de la convertibilidad por bisulfito de al menos una posición de CpG en un gen seleccionado entre genes específicos de células de linfocitos T CD3, linfocitos T CD4, linfocitos T reguladores, monocitos, granulocitos, linfocitos B, GAPDH, Th1, Th2, Th9, Th17, Th22, Tfh, NKT, y NK.
- 20 4. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho análisis se lleva a cabo en una muestra que se selecciona entre un fluido corporal de mamífero, incluyendo muestras de sangre humana, o una muestra de sangre de tipo tisular, orgánica o celular, una muestra de linfocitos sanguíneos o una fracción de los mismos.
- 25 5. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 4, en el que dicho mamífero es un ser humano y/o en el que dicho ser humano padece o es probable que padezca enfermedades autoinmunes, rechazos a trasplantes, enfermedades infecciosas, cáncer, y/o alergia.
6. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 4 o 5, en el que dicho procedimiento se lleva a cabo sin una etapa de purificación y/o enriquecimiento de dichas células a identificar, de preferencia usando sangre completa y/o tejido no tripsinizado.
7. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que además comprende la formulación de dicha subpoblación de células tal como se identifican para trasplante en un paciente,
- 30 8. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, que además comprende la etapa de conclusión sobre el estado inmune de dicho mamífero basándose en dicho CD3+CD8+ tal como se identifica.
9. Un procedimiento *in vitro* para monitorizar el nivel de una subpoblación de linfocitos T citotóxicos CD3+ CD8+ heterodímeros para CD8 en un mamífero, que comprende el procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4 a 8, y comparar dicha cantidad relativa de dichas células tal como se identifican con una muestra tomada antes o en paralelo del mismo mamífero, y/o con una muestra de control.
- 35 10. Uso de un kit que comprende a) un reactivo de bisulfito, y b) materiales para el análisis de la convertibilidad por bisulfito de las posiciones 40, 63, 95, 135, 142, 169, 194, 213, 216, 232, 245, 273, 339, 345, y 393 en el amplicón N.º 2007 de acuerdo con la SEQ ID NO: 5 para identificación, cuantificación, y/o monitorización *in vitro* de linfocitos T citotóxicos CD3+CD8+ heterodímeros para CD8 en un mamífero de acuerdo con el procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9.
- 40

Figura 1

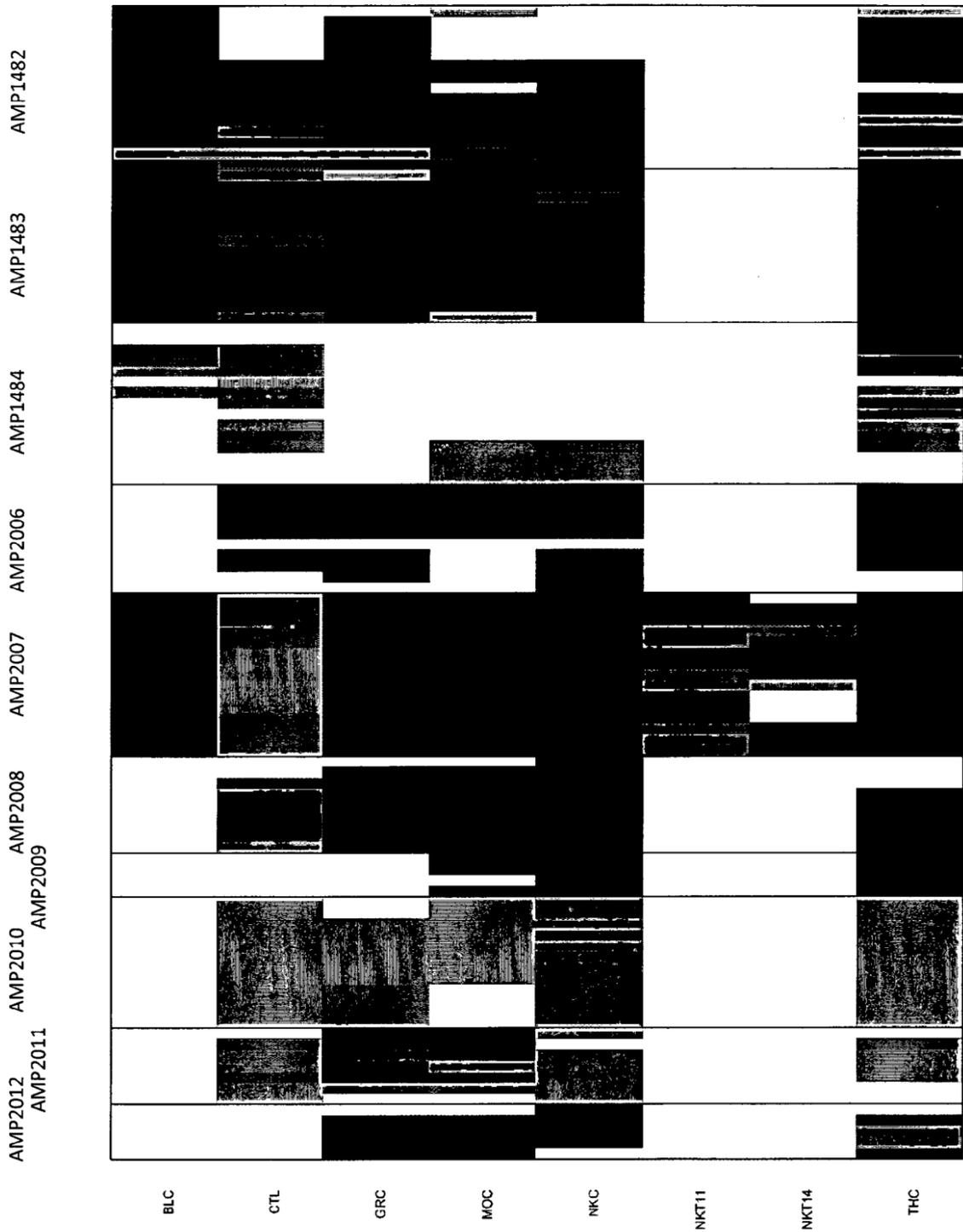


Figura 2

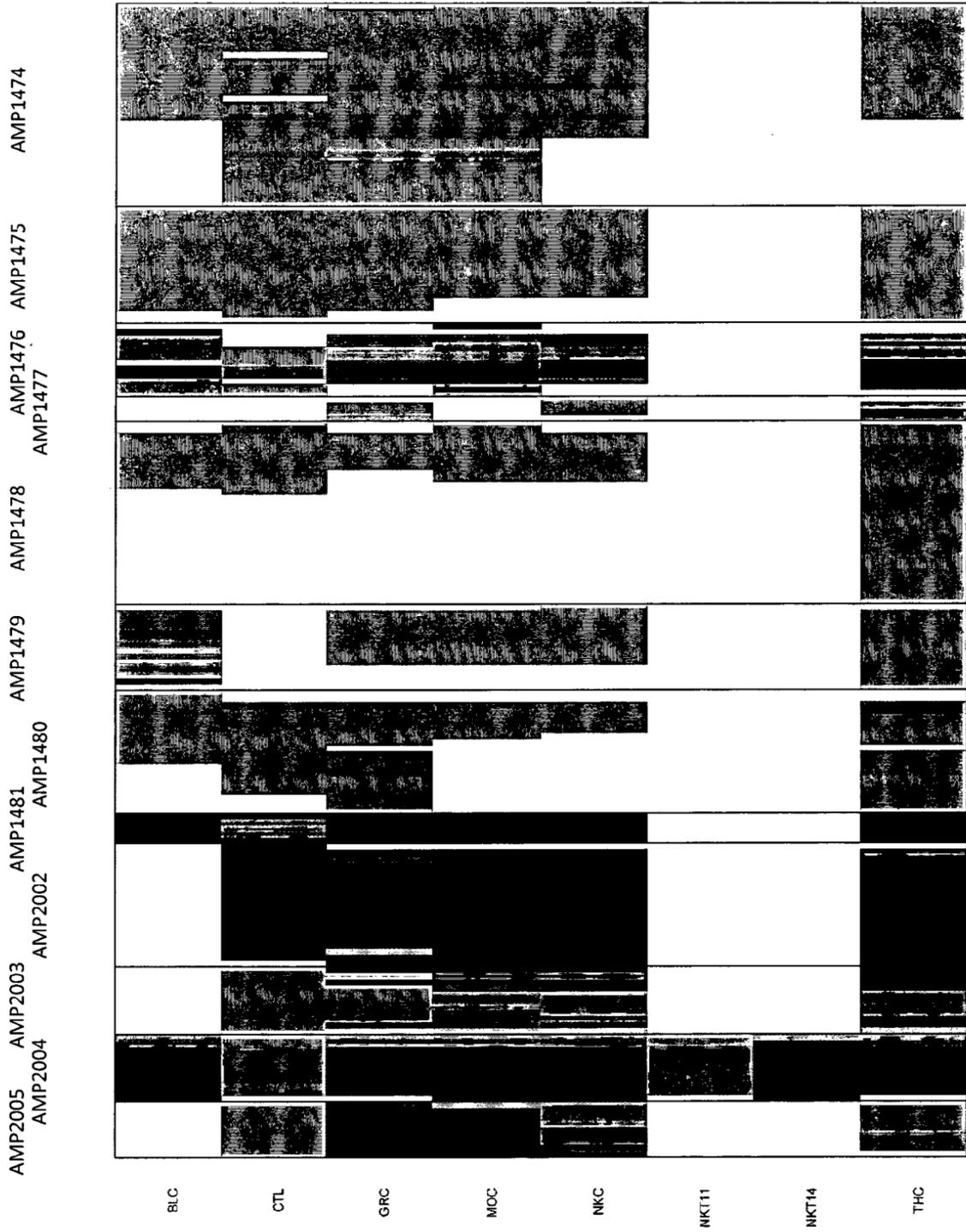


Figura 3

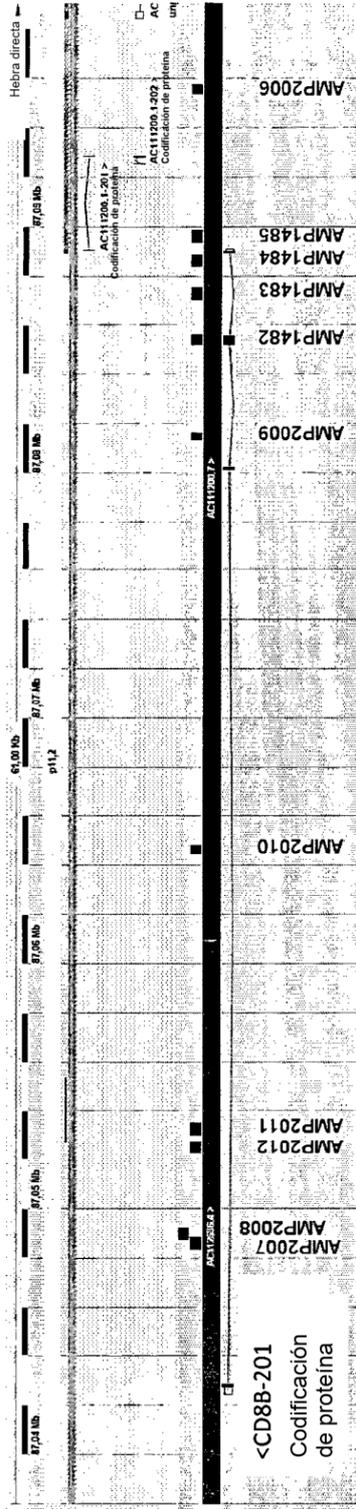
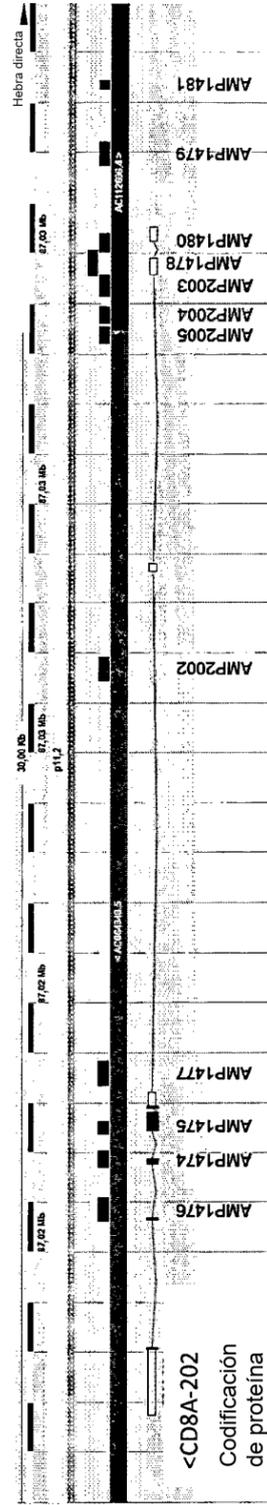


Figura 4



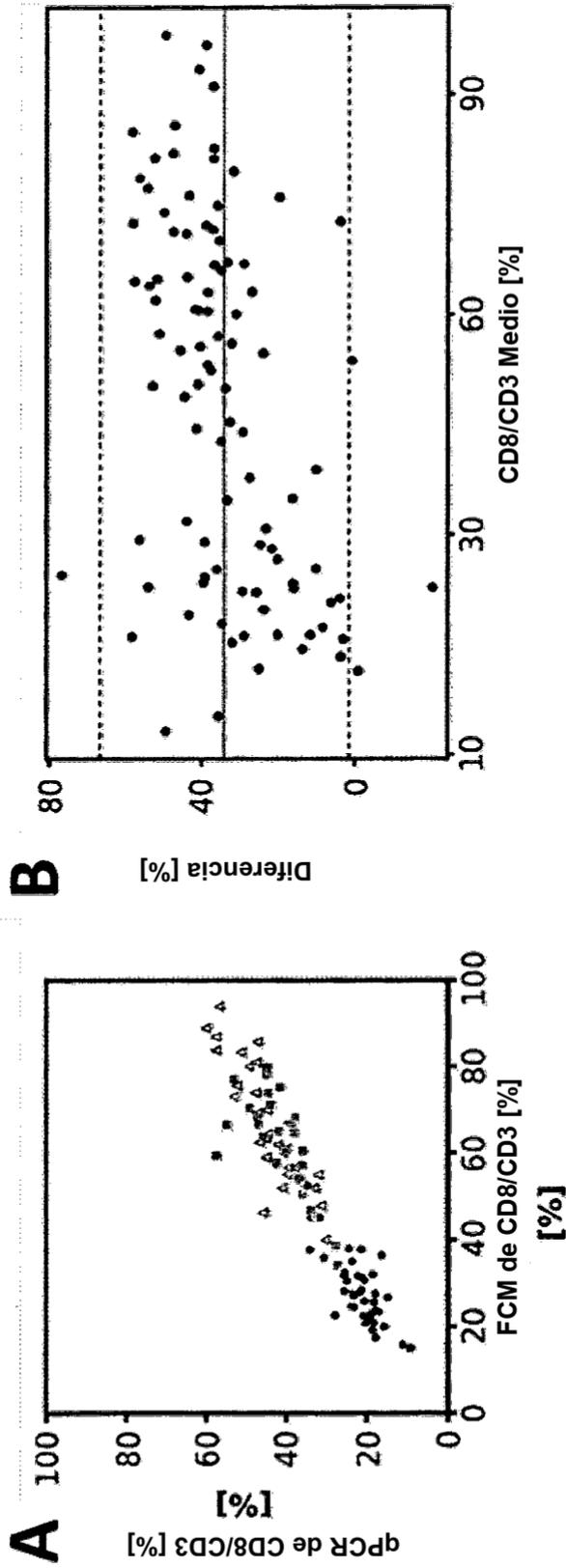


Figura 5