

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 799 507**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/6827 (2008.01)

C12Q 1/6841 (2008.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.09.2009 E 16180033 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.03.2020 EP 3133170**

54 Título: **Obtención de imágenes de moléculas de ARNm individuales, usando múltiples sondas marcadas con un solo marcador**

30 Prioridad:

10.09.2008 US 191724 P

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

18.12.2020

73 Titular/es:

**RUTGERS, THE STATE UNIVERSITY OF NEW
JERSEY (100.0%)
83 Somerset Street,
New Brunswick, NJ 08901, US**

72 Inventor/es:

**RAJ, ARJUN y
TYAGI, SANJAY**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 799 507 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

Obtención de imágenes de moléculas de ARNm individuales, usando múltiples sondas marcadas con un solo marcador

5

Campo de la invención

Esta invención está definida por las reivindicaciones adjuntas.

10

Antecedentes

A medida que ha ido quedando cada vez más claro que la expresión génica en las células, tomadas de una en una, se aleja significativamente del comportamiento promedio de las poblaciones de células, se precisa de métodos nuevos que proporcionen recuentos exactos, en forma de números enteros, de los números de copias de ARNm contenidos en cada célula. En el caso idóneo, dichos métodos deberían asimismo revelar las localizaciones intracelulares de los ARNm, puesto que la localización del ARNm es a menudo usada por las células para restringir espacialmente el gen de actividad.

15

La hibridación *in situ*, seguida de análisis mediante microscopía, es una manera bien establecida de estudiar la expresión génica. La primera generación de hibridaciones *in situ* se llevó a cabo con sondas radiactivas. Pronto se introdujeron mejoras en las que se unían las sondas a enzimas que catalizan reacciones cromogénicas o fluorogénicas. Sin embargo, dado que los productos de dichas reacciones eran pequeñas moléculas o precipitados que se alejan, por difusión, de la sonda, no podía determinarse con precisión la localización de las moléculas diana. Y si bien las sondas marcadas directamente con unos pocos fluoróforos mantenían la resolución espacial, la sensibilidad que se puede lograr con ellas es relativamente escasa.

20

25

Robert Singer *et col.* desarrollaron un procedimiento de hibridación *in situ* que no solo era lo suficientemente sensible para posibilitar la detección de moléculas únicas de ARNm, sino que, además, restringía las señales a las cercanías más inmediatas de las dianas. Hibridaron cinco sondas de oligonucleótidos simultáneamente con cada ARNm diana; cada sonda tenía unos 50 nucleótidos de longitud y se marcó con cinco fracciones fluoróforo. Pese a que los autores demostraron convincentemente que se obtenía sensibilidad a un nivel de molécula única, y pese a que otros grupos han usado de manera satisfactoria estas sondas, el sistema no ha sido adoptado ampliamente. Uno de los motivos de la no adopción de dicho procedimiento es la dificultad de la síntesis y purificación de oligonucleótidos abundantemente marcados. Habitualmente, las fracciones fluoróforo se introducen mediante grupos amino primario que se incorporan a los oligonucleótidos durante la síntesis de estos últimos. Cuando se introducen varios grupos amino en el mismo oligonucleótido, algunos se pierden a causa de reacciones secundarias tales como la transamidación. La unión de los fluoróforos a los grupos amino que quedan es ineficiente y exige llevar a cabo varias reacciones de unión consecutivas; además, resulta difícil purificar, a partir de oligonucleótidos unidos parcialmente, oligonucleótidos en los que todos los sitios diseñados estén unidos a fluoróforos. Asimismo, cuando algunos fluoróforos están presentes en forma de varias copias en el mismo oligonucleótido, interaccionan entre sí, de modo tal que alteran las características de hibridación de los oligonucleótidos y realizan una severa autosupresión. Estos problemas se evitarían si cada sonda tuviese únicamente un solo grupo amino terminal que sirviese de sitio de unión.

30

35

40

Otro problema que surge cuando se usan cantidades pequeñas de sondas abundantemente marcadas es que se pierde una porción significativa de fluorescencia por cada sonda que no se une a la diana; además, cada instancia de unión no específica aumenta el "ruido de fondo" (o "fondo"). Esto conduce a una distribución más diseminada del número de sondas unidas a cada ARNm diana. Por ejemplo, Femino *et al.* calcularon que, cuando se usaban 5 sondas fluorescentes que tenían como diana un único ARNm, la mayoría de los puntos fluorescentes observados tenían intensidades que indicaban la presencia de tan solo 1 o 2 sondas. *Science* 280, 585-590 (1998). Ello dificulta la identificación no ambigua de dichos puntos fluorescentes como moléculas de ARNm, puesto que es imposible determinar si la detección de una sonda individual se deriva de una unión deseada al ARNm diana o de una unión no específica. Estos problemas de "procesamiento mediante umbrales" limitan la capacidad de dichos métodos para proporcionar recuentos fiables de los números de moléculas de ARNm presentes en una célula concreta. En otros documentos se describen sondas para métodos de hibridación *in situ*: WO97/14816 A1, US6329152 B1, WO2007/001986 A2, WO02/22874 A2, Lee Sanghoon *et al.*, *Marine Ecology Progress Series*, 101, pág. 193. 04-11-1993, Kosman D. *et al.*, *Science*, 305, pág. 846, 06.08.2004.

45

50

55

Por ello, existe la necesidad de lograr métodos mejorados que proporcionen recuentos fiables de los números de moléculas de ARNm presentes en células individuales, así como la necesidad de lograr sondas que sean fáciles de sintetizar y de purificar.

60

Sumario de la invención

Esta descripción da a conocer un método para detectar moléculas de ácidos nucleicos individuales, como, por

ejemplo, moléculas de ARN, por ejemplo, moléculas de ARNm en células permeabilizadas fijadas, usando varias sondas de hibridación de ácidos nucleicos que se marcan fluorescentemente con un solo marcador, como, por ejemplo, con el mismo fluoróforo. Los inventores han descubierto algo sorprendente: que si al menos 30, preferiblemente de 40 a 60, y muy preferiblemente 48 sondas diferentes, todas marcadas con el mismo fluoróforo, se hibridan simultáneamente con una secuencia diana de una molécula de ARNm, se crea un punto fluorescente que puede detectarse a partir de las fluorescencias combinadas de las múltiples sondas. Las sondas no se solapan; es decir, que la región de la secuencia diana con la que se hibrida cada sonda es única (no se solapa con otra de tales regiones). Las sondas, de un conjunto de 30 o más, destinadas a hibridarse con una secuencia diana seleccionada, pueden diseñarse de modo que se hibriden, de manera adyacente o no adyacente entre sí, con tramos de la secuencia diana (desde con un solo nucleótido hasta con cien nucleótidos o más) no complementarios de ninguna de las sondas. Por consiguiente, en uno de sus aspectos, la descripción da a conocer un método para la aplicación de sondas a una secuencia diana de moléculas de ácido nucleico como, por ejemplo, ARNm en una célula permeabilizada fijada, incluyendo dicha secuencia diana al menos 30 regiones de unión a sondas de 15-100 nucleótidos, no solapadas. Dicho método comprende: sumergir la célula en un exceso de al menos 30 sondas de hibridación de ácidos nucleicos, cada una de dichas sondas marcada individualmente con el mismo marcador fluorescente y cada una de dichas sondas contiene una secuencia de ácidos nucleicos que es complementaria de una región de unión a sondas diferente de dicha secuencia diana; lavar la célula fijada para retirar las sondas no unidas; y detectar la fluorescencia a partir de dichas sondas.

Las sondas útiles en esta invención pueden ser ADN, ARN o mezclas de ADN y ARN. Pueden incluir nucleótidos no naturales, así como uniones internucleótido no naturales. Los nucleótidos no naturales que incrementan la afinidad de unión de las sondas incluyen 2'-O-metil-ribonucleótidos. Las longitudes de sonda útiles en esta descripción son de 15 a 40 nucleótidos en el caso de las sondas típicas de ADN o ARN con afinidad de unión promedio. Las longitudes preferidas de las sondas de ADN y de ARN están comprendidas en el intervalo de 15 a 20 nucleótidos; más preferiblemente, en el intervalo de 17 a 25 nucleótidos; y aún más preferiblemente, en el intervalo de 17 a 22 nucleótidos. Los inventores han construido las sondas de modo que tengan unos 20 nucleótidos de longitud. Si se incluyen formas de aumentar la afinidad de unión de una sonda, la sonda puede ser más corta (de tan solo siete nucleótidos), como comprenderán los entendidos en la materia. Puede acoplarse un fluoróforo a una sonda en cualquier posición; por ejemplo, entre otras posibilidades, en un extremo de una sonda; preferiblemente, en el extremo 3'. Pueden incluirse las sondas en una solución de hibridación que contenga un exceso de las múltiples sondas; comúnmente, en el intervalo de 0,2 nanogramos a 1 nanogramo por microlitro. Se añade suficiente solución para cubrir y humedecer la célula de modo que ésta quede sumergida en la solución que contiene las sondas.

Se pueden aplicar simultáneamente a una sola célula sondas para múltiples secuencias diana de ARNm: para más de una secuencia diana de una molécula de ARNm, o para una o más secuencias de diferentes moléculas de ARNm. Además, puede aplicarse, a una secuencia diana de una molécula de ARNm, más de un conjunto de sondas, y cada uno de esos conjuntos se marca con un fluoróforo distinguible, y los fluoróforos son distinguibles entre sí. Por ejemplo, al aplicar sondas a la secuencia de un gen, se pueden usar al menos 30 sondas marcadas en verde que tengan una porción de la secuencia del gen como su secuencia diana, así como al menos 30 sondas marcadas en rojo que tengan una porción diferente de la secuencia del gen como su secuencia diana. El uso de más de un color para cada una de varias dianas permite usar esquemas de codificación por colores en los métodos de aplicación de múltiples sondas conformes con esta descripción.

Los métodos de esta descripción pueden incluir la simple comprobación de si están presentes uno o más puntos que representan una secuencia diana. Además, los métodos conformes con esta descripción incluyen contar los puntos de un color determinado, correspondientes a una especie de ARNm determinada. En los casos en los que se desea detectar más de una especie de ARNm, se pueden usar, en la misma mezcla para hibridación, diferentes conjuntos de sondas marcadas con fluoróforos distintos. Contando los puntos de diferentes colores se elabora un perfil de expresión génica correspondiente a cada especie de ARNm.

Los puntos pueden detectarse utilizando microscopía. No resulta necesario usar un microscopio confocal; basta con un microscopio de fluorescencia de campo amplio. A fin de distinguir los puntos que reflejan indudablemente una secuencia diana a partir de los puntos difusos que pueden reflejar fluorescencia de fondo o uniones no específicas, los métodos conformes a esta descripción incluyen la detección. En una realización, la detección comprende filtrar las imágenes mediante un filtro Laplaciano de la función Gaussiana (filtro LoG) lineal tridimensional y aplicar un umbral de detección. Si se representa gráficamente el número de puntos en tres dimensiones, correspondientes a todos los umbrales que oscilan entre cero y la intensidad de píxel máxima, de la imagen filtrada, se observa una meseta ancha, indicativa de una región en la que el número de puntos detectado no es sensible al umbral. Así, el método comprende, además, representar gráficamente el número de puntos, determinar los límites de una región meseta y seleccionar el umbral (preferiblemente, dentro de esa región).

En otro de sus aspectos, esta invención incluye conjuntos de sondas para hibridación *in situ* que permiten detectar moléculas de ARNm individuales presentes en las células. Las sondas hacen que cada molécula devenga tan intensamente fluorescente que puede ser vista, en forma de pequeño punto fluorescente, mediante microscopía de fluorescencia.

Se puede usar un programa informático para identificar y contar todas las moléculas de ARNm presentes en la célula, a partir de la imagen de microscopio. Las hibridaciones *in situ* que se llevan a cabo con los conjuntos de sondas que se han descrito anteriormente permiten el análisis exacto y sencillo de la expresión génica, así como la detección de patógenos y de estados patogénicos tales como el cáncer.

Por consiguiente, en otro aspecto, se da a conocer un método para detectar compuestos que alteran la cantidad de una distribución subcelular de la secuencia diana. Este método incluye: incubar una célula con un compuesto de prueba durante un periodo de tiempo suficiente para generar una respuesta; detectar la cantidad del patrón de distribución de la secuencia diana; y comparar dicha cantidad o dicha distribución con una cantidad o distribución del ARNm diana en una célula de control tratada de forma idéntica, pero que no se incubó con el compuesto de prueba.

En otro aspecto, la descripción da a conocer un soporte legible por ordenador, que comprende instrucciones para: obtener una pila 3-D de imágenes fluorescentes 2-D; filtrar dicha pila 3-D usando un filtro para 3-D; contar un número total de puntos 3-D en dicha pila 3-D filtrada, correspondientes a cada uno de una diversidad de umbrales de intensidad; obtener un umbral de intensidad óptimo, representativo de una región meseta, en una representación gráfica de dicho número total de puntos 3-D frente al umbral de intensidad al que se contó dicho número total; y usar el número total de puntos 3-D obtenido con dicho umbral óptimo como representativo de un número de partículas fluorescentes detectadas en dicha pila 3-D.

La invención también da a conocer un kit que, en general, comprende el conjunto de sondas y los soportes legibles por ordenador, como se han descrito anteriormente.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra la detección simultánea de una sola secuencia, y de una secuencia repetida, en moléculas de ARNm individuales. La Figura 1A es una ilustración esquemática del constructo empleado. Las 48 sondas usadas para detectar la secuencia codificadora de la GFP (proteína fluorescente verde) fueron marcadas con Alexa-594, y las cuatro sondas diferentes usadas para detectar la repetición en tándem en la UTR (región no traducida) 3' fueron marcadas con TMR (tetrametilrodamina). La Figura 1B ilustra las fusiones de intensidad máxima de un par de pilas z de imágenes fluorescentes de células CHO (células ováricas de hámster chino), tomadas en el canal del Alexa-594 (izquierda) y en el canal de la TMR (derecha), correspondientes a las sondas de la región codificadora de la GFP y de la UTR, respectivamente. La Figura 1C ilustra una fusión, en color falso, de las imágenes de la Figura 1B, circundadas por los recuadros de color rojo (GFP) y verde (UTR), con círculos de color rojo que representan partículas de ARNm de GFP, identificadas informáticamente, círculos de color verde que representan partículas de la UTR, y círculos de color amarillo que representan partículas situadas en los mismos lugares ("colocalizadas"). Todas las barras de escala son de 5 µm de longitud.

La Figura 2 muestra el análisis de intensidades de los puntos colocalizados. Las intensidades de punto correspondientes a las sondas que tienen como diana la GFP (canal del Alexa 594, eje y) y a las sondas multiméricas que tienen como diana la UTR (canal de la TMR, eje x) se calcularon restando, de la intensidad máxima presente en la región de puntos identificada informáticamente, la intensidad media de una región anular que rodea al punto. Los histogramas de los márgenes muestran las distribuciones de las intensidades de punto correspondientes a la GFP (derecha) y a la UTR (parte superior).

La Figura 3 muestra la sensibilidad del método en función de los diferentes números de sondas empleados. La Figura 3A ilustra la intensidad de punto (definida como intensidad máxima dentro del punto, menos la intensidad de fondo media registrada en una región anular que rodea al punto), como función del número de sondas elegido. Las intensidades correspondientes a 12 y 24 sondas "presentan artefacto" (ruido), en cuanto a que no se podía identificar sin dificultades los puntos en esos casos, por lo que los puntos identificados se sesgaban hacia una mayor brillantez. La Figura 3B ilustra el número de puntos (es decir, componentes conectados) encontrado al establecer umbrales para la imagen filtrada; dicho número de puntos se representa como función del valor umbral, que oscila entre 0 y la intensidad máxima de la imagen filtrada (normalizada a 1), correspondiente a diferentes números de sondas. La barra gris indica el umbral usado para el análisis de la Figura 3A.

La Figura 4 muestra una comparación con el método de detección de ARNm empleado en Femino *et al.* (Science 1998). La Figura 4A es un esquema que ilustra el método que se describe en este manuscrito, con 48 sondas marcadas con un solo marcador (izquierda), y el método de Femino *et al.*, en el que cada sonda de 45 pb (pares de bases) contiene cinco fluoróforos y tiene como diana un elemento de secuencia que se repite 32 veces en la UTR 3' del ARNm diana que se expresa a partir de un transgén en células ováricas de hámster chino. La Figura 3B ilustra una comparación de las intensidades de punto que se obtienen usando 48 sondas marcadas con un solo marcador o usando una sonda de 45 pb marcada con cinco fluoróforos. Las barras de error representan una desviación estándar.

La Figura 5 muestra la identificación informática de los puntos de ARNm. La Figura 5A ilustra los datos de la imagen sin procesar (fusión de intensidad máxima) obtenidos al tomar imágenes de partículas de ARNm de FKBP5 (proteína 5 de unión a FK506) en células A549 inducidas con dexametasona. La Figura 5B ilustra la MAGE (fusión

máxima) obtenida al filtrar los datos sin procesar mediante un filtro Laplaciano de la función Gaussiana a fin de mejorar los puntos. La Figura 5C ilustra el número de puntos (es decir, componentes conectados) encontrados al procesar mediante umbrales la imagen filtrada de la Figura 5B, representados como función del valor umbral, que oscila entre 0 y la intensidad máxima de la imagen filtrada (normalizada a 1). La Figura 5D es una imagen que muestra los resultados del uso del umbral representado por la línea gris de la Figura 5C; a cada punto bien diferenciado se le asigna un color al azar. Todas las barras de escala son de 5 μm de longitud.

La Figura 6 muestra la toma de imágenes simultánea de moléculas únicas de tres ARNm diferentes en células de mamífero. Las Figuras 6A-6C ilustran imágenes que muestran partículas de ARNm de FLJ11127, Cox-2 y FKBP5, en el mismo conjunto de células A549, no tratadas con dexametasona. Las Figuras 6D-6F ilustran imágenes que muestran partículas de FLJ11127, Cox-2 y FKBP5, en células tratadas durante 8 horas con dexametasona 24 nM. La Figura 6G ilustra la inducción (multiplicación por un número de veces) de la totalidad de los tres genes, conforme a lo medido mediante FISH (hibridación *in situ* fluorescente) y mediante RT-PCR (reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa) en tiempo real; las barras de error correspondientes a la FISH se obtuvieron mediante "bootstrapping" (remuestreo de datos), y las correspondientes a la RT-PCR se obtuvieron mediante repetición, conforme a lo descrito en la información suplementaria. Todas las imágenes son fusiones máximas de una pila z de imágenes fluorescentes que abarcan la extensión de las células con contratinción nuclear con DAPI en morado, y todas las barras de escala tienen 5 μm de longitud.

La Figura 7 muestra el examen de la "bleedthrough" (transferencia no intencionada) de los puntos fluorescentes. La Figura 7A es una ilustración de las imágenes de un punto de ARNm de FLJ11127 marcado con TMR, tal y como se ve a través de los canales de filtrado TMR, Alexa 594 y Cy5. Debajo se proporcionan digitalizaciones lineales de la intensidad fluorescente correspondiente a la línea que atraviesa la imagen; las diferentes digitalizaciones lineales son las correspondientes a las mediciones tomadas al aumentar z (espaciado de 0,25 μm). La digitalización lineal verde es la correspondiente al corte z que aparece en la imagen en sí. Se realizó un análisis similar respecto de un punto de ARNm de Cox-2 marcado con Alexa 594 (Figura 7B) y respecto de una partícula de ARNm de FKBP5 marcada con Cy5 (Figura 7C). En todas las mediciones de la intensidad de las digitalizaciones lineales, se restó la intensidad de fondo de la cámara; dichas mediciones oscilan entre 0 y 200 unidades de fluorescencia arbitrarias.

La Figura 8 ilustra la demostración de que el captador de oxígeno incrementa la fotoestabilidad del Cy5. La Figura 8A ilustra la media de la fluorescencia de punto máxima de una serie de ARNm de FLJ11127 marcados usando sondas conjugadas con TMR; se representó dicha fluorescencia como función del número de exposiciones de 2 segundos usando un filtro específico para TMR. Se generaron curvas correspondientes a las imágenes tomadas tanto con (azul) como sin (rojo) el sistema captador de oxígeno. Se realizó un análisis similar respecto de ARNm de Cox-2 marcados usando sondas conjugadas con Alexa-594, con exposiciones de 2 segundos (Figura 8B) y respecto de ARNm de FKBP5 marcados usando sondas conjugadas con Cy5, con exposiciones de 2,5 segundos (Figura 8C). La Figura 8D ilustra el porcentaje de blanqueo por exposición (en unidades de fracción de fluorescencia perdida por exposición) correspondiente a las sondas conjugadas con TMR, Alexa-594 y Cy5 (Figuras 8A-8C), tanto con como sin el sistema anti-blanqueo captador de oxígeno. El porcentaje de blanqueo se calculó ajustando la curva de degradación de cada partícula individual a un exponencial y tomando la media de las constantes de degradación ajustadas. Las barras de error corresponden a una desviación estándar. Se seleccionó un mínimo de 6 partículas en cada condición.

La Figura 9 muestra la obtención de imágenes de ARNm localizados en *C. elegans* y en *D. melanogaster*. La Figura 9A es una ilustración de moléculas de ARNm (rojo) de *elt-2* en un embrión en estadio temprano (estadio de ~100 células) de *C. elegans*; los núcleos han sido contratñidos con DAPI (azul). La Figura 9B es una ilustración de moléculas de ARNm de *elt-2* en una larva L1 (larva de primer estadio) de *C. elegans*. Dentro del recuadro azul, se muestra un solo plano focal en el que resulta visible el tracto intestinal. La Figura 9C es una ilustración esquemática de la expresión de los genes *dpp* y *engrailed* en los discos imaginales alares de larvas de tercer estadio de *D. melanogaster*. La Figura 9D es una imagen que muestra las ubicaciones de las moléculas de ARNm de *dpp* (círculos de color azul claro) y de la expresión de Engrailed detectadas mediante inmunofluorescencia (azul oscuro), identificadas informáticamente. La Figura 9E es una imagen que contiene señales mejoradas de moléculas de ARNm de *dpp* (azul claro) y de la expresión mejorada de la proteína Engrailed detectadas mediante inmunofluorescencia (azul oscuro). Todas las imágenes, excepto la porción recuadrada de la Figura 9B, son fusiones máximas de una pila z de imágenes fluorescentes, y todas las barras de escala tienen 5 μm de longitud.

La Figura 10 muestra las imágenes obtenidas de moléculas únicas de ARNm en levaduras y en neuronas. La Figura 10A y la Figura 10B ilustran partículas de ARNm de *STL1* tanto en células inalteradas (Figura 10A) como en células sometidas a un choque de sal con NaCl 0,4M durante 10 minutos, con contratinción nuclear mediante DAPI en color morado (Figura 10B). La Figura 10C ilustra la expresión de ARNm de β -actina (verde) y de Map2 (rojo) en neuronas de hipocampo de rata en un cultivo de neuronas dissociadas. La Figura 10D ilustra una imagen, ampliada y con contraste, de un segmento de una dendrita, que en la Figura 10C aparece rodeado por el recuadro rojo. Todas las barras de escala son de 5 μm de longitud.

La Figura 11 es una ilustración de las secuencias diana y sondas empleadas en la presente invención.

Descripción detallada de la invención

Esta invención se refiere, en parte, a la concepción de un algoritmo de análisis de imágenes que hace uso de una estrategia rigurosa, objetiva, de procesamiento mediante umbrales, y demuestra que podemos identificar y contar, de manera exacta y no ambigua, todas las moléculas de ARNm diana presentes en la célula. La simplicidad y robustez de este enfoque permite la detección fiable de tres especies diferentes de ARNm dentro de las mismas células. Empleando un conjunto riguroso de criterios, los inventores han demostrado que el método permite obtener imágenes extremadamente específicas de ARNm únicos, en un amplio espectro de tipos de células y de organismos modelo.

Los inventores han aprovechado la disponibilidad de los sintetizadores de ADN de 96 pocillos para sintetizar muchas sondas más pequeñas, marcadas en el extremo, diferentes, que tienen establecida la misma diana. Los resultados obtenidos muestran que, cuando un conjunto de al menos 30, preferiblemente de al menos 40, más preferiblemente, de unos 48 (la mitad de una placa de 96 pocillos que se usa para la síntesis de grandes cantidades de ADN), o de más sondas, marcadas con un solo marcador, se unen a la misma molécula de ARNm, la tornan lo suficientemente fluorescente para que se pueda ver como un punto, limitado por difracción, en un microscopio de campo amplio. Los sitios no específicos únicamente se asocian con una sonda o con unas pocas sondas, y producen señales difusas, mientras que las dianas deseadas (específicas) se unen a la totalidad de las sondas, o a la mayoría de las sondas, y producen un punto claramente detectable correspondiente a cada molécula de ARNm.

Además, los inventores han desarrollado un algoritmo de análisis de imágenes que hace uso de una estrategia de procesamiento mediante umbrales rigurosa, objetiva, y que demuestra que es posible identificar y contar de manera exacta y no ambigua todas las moléculas de ARNm diana presentes en la célula. La simplicidad y robustez de este enfoque permite la detección fiable de tres especies diferentes de ARNm dentro de las mismas células. Empleando un conjunto riguroso de criterios, los inventores demuestran que el método permite obtener imágenes extremadamente específicas de ARNm únicos, en un amplio espectro de tipos de células y de organismos modelo.

Por lo tanto, 48 o más sondas de oligonucleótidos marcadas con un solo marcador permiten detectar moléculas de ARNm individuales. Las moléculas de ARNm se visualizaron como puntos limitados por difracción que se pueden detectar fácilmente mediante una configuración de microscopía de campo amplio estándar. Los puntos eran lo suficientemente brillantes para poder contarlos de manera exacta mediante el algoritmo de procesamiento de imágenes para detección de la presente invención. Los inventores obtuvieron recuentos cuantitativos de tres especies de moléculas de ARNm diferentes, dentro de células individuales. Tal análisis facilita la determinación exacta de múltiples perfiles de expresión génica de incluso genes que apenas se expresan, en una miríada de organismos modelo.

La base de la especificidad del sistema que aquí se describe es que la mayoría de las sondas, o la totalidad de las mismas, se unen al ARNm diana deseado, y producen una señal particulada, mientras que los sitios de unión no específica del resto de la célula se unen con una cantidad menor de moléculas de sonda y producen una señal difusa que el algoritmo de recuento de puntos ignora. Ello viene a subrayar una ventaja clave del presente método frente a otros métodos de hibridación *in situ*, en los que se usan sondas abundantemente marcadas, tales como los dendrímeros. Si cada molécula de sonda es detectable, cada instancia de unión no específica ocasionará un falso positivo y todo ARNm al que no se una la sonda ocasionará un falso negativo. En cambio, la probabilidad de falsos negativos y falsos positivos disminuye a medida que se incrementa el número de sondas y, en general, cuando se tiene una eficiencia de hibridación dada, aumentar el número de sondas diferentes estrecha la distribución de las sondas unidas por molécula. El análisis de imágenes conforme a la presente invención mostró que, aumentando el número de sondas se obtiene una robusta detección de puntos que no depende de umbrales elegidos arbitrariamente. Ello resulta crucial para contar con exactitud el número de ARNm por célula, que es una característica clave del método de la invención.

Una cuestión relacionada es el diseño de la sonda configurada; en dicho diseño, un posible factor es la uniformidad en las afinidades de hibridación. Puesto que la afinidad de los oligonucleótidos está dominada en gran medida por su contenido relativo en GC, los inventores han creado un programa informático con el que diseñar un conjunto de sondas con un contenido total en GC óptimamente uniforme. Dicho programa informático está a la disposición del público.

Desde un punto de vista práctico, el método aquí reivindicado proporciona además notables ventajas frente al método FISH para moléculas únicas de ARNm que se conocía anteriormente, tanto en términos de tiempo como en términos de coste. Gracias a los avances logrados en la síntesis en general, los investigadores pueden comprar, con facilidad y a un coste bajo, grandes cantidades de oligonucleótidos con modificadores amino 3'. Después, se puede agrupar, acoplar y purificar en masa dichos oligonucleótidos, lo que reduce notablemente el tiempo y la mano de obra asociados a los múltiples acoplamientos y a las múltiples purificaciones necesarias para generar una sonda marcada con múltiples marcadores. La simplicidad y la rentabilidad resultantes del presente método facilitarán los estudios de nivel genómico en los que haya que detectar muchos ARNm diferentes. Además, la flexibilidad del procedimiento de hibridación permite combinar éste con otras técnicas estándar como, por ejemplo, la inmunofluorescencia.

En otra realización, se pueden incorporar los fluoróforos a las sondas durante la síntesis automatizada de ADN.

Otros métodos para la cuantificación del número de ARNm en células individuales son, entre otros, la RT-PCR de una sola célula y la RT-PCR digital. Uno de los problemas que presentan dichos métodos lo constituyen las dificultades prácticas asociadas al ensamblaje de grandes cantidades de reacciones individuales que exigen usar dispositivos microfluídicos o robóticos. Además, dichos métodos adolecen de problemas en cuanto a las variaciones estocásticas en la amplificación exponencial, cuando las entradas diana son únicamente unas pocas moléculas. Tal comportamiento estocástico complica el análisis de la expresión de los genes de una sola célula, y dicha expresión en sí está sujeta a fuerzas estocásticas. Asimismo, dichos métodos no proporcionan información alguna sobre la ubicación espacial de los ARNm.

Dada la simplicidad y la amplia capacidad de aplicación de nuestro método de detección de moléculas de ARNm únicas, dicho método resulta adecuado para una amplia diversidad de estudios. Obteniendo recuentos exactos de ARNm en células individuales, se pueden realizar determinaciones exactas, tanto de las diferencias en la expresión en condiciones diferentes, como de la variabilidad entre células en cuanto a la expresión génica. Dado que este método proporciona mediciones cuantitativas, espaciales de los ARNm individuales en células individuales, resulta valioso en muchos estudios de los ámbitos de la biología de sistemas, la biología celular, la neurobiología y la biología del desarrollo.

De igual modo, este método puede utilizarse en multitud de ensayos, incluido, entre otros, un ensayo de determinación. En una realización, el ensayo de determinación determina si un compuesto de prueba afecta a una cantidad de una distribución de una secuencia diana de moléculas de ácido ribonucleico mensajero (moléculas de ARNm); dicha secuencia diana incluye al menos 30 regiones, de 15-100 nucleótidos, no solapadas, de unión a sondas, en una célula. En general, el ensayo comprende los siguientes pasos: incubar una célula con un compuesto de prueba durante un periodo de tiempo suficiente para generar una respuesta; permeabilizar la célula; sumergir dicha célula en un exceso de al menos 30 sondas de hibridación de ácidos nucleicos (cada una de dichas sondas se marca con un solo marcador –el mismo marcador fluorescente–, y cada una de dichas sondas contiene una secuencia de ácidos nucleicos que es complementaria de una región de unión a sondas diferente de dicha secuencia diana); lavar dicha célula fijada, a fin de retirar las sondas no unidas; detectar una cantidad de una distribución de fluorescencia a partir de dichas sondas; comparar dicha cantidad o dicha distribución con una cantidad de una distribución, respectivamente, obtenida a partir de una célula de control tratada de manera igual a la descrita, salvo por el hecho de que no se incubó con el compuesto de prueba.

Los compuestos que resultan adecuados como compuestos de prueba son, entre otros posibles, los siguientes: compuestos basados en péptidos (por ejemplo, anticuerpos o nanocuerpos), compuestos que interfieren con el ARN (por ejemplo, ARNsi, ARNsh, ARNmi, etc.), y pequeñas moléculas. Todos estos compuestos se pueden producir de conformidad con los métodos conocidos en este campo del conocimiento. Por ejemplo, Naito (US 20080113351) y Khvorova (US 20070031844) proporcionan métodos para seleccionar compuestos que interfieren activamente con el ARN. Asimismo, pueden prepararse anticuerpos mediante técnicas conocidas como, entre otras posibles, las siguientes: uso de hibridomas, selección de anticuerpos monoclonales, uso de bibliotecas de exposición a fagos, humanización de anticuerpos y otras técnicas similares.

Los compuestos “pequeñas moléculas” pueden seleccionarse mediante análisis de las bibliotecas adecuadas. En un aspecto, se sintetizan bibliotecas de pequeñas moléculas conforme a métodos bien conocidos y puestos en práctica rutinariamente en este campo del conocimiento. Véase, por ejemplo, Thompson y Ellman, *Chem. Rev.* 1996, 96, 555-600, Shipps, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 94, páginas 11833-11838, octubre de 1997, y *Combinatorial Library Design and Evaluation – Principles, Software Tools and Applications in Drug Discovery*, Ghose y Viswanadhan (eds), Marcel Dekker 2001. Como alternativa, se pueden obtener bibliotecas de pequeñas moléculas de cualquiera de una serie de fuentes que incluye, por ejemplo, el “NIH Molecular Libraries Small Molecule Repository” (repositorio de pequeñas moléculas de las bibliotecas moleculares del NIH [Instituto Nacional de la Salud] estadounidense). Otras fuentes alternativas son, entre otras, las siguientes: AnalytiCon Discovery GmbH (Potsdam, Alemania), que comercializa MEGAbolite®, bibliotecas de pequeñas moléculas obtenidas de productos naturales puros, y NatDiverse™, bibliotecas de pequeñas moléculas obtenidas de productos semisintéticos análogos de productos naturales; Quantum Pharmaceuticals Ltd. (Moscú, Federación Rusa); y Praecis Pharmaceuticals Incorporated (Waltham, Massachusetts, Estados Unidos de América).

En otro aspecto, la invención da a conocer un software que pone en práctica el algoritmo de procesamiento mediante umbrales que se ha descrito anteriormente. Por consiguiente, en una realización, se da a conocer un soporte legible por ordenador que comprende instrucciones para: obtener una pila 3-D de imágenes fluorescentes en 2-D; filtrar dicha pila 3-D usando un filtro para 3-D; contar un número total de puntos 3-D en dicha pila 3-D filtrada, correspondientes a cada uno de una diversidad de umbrales de intensidad; obtener un umbral de intensidad óptimo, representativo de una región meseta, en una representación gráfica de dicho número total de puntos 3-D frente al umbral de intensidad al que se contó dicho número total; y usar el número total de puntos 3-D obtenido con dicho umbral óptimo como representativo de un número de partículas fluorescentes detectadas en dicha pila 3-D.

En una realización, el procesamiento mediante umbrales puede llevarse a cabo usando un filtro Laplaciano de la (función) Gaussiana (filtro LoG) lineal tridimensional.

5 En otro aspecto, se da a conocer un kit. El kit comprende un soporte legible por ordenador que ponga en práctica el algoritmo de procesamiento mediante umbrales, de la manera descrita, y un conjunto de sondas que tengan establecida como diana una secuencia diana previamente seleccionada. Las sondas descritas en relación con el método reivindicado son también adecuadas para dicho kit.

10 A continuación se describen, en los siguientes ejemplos, realizaciones concretas conformes con los métodos de la presente descripción. Los ejemplos son meramente ilustrativos y no tienen como finalidad limitar el resto de la descripción en modo alguno.

EJEMPLOS

15 **Ejemplo 1: Materiales y métodos**

Los procedimientos que se describen en esta sección son aplicables a la totalidad de los ejemplos, a menos que se indique lo contrario.

20 **Diseño de las sondas**

25 Se diseñaron conjuntos de sondas de manera tal que comprendiesen al menos 48 oligonucleótidos cada una, con longitudes que oscilasen entre 17 y 22 nucleótidos, y una modificación amino 3' (se aplicaron sondas a ARNm de FKBP5, FLJ11127 y Map2 usando 63, 53 y 72 oligonucleótidos respectivamente). Además, se mantuvo el contenido en GC de los oligonucleótidos lo más cercano posible a un 45%. Se agruparon los oligonucleótidos y se acoplaron a un fluoróforo, todo ello en una sola reacción; después, los oligonucleótidos no acoplados y los fluoróforos libres restantes se retiraron mediante purificación con HPLC.

30 **Hibridación *in situ* fluorescente**

De cara a la FISH (hibridación *in situ* fluorescente), se fijaron todas las muestras en formaldehído al 3,7% y se permeabilizaron con etanol. La hibridación se llevó a cabo usando tampones y condiciones similares a los que se describen en Femino *et al.*, con una diferencia principal: la astringencia de la hibridación, que se redujo reduciendo la cantidad de formamida al 10%. Se determinó empíricamente la concentración de sonda que proporcionaba una señal óptima.

35 **Obtención de imágenes y análisis de los datos**

40 Todas las imágenes se adquirieron usando un microscopio de fluorescencia de campo amplio estándar. La detección y el recuento de partículas, asistidos por ordenador, se llevaron a cabo con filtros lineares diseñados para mejorar las señales particuladas.

Ejemplo 2: Aplicación de sondas a secuencias repetidas y únicas presentes en la misma molécula de ARNm

45 Utilizando pequeñas sondas de oligonucleótidos marcadas con una sola fracción fluoróforo, los inventores han demostrado que las moléculas de ARNm individuales diseñadas de manera que contengan 32-96 copias en tándem de una secuencia que se une a sondas pueden detectarse mediante hibridación *in situ*. Además, los inventores demostraron que los puntos individuales que aparecen en la imagen representan moléculas únicas de ARNm; para ello, emplearon una serie de enfoques diferentes, entre ellos, correlacionar el número medio de copias de ARNm obtenido mediante recuento directo de los puntos limitados por difracción con una medición del número de moléculas diana obtenidas mediante RT-PCR en tiempo real. Así, si se utilizan muchas sondas diferentes, y cada una de ellas tiene como diana una región distinta de un ARNm natural, sería posible obtener sensibilidad a un nivel de molécula única sin tener que hacer uso de genes "diseñados".

55 Para la prueba inicial de esta hipótesis, los inventores construyeron un gen controlado por doxiciclina que producía un ARNm que codificaba la denominada "proteína fluorescente verde" (GFP, por sus siglas en inglés) y que presentaba 32 secuencias repetidas en tándem, cada una de ellas, de 80 nucleótidos de longitud, en su UTR 3'; después, este gen "diseñado" se integró de manera estable en el genoma de una línea celular de células ováricas de hámster chino. Al ARNm expresado a partir de este gen se le aplicaron simultáneamente 48 oligonucleótidos diferentes, cada uno de ellos, complementario de una región única (una sola región) de la secuencia codificadora, así como un conjunto de cuatro oligonucleótidos, cada uno de ellos con una secuencia complementaria en el motivo repetido (un total de 128 sondas unidas) (**Figura 1A**). Cada oligonucleótido del conjunto de sondas que era específico de la secuencia codificadora se marcó con un solo fluoróforo Alexa-594, y cada oligonucleótido del conjunto específico de la secuencia repetida se marcó con un solo fluoróforo tetrametilrodamina (TMR). El uso de los conjuntos de filtros adecuados garantizó que la fluorescencia emitida por los fluoróforos TMR no se detectaba en el canal del Alexa-594, y viceversa, como se describe a continuación.

Tras efectuar FISH con estas sondas, los inventores descubrieron que muchas “partículas” con un diámetro de unos 0,25 micrómetros eran visibles tanto en el canal de la TMR como en el canal del Alexa-594 (**Figura 1B**). Las partículas se identificaron informáticamente usando un programa de procesamiento de imágenes (que se describe en la siguiente sección) que categoriza las partículas como marcadas con las sondas que tienen como diana la secuencia codificadora de la GFP (TMR), o como marcadas con las sondas específicas de UTR (Alexa-594), o como marcadas con ambos tipos de sondas (**Figura 1C**). Tras identificar y localizar las partículas en cuatro campos de visión similares a los que se ilustran en la Figura 1C, se contó un total de 599 partículas correspondientes a las sondas que tienen como diana la secuencia codificadora de la GFP, y de 565 partículas correspondientes a las sondas específicas de UTR. De dichas partículas, el 85% de las “partículas de la UTR” estaban localizadas en el mismo lugar que (“colocalizadas con”) las “partículas de la GFP”; a su vez, el 81% de las partículas de la GFP estaban colocalizadas con las partículas de la UTR. El elevado grado de colocalización entre las partículas detectadas mediante el método de detección de la repetición en tándem determinada previamente y las partículas detectadas mediante aplicación simultánea de sondas (48 oligonucleótidos diferentes marcados con un solo marcador) demuestra la validez del uso de múltiples sondas marcadas con un solo marcador, para la detección de transcritos endógenos. Es probable que la fracción de partículas que no mostraban colocalización se corresponda a moléculas de ARNm que habían perdido su secuencia codificadora o su UTR 3’ en el transcurso de los procesos naturales de degradación del ARNm.

Los inventores analizaron también la intensidad de la fluorescencia de los puntos colocalizados, tanto en el canal de la TMR como en el canal del Alexa-594, y descubrieron que las intensidades de punto mostraban una distribución unimodal (**Figura 2**); argumentan que las partículas detectadas no son grupos de muchos ARNm, sino moléculas individuales. Las intensidades de punto mostraron una fuerte correlación entre ambos canales (**Figura 3**). Puesto que no hay comunicación/contacto entre ambos canales, la fuerte correlación observada indica que la variabilidad en cuanto a la intensidad de punto no se debía principalmente a una variabilidad aleatoria en la hibridación de las sondas (que no estaría correlacionada entre diferentes conjuntos de sondas), sino a otros factores, tales como la integridad o accesibilidad del ARNm, que afectan a ambos tipos de sondas por igual.

Además, los inventores exploraron cómo la intensidad de señal variaría en función del número de sondas; para ello, efectuaron hibridaciones *in situ* usando las primeras 12, 24 o 36 sondas, o la totalidad de las 48 sondas del conjunto. En el caso de este ARNm diana concreto, se descubrió que se podía detectar las partículas con números (cantidades) menores de sondas, si bien la intensidad disminuía (**Figura 3A**). No obstante, el algoritmo de detección automática de puntos (que se describe detalladamente en la siguiente sección) proporcionó un rendimiento particularmente bueno con 48 sondas: detectó el mismo número de puntos usando un amplio intervalo de umbrales (**Figura 3B**, véase información detallada adicional en la siguiente sección). Sin embargo, es probable que el número de sondas necesario para obtener una señal robusta dependa de la secuencia diana, puesto que los inventores han obtenido señales de ARNm claras usando cantidades de sondas menores: por ejemplo, con tan solo 30 sondas. Cuando se comparó el método de la presente invención con el método de Femino *et al.* mediante el uso de un oligonucleótido de 45 pb de longitud marcado con 5 fluoróforos y complementario de una secuencia repetida 32 veces en la UTR 3’ de un gen, lo que producía potencialmente 160 fluoróforos por ARNm (**Figura 4A**), se descubrió que la relación señal/fondo era más o menos igual en ambos métodos (**Figura 4B**), lo que indica que el método reivindicado en la presente invención es como mínimo igual de sensible, pese a que en él se usan menos fluoróforos.

Además, células CHO que carecían del gen informador no produjeron señal alguna, mientras que con células CHO con el gen informador, que se desactivó mediante adición de doxiciclina, se obtuvieron partículas de ARNm en tan solo unas pocas células, lo que indica que las señales observadas eran específicas.

Ejemplo 3: Algoritmo informático para la detección de puntos

A fin de identificar fiablemente números altos de moléculas de ARNm, los inventores concibieron un algoritmo informático semiautomatizado para la detección de puntos en una pila tridimensional de imágenes fluorescentes. Una de las dificultades asociadas a la detección de puntos es el “ruido de fondo” (o “fondo”) no uniforme derivado de la autofluorescencia celular y de los niveles bajos de hibridación no específica de las sondas. Para superar estas dificultades, los inventores filtraron pilas de imágenes usando un filtro Laplaciano de la (función) Gaussiana (filtro LoG) lineal tridimensional diseñado para mejorar las señales tipo punto del tamaño y de la forma geométrica correctos (**Figura 5A** y **Figura 5B**) y que, a la vez, elimina el fondo que varía con lentitud. En un paso posterior en el algoritmo, los inventores aplicaron un umbral a la imagen filtrada, a fin de definir los puntos. Para poder elegir racionalmente un umbral, se contó el número de puntos en tres dimensiones correspondiente a todos los umbrales de un intervalo comprendido entre cero y la intensidad de píxel máxima presente en la imagen filtrada. Cuando los inventores representaron gráficamente el número de partículas como función del umbral, se observó una meseta ancha, lo que indica que hay una región por encima de la cual el número de partículas detectado es bastante independiente del (no es sensible al) umbral concreto elegido (**Figura 5C**). Cuando se elige un umbral dentro de esa región, los puntos detectados se corresponden muy bien con los que se identifican visualmente, lo que demuestra la eficacia del algoritmo de detección de puntos (**Figura 5D**).

Ejemplo 4: Determinación de los perfiles de expresión génica de tres especies de ARNm diferentes

Un posible uso del método reivindicado en la presente invención es la detección simultánea de moléculas únicas de múltiples ARNm en células individuales. A fin de demostrar que el método tiene esa capacidad, los inventores diseñaron sondas específicas de tres ARNm codificadores de proteína 5 de unión a FK506 (FKBP5), de Cox-2 y de FLJ11127 en la línea celular de carcinoma humano A549. Dichas sondas se acoplaron a los fluoróforos espectralmente distintos Cy5, Alexa 594 y TMR, respectivamente. Al efectuar FISH con la totalidad de las tres sondas simultáneamente, fueron visibles puntos individuales en los tres canales de fluorescencia diferentes (**Figuras 6A-6F**); un análisis de intensidades reveló que los puntos fluorescentes no se transfieren a los otros canales (**Figura 7**).

Para demostrar que el método reivindicado de detección del ARNm era específico y cuantitativo, se incubaron las células con el glucocorticoide dexametasona, que atraviesa la membrana celular; con ello, se aumentó la expresión de FKBP5 y de FLJ1127, y se redujo ligeramente la expresión de Cox-2 en esta línea celular concreta. Los inventores descubrieron que el número medio de ARNm de FKBP5 y de FLJ1127, medido combinando FISH con el algoritmo de detección de puntos de la presente invención, aumentó; en cambio, el número medio de ARNm de Cox-2, medido de la forma indicada, disminuyó (compárense las **Figuras 6A-6C** con las **Figuras 6D-6F**). Estos números se correspondían bien con las mediciones, efectuadas mediante RT-PCR, de la inducción (multiplicación por un número de veces) y represión (división por un número de veces) de la expresión de estos genes llevadas a cabo con las mismas muestras, lo que demuestra que los puntos fluorescentes son los ARNm correctos y que con los métodos reivindicados en la presente invención (**Figura 6G**) se detectó la mayoría de las moléculas de ARNm. Además, ello supone una demostración adicional de la eficacia del método de detección de puntos en lo referente a la cuantificación exacta de la expresión génica.

Una dificultad técnica que surgió a la hora de obtener imágenes de varios ARNm simultáneamente fue la fotolabilidad del fluoróforo; en particular, la del Cy5. A fin de obtener imágenes de la totalidad de las moléculas de ARNm presentes dentro de una sola célula, se adquirieron de 10 a 30 imágenes de un "corte z" por cada campo visual, utilizando una exposición de uno a tres segundos para cada imagen y un objetivo de alta apertura numérica. Solo la TMR y, en un grado menor, el Alexa-594, fueron capaces de soportar esta exposición intensa y relativamente prolongada a la luz; Cy5, por ejemplo, se mostró extremadamente fotolábil en estas condiciones (**Figura 8**). A fin de superar este problema, los inventores emplearon un medio de montaje especial en el que los fluoróforos son mucho más fotoestables (un método que se adaptó de Yildiz *et al.*, con modificaciones de escasa importancia). En dicho medio, una mezcla de catalasa, glucosa oxidasa y glucosa retira enzimáticamente el oxígeno molecular del medio, con lo que se inhiben las rutas iniciadas por la luz, dependientes de oxígeno, que destruyen a los fluoróforos. El uso de esas enzimas conduce a un aumento espectacular, de x10, en la fotoestabilidad del Cy5, y no perjudica la obtención de imágenes con TMR y Alexa-594, lo que facilita la adquisición de múltiples cortes z cuando se efectúa la obtención de imágenes con tres colores.

Ejemplo 5: detección de ARNm en organismos y tipos celulares modelo

Uno de los usos aceptados de la hibridación *in situ* ha sido la detección de la localización del ARNm durante el desarrollo. Los inventores probaron la eficacia del método aquí reivindicado en dos sistemas de desarrollo que se estudian frecuentemente: el nematodo *Caenorhabditis elegans* y la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*. En el nematodo, los inventores construyeron sondas con las que detectar las moléculas de ARNm del gen *elt-2*, un factor de transcripción que solo se expresa en el intestino del nematodo y solo después de que el embrión del nematodo se ha desarrollado hasta alcanzar el estadio de 45 células. Tras la hibridación del conjunto de sondas en embriones y en larvas, se observó que las moléculas de ARNm de *elt-2* solo estaban presentes dentro de la región del intestino (**Figura 9A**), tanto en los embriones como en las larvas (**Figura 9B**), si bien, de conformidad con lo conocido sobre el momento de la aparición de la expresión en los embriones, solo se detectaron ARNm de *elt-2* en el intestino de los embriones con una edad superior al estadio de 45 células, lo que de nuevo subraya la especificidad del método reivindicado en la presente invención. Además, en esos estadios tempranos, solo se detectaron unos pocos transcritos, lo que demuestra que este método es lo suficientemente sensible para detectar incluso cantidades pequeñas de transcritos en tejidos complejos.

En la mosca de la fruta, que es uno de los ejemplos mejor estudiados de la localización de la expresión génica, esta última aparece durante el desarrollo de los discos imaginales alares. Los discos alares de las larvas de la mosca de la fruta muestran un conjunto muy interesante de patrones de expresión génica; uno de dichos patrones es la formación de una banda de expresión del gen *dpp* en respuesta a los gradientes de las proteínas "Hedgehog" y "Engrailed". En particular, Engrailed, que regula a la baja (reduce) la síntesis de ARNm de *dpp*, está presente en cantidades altas en el compartimento posterior del disco alar, y en cantidades bajas en el compartimento anterior del disco alar. De manera similar, Hedgehog, que regula al alza (aumenta) la síntesis de ARNm de *dpp*, está presente en cantidades altas en el compartimento posterior del disco alar, y en cantidades bajas en el compartimento anterior del disco alar. Sin embargo, hay una región, situada entre la región posterior y la región anterior, en la que los niveles de Hedgehog son lo suficientemente altos para activar a *dpp*, pero no lo suficientemente altos para activar a *engrailed*, lo que ocasiona la síntesis de ARNm de *dpp* en forma de una banda estrecha (**Figura 9C**).

Para comprobar si se pueden obtener imágenes de esta estrecha banda de síntesis de ARNm de *dpp*, los inventores construyeron un conjunto de sondas marcadas con un solo marcador que tenían como diana ARNm de *dpp*, y llevaron a cabo hibridación *in situ* en discos imaginales alares aislados de larvas de tercer estadio. Además, combinaron este procedimiento *in situ* con inmunofluorescencia dirigida contra la proteína Engrailed (se muestra en color azul). La **Figura 9D** muestra una imagen completa, en la que las localizaciones de las moléculas de ARNm identificadas algorítmicamente se presentan en forma de círculos azules; y la **Figura 9E** muestra una porción agrandada de la imagen, con las señales del ARNm aumentadas. Las imágenes muestran que solo se encontraron moléculas de ARNm a nivel del borde anterior del área de expresión de Engrailed, lo que viene a confirmar, una vez más, la especificidad de la detección.

Además, los inventores probaron el método aquí reivindicado en *Saccharomyces cerevisiae*; para ello, diseñaron un conjunto de sondas que tenían como diana transcritos diana del gen *STL1*. *STL1* es un gen, de entre una serie de genes de levaduras, cuya expresión aumenta notablemente cuando se añade sal al medio de crecimiento. Se descubrió que las células no sometidas a choque de sal no contienen prácticamente ninguna molécula de ARNm de *STL1* (**Figura 10A**), mientras que las células no sometidas a un choque de sal 0,4M de diez minutos de duración presentaban números altos de moléculas de ARNm de *STL1* (**Figura 10B**).

Otro tipo de células en las que se estudia comúnmente la localización del ARNm son las neuronas. Para demostrar la eficacia del método aquí reivindicado en ese sistema, los inventores obtuvieron imágenes de ARNm de β -actina y de ARNm de Map2 (proteína 2 asociada a los microtúbulos) en neuronas hipocámpicas en cultivo. La **Figura 10C** muestra que un conjunto de sondas que tienen como diana la β -actina (marcadas con TMR) y un conjunto de sondas que tienen como diana la Map2, coloreadas con un color diferente (marcadas con Alexa-594), pueden usarse para obtener imágenes de sus dianas, y para distinguir dichas dianas, con una resolución tan grande que se distingue una molécula individual. Una fracción de estos ARNm migra hasta partes distantes de las dendritas (**Figura 10D**). Los recuentos de partículas indicaron que el 14% de las 791 moléculas de ARNm de β -actina estaban localizadas en las dendritas, y que el 37% de las 140 moléculas de ARNm de Map2 estaban localizadas en las dendritas; dichas cifras son similares a las distribuciones que se habían notificado con anterioridad.

Referencias

1. Kaufmann, B. B. & van Oudenaarden, A. Stochastic gene expression: from single molecules to the proteome. *Curr Opin Genet Dev* 17, 107-112 (2007).
2. St Johnston, D. Moving messages: the intracellular localization of mRNAs. *Nat Rev Mol Cell Biol* 6, 363-375 (2005).
3. Gall, J. G. Differential synthesis of the genes for ribosomal RNA during amphibian oogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 60, 553-560 (1968).
4. Levisky, J. M. & Singer, R. H. Fluorescence in situ hybridization: past, present and future. *J Cell Sci* 116, 2833-2838 (2003).
5. Tautz, D. & Pfeifle, C. A non-radioactive in situ hybridization method for the localization of specific RNAs in *Drosophila* embryos reveals translational control of the segmentation gene hunchback. *Chromosoma* 98, 81-85 (1989).
6. Raap, A. K. *et al.* Ultra-sensitive FISH using peroxidase-mediated deposition of biotin- or fluorochrome tyramides. *Hum Mol Genet* 4, 529-534 (1995).
7. Femino, A. M., Fay, F. S., Fogarty, K. & Singer, R. H. Visualization of single RNA transcripts in situ. *Science* 280, 585-590 (1998).
8. Tsokas, P. *et al.* Local protein synthesis mediates a rapid increase in dendritic elongation factor 1A after induction of late long-term potentiation. *J Neurosci* 25, 5833-5843 (2005).
9. Maamar, H., Raj, A. & Dubnau, D. Noise in gene expression determines cell fate in *Bacillus subtilis*. *Science* 317, 526-529 (2007).
10. Femino, A. M., Fogarty, K., Lifshitz, L. M., Carrington, W. & Singer, R. H. Visualization of single molecules of mRNA in situ. *Methods Enzymol* 361, 245-304 (2003).
11. Randolph, J. B. & Waggoner, A. S. Stability, specificity and fluorescence brightness of multiply-labeled fluorescent DNA probes. *Nucleic Acids Res* 25, 2923-2929 (1997).
12. Sindelar, L. E. & Jaklevic, J. M. High-throughput DNA synthesis in a multichannel format. *Nucleic Acids Res* 23, 982-987 (1995).
13. Vargas, D. Y., Raj, A., Marras, S. A., Kramer, F. R. & Tyagi, S. Mechanism of mRNA transport in the nucleus. *Proc Natl Acad Sci USA* 102, 17008-17013 (2005).
14. Raj, A., Peskin, C. S., Tranchina, D., Vargas, D. Y. & Tyagi, S. Stochastic mRNA synthesis in mammalian cells. *PLoS Biol* 4, e309 (2006).
15. Garneau, N. L., Wilusz, J. & Wilusz, C. J. The highways and byways of mRNA decay. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8, 113-126 (2007).
16. Gonzalez, R. C., Woods, R. E. & Eddins, S. L. Digital Image Processing Using Matlab. (Pearson Prentice Hall, Upper Saddle River, N.J.; 2004).
17. Wang, J. C. *et al.* Chromatin immunoprecipitation (ChIP) scanning identifies primary glucocorticoid receptor target genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 101, 15603-15608 (2004).

18. Yildiz, A. *et al.* Myosin V walks hand-over-hand: single fluorophore imaging with 1.5-nm localization. *Science* 300, 2061-2065 (2003).
19. Benson, D. M., Bryan, J., Plant, A. L., Gotto, A. M., Jr. & Smith, L. C. Digital imaging fluorescence microscopy: spatial heterogeneity of photobleaching rate constants in individual cells. *J Cell Biol* 100, 1309-1323 (1985).
- 5 20. Lecuyer, E. *et al.* Global analysis of mRNA localization reveals a prominent role in organizing cellular architecture and function. *Cell* 131, 174-187 (2007).
21. Fukushige, T., Hawkins, M. G. & McGhee, J. D. The GATA-factor elt-2 is essential for formation of the *Caenorhabditis elegans* intestine. *Dev Biol* 198, 286-302 (1998).
- 10 22. Sanicola, M., Sekelsky, J., Elson, S. & Gelbart, W. M. Drawing a stripe in *Drosophila* imaginal disks: negative regulation of decapentaplegic and patched expression by engrailed. *Genetics* 139, 745-756 (1995).
23. Rep, M., Krantz, M., Thevelein, J. M. & Hohmann, S. The transcriptional response of *Saccharomyces cerevisiae* to osmotic shock. Hot1p and Msn2p/Msn4p are required for the induction of subsets of high osmolarity glycerol pathwaydependent genes. *J Biol Chem* 275, 8290-8300 (2000).
- 15 24. Tiruchinapalli, D. M. *et al.* Activity-dependent trafficking and dynamic localization of zipcode binding protein 1 and beta-actin mRNA in dendrites and spines of hippocampal neurons. *J Neurosci* 23, 3251-3261 (2003).
25. Blichenberg, A. *et al.* Identification of a cis-acting dendritic targeting element in MAP2 mRNAs. *J Neurosci* 19, 8818-8829 (1999).
- 20 26. Warren, L., Bryder, D., Weissman, I. L. & Quake, S. R. Transcription factor profiling in individual hematopoietic progenitors by digital RT-PCR. *Proc Natl Acad Sci USA* 103, 17807-17812 (2006).

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Universidad de Medicina y Odontología de Nueva Jersey
(University of Medicine and Dentistry of New Jersey)

<120> Obtención de imágenes de moléculas de ARNm individuales, usando múltiples sondas marcadas con un solo marcador

<130> 96738.00072

<150> 61/191,724

<151> 2008-09-10

<160> 482

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1128

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sonda para β -actina

<400> 1

atggatgacg ataatcgctgc gctcgtcgtc gacaacggct ccggcatgtg caaggccggc	60
ttcgcgggcg acgatgctcc ccgggcccgc ttcccccca tcgtgggccc ccctaggcac	120
cagggtgtga tgggtgggtat gggtcagaag gactcctacg tgggcgacga ggcccagagc	180
aagagaggca tcctgaccct gaagtacccc attgaacacg gcattgtcac caactgggac	240
gatatggaga agatttggca ccacacttcc tacaatgagc tgcgtgtggc ccctgaggag	300
caccctgtgc tgctcaccga ggccccctctg aaccctaagg ccaaccgtga aaagatgacc	360
cagatcatgt ttgagacctt caacacccca gccatgtacg tagccatcca ggctgtgttg	420
tcccctgatg cctctggctg taccactggc attgtgatgg actccggaga cggggtcacc	480
cacactgtgc ccatctatga gggttacgcg ctcccctcatg ccatcctgcg tctggacctg	540
gctggcccggg acctgacaga ctacctcatg aagatcctga ccgagcgtgg ctacagcttc	600
accaccacag ctgagagggg aatcgtgctg gacattaaag agaagctgtg ctatgttgcc	660
ctagacttcg agcaagagat ggccactgcc gcacccctct cctcccctgga gaagagctat	720
gagctgcctg acggctcagg catcactatc ggcaatgagc gggtccgatg ccccaggct	780
ctcttccagc cttccttcct gggatggaa tcctgtggca tccatgaaac tacattcaat	840
tccatcatga agtgtgacgt tgacatccgt aaagacctct atgccaacac agtgctgtct	900
ggtggcacca ccatgtaccc aggcattgct gacaggatgc agaaggagat tactgccctg	960
gctcctagca ccatgaagat caagatcatt gctcctcctg agcgcaagta ctctgtgtgg	1020
attgggtggct ctatcctggc ctcaactgtcc accttccagc agatgtggat cagcaagcag	1080
gagtacgatg agtccggccc ctccatcgtg caccgcaaat gcttctag	1128

<210> 2

<211> 20

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para β -actina

 <400> 2
 atgccgggagc cgttgtcgac 20

 <210> 3
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para β -actina

 <400> 3
 cgccccgcaa gccggccttg 20

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

 <220>
 <223> Sonda para β -actina

 <400> 4
 gaagacggcc cggggagcat 20

 <210> 5
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para β -actina

 <400> 5
 ctagggcggc ccacgatgga 20

 <210> 6
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para β -actina

 <400> 6
 taccacccat cacaccctgg 20

 <210> 7
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para β -actina

 <400> 7
 taccacccat cacaccctgg 20

<210> 8
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para β -actina

 <400> 8
 cacgtaggag tccttctgac 20

<210> 9
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para β -actina

 <400> 9
 ggtacttcag ggtcaggatg 20

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

 <220>
 <223> Sonda para β -actina

 <400> 10
 ggtgacaatg ccgtgttcaa 20

<210> 11
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para β -actina

 <400> 11
 atcttctcca tatcgtccca 20

<210> 12
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para β -actina

 <400> 12
 cattgtagaa agtgtgggtgc 20

<210> 13
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para β -actina

<400> 13 ctcctcaggg gccacacgca	20
<210> 14 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
<220> <223> Sonda para β -actina	
<400> 14 gcctcgggtga gcagcacagg	20
<210> 15 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
<220> <223> Sonda para β -actina	
<400> 15 ggttggcctt agggttcaga	20
<210> 16 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
<220> <223> Sonda para β -actina	
<400> 16 catgatctgg gtcacctttt	20
<210> 17 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
<220> <223> Sonda para β -actina	
<400> 17 gctgggggtgt tgaaggtctc	20
<210> 18 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
<220> <223> Sonda para β -actina	
<400> 18 cagcctggat ggctacgtac	20
<210> 19 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial	

<220>
 <223> Sonda para β -actina
 <400> 19
 accagaggca tacagggaca 20

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

<220>
 <223> Sonda para β -actina
 <400> 20
 tccatcaciaa tgccagtggt 20

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

<220>
 <223> Sonda para β -actina
 <400> 21
 tgtgggtgac cccgtctccg 20

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

<220>
 <223> Sonda para β -actina
 <400> 22
 gtaaccctca tagatgggca 20

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

<220>
 <223> Sonda para β -actina
 <400> 23
 cgcaggatgg catgagggag 20

<210> 24
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para β -actina
 <400> 24
 ggtcccggcc agccaggtcc 20

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

 <220>
 <223> Sonda para β -actina

 <400> 25
 gatcttcatg aggtagtctg 20

<210> 26
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para β -actina

 <400> 26
 aagctgtagc cacgctcggg 20

<210> 27
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para β -actina

 <400> 27
 tttccctctc agctgtggtg 20

<210> 28
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para β -actina

 <400> 28
 cttctcttta atgtcacgca 20

<210> 29
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para β -actina

 <400> 29
 aagtctaggg caacatagca 20

<210> 30
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para β -actina

<400> 30 cggcagtggc catctcttgc	20
<210> 31 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
<220> <223> Sonda para β -actina	
<400> 31 cttctccagg gaggaagagg	20
<210> 32 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
<220> <223> Sonda para β -actina	
<400> 32 tgaccgtcag gcagctcata	20
<210> 33 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
<220> <223> Sonda para β -actina	
<400> 33 gctcattgcc gatagtgatg	20
<210> 34 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
<220> <223> Sonda para β -actina	
<400> 34 gagagcctcg gggcatcgga	20
<210> 35 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
<220> <223> Sonda para β -actina	
<400> 35 ataccagga aggaaggctg	20
<210> 36 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial	

<220>
 <223> Sonda para β -actina
 <400> 36
 tttcatggat gccacaggat 20

<210> 37
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para β -actina
 <400> 37
 cttcatgatg gaattgaatg 20

<210> 38
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para β -actina
 <400> 38
 tctttacgga tgtcaacgtc 20

<210> 39
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para β -actina
 <400> 39
 acagcactgt gttggcatag 20

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

<220>
 <223> Sonda para β -actina
 <400> 40
 tgggtacatg gtggtgccac 20

<210> 41
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para β -actina
 <400> 41
 ttctgcatcc tgtcagcaat 20

<210> 42
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para β -actina

<400> 42
 taggagccag ggcagtaatc 20

<210> 43
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para β -actina

<400> 43
 aatgatcttg atcttcatgg 20

<210> 44
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para β -actina

<400> 44
 gagtacttgc gctcaggagg 20

<210> 45
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para β -actina

<400> 45
 ggatagagcc accaatccac 20

<210> 46
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para β -actina

<400> 46
 ctggaagggtg gacagtgagg 20

<210> 47
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para β -actina

ES 2 799 507 T3

<400> 47		
tcctgcttgc tgatccacat		20
<210> 48		
<211> 20		
<212> ADN		
<213> Secuencia artificial		
<220>		
<223> Sonda para β -actina		
<400> 48		
tggaggggccc ggactcatcg		20
<210> 49		
<211> 20		
<212> ADN		
<213> Secuencia artificial		
<220>		
<223> Sonda para β -actina		
<400> 49		
ctagaagcat ttgcggtgca		20
<210> 50		
<211> 1815		
<212> ADN		
<213> Secuencia artificial		
<220>		
<223> Sonda de COX-2		
<400> 50		
atgctcgccc gcgccctgct gctgtgcgcg gtccctggcgc tcagccatac agcaaatacct		60
tgctgttccc acccatgtca aaaccgaggt gtatgtatga gtgtgggatt tgaccagtat		120
aagtgcgatt gtaccggac aggattctat ggagaaaact gctcaacacc ggaatTTTTg		180
acaagaataa aattatttct gaaaccact ccaaacacag tgcactacat acttaccac		240
ttcaagggat tttggaacgt tgtgaataac attcccttcc ttcgaaatgc aattatgagt		300
tatgtgttga catccagatc acatttgatt gacagtccac caacttaca tgctgactat		360
ggctacaaaa gctgggaagc cttctctaac ctctctatt atactagagc ctttctctct		420
gtgcctgatg attgcccgc tcccttgggt gtcaaaggta aaaagcagct tcctgattca		480
aatgagattg tggaaaaatt gcttctaaga agaaagttca tccctgatcc ccagggctca		540
aacatgatgt ttgcattctt tgcccagcac ttcacgcatac agtttttcaa gacagatcat		600
aagcgagggc cagctttcac caacgggctg ggccatgggg tggacttaaa tcatatttac		660
ggtgaaactc tggctagaca gcgtaaactg cgccttttca aggatggaaa aatgaaatat		720
cagataattg atggagagat gtatcctccc acagtcaaag atactcaggc agagatgatc		780
taccctctc aagtcctga gcatctacgg tttgctgtgg ggcaggaggt ctttggctctg		840
gtgcctggtc tgatgatgta tgccacaatc tggctgcggg aacacaacag agtatgcgat		900
gtgcttaaac aggagcatcc tgaatgggggt gatgagcagt tgttccagac aagcaggcta		960

ES 2 799 507 T3

atactgatag gagagactat taagattgtg attgaagatt atgtgcaaca cttgagtggc 1020
 tatcacttca aactgaaatt tgaccagaa ctacttttca acaaacaatt ccagtaccaa 1080
 aatcgtattg ctgctgaatt taacaccctc tatcactggc atcccccttct gcctgacacc 1140
 tttcaaattc atgaccagaa atacaactat caacagttta tctacaacaa ctctatattg 1200
 ctggaacatg gaattaccca gtttgttgaa tcattcacca ggcaaattgc tggcaggggt 1260
 gctggtggta ggaatgttcc acccgagta cagaaagtat cacaggcttc cattgaccag 1320
 agcaggcaga tgaaatacca gtcttttaat gagtaccgca aacgctttat gctgaagccc 1380
 tatgaatcat ttgaagaact tacaggagaa aaggaaatgt ctgcagagtt ggaagcactc 1440
 tatggtgaca tcgatgctgt ggagctgtat cctgcccttc tggtagaaaa gcctcggcca 1500
 gatgccatct ttggtgaaac catggtagaa gttggagcac cattctcctt gaaaggactt 1560
 atgggtaatg ttatatgttc tctgcctac tgggaagccaa gcacttttgg tggagaagtg 1620
 ggttttcaaa tcatcaacac tgcctcaatt cagtctctca tctgcaataa cgtgaagggc 1680
 tgtcccttta cttcattcag tgttccagat ccagagctca ttaaaacagt caccatcaat 1740
 gcaagttctt cccgctccgg actagatgat atcaatccca cagtactact aaaagaacgt 1800
 tcgactgaac tgtag 1815

<210> 51
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de COX-2

<400> 51
 gcagcagggc gcgggagagc 20

<210> 52
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de COX-2

<400> 52
 cgcaggatgg catgagggac gcaggatggc atgagggagg 40

<210> 53
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de COX-2

<400> 53
 ctcatacata cacctcgggt 20

<210> 54
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de COX-2

 <400> 54
 atcgactta tactggtaa 20

<210> 55
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de COX-2

 <400> 55
 gtggtgagca gttttctcca 20

<210> 56
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de COX-2

 <400> 56
 gtttgagtg ggtttcagaa 20

<210> 57
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de COX-2

 <400> 57
 atcccttgaa gtgggtaagt 20

<210> 58
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de COX-2

 <400> 58
 ttgcatttcg aaggaagga 20

<210> 59
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de COX-2

<400> 59
 gtgatctgga tgtcaacaca 20

<210> 60
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de COX-2

<400> 60
 tgtaagtgg tggactgtca 20

<210> 61
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de COX-2

<400> 61
 cttcccagct tttgtagcca 20

<210> 62
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de COX-2

<400> 62
 gaggaagggc tctagtataa 20

<210> 63
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de COX-2

<400> 63
 caggaagctg ctttttacct 20

<210> 64
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de COX-2

<400> 64
 gcaatttttc cacaatctca 20

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

<220>
 <223> Sonda de COX-2

 <400> 65
 tcagggatga actttcttct 20

<210> 66
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de COX-2

 <400> 66
 agtgctgggc aaagaatgca 20

<210> 67
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de COX-2

 <400> 67
 cgcttatgat ctgtcttgaa 20

<210> 68
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de COX-2

 <400> 68
 atggcccagc ccgttggtga 20

<210> 69
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de COX-2

 <400> 69
 gccagagttt caccgtaaat 20

<210> 70
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de COX-2

 <400> 70
 atccttgaaa aggcgagtt 20

<210> 71
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para COX-2

 <400> 71
 gaggatacat ctctccatca 20

 <210> 72
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para COX-2

 <400> 72
 tcattctctgc ctgagtatct 20

 <210> 73
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para COX-2

 <400> 73
 tcagaccagg caccagacca 20

 <210> 74
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para COX-2

 <400> 74
 gttgtgttcc cgcagccaga 20

 <210> 75
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para COX-2

 <400> 75
 tcctgtttaa gcacatcgca 20

 <210> 76
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para COX-2

<400> 76
 aacaactgct catcacccca 20

<210> 77
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para COX-2

<400> 77
 atagtctctc ctatcagtat 20

<210> 78
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para COX-2

<400> 78
 ccactcaagt gttgcacata 20

<210> 79
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para COX-2

<400> 79
 gttctggggtc aaatttcagt 20

<210> 80
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para COX-2

<400> 80
 gtactggaat tgtttgattga 20

<210> 81
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para COX-2

<400> 81
 ggggtgttaaa ttcagcagca 20

<210> 82
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para COX-2

 <400> 82
 gttgtatttc tggatcatgaa 20

 <210> 83
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para COX-2

 <400> 83
 ggtaattcca tgttccagca 20

 <210> 84
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para COX-2

 <400> 84
 gcctggtgaa tgattcaaca 20

 <210> 85
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para COX-2

 <400> 85
 caatggaagc ctgtgatact 20

 <210> 86
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para COX-2

 <400> 86
 gcgtttgagg tactcattaa 20

 <210> 87
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para COX-2

 <400> 87
 cctgtaagtt cttcaaatga 20

<210> 88
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para COX-2

 <400> 88
 caactctgca gacatttcct 20

<210> 89
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para COX-2

 <400> 89
 ccacagcatc gatgtcacca 20

<210> 90
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para COX-2

 <400> 90
 tttctaccag aagggcagga 20

<210> 91
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para COX-2

 <400> 91
 cttctaccat ggtttcacca 20

<210> 92
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para COX-2

 <400> 92
 cataagtcct ttcaaggaga 20

<210> 93
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para COX-2

<400> 93
 cagtaggcag gagaacatat 20

<210> 94
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para COX-2

<400> 94
 aaaaccact tctccaccaa 20

<210> 95
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para COX-2

<400> 95
 attgcagatg agagactgaa 20

<210> 96
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para COX-2

<400> 96
 ctggaacact gaatgaagta 20

<210> 97
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para COX-2

<400> 97
 cttgcattga tgggtgactgt 20

<210> 98
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para COX-2

<400> 98
 cagttcagtc gaacgttctt 20

<210> 99
 <211> 958
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

ES 2 799 507 T3

<220>
 <223> Sonda para d2EGFP

<400> 99
 gcggatggtg agcaagggcg aggagctggt caccgggggtg gtgcccattcc tggtcgagct 60
 ggacggcgac gtaaaccggcc acaagtccag cgtgtccggc gagggcgagg gcgatgccac 120
 ctacggcaag ctgaccctga agttcatctg caccaccggc aagctgcccg tgccctggcc 180
 caccctcgtg accaccctga cctacggcgt gcagtgcttc agccgctacc ccgaccacat 240
 gaagcagcac gactttctca agtccgccat gcccgaaggc tacgtccagg agcgcaccat 300
 cttcttcaag gacgacggca actacaagac ccgcgccgag gtgaagttcg agggcgacac 360
 cctggtgaac cgcacgagc tgaagggcat cgacttcaag gaggacggca acatcctggg 420
 gcacaagctg gagtacaact acaacagcca caacgtctat atcatggccg acaagcagaa 480
 gaacggcatc aaggtgaact tcaagatccg ccacaacatc gaggacggca gcgtgcagct 540
 cgccgaccac taccagcaga acacccccat cggcgacggc cccgtgctgc tgcccgacaa 600
 ccactacctg agcaccctg cgcacctgag caaagacccc aacgagaagc gcgatcacat 660
 ggtcctgctg gagttcgtga ccgccgccgg gatcactctc ggcattggacg agctgtacaa 720
 gaagcttagc catggcttcc cgccggaggt ggaggagcag gatgatggca cgctgcccat 780
 gtcttggtg ccaggagagc ggatggaccg tcaccctgca gcctgtgctt ctgctaggat 840
 caatgtgtag gaattcgtga catgataaga tacattgatg agtttggaca aaccacaact 900
 agaatgcagt gaaaaaatg ctttatttgt gaaatttgtg atgctattgc tttatttg 958

<210> 100
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de d2EGFP

<400> 100
 cgcccttgct caccatc 17

<210> 101
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de d2EGFP

<400> 101
 cacccttgct aacagct 17

<210> 102
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sonda de d2EGFP
 <400> 102
 agctcgacca ggatggg 17

<210> 103
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de d2EGFP
 <400> 103
 ggccgtttac gtcgccg 17

<210> 104
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de d2EGFP
 <400> 104
 gccggacacg ctgaact 17

<210> 105
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de d2EGFP
 <400> 105
 gtggcatcgc cctcgcc 17

<210> 106
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de d2EGFP
 <400> 106
 tcagggtcag cttgccg 17

<210> 107
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de d2EGFP
 <400> 107
 gccggtggtg cagatga 17

<210> 108
 <211> 17

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP
 <400> 108
 ggccagggca cgggcag 17

<210> 109
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP
 <400> 109
 tcaggggtggt cacgagg 17

<210> 110
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP
 <400> 110
 gaagcactgc acgccgt 17

<210> 111
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP
 <400> 111
 atgtggtcgg ggtagcg 17

<210> 112
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP
 <400> 112
 tgaagaagtc gtgctgc 17

<210> 113
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP
 <400> 113
 gccttcgggc atggcgg 17

<210> 114
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP

 <400> 114
 atggtgcgct cctggac 17

<210> 115
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP

 <400> 115
 tgccgctcgtc cttgaag 17

<210> 116
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP

 <400> 116
 ctcggcgcgg gtcttgt 17

<210> 117
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP

 <400> 117
 gtgtcgccct cgaactt 17

<210> 118
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP

 <400> 118
 gctcgatgcg gttcacc 17

<210> 119
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>

<223> Sonda de d2EGFP
 <400> 119
 cttgaagtcg atgccct 17

<210> 120
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de d2EGFP
 <400> 120
 cccaggatgt tgccgtc 17

<210> 121
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de d2EGFP
 <400> 121
 agttgtactc cagcttg 17

<210> 122
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de d2EGFP
 <400> 122
 atagacgttg tggctgt 17

<210> 123
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de d2EGFP
 <400> 123
 ttctgcttgt cggccat 17

<210> 124
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda de d2EGFP
 <400> 124
 agttcacctt gatgccg 17

<210> 125
 <211> 17

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP

 <400> 125
 gatgttgtagg cggatct 17

<210> 126
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP

 <400> 126
 agctgcacgc tgccgtc 17

<210> 127
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP

 <400> 127
 tctgctggta gtggtcg 17

<210> 128
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP

 <400> 128
 gccgtcgccg atggggg 17

<210> 129
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP

 <400> 129
 ttgtcgggca gcagcac 17

<210> 130
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP

 <400> 130
 actgggtgct caggtag 17

<210> 131
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP

 <400> 131
 ggggtctttg ctcaggg 17

<210> 132
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP

 <400> 132
 atgtgatcgc gcttctc 17

<210> 133
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP

 <400> 133
 tcacgaactc cagcagg 17

<210> 134
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP

 <400> 134
 gagagtgatc ccggcgg 17

<210> 135
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP

 <400> 135
 ttgtacagct cgtccat 17

<210> 136
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>

<223> Sonda de d2EGFP
 <400> 136
 ggaagccatg gctaagc 17

 <210> 137
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP
 <400> 137
 ctgctcctcc acctccg 17

 <210> 138
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP
 <400> 138
 atgggcagcg tgccatc 17

 <210> 139
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP
 <400> 139
 cgctctctg ggcacaa 17

 <210> 140
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP
 <400> 140
 tgcagggtga cggcca 17

 <210> 141
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP
 <400> 141
 atcctagcag aagcaca 17

 <210> 142
 <211> 17

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP

 <400> 142
 acgaattcct acacatt 17

 <210> 143
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP

 <400> 143
 tcaatgtatc ttatcat 17

 <210> 144
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP

 <400> 144
 ttgtggtttg tccaaac 17

 <210> 145
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP

 <400> 145
 tttttttcac tgcattc 17

 <210> 146
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP

 <400> 146
 caaatttcac aaataaa 17

 <210> 147
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda de d2EGFP

 <400> 147
 caaataaagc aatagca 17

ES 2 799 507 T3

<210> 148
 <211> 1767
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp

<400> 148
 atgcgcgcat ggcttctact cctcgcagtg ctggcgactt ttcaaacgat tgttcgagtt 60
 gctagcaccg aggatataatc ccagagattc atcgccgcca tagcgcccgt tgccgctcat 120
 attccgctgg catcagcatc aggatcagga tcaggacgat ctggatctag atcggtagga 180
 gcctcgacca gcacagcatt agcaaaagca tttaatccat tcagcgagcc cgctcgttc 240
 agtgatagtg ataaaagcca tcggagtaaa acaaacaaaa aacctagcaa aagtgacgcg 300
 aaccgacagt tcaacgaagt gcataagcca agaacagacc aattagaaaa ttccaaaaat 360
 aagtctaaac aattagttaa taaacccaac cacaacaaaa tggctgtcaa ggagcagagg 420
 agccaccaca agaagagcca ccaccatcgc agccaccagc caaagcaggc cagtgcattcc 480
 acagaatctc atcaatcctc gtcgattgaa tcaatcttcg tggaggagcc gacgctgggtg 540
 ctcgaccgcg aggtggcctc catcaacgtg cccgccaacg ccaaggccat catcgccgag 600
 cagggcccgt ccacctacag caaggaggcg ctcatcaagg acaagctgaa gccagacccc 660
 tccactctag tcgagatcga gaagagcctg ctctcgctgt tcaacatgaa gcggccgccc 720
 aagatcgacc gctccaagat catcatcccc gagccgatga agaagctcta cgccgagatc 780
 atgggccacg agctcgactc ggtcaacatc cccaagccgg gtctgctgac caagtcggcc 840
 aacacagtgc gaagttttac acacaaagat agtaaaatcg acgatcgatt tccgcaccac 900
 caccggtttc ggctgcactt cgacgtgaag agcattcccg cgcagcagaa gctgaaggcg 960
 gcggagctgc agctgacccg ggacgcactc agtcaacagg tggtgccag cagatcgctc 1020
 gcgaatcggg cgcgctacca ggtgcttgtc tacgacatca cgcgctcgg ggtgctggt 1080
 cagcgggagc cgagctatct gctgttgac accaagacgg tccggcttaa cagcacggac 1140
 acggtgagcc tcgatgtcca gccggccgtg gaccggtggc tggcgagtcc gcagcgcaac 1200
 tacggactgc tgggtgaggt gcggacggtc cgctccctga agccggcccc acaccaccat 1260
 gtacgcctgc gccgcagcgc ggacgaggcg cacgagcggg ggcagcacia gcagccgctc 1320
 ctgttcacct acacggacga cgggcggcac aaggcgcgct ccattcggga cgtgtctggc 1380
 ggagagggcg gtggcaaggg cggccggaac aagcggcagc cgagacggcc tacgagggcg 1440
 aagaaccacg acgacacctg ccggcggcac tcgctgtacg tggacttctc ggacgtgggc 1500
 tgggacgact ggattgtggc gcctctgggc tacgatgcat attactgcca cgggaagtgc 1560
 cccttcccgc tggccgacca cttaactcg accaatcacg ccgtgggtgca gaccctggtc 1620
 aacaatatga atccccgcaa ggtgccgaag gcgtgctgcg tgcccacgca actggacagc 1680
 gtggccatgc tctatctcaa cgaccaaagt acggtgggtgc tgaagaacta ccaggagatg 1740

accgtggtgg gctgtggctg tcgatag 1767

<210> 149
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp

<400> 149
 ggagtagaag ccatgcgcgc 20

<210> 150
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp

<400> 150
 gtttgaaaag tcgccagcac 20

<210> 151
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp

<400> 151
 cctcggtgct agcaactcga 20

<210> 152
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp

<400> 152
 cgggcgctat ggccggcgtg 20

<210> 153
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp

<400> 153
 ctgatgctga tgccagcgg 19

<210> 154
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp
 <400> 154
 gctggtcgag gctcctaccg 20

<210> 155
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp
 <400> 155
 tgaacgaggc gggctcgctg 20

<210> 156
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp
 <400> 156
 ctccgatggc ttttatcact 20

<210> 157
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp
 <400> 157
 cgttgaactg tcggttcgcg 20

<210> 158
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp
 <400> 158
 ggtggctcct ctgctccttg 20

<210> 159
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp
 <400> 159
 ggctgcatg gtggtggctc 20

<210> 160
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para dpp

 <400> 160
 ctgtggatgc actggcctgc 20

<210> 161
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para dpp

 <400> 161
 ccagcgtcgg ctccctccacg 20

<210> 162
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para dpp

 <400> 162
 ccttggcggtt ggcgggcacg 20

<210> 163
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para dpp

 <400> 163
 ggtggacggg ccctgctcgg 20

<210> 164
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para dpp

 <400> 164
 ggaggggtct ggcttcagct 20

<210> 165
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para dpp

<400> 165
 agcgagagca ggctcttctc 20

<210> 166
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp

<400> 166
 gagcggtcga tcttgggcgg 20

<210> 167
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp

<400> 167
 cttcatcggc tcggggatga 20

<210> 168
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp

<400> 168
 tcgtggccca tgatctcggc 20

<210> 169
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp

<400> 169
 gcagacccgg cttggggatg 20

<210> 170
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp

<400> 170
 cgcactgtgt tggccgactt 20

<210> 171
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp
 <400> 171
 gcagccgaaa ccggtggtgg 20

<210> 172
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp
 <400> 172
 ccgcccgcctt cagcttctcg 20

<210> 173
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp
 <400> 173
 agtgcgctccc gggtcagctg 20

<210> 174
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp
 <400> 174
 ccgacgatct gctggccacc 20

<210> 175
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp
 <400> 175
 agcacctggt agcgcgtccg 20

<210> 176
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp
 <400> 176
 cacgcacccc gacgcgcgtg 20

<210> 177
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> **Secuencia artificial**

 <220>
 <223> **Sonda para dpp**

 <400> 177
 gccggaccgt cttggtgtcc 20

<210> 178
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> **Secuencia artificial**

 <220>
 <223> **Sonda para dpp**

 <400> 178
 gaggctcacc gtgtccgtgc 20

<210> 179
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> **Secuencia artificial**

 <220>
 <223> **Sonda para dpp**

 <400> 179
 gccagccacc ggtccacggc 20

<210> 180
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> **Secuencia artificial**

 <220>
 <223> **Sonda para dpp**

 <400> 180
 cagcagtccg tagttgcgct 20

<210> 181
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> **Secuencia artificial**

 <220>
 <223> **Sonda para dpp**

 <400> 181
 gggagcggac cgtccgcacc 20

<210> 182
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> **Secuencia artificial**

 <220>
 <223> **Sonda para dpp**

<400> 182
 caggcgtaca tggtggtgtg 20

<210> 183
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp

<400> 183
 cgtgcgctc gtccgcgctg 20

<210> 184
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp

<400> 184
 gagcggctgc ttgtgctgcc 20

<210> 185
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp

<400> 185
 ccgcccgtcg tccgtgtagg 20

<210> 186
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp

<400> 186
 gccaccgccc tctccgccag 20

<210> 187
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp

<400> 187
 cgtaggccgt ctcggctgcc 20

<210> 188
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para dpp

 <400> 188
 gcgagtgccg ccggcaggtg 20

 <210> 189
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para dpp

 <400> 189
 cgtcccagcc cacgtccgag 20

 <210> 190
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para dpp

 <400> 190
 cgtagcccag aggcgccaca 20

 <210> 191
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para dpp

 <400> 191
 cggccagcgg gaaggggcac 20

 <210> 192
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para dpp

 <400> 192
 gggctgcac cacggcgtga 20

 <210> 193
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para dpp

 <400> 193
 gccttcggca ccttgccggg 20

<210> 194
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para dpp

 <400> 194
 gtccagttgc gtgggcacgc 20

<210> 195
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para dpp

 <400> 195
 gcaccaccgt actttggtcg 20

<210> 196
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para dpp

 <400> 196
 gccacagccc accacggtca 20

<210> 197
 <211> 1302
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2

 <400> 197
 atggataata actacaatga taatgtcaac ggctggggccg aaatggaacc atctcaacca 60
 atgggaggtc tgcgcctacc aactcagaac atggatccac cagagcaaaa taatgagtca 120
 caattgagtg aactaccgag aatgaaaatt gataatgatt acgcatctcc aattgaacgg 180
 caaagtgtta tcacaagtgg cacaaataac tatgagccga aagtggaaac tgttacatca 240
 tttttccata ctggcataga ctactcaaac tttggaatgt tggaccaaac taccatgcaa 300
 ccgttttatc ctctttacag tggaattccc gtaaactc tgggaacttt ttcgggatat 360
 acaaactcca tatacgacia accctctctg tacgaccca gtattcctac cattaacatc 420
 ctttctactt atccaactgt ggctccaact tacgaatgcg tcaaatgctc acaaagtgtg 480
 ggggccggga tgaaggcagt aaacggagga atgatgtgcg tcaactgttc aacacaaaa 540
 accacgratt ctctccagt cgcgtatagc acttctttgg gacaaccccc gattctggaa 600
 ataccttcag agcagccaac tgctaaaatt gccaaagcaat cctctaaaaa gtcaagtagc 660
 tcaaataggg ggtcaaacgg atctgctgctc cgctcggcagg gacttgtgtg ctccaattgc 720

ES 2 799 507 T3

aatggtacca acacaactct ctggagaaga aatgctgaag gagatccggt ctgcaatgct 780
 tgcgggcttt acttcaaact ccatcacatc cctcggccga cctcaatgaa gaaagaaggt 840
 gctttacaga caagaaagag aaaatcaaaa agcggagact cttccacacc atcaacgtca 900
 cgggcccag aaaggaagtt tgagagagcc tcttcttcga ccgaaaaggc tcaaagggtca 960
 tctaaccggc gtgcgggaag tgcaaaagca gaccgagaac tgagcactgc tgccgtcgca 1020
 gctgcgactg ccacatatgt gtcacatgcc gacttgtatc ccgtttcctc agctgccgtc 1080
 accttgccag atcaaacgta cagtaattac tatcaatgga aactgcccgc tacagctggg 1140
 ttgatgatgg ttccaaacga tcaaaactac gtgtatgcag caacaaacta ccagactggc 1200
 ctaagacctg ccgataacat ccaagttcat gtgatgccag ttcaggatga tgaaacccaa 1260
 gctgcggtc gcgatttggg agcgggtcgac ggagattctt aa 1302

<210> 198
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para elt-2

<400> 198
 ccatttcggc ccagccgttg 20

<210> 199
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para elt-2

<400> 199
 gacctccat tggttgagat 20

<210> 200
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para elt-2

<400> 200
 ccatgttctg agttgtagg 20

<210> 201
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para elt-2

<400> 201
 actcattatt ttgctctggt 20

<210> 202
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para elt-2

<400> 202
 ttctcggtag ttcactcaat 20

<210> 203
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para elt-2

<400> 203
 taacactttg ccgttcaatt 20

<210> 204
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para elt-2

<400> 204
 catagttatt tgtgccactt 20

<210> 205
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para elt-2

<400> 205
 atgtaacagt ttccactttc 20

<210> 206
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para elt-2

<400> 206
 agtctatgcc agtatggaaa 20

<210> 207
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sonda para elt-2
 <400> 207
 ggtccaacat tccaaagttt 20

 <210> 208
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2
 <400> 208
 gataaaaacgg ttgcatggta 20

 <210> 209
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2
 <400> 209
 ttacgggaat tccactgtaa 20

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

 <220>
 <223> Sonda para elt-2
 <400> 210
 atccccgaaaa agttccaaga 20

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

 <220>
 <223> Sonda para elt-2
 <400> 211
 gtttgtcgta tatggagttt 20

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

 <220>
 <223> Sonda para elt-2
 <400> 212
 gaataactggg gtcgtacaga 20

 <210> 213
 <211> 20

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2

 <400> 213
 aagtagaagg gatgttaatg 20

<210> 214
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2

 <400> 214
 cgtaagttgg agccacagtt 20

<210> 215
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2

 <400> 215
 aactttgtga gcatttgacg 20

<210> 216
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2

 <400> 216
 ttactgcctt catcccgcc 20

<210> 217
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2

 <400> 217
 agttgacgca catcattcct 20

<210> 218
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2

 <400> 218
 aatacgtggt ttttggtggt 20

<210> 219
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2

 <400> 219
 aagtgctata cgcgactgga 20

 <210> 220
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2

 <400> 220
 ccagaatcgg gggttgctccc 20

 <210> 221
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2

 <400> 221
 cagttggctg ctctgaaggt 20

 <210> 222
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2

 <400> 222
 tagaggattg cttggcaatt 20

 <210> 223
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2

 <400> 223
 ccctatttga gctacttgac 20

 <210> 224
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>

<223> Sonda para elt-2
 <400> 224
 gacgggacgc agatccgttt 20

<210> 225
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para elt-2
 <400> 225
 aattggagca cacaagtccc 20

<210> 226
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para elt-2
 <400> 226
 agagagttgt gttggtacca 20

<210> 227
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para elt-2
 <400> 227
 gatctccttc agcatttctt 20

<210> 228
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para elt-2
 <400> 228
 aaagcccgca agcattgcag 20

<210> 229
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para elt-2
 <400> 229
 gagggatgtg atggagtttg 20

<210> 230
 <211> 20

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2

 <400> 230
 cttcttttctt cattgaggtc 20

<210> 231
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2

 <400> 231
 tggaagagtc tccgcttttt 20

<210> 232
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2

 <400> 232
 ctcgggcccg tgacgttgat 20

<210> 233
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2

 <400> 233
 aagaggctct ctcaaacttc 20

<210> 234
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2

 <400> 234
 acctttgagc cttttcggtc 20

<210> 235
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2

 <400> 235
 cacttcccgc acgccgggta 20

<210> 236
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2

 <400> 236
 tgctcagttc tcggtctgct 20

<210> 237
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2

 <400> 237
 agtcggcatg tgacacatat 20

<210> 238
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2

 <400> 238
 cggcagctga ggaaacggga 20

<210> 239
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2

 <400> 239
 tgtacgtttg atctggcaag 20

<210> 240
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para elt-2

 <400> 240
 ccatcatcaa cccagctgta 20

<210> 241
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>

<223> Sonda para elt-2
 <400> 241
 cagtctggta gtttggtgct 20

<210> 242
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para elt-2
 <400> 242
 ggatggtatc ggcaggtcct 20

<210> 243
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para elt-2
 <400> 243
 cctgaactgg catcacatga 20

<210> 244
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para elt-2
 <400> 244
 gagccgcagc tttggtttca 20

<210> 245
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para elt-2
 <400> 245
 ctccgtcgac cgcttccaaa 20

<210> 246
 <211> 1374
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5
 <400> 246
 atgactactg atgaaggtgc caagaacaat gaagaaagcc ccacagccac tgttgctgag 60
 cagggagagg atattacctc caaaaaagac aggggagtat taaagattgt caaaagagtg 120
 gggaatggtg aggaaacgcc gatgattgga gacaaagttt atgtccatta caaaggaaaa 180

ES 2 799 507 T3

ttgtcaaagt gaaagaagtt tgattccagt catgatagaa atgaaccatt tgtcttttagt 240
 cttggcaaag gccaaagtcac caaggcatgg gacattggggg tggctaccat gaagaaagga 300
 gagatatgcc atttactgtg caaaccagaa tatgcatatg gctcggctgg cagtctccct 360
 aaaattccct cgaatgcaac tctctttttt gagattgagc tccttgattt caaaggagag 420
 gatttatttg aagatggagg cattatccgg agaaccaaac ggaaaggaga gggatattca 480
 aatccaaacg aaggagcaac agtagaaatc cacctggaag gccgctgtgg tggaaaggatg 540
 ttgactgca gagatgtggc attcactgtg ggcgaaggag aagaccacga cattccaatt 600
 ggaattgaca aagctctgga gaaaatgcag cggaagaac aatgtatttt atatcttggg 660
 ccaagatatg gttttggaga ggcaggaag cctaaatttg gcattgaacc taatgctgag 720
 cttatatatg aagttacact taagagcttc gaaaaggcca aagaatcctg ggagatggat 780
 accaaagaaa aattggagca ggctgccatt gtcaaagaga agggaaccgt atacttcaag 840
 ggaggcaaat acatgcaggc ggtgattcag tatgggaaga tagtgtcctg gttagagatg 900
 gaatatgggt tatcagaaaa ggaatcgaaa gcttctgaat catttctcct tgctgccttt 960
 ctgaacctgg ccatgtgcta cctgaagctt agagaataca ccaaagctgt tgaatgctgt 1020
 gacaaggccc ttggactgga cagtgccaat gagaaaggct tgtataggag gggatgaagcc 1080
 cagctgctca tgaacgagtt tgagtcagcc aagggtgact ttgagaaagt gctggaagta 1140
 aacccccaga ataaggctgc aagactgcag atctccatgt gccagaaaaa ggccaaggag 1200
 cacaacgagc gggaccgag gatatacgcc aacatgttca agaagtttgc agagcaggat 1260
 gccaaaggaag agccaataa agcaatgggc aagaagactt cagaaggggt cactaatgaa 1320
 aaaggaacag acagtcaagc aatggaagaa gagaaacctg agggccacgt atga 1374

<210> 247
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5

<400> 247
 gttcttggca ccttcat 17

<210> 248
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5

<400> 248
 aatcatcggc gtttcct 17

<210> 249
 <211> 17

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 249
 tggacataaa ctttgtc 17

<210> 250
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 250
 ttgacaattt tcctttg 17

<210> 251
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 251
 ggaatcaaac ttctttc 17

<210> 252
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 252
 ggttcatttc tatcatg 17

<210> 253
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 253
 tgccaagact aaagaca 17

<210> 254
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 254
 tgccttgatg acttggc 17

<210> 255
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5

<400> 255
 gtagccaccc caatgtc 17

<210> 256
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5

<400> 256
 atatctctcc tttcttc 17

<210> 257
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5

<400> 257
 tggtttgac agtaaata 17

<210> 258
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5

<400> 258
 gccgagccat atgcata 17

<210> 259
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5

<400> 259
 gaattttagg gagactg 17

<210> 260
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sonda para FKBP5
 <400> 260
 aaagagagtt gcattcg 17

<210> 261
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5
 <400> 261
 tcaaggagct caatctc 17

<210> 262
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5
 <400> 262
 ataaatcctc tcctttg 17

<210> 263
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5
 <400> 263
 gataatgcct ccatctt 17

<210> 264
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5
 <400> 264
 cctttccggt tggttct 17

<210> 265
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5
 <400> 265
 ttggatttga atatccc 17

<210> 266
 <211> 17

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 266
 ttctactggt gtcctt 17

 <210> 267
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 267
 cagcggcctt ccaggtg 17

 <210> 268
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 268
 agtcaaacat ccttcca 17

 <210> 269
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 269
 agtgaatgcc acatctc 17

 <210> 270
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 270
 tggctctctc ctctgcc 17

 <210> 271
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 271
 caattccaat tggaatg 17

<210> 272
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5

<400> 272
 cattttctcc agagctt 17

<210> 273
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5

<400> 273
 atacattggt cttccccg 17

<210> 274
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5

<400> 274
 atcttggtcc aagatat 17

<210> 275
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5

<400> 275
 ccctgcctct ccaaaac 17

<210> 276
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5

<400> 276
 tcaatgcaa atttagg 17

<210> 277
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sonda para FKBP5
 <400> 277
 atataagctc agcatta 17

<210> 278
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5
 <400> 278
 gctcttaagt gtaactt 17

<210> 279
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5
 <400> 279
 gattctttgg ccttttc 17

<210> 280
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5
 <400> 280
 ctttggtatc catctcc 17

<210> 281
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5
 <400> 281
 ggcagcctgc tccaatt 17

<210> 282
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5
 <400> 282
 gttcccttct ctttgac 17

<210> 283
 <211> 17

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 283
 tgcctccctt gaagtat 17

<210> 284
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 284
 aatcaccgcc tgcattgt 17

<210> 285
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 285
 gacactatct tcccata 17

<210> 286
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 286
 catattccat ctctaac 17

<210> 287
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 287
 cgattccttt tctgata 17

<210> 288
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 288
 agaaatgatt cagaagc 17

<210> 289
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 289
 ggttcagaaa ggcagca 17

<210> 290
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 290
 cttcaggtag cacatgg 17

<210> 291
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 291
 gctttggtgt attctct 17

<210> 292
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 292
 ccttgtcaca gcattca 17

<210> 293
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 293
 ggcactgtcc agtccaa 17

<210> 294
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>

<223> Sonda para FKBP5
 <400> 294
 ctatacaagc ctttctc 17

<210> 295
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5
 <400> 295
 gcagctgggc ttcaccc 17

<210> 296
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5
 <400> 296
 tgactcaaac tcgttca 17

<210> 297
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5
 <400> 297
 ttctggcaca tggagat 17

<210> 298
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5
 <400> 298
 cgttgtgctc cttggcc 17

<210> 299
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5
 <400> 299
 gtatatcctg cggctccc 17

<210> 300
 <211> 17

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 300
 aacttcttga acatggt 17

<210> 301
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 301
 ccttggcatc ctgctct 17

<210> 302
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 302
 cattgcttta ttggcct 17

<210> 303
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 303
 ccttctgaag tcttctt 17

<210> 304
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 304
 ttcctttttc attagtg 17

<210> 305
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FKBP5

 <400> 305
 ttccattgct tgactgt 17

<210> 306
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FKBP5

<400> 306
 stggccctca ggtttctc

18

<210> 307
 <211> 1071
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 307
 atggcggcga caaggagccc cacgcgggca agggagcggg agcggctctgg cgctcccgcc 60
 gcaggaagtg accaagttca ctcttgatg ctagctacaa gccaagcctt agacactgtc 120
 tggagaatgg caaaaggctt tgtgatgttg gcagtttcat ttctgggtggc tgccatctgc 180
 tacttccgga ggctacattt atattcaggg cacaagctga aatggtggat tggatatctg 240
 cagagaaaat tcaaaaggaa cctcagtgtg gaggcagagg ttgatttact cagttattgt 300
 gcaagagaat ggaaaggaga gacaccccgt aacaagctga tgaggaaggc ttatgaggag 360
 ctattttggc ggcatcacat taaatgtgtt cgacaagtaa ggagagataa ctatgatgct 420
 ctcagatcag tgttatttca gatattcagc cagggcatct cttttccatc atggatgaaa 480
 gaaaaggaca ttgttaagct tcctgaaaaa ctgctgtttt cacaaggttg taattggatt 540
 cagcagtaca gttttgggcc tgagaagtat acaggctcga atgtgtttgg aaaactacgg 600
 aaatatgtgg aattattgaa aacacagtgg actgaattta atggcattag agattatcac 660
 aagagaggaa gtatgtgcaa cacccttttt tcagatgcca ttctggaata taaactttat 720
 gaagctttaa agttcatcat gctgtatcaa gtcactgaag tttatgaaca aatgaagact 780
 aaaaaggctc ttcccagtct ttttagactc ctgttttcca gggagacatc ctctgatcct 840
 ttgagcttca tgatgaatca cctgaattct gtaggcgaca catgtggact agagcagatt 900
 gatatgttta tacttgata ctcccttgaa gtaaagataa aagtgttcag actgttcaag 960
 tttactcca gagactttga agtctgtctac ccagaggagc ctctcagggg ctggccggag 1020
 atctccctgc tgaccgagaa cgaccgccac taccacattc cagtctttta a 1071

<210> 308
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 308
 cccgcgtggg gctcctt 17

<210> 309
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> ,Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 309
 agaccgctcc cgctccc 17

<210> 310
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 310
 cttcctgcgg cgggagc 17

<210> 311
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 311
 tccaggagtg aacttgg 17

<210> 312
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 312
 ggcttggctt gtagcta 17

<210> 313
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 313
 attctccaga cagtgtc 17

<210> 314
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127
 <400> 314
 acatcacaaa gcctttt 17

<210> 315
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127
 <400> 315
 caccagaaat gaaactg 17

<210> 316
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127
 <400> 316
 cggaagtagc agatggc 17

<210> 317
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127
 <400> 317
 ctgaatataa atgtagc 17

<210> 318
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127
 <400> 318
 ccaccatttc agcttgt 17

<210> 319
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127
 <400> 319
 tttctctgca gatatcc 17

<210> 320
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FLJ11127

 <400> 320
 cactgagggt ccttttg 17

<210> 321
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FLJ11127

 <400> 321
 taaatcaacc tctgcct 17

<210> 322
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FLJ11127

 <400> 322
 tctcttgac aataact 17

<210> 323
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FLJ11127

 <400> 323
 ggggtgtctc tccttc 17

<210> 324
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FLJ11127

 <400> 324
 cttcctcatc agcttgt 17

<210> 325
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 325
 caaaatagct cctcata 17

<210> 326
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 326
 cacatttaat gtgatgc 17

<210> 327
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 327
 atctctcctt acttgtc 17

<210> 328
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 328
 gatctgagag catcata 17

<210> 329
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 329
 tgaatatctg aaataac 17

<210> 330
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 330
 tggaaaagag atgccct 17

<210> 331
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127
 <400> 331
 tccttttctt tcatcca 17

<210> 332
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127
 <400> 332
 tttcaggaag cttaaca 17

<210> 333
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127
 <400> 333
 accttgtgaa aacagca 17

<210> 334
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127
 <400> 334
 tactgctgaa tccaatt 17

<210> 335
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127
 <400> 335
 acttctcagg accaaaa 17

<210> 336
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127
 <400> 336
 aaacacattc gagcctg 17

<210> 337
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FLJ11127

 <400> 337
 acatatttcc gtagttt 17

<210> 338
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FLJ11127

 <400> 338
 actgtgtttt caataat 17

<210> 339
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FLJ11127

 <400> 339
 aatgccatta aattcag 17

<210> 340
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FLJ11127

 <400> 340
 cctctcttgt gataatc 17

<210> 341
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FLJ11127

 <400> 341
 aaagggtggtt gcacata 17

<210> 342
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 342
 ttccagaatg gcatctg 17

<210> 343
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 343
 aaagcttcat aaagttt 17

<210> 344
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 344
 gatacagcat gatgaac 17

<210> 345
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 345
 ttcataaact tcagtga 17

<210> 346
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 346
 accttttttag tcttcat 17

<210> 347
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 347
 gtctaaaaag actggga 17

<210> 348
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127
 <400> 348
 tgtctccctg gaaaaca 17

<210> 349
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127
 <400> 349
 aagctcaaag gatcaga 17

<210> 350
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127
 <400> 350
 aattcaggtg attcatc 17

<210> 351
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127
 <400> 351
 tccacatgtg tgccta 17

<210> 352
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127
 <400> 352
 aacatatcaa tctgctc 17

<210> 353
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127
 <400> 353
 caaggagta tccaagt 17

<210> 354
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 354
 gaacactttt atcttta 17

<210> 355
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 355
 gagttaaact tgaacag 17

<210> 356
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 356
 agcagacttc aaagtct 17

<210> 357
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 357
 cctgagaggc tcctctg 17

<210> 358
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127

<400> 358
 agggagatct ccggcca 17

<210> 359
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para FLJ11127

ES 2 799 507 T3

<400> 359
ggcggtcggt ctcggtc 17

<210> 360
<211> 17
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sonda para FLJ11127

<400> 360
aaagactgga atgtggt 17

<210> 361
<211> 5478
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sonda para Map2

<400> 361
atggctgacg agaggaaaga cgaaggaaag gcaccacact ggacatcagc ctcaactcaca 60
gaggcagctg cacacccccca ctcgccagag atgaaggacc aggggtggctc aggggaaggg 120
ctgagccgca gcgccaatgg atttccatac agagaggagg aggaaggcgc ctttggggag 180
cacgggtcac agggcaccta ttcagatacc aaagagaacg ggatcaacgg agagctgacc 240
tcagctgaca gagaaacagc agaggaagtg tctgcaagga tagttcaagt agtcacagct 300
gaagctgtag cagtcctgaa aggtgaacaa gagaaggagg cccaacacaa ggatcagcct 360
gcagctctgc ctttagcagc tgaagaaaca gttaatctgc caccttcccc accaccatcg 420
ccagcatcag aacaaacagc tgactggaag gaagcctcga agatggaatt ccctgagcag 480
cagaaattgc cttcctcatt cgctgagcct ttagacaagg aggaaacgga gtttaagatg 540
caaagtaagc ctggtgaaga ctttgaacat gctgccttag ttcctcagcc ggacacaagt 600
aaaactcccc aggataaaaa ggatccccc aaacacacac gagaaaagtc gcctgccagt 660
ccatttgctc agactttcgg taccaacctg gaagacataa aacagatcac agaaccaagc 720
ataacagtac ctagcattgg cctctccgca gagcccctag ctccaaaaga tcagaaagac 780
tggttcatcg aaatgcccgt ggaatcaaag aaggatgaat ggggtttagc tgcccccaata 840
tctcctggcc ccttgacacc catgagggaa aaagatgtgc tggaggatat cccaagatgg 900
gaaggaaagc agtttgactc tcccatgcct agccccttcc acagtggag tttactctt 960
cccttagata ctgtgaaaga tgagagagtc acagaagggt cacaaccctt tgcccctgtc 1020
ttcttccaat cagatgacaa aatgtctctg caggacacca gtggttcagc tacttccaaa 1080
gagagttcta aagatgagga gccacagaaa gataaagcag acaaagtggc agatgttcct 1140
gtctcagaag ctaccactgt actgggagat gttcacagtc cagctgtgga aggctttgtc 1200
ggggagaaca tttcaggaga agaaaagggt accacagatc aagagaaaaa agagacttcg 1260
acaccacagtg tacaggaacc tacactcact gaaactgaac cacagacaaa gcttgaagag 1320

ES 2 799 507 T3

acatcaaagg	tttccatcga	agaaactgtg	gcaaaaagaag	aggaatcctt	gaaattaaaa	1380
gatgataaag	caggtgtaat	tcagacttcc	accgagcatt	ctttctccaa	agaagaccag	1440
aaaggcgaag	aacagacaat	cgaagcatta	aaacaagact	cctttcctat	aagtctagaa	1500
caggcagtta	cagatgcagc	catggccacc	aagaccttgg	aaaaggttac	gtctgagcca	1560
gaggcagtaa	gtgaaaagag	agaaatccag	ggactttttg	aagaggatat	agctgacaag	1620
agtaagctcg	aaggcgctgg	gtctgcaaca	gtagccgagg	ttgagatgcc	atztatgaa	1680
gataaatcag	ggatgtccaa	gtactttgaa	acatctgcat	tgaaagaaga	tgtgaccaga	1740
agcactgggt	tgggcagtga	ttactacgag	ctgagtgact	caagaggaaa	tgcccaggaa	1800
tctcttgata	ctgtatctcc	caagaaccaa	caagatgaaa	aggaacttct	ggcaaaagct	1860
tcccagccta	gtcctccagc	acacgaagca	gggtacagca	ctcttgccca	gagttataca	1920
tctgatcatc	cgtccgagtt	acctgaagaa	ccaagttctc	ctcaagaaag	aatgttctact	1980
attgacccca	aagtttatgg	ggagaaaagg	gaccttcata	gtaagaacaa	agatgatctg	2040
acacttagtc	gaagcttggg	gctgggcgga	aggtctgcaa	tagaacagag	aagcatgtcc	2100
attaacttgc	ctatgtcttg	ccttgattct	attgcccttg	ggtttaactt	tggccggggc	2160
catgatcttt	cccctctggc	ttctgatatt	ctaaccaaca	ctagcggaac	gatggatgaa	2220
ggagatgatt	acctgcccc	caccacacct	gcagtggaga	agattccttg	ctttccaata	2280
gagagcaaag	aggaagaaga	taagacagag	caagcaaaag	tgactggagg	gcaaaactacc	2340
caagttgaaa	catcctccga	gtcacccttc	ccagccaaag	aatattacaa	aaatggcact	2400
gtcatggccc	ctgacctgcc	tgagatgcta	gatctagcag	ggaccaggtc	cagattagct	2460
tctgtgagtg	cagatgctga	ggttgccagg	aggaaatcag	tcccatcgga	ggctgtggtt	2520
gcagagagca	gtactggttt	gccacctggt	gctgatgaca	gccaaccctg	aaaaccagac	2580
agtcaacttg	aagacatggg	gtactgtgtg	ttcaacaagt	acacagtccc	tctcccatcg	2640
ccagttcaag	acagtgagaa	ttgttcagga	gagagtgggt	cgttttatga	aggaaccgat	2700
gacaaagtcc	gtagagattt	ggccactgac	ctttcactaa	ttgaggtaaa	acttgcagct	2760
gctggaagag	tcaaagatga	attcactgct	gagaaagagg	catctccacc	ctcttctgct	2820
gacaaatcag	gactgagtag	ggagtttgac	caagacagga	aagctaata	caagctggat	2880
actgtcctag	aaaagagcga	agagcatggt	gattcaaaag	aacatgccaa	ggagtcagaa	2940
gaggttgggg	ataaagtaga	gctcttcgga	ttaggtgtaa	cctatgagca	aacctctgcc	3000
aaagaactga	taacaactaa	agaaacagca	cctgagagag	cagagaaagg	tctcagttca	3060
gtgccagagg	tagctgaggt	agaaacaacc	acaaaagctg	accaaggtct	agatgttgct	3120
gccaagaaag	atgatcagag	tccattagat	ataaaagtca	gtgactttgg	acagatggct	3180
tctgggatga	gtgtagatgc	tgggaaaacc	atagagctta	agttcgaggt	tgatcagcag	3240
ctgactctct	catccgaagc	acctcaggaa	acagattcat	tcatgggtat	tgagtccagc	3300
cacgtgaagg	atggtgccaa	agtcagtgaa	acagaagtca	aagagaaggt	ggcaaaagcct	3360

ES 2 799 507 T3

gacttgggtgc atcaggaggc tgtggacaaa gaagagtcct atgagtctag tggtgagcat 3420
gaaagcctca ccatggagtc cctgaagcct gatgagggca agaaagaaac atctccagag 3480
acatcactga tacaagatga agttgccctc aaactgtctg tagaaatccc ttgccacact 3540
ccagtttccg aagctgattc atccattgat gagaaggcgg aggtccagat ggaatttatt 3600
cagctgccaa aggaagagag cacagagact ccggatatac ctgccatacc ttctgatgtc 3660
acccagccac agcctgaagc agttgtgtcc gaaccagcag aggttcgagg tgaggaagaa 3720
gagatcgaag ctgagggaga atatgacaaa ctgctcttcc gctcagacac cctccagatc 3780
accgacctgc ttgttccagg aagtagggag gagtttgtgg agacctgccc aggggagcac 3840
aaaggtgtgg ttgagtccgt ggtaaccatc gaggatgatt tcatcactgt agtaciaaac 3900
acgactgatg agggagagtt gggatccac agtgtgctgct ttgcagctcc agttcagcct 3960
gaggaagaaa ggagaccata ccctcatgat gaagagcttg aagtactgat ggcagcagaa 4020
gcccaggcag agcccaagga tggctctcca gatgctccag ctaccctga gaaagaagag 4080
gttccattct cagaatataa aacagaaacc tacgacgatt acaaagatga gaccaccatt 4140
gatgactcca ttatggatgc cgacagcctg tgggtggaca ctcaagatga tgatagaagc 4200
atcttgacag agcagttaga aactattcct aaagaggaga gagctgagaa ggaagctcgg 4260
agaccgtctc tcgagaaaca tagaaaagaa aaacctttta aaactgggag aggcagaatt 4320
tccactcctg aaagaaaagt agctaaaaag gaacctagca cggtctccag ggatgaagtg 4380
agaaggaaaa aagcagttta taagaaggct gaacttgcta aaaaatcaga agttcaggcc 4440
cactctcctt ccaggaaact cattttaaaa cctgctatca aatacactag accaactcat 4500
ctctcctgtg ttaagcggaa aaccacagca acaagtggtg aatcagctca ggctcccagt 4560
gcgtttaaac aggcgaagga caaagtcact gatggaataa ccaagagccc agaaaaacgt 4620
tcttcctcc caagaccttc ctccatctc cctcctcgca ggggcgtatc aggagacagg 4680
gaggagaact cgttctctct gaacagctcc atctcttcag cacgacggac caccaggtca 4740
gaaccaattc gcagagcagg aaaaagcggc acctcaacac ctactacccc tggatctact 4800
gcaatcacc ctggcactcc tccaagctac tcttcacgta cccaggcac cctggaacc 4860
ccgagctatc ccaggacacc aggaaccccc aaatttggca tcttggtgcc cagtgagaag 4920
aaagttgcca tcattcgcac tcctccaaag tccccagcta ctcccaagca gcttcggctc 4980
attaaccaac ctctgccaga cctgaagaac gtcaagtcca aaatcggatc aaccgacaac 5040
atcaaatacc agcctaaggg gggtcaggta caaattgtta ctaagaagat agacttaagc 5100
catgtgactt ccaaatgtgg ctctctaaag aacatccgtc acaggccagg tgggtggacgc 5160
gtgaagattg agagtgtaaa gctggatttc aaggagaagg cccaagctaa agttggctca 5220
cttgacaatg ctccatgt acctggaggt ggtaacgtga agattgacag ccaaaagctg 5280
aacttccgag agcatgcaaa ggcccgcgtc gaccacgggg ctgagatcat cacacagtcg 5340
ccaagcaggt caagcgtggc gtctccccgg cgactcagca atgtctctc ttctggaagc 5400

atcaacctgc tcgaatcccc tcagctggcc actttggctg aggacgtcac tgcggcgctc 5460
gctaagcagg gcttgtga 5478

<210> 362
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sonda para Map2

<400> 362
tgtggtgcct ttccttcgctc 20

<210> 363
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sonda para Map2

<400> 363
gctgcctctg tgagtgagggc 20

<210> 364
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sonda para Map2

<400> 364
tccttcatct ctggcgagtg 20

<210> 365
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sonda para Map2

<400> 365
cggctcagcc cttcccctga 20

<210> 366
<211> 18
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sonda para Map2

<400> 366
tccttctgt atggaat 18

<210> 367
<211> 20

```

<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sonda para Map2

<400> 367
gacccgtgct ccccaaaggc 20

<210> 368
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sonda para Map2

<400> 368
ttctctttgg tatctgaata 20

<210> 369
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sonda para Map2

<400> 369
tcagctgagg tcagctctcc 20

<210> 370
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sonda para Map2

<400> 370
cttgagaca cttcctctgc 20

<210> 371
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sonda para Map2

<400> 371
acagcttcag ctgtgactac 20

<210> 372
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sonda para Map2

<400> 372
tccttctctt gttcaccttt 20

```

<210> 373
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 373
 agagctgcag gctgacctt 20

<210> 374
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 374
 agattaactg tttcttcagc 20

<210> 375
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 375
 gatgctggcg atggtggtgg 20

<210> 376
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 376
 gaggcttctt ccagtgcagc 20

<210> 377
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 377
 aatttctgct gctcagggaa 20

<210> 378
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>

<223> Sonda para Map2
 <400> 378
 ttgtctaaag gctcagcgaa 20

<210> 379
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 379
 ttactttgca tcttaaactc 20

<210> 380
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 380
 ctgaaacttg tacgacggaa 20

<210> 381
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 381
 ggagttttac ttgtgtccgg 20

<210> 382
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 382
 tccatgtctt ggggatcctt 20

<210> 383
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 383
 gcaaattggac tggcaggcga 20

<210> 384
 <211> 20

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 384
 atgtcttcca ggttggtacc 20

 <210> 385
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 385
 actgttatgc ttggttctgt 20

 <210> 386
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 386
 aggggctctg cggagaggcc 20

 <210> 387
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 387
 atgaaccagt ctttctgatc 20

 <210> 388
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 388
 tcaccttct ttgattccac 20

 <210> 389
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 389
 ccaggagata ttggggcagc 20

<210> 390
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 390
 acatcttttt ccctcatggg 20

<210> 391
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 391
 tttccttccc atcttgggat 20

<210> 392
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 392
 aaggggctag gcatgggaga 20

<210> 393
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 393
 tctaaggga gagtgaaact 20

<210> 394
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 394
 ccttctgtga ctctctcatc 20

<210> 395
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>

<223> Sonda para Map2
 <400> 395
 tggaagaaga caggggcaaa 20

 <210> 396
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 396
 gtgtcctgca gagacatttt 20

 <210> 397
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 397
 gaactctctt tggaagtagc 20

 <210> 398
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 398
 gctttatctt tctgtggctc 20

 <210> 399
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 399
 tctgagacag gaacatctgc 20

 <210> 400
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 400
 ctgtgaacat ctcccagtac 20

 <210> 401
 <211> 20

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 401
 ttctccccga caaagccttc 20

<210> 402
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 402
 tctgtggtac ccttttcttc 20

<210> 403
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 403
 ctgggtgtcg aagtctcttt 20

<210> 404
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 404
 tcagtttcag tgagtgtagg 20

<210> 405
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 405
 tttgatgtct cttcaagctt 20

<210> 406
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 406
 tcttttgcca cagtttcttc 20

<210> 407
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 407
 ttatcatcctt ttaatttcaa 20

<210> 408
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 408
 tgctcgggtgg aagtctgaat 20

<210> 409
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 409
 tcgcctttct ggtcttcttt 20

<210> 410
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 410
 cagaccagc gccttcgagc 20

<210> 411
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 411
 gcccaacca gtgcttctgg 20

<210> 412
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>

<223> Sonda para Map2
 <400> 412
 gctggaggac taggctggga 20

<210> 413
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 413
 ccgcccagcc ccaagcttcg 20

<210> 414
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 414
 gatcatggcc ccggccaaag 20

<210> 415
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 415
 caggtgtggt ggggggcagg 20

<210> 416
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 416
 ggctgggaag ggtgactcgg 20

<210> 417
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 417
 ggcaggtcag gggccatgac 20

<210> 418
 <211> 20

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 418
 ctggacctgg tccctgctag 20

 <210> 419
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 419
 cacagcctcc gatgggactg 20

 <210> 420
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 420
 gaactggcga tgggagaggg 20

 <210> 421
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 421
 gccctcatca ggcttcaggg 20

 <210> 422
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 422
 ccatctggac ctccgccttc 20

 <210> 423
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 423
 tcaggctgtg gctgggtgac 20

<210> 424
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 424
 tctggagggt gtctgagcgg 20

 <210> 425
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 425
 gctcccctgg gcaggtctcc 20

 <210> 426
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 426
 agcgcacact gtgggatccc 20

 <210> 427
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 427
 tccttgggct ctgcctgggc 20

 <210> 428
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para Map2

 <400> 428
 gctggagcat ctggagagcc 20

 <210> 429
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>

<223> Sonda para Map2
 <400> 429
 tccacccaca ggctgtcggc 20

 <210> 430
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 430
 gagacggtct ccgagcttcc 20

 <210> 431
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 431
 tccctggaga ccgtgctagg 20

 <210> 432
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 432
 cgactggga gcctgagctg 20

 <210> 433
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sonda para Map2
 <400> 433
 ggaggaaggc cttgggaggg 20

 <210> 434
 <211> 1710
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sonda para STL1
 <400> 434
 atgaaggatt taaaattatc gaatttcaaa ggcaaattta taagcagaac cagtcactgg 60
 ggacttacgg gtaagaagtt gcggtatttc atcactatcg catctatgac gggcttctcc 120
 ctgtttggat acgaccaagg gttgatggca agtctaatta ctggtaaaca gttcaactat 180

ES 2 799 507 T3

gaatttccag caaccaaaga aaatggcgat catgacagac acgcaactgt agtgcagggc 240
gctacaacct cctgtrtatga attaggttgt ttcgcagggt ctctattcgt tatgttctgc 300
ggtgaaagaa ttggtagaaa accattaatc ctgatgggtt ccgtaataac catcattggt 360
gccgttattt ctacatgctc atttcgtggt tactgggcat taggccagtt tatcatcgga 420
agagtcgta cccgtgttgg aacaggggtg aatacatcta ctattcccgt ttggcaatca 480
gaaatgtcaa aagctgaaaa tagaggggtg ctggtcaatt tagaaggttc cacaattgct 540
tttggtaacta tgattgctta ttggattgat tttgggttgt cttataccaa cagttctggt 600
cagtggagat tccccgtgtc aatgcaaatc gtttttgctc tcttctgct tgctttcatg 660
attaaactac ctgaatcgcc acgttggctg atttctcaaa gtcgaacaga agaagctcgc 720
tacttggtag gaacactaga cgacgcggat ccaaattgat aggaagttat aacagaagtt 780
gctatgcttc acgatgctgt taacaggacc aaacacgaga aacattcact gtcaagtttg 840
ttctccagag gcaggtccca aaatcttcag agggctttga ttgcagcttc aacgcaattt 900
ttccagcaat ttactgggtg taacgctgcc atatactact ctactgtatt attcaacaaa 960
acaattaaat tagactatag attatcaatg atcataggtg gggcttctgc aacaatctac 1020
gccttatcta ctattgggtc attttttcta attgaaaagc taggtagacg taagctgttt 1080
ttattaggtg ccacaggtca agcagtttca ttcacaatta catttgcatg cttgggtcaaa 1140
gaaaataaag aaaacgcaag aggtgctgcc gtcggcttat ttttgttcat tacattcttt 1200
ggtttgtctt tgctatcatt accatggata taccaccag aaattgcatc aatgaaagtt 1260
cgtgcatcaa caaacgcttt ctccacatgt actaattggt tgtgtaactt tgcggttgtc 1320
atgttcaccc caatatttat tggacagtcc gggtgggggt gctacttatt ttttgcgtgt 1380
atgaattatt tataattcc agttatcttc tttttctacc ctgaaaccgc cggaagaagt 1440
ttggaggaaa tcgacatcat ctttgctaaa gcatacagg atggcactca accatggaga 1500
gttgctaacc atttgcccaa gttatcccta caagaagtcg aagatcatgc caatgcattg 1560
ggctcttatg acgacgaaat ggaaaaagag gactttggtg aagatagagt agaagacacc 1620
tataaccaa ttaacggcga taattcgtct agttcttcaa acatcaaaaa tgaagataca 1680
gtgaacgata aagcaaattt tgagggttga 1710

<210> 435
<211> 20
<212> ADN
<213> **Secuencia artificial**

<220>
<223> **Sonda para STL1**

<400> 435
gcctttgaaa ttcgataatt 20

<210> 436
<211> 20

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 436
 cagtgactgg ttctgcttat 20

<210> 437
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 437
 taccgcaact tcttaccctg 20

<210> 438
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 438
 gaagcccgtc atagatgcga 20

<210> 439
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 439
 tcaacccttg gtcgtatcca 20

<210> 440
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 440
 gttgaactgt ttaccagtaa 20

<210> 441
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 441
 tgtctgtcat gatcgccatt 20

<210> 442
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 442
 gaacctgcga aacaacctaa 20

<210> 443
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 443
 ttcaccgcag aacataacga 20

<210> 444
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 444
 tacggaacc atcaggatta 20

<210> 445
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 445
 cacgaaatgc gcatgtagaa 20

<210> 446
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 446
 tccgatgata aactggccta 20

<210> 447
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>

<223> Sonda para STL1
 <400> 447
 ttctgattgc caaacgggaa 20

<210> 448
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para STL1
 <400> 448
 gcaaccctct attttcagct 20

<210> 449
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para STL1
 <400> 449
 gcaattgtgg aaccttctaa 20

<210> 450
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para STL1
 <400> 450
 caacccaata tcaatccaat 20

<210> 451
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para STL1
 <400> 451
 cactgaacag aactggtggt 20

<210> 452
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para STL1
 <400> 452
 caggaagaga gcaaaaacga 20

<210> 453
 <211> 20

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 453
 gtggcgattc aggtagtta 20

 <210> 454
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 454
 cttctgttcg actttgagaa 20

 <210> 455
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 455
 ctgttataac ttcctcatca 20

 <210> 456
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 456
 gttaacagca tcgtgaagca 20

 <210> 457
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 457
 acagtgaatg tttctcgtgt 20

 <210> 458
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 458
 ggacctgcct ctggagaaca 20

--

<210> 459
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 459
 caatcaaagc cctctgaaga 20

 <210> 460
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 460
 gcagcgttac aaccagtaaa 20

 <210> 461
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 461
 gaataatata gtagagtagt 20

 <210> 462
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 462
 cccacctat gatcattgat 20

 <210> 463
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 463
 aatagtagat aaggcgtaga 20

 <210> 464
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>

<223> Sonda para STL1
 <400> 464
 agcttacgtc tacctagctt 20

<210> 465
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para STL1
 <400> 465
 ttgacctgtg gcaccttaata 20

<210> 466
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para STL1
 <400> 466
 gaccaagcat gcaaatgtaa 20

<210> 467
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para STL1
 <400> 467
 gcacctcttg cgttttcttt 20

<210> 468
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para STL1
 <400> 468
 ccaaagaatg taatgaacaa 20

<210> 469
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sonda para STL1
 <400> 469
 tgggtgggtat atccatggta 20

<210> 470
 <211> 20

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 470
 cgtttgttga tgcacgaact 20

<210> 471
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 471
 ccgcaaagtt acacaaccaa 20

<210> 472
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 472
 caaccggact gtccaataaa 20

<210> 473
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 473
 aattcataac agcaaaaaat 20

<210> 474
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 474
 tcagggtaga aaaagaagat 20

<210> 475
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 475
 gatgatgtcg atttcctcca 20

<210> 476
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 476
 agtgccatcc tcgtatgctt 20

 <210> 477
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 477
 ggataacttg ggcaaattggt 20

 <210> 478
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 478
 cgtcataaga gcccaatgca 20

 <210> 479
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 479
 ccaaagtcct ctttttccat 20

 <210> 480
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda para STL1

 <400> 480
 ttataggtgt cttctactct 20

 <210> 481
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>

<223> Sonda para STL1

<400> 481

ctagacgaat tatcgccggt

20

<210> 482

<211> 20

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sonda para STL1

<400> 482

cgttcactgt atcttcattt

20

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un conjunto de sondas para la hibridación *in situ* que permite la detección de moléculas de ARNm individuales en células permeabilizadas fijadas, que comprende al menos 30 sondas de hibridación de ácidos nucleicos no solapadas, marcadas individualmente con el mismo primer marcador fluoróforo de un primer color, en donde las sondas tienen secuencias complementarias de diferentes regiones de unión de sonda de una secuencia diana de una molécula individual de ARNm, y en donde las mencionadas sondas tienen de 7 a 30 nucleótidos de longitud.
- 10 2. El conjunto de sondas de la reivindicación 1, en donde el conjunto de sondas comprende de 40 a 60 sondas de hibridación de ácidos nucleicos no solapadas, marcadas individualmente con el mismo primer marcador fluoróforo de un primer color.
- 15 3. El conjunto de sondas de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde las sondas tienen secuencias complementarias de diana de 15-30 nucleótidos de longitud.
- 20 4. El conjunto de sondas de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde todas las sondas en el conjunto están marcadas con un fluoróforo en su extremo 3'.
- 25 5. Una solución de hibridación que permite la detección de moléculas de ARNm individuales en células permeabilizadas fijadas que comprenden un exceso de un primer conjunto de al menos un conjunto de sondas, en donde el conjunto de sondas comprende al menos 30 sondas de hibridación de ácidos nucleicos no solapadas, marcadas individualmente con el mismo primer marcador fluoróforo de un primer color, en donde las sondas tienen secuencias complementarias de diferentes regiones de unión de sonda de una primera secuencia diana de una molécula individual de ARNm, y en donde las mencionadas sondas tienen 7-30 nucleótidos de longitud.
- 30 6. La solución de hibridación de la reivindicación 5, en donde el conjunto de sondas comprende 40-60 sondas de hibridación de ácidos nucleicos no solapadas, marcadas individualmente con el mismo primer marcador fluoróforo de un primer color.
- 35 7. La solución de hibridación de la reivindicación 5 o 6, en donde la solución de hibridación puede comprender una mezcla de más de un conjunto de sondas marcadas, donde cada conjunto está marcado con un fluoróforo distinto.
- 40 8. La solución de hibridación de cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en donde cada sonda está incluida en el rango de 0,2-1,0 nanogramos por microlitro.
- 45 9. Un kit que permite la detección de moléculas de ARNm individuales en células permeabilizadas fijadas que comprende:
 - (a) un soporte legible por ordenador que comprende instrucciones que, cuando se ejecutan en un ordenador, hacen que el ordenador realice los siguientes pasos: obtener una pila 3-D de imágenes fluorescentes 2-D; filtrar dicha pila 3-D usando un filtro para 3-D; contar un número total de puntos 3-D en dicha pila 3-D filtrada, correspondientes a cada uno de una diversidad de umbrales de intensidad; obtener un umbral de intensidad óptimo, representativo de una región meseta, en una representación gráfica de dicho número total de puntos 3-D frente al umbral de intensidad al que se contó dicho número total; usar el número total de puntos 3-D obtenido con dicho umbral óptimo como representativo de un número de partículas fluorescentes detectadas en dicha pila 3-D; y
 - (b) el conjunto de sondas de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4.
- 50 10. El kit de la reivindicación 9, en donde dicho conjunto de sondas incluye al menos 30 sondas marcadas individualmente con un primer marcador fluorescente y al menos 30 sondas marcadas con un segundo marcador fluorescente.
- 55 11. El kit de la reivindicación 9 o 10, en donde la mencionada molécula de ARNm incluye al menos dos regiones diana, y se pueden distinguir los marcadores fluorescentes para cada región diana.
12. El conjunto de sondas de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, la solución de hibridación de cualquiera de las reivindicaciones 5-8 o el kit de cualquiera de las reivindicaciones 9-11, en donde una o más de las sondas son sondas de ADN.

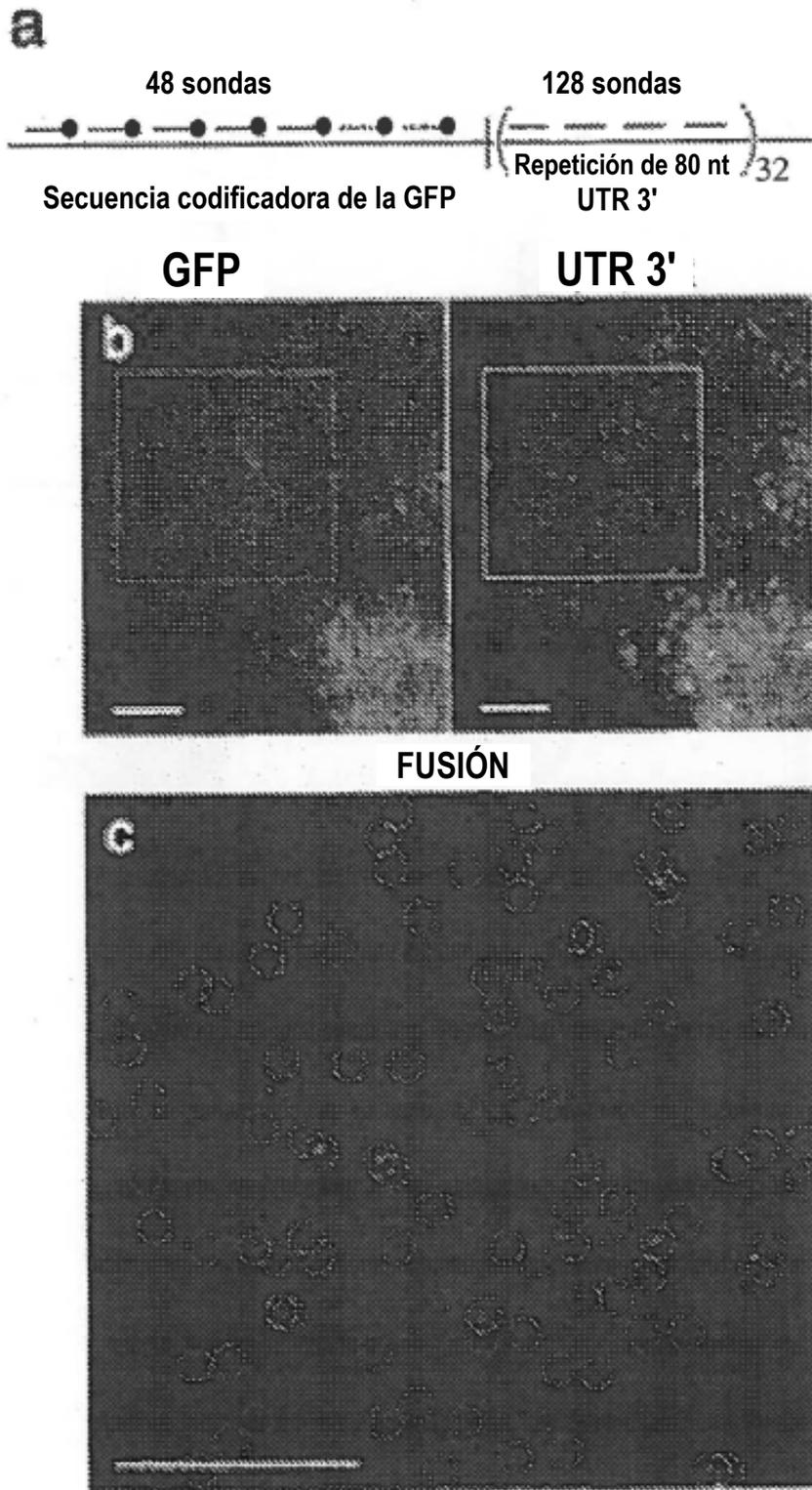


FIG. 1

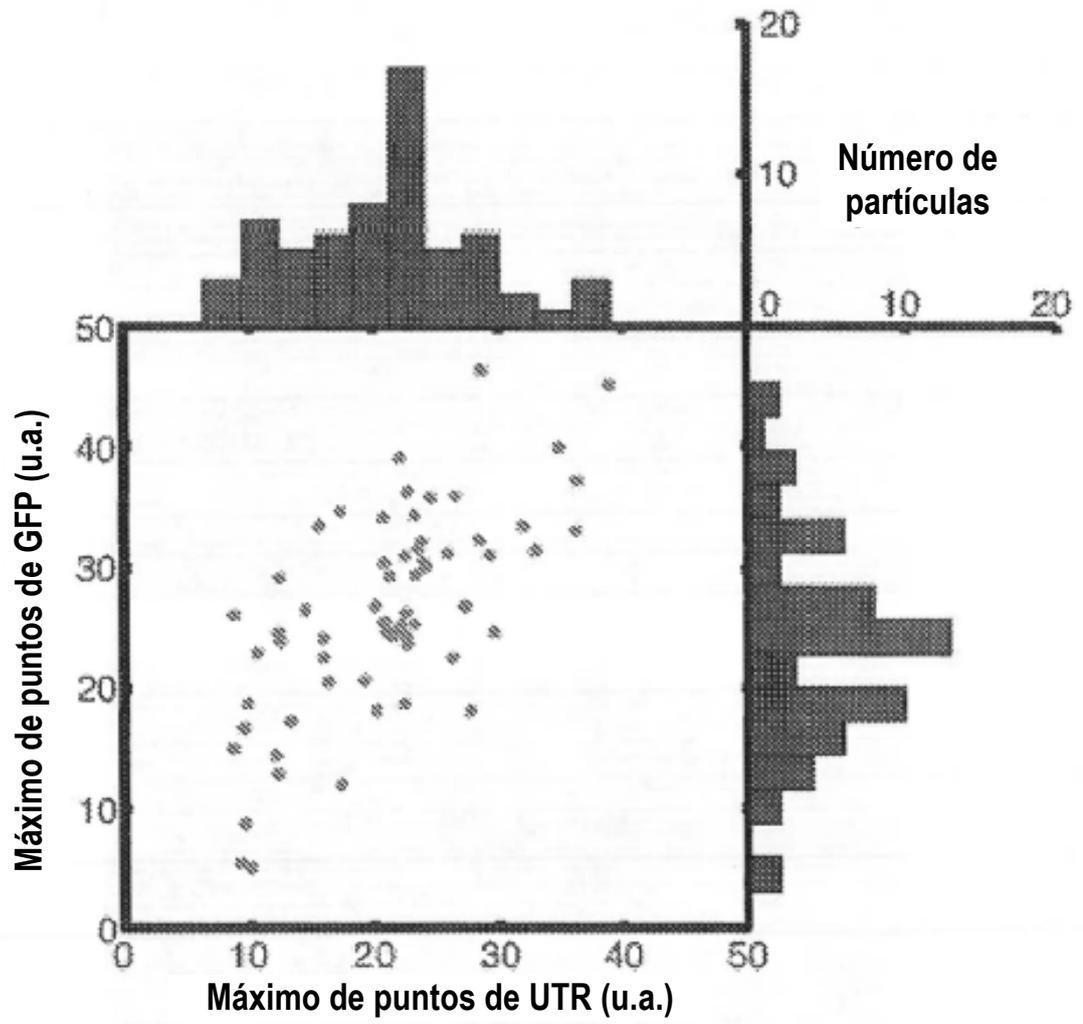


FIG. 2

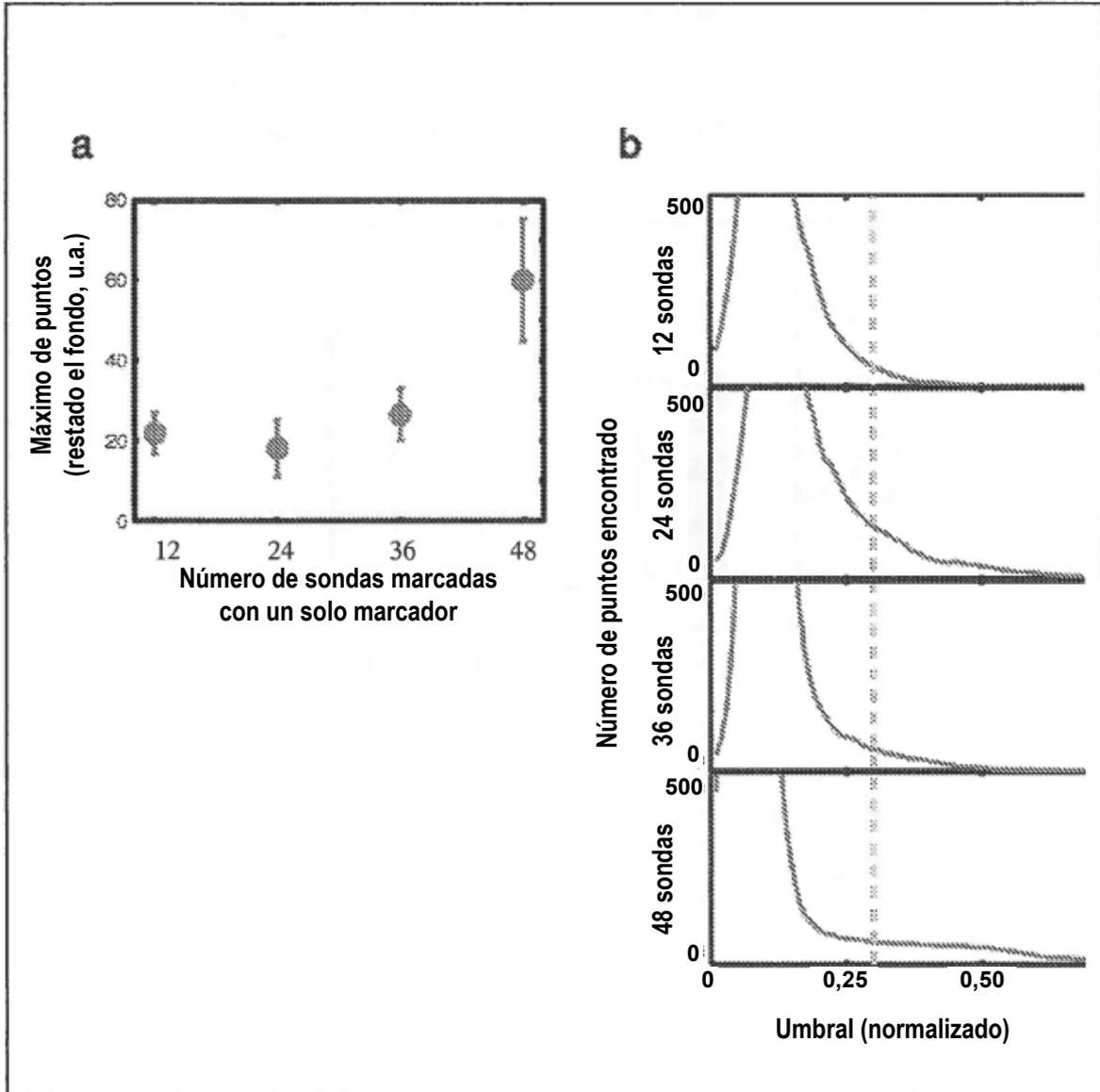


FIG. 3

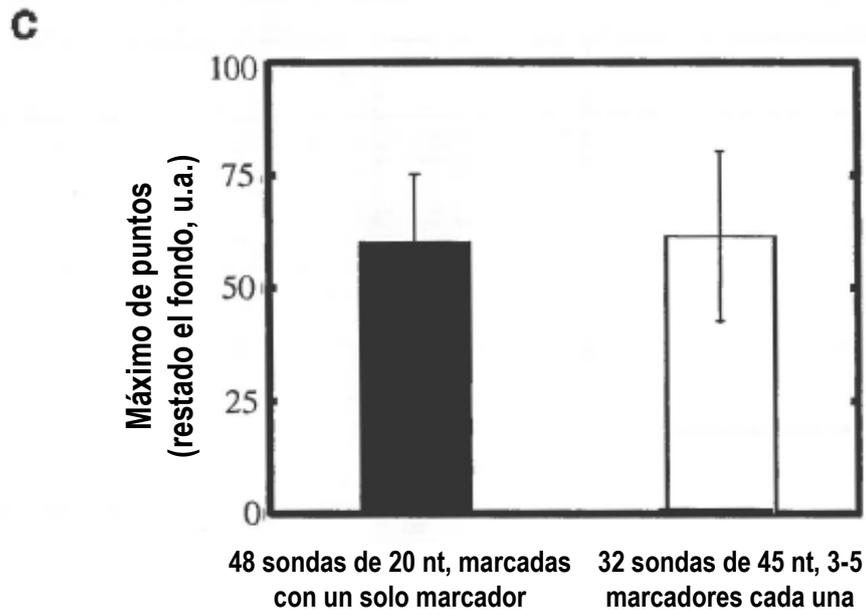
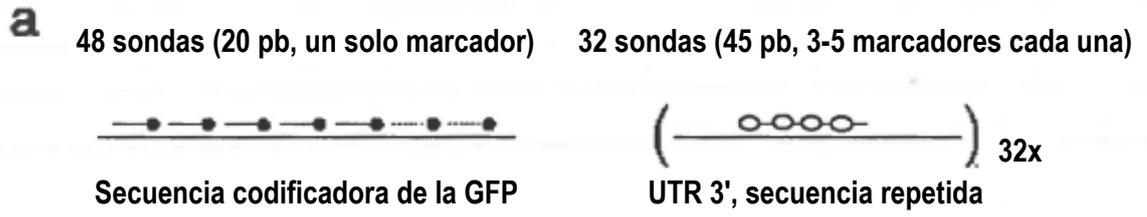


FIG. 4

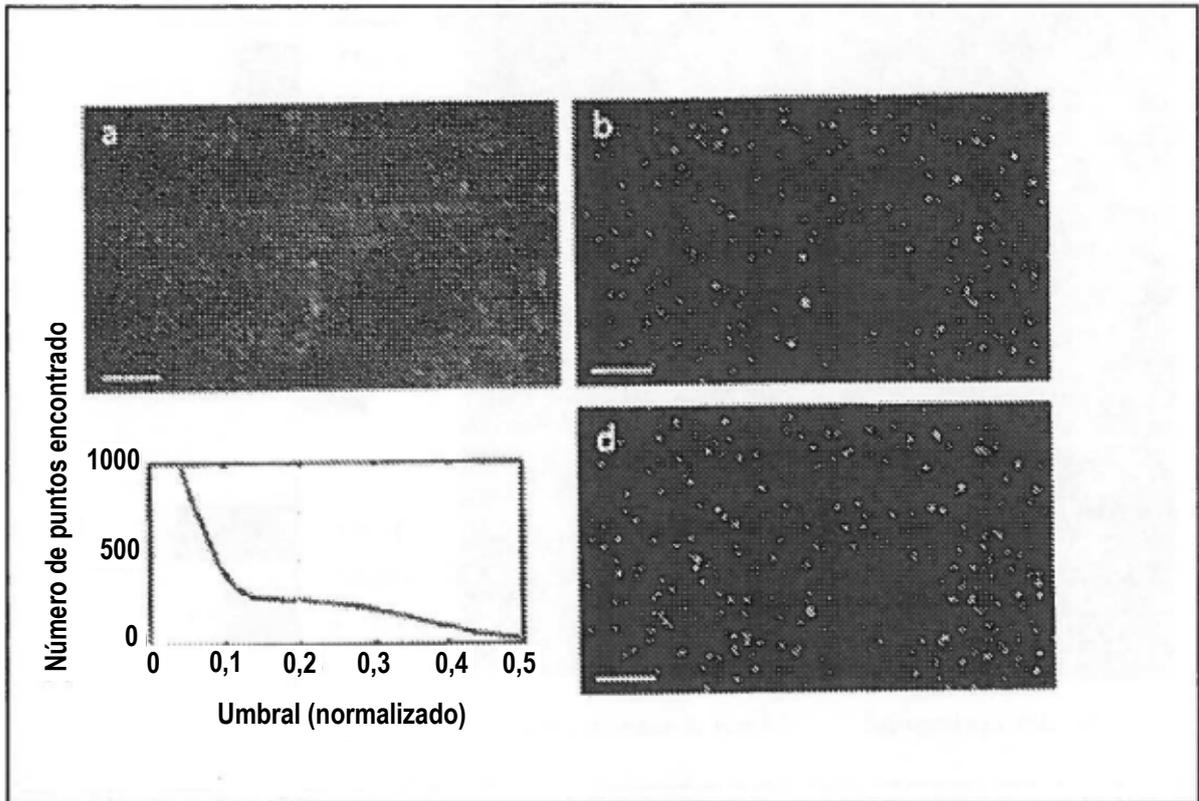


FIG. 5

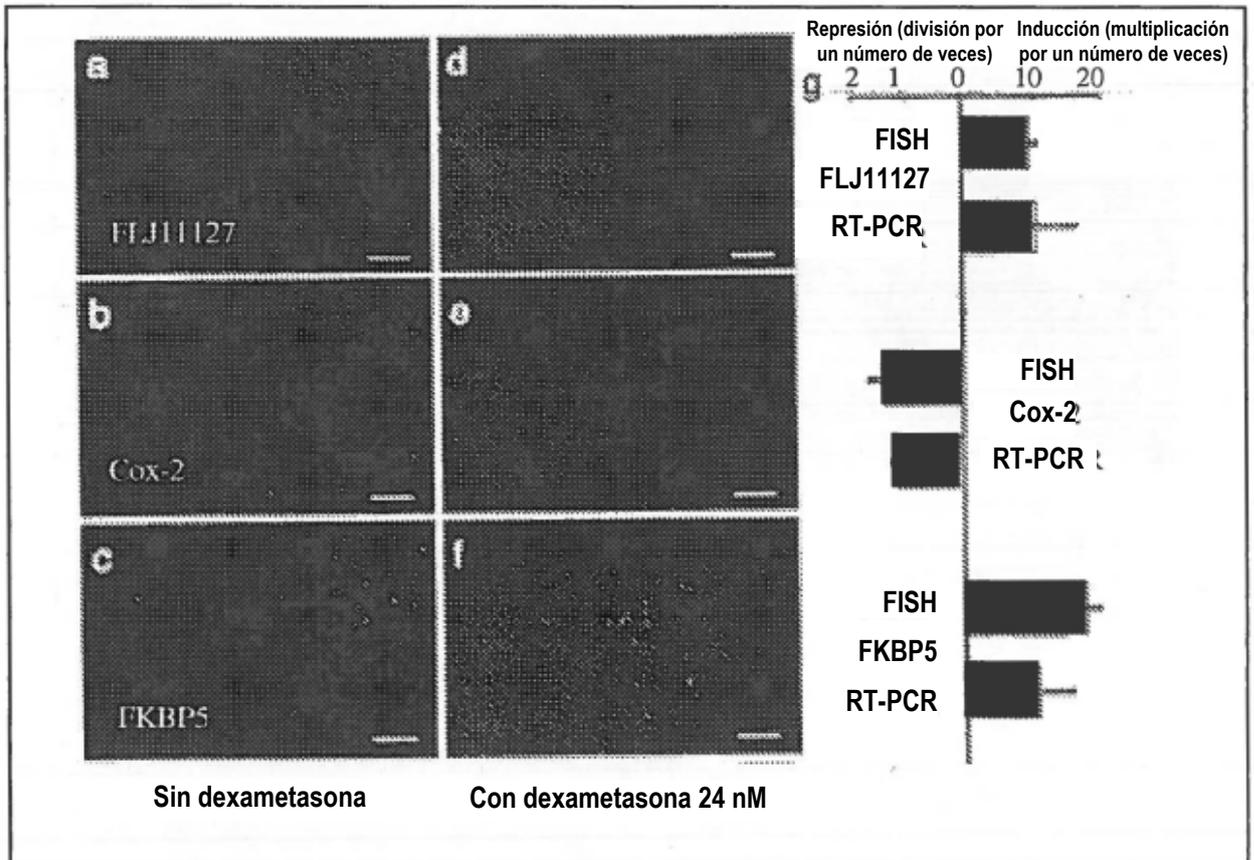


FIG. 6

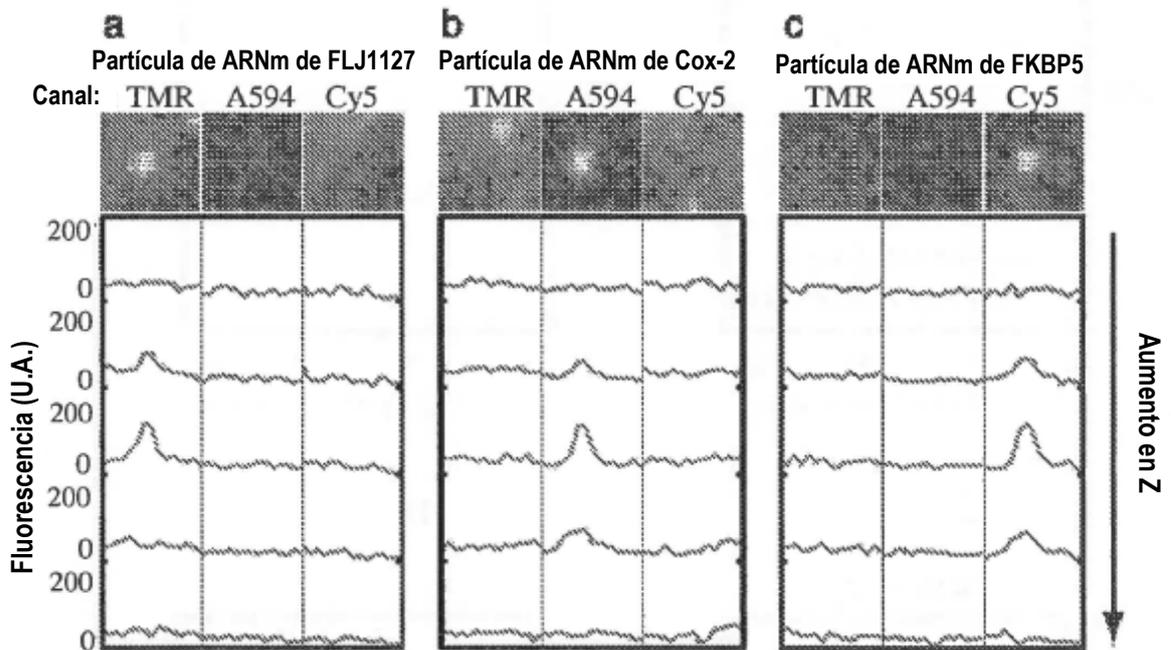


FIG. 7

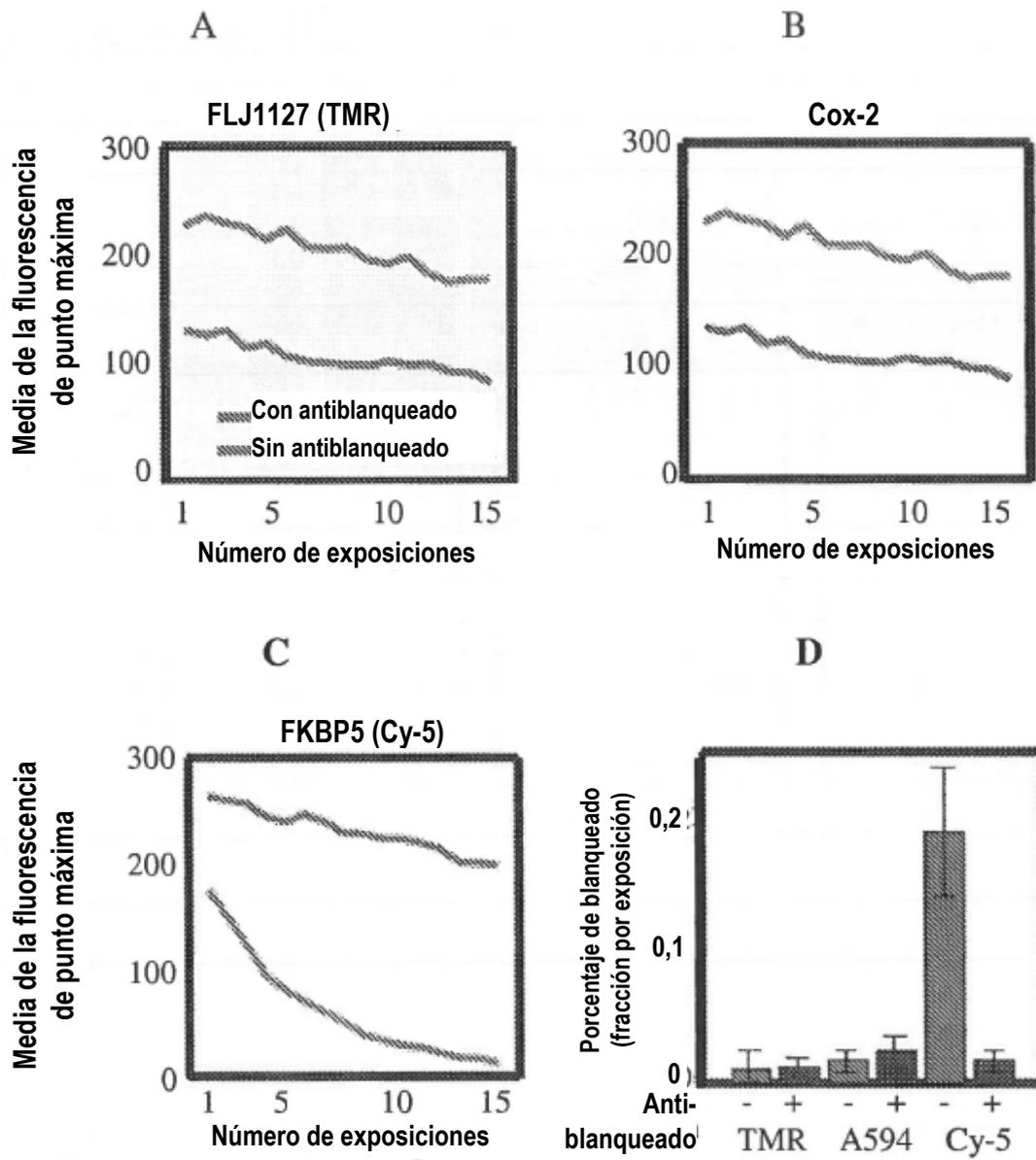


FIG. 8

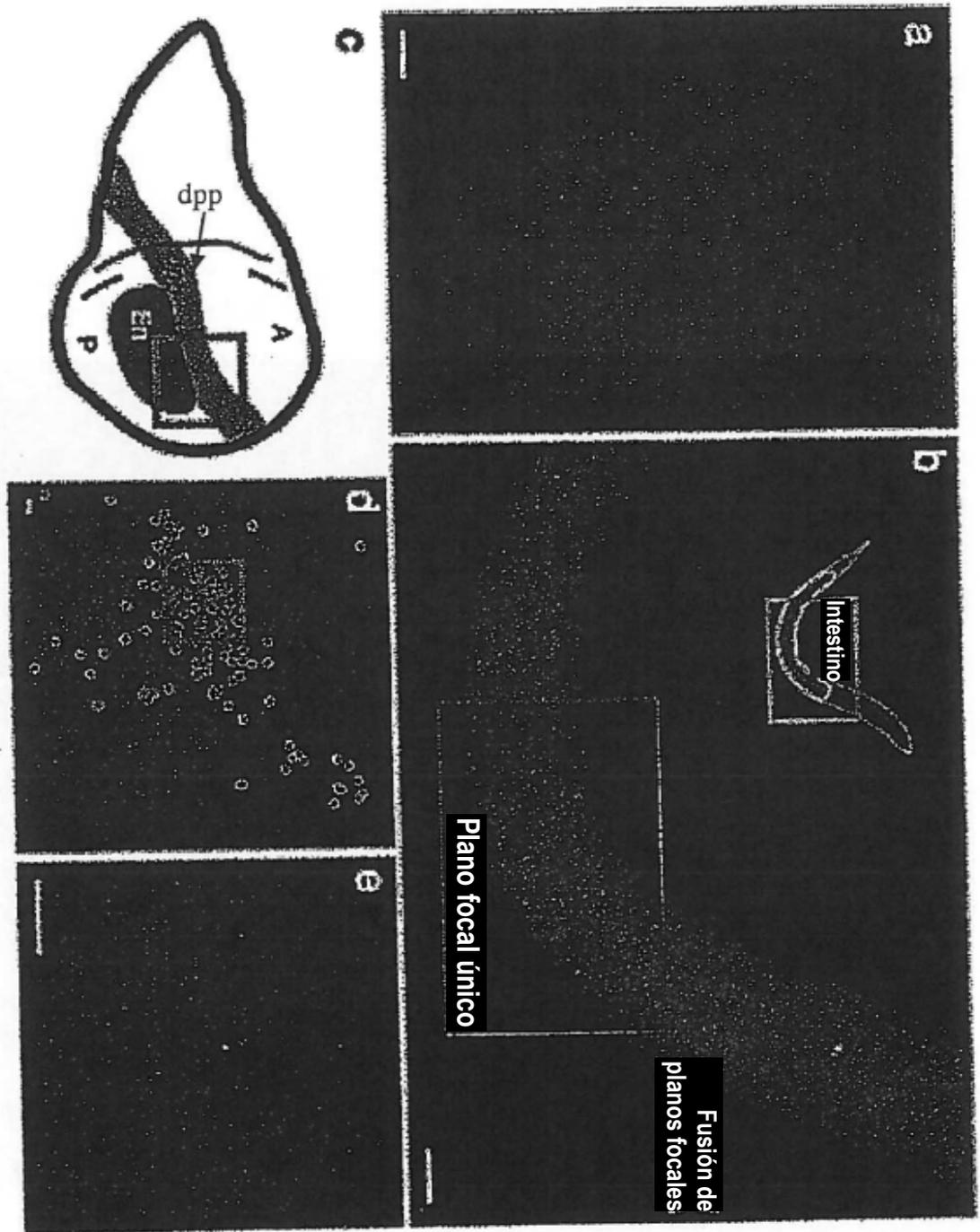


FIG. 9

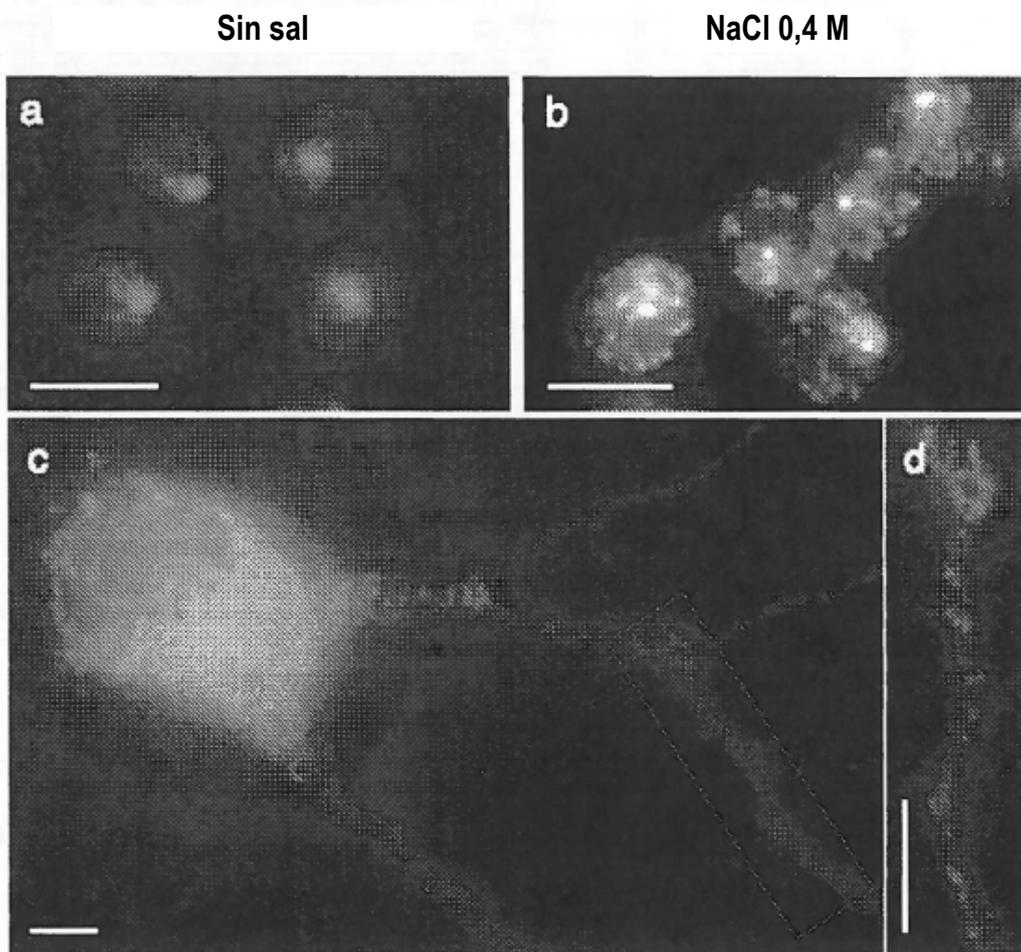


FIG. 10

A. Sondas para la secuencia multimérica repetida de la UTR 3' (4 oligonucleótidos):

TCGACGCGGAGACCACGCTC-GGCTTGTCTTTTCGCGCGCAA-TGCGACGCACGCGGATAGTT-AGCTG
AGCTGCGCCTCTGGTGCAG CCGAACAGAAAGCGCGCGTT ACGCTGCGTGCGCCTATCAA TCGAC
CGGCGACGAGGCACC
GCCGCTGCTCCGTGG

FIG. 11

B. Sondas para la β -actina (48 oligonucleótidos):

ATGGATGACGATATCGCTGCGCTCGTTCGTCGACAACGGCTCCGGCATGTGCAAGGCCGGCTTCGC
 CAGCTGTTGCCGAGGCCGTA GTTCCGGCCGAAGCC
 GGGCGACGATGCTCCCCGGGCCGTCTTCCCTCCATCGTGGGCCGCCCTAGGCACCAGGGTGTGATGGTGGGTAT
 CCCGC TACGAGGGGCCCGCAGAAG AGGTAGCACCCGGCGGGATC GTTCCACACTACCACCCAT
 GGGTCAGAAGGACTCCTACGTGGGCGACGAGGCCAGAGCAAGAGAGGCATCCTGACCCTGAAGTACCCATTGA
 CAGTCTTCTGAGGATGCAC CTGCTCCGGGTCTCGTTCTC GTAGGACTGGGACTTCATGG AACT
 ACACGGCATTGTCACCAACTGGGACGATATGGAGAAGATTGGCACCACACTTTCTACAATGAGCTGCGTGTGGC
 TGTGCCGTAACAGTGG ACCCTGCTATACCTCTTCTA CGTGGTGTGAAAGATGTTAC ACGCACCCG
 CCCTGAGGAGCACCTGTGCTGCTCACCGAGGCCCTCTGAACCCTAAGGCCAACCGTAAAAAGATGACCCAGAT
 GGGACTCCTC GGACACGACGAGTGGCTCCG AGACTTGGGATTCCGGTTGG TTTTCTACTGGGTCTA
 CATGTTTGAGACCTTCAACACCCAGCCATGTACGTAGCCATCCAGGCTGTGTTGTCCCTGTATGCCTCTGGTCCG
 GTAC CTCTGGAAAGTTGTGGGGTCCG CATGCATCGGTAGGTCCGAC ACAGGGACATACGGAGACCA
 TACCACTGGCATTGTGATGGACTCCGGAGACGGGGTACCCACACTGTGCCATCTAIGAGGGTTACGCGCTCCC
 TGGTGACCGTAACACTACCT GCCTCTGCCCCAGTGGGTGT ACGGGTAGATACTCCCAATG GAGGG
 TCATGCCATCCTGCGTCTGGACCTGGCTGGCCGGGACCTGACAGACTACCTCATGAAGATCCTGACCGAGCGTGG
 AGTACGGTAGCACC CCGTGGACCGACCGGCCCTGG CTCTGATGGACTACTTCTAG TGGCTCGCACC
 CTACAGCTTACCACCACAGCTGAGAGGGAAATCGTGCCTGACATTAAAGAGAAGCTGTGCTATGTTGCCCTAGA
 GATGTCGAA GTGGTGTGACTCTCCCTTT ACGCACTGTAATTTCTCTTC ACGATACAACGGGATCT
 CTTGAGCAAGAGATGGCCACTGCCGATCCTCTTCCCTCCCTGGAGAAGAGCTATGAGCTGCCCTGACGGTCAGGT
 GAA CGTTCTTACCGGTGACGGC GGAGAAGGAGGGACCTCTTC AACTCGACGGACTGCCAGT
 CATCACTATCGGCAATGAGCGGTTCCGATGCCCGAGGCTCTCTCCAGCCTTCTTCCCTGGGTATGGAATCCTG
 GTAGTGATAGCCGTTACTCG AGGCTACGGGGCTCCGAGAG GTCGGAAGGAAGGACCCATA TAGGAC
 TGGCATCCATGAAACTACATTCAATTCATCATGAAGTGTGACGTTGACATCCGTAAGACCTCTATGCCAACAC
 ACCGTAGGTACTTT GTAAGTTAAGGTAGTACTTC CTGCAACTGTAGGCATTTCT GATACGGTTGTG
 AGTGCTGTCTGGTGGCACCACCATGTACCCAGGCATTGCTGACAGGATGCAGAAGGAGATTACTGCCCTGGCTCC
 TCACGACA CACCGTGGTGGTACATGGGT TAACGACTGTCCCTACGTCTT CTAATGACGGGACCGAGG
 TAGCACCATGAAGATCAAGATCATTGCTCCTCCTGAGCGCAAGTACTCTGTGTGGATTGGTGGCTCTATCCTGGC
 AT GGTACTTCTAGTTCTAGTAA GGAGGACTCGGTTTCATGAG CACCTAACCCAGGATAGG G
 CTCACTGTCCACCTTCCAGCAGATGTGGATCAGCAAGCAGGAGTACGATGAGTCCGGCCCCCTCCATCGTGCACCG
 GAGTGACAGGTGGAAGGTC TACACCTAGTCGTTCTGCTCT GCTACTCAGGCCGGGGAGGT ACGTGGC
 CAAATGCTTCTAG
 GTTACGAAGATC

FIG. 11 (Cont.)

C. Sondas para COX-2 (48 oligonucleótidos):

ATGCTCGCCCGCGCCCTGCTGCTGTGCGCGGTCTGCGCTCAGCCATACAGCAAATCCTTGCTG
 CGAGCGGGCGCGGGACGACG TGTCGTTTAGGAACGAC

TTCCACCCATGTCAAACCGAGGTGTATGTATGAGTGTGGGATTTGACCAGTATAAGTGGCATTGTACCCGGAC
 AAG TTGGCTCCACATACATACTC AACTGGTCATATTCACGCTA

AGGATTCTATGGAGAAAAGTCTCAACACCGGAATTTTTGACAAGAATAAAATTATTTCTGAAACCCACTCCAAA
 ACCTCTTTTGACGAGTTGTG AAGACTTTGGGTGAGGTTT

CACAGTGCCTACATACTTACCCACTTCAAGGGATTTTGGAACGTTGTGAATAACATTCCTTTCCTTCGAAATGC
 G TGAATGGGTGAAGTTCCCTA AGGGAAGGAAGCTTACG

AATTATGAGTTATGTGTTGACATCCAGATCACATTTGATTGACAGTCCACCAACTTACAATGCTGACTATGGCTA
 TT ACACAAGTGTAGGTCTAGTG ACTGTCAGGTGGTTGAATGT ACCGAT

CAAAGCTGGGAAGCCTTCTCTAACCTCTCCTATTATACTAGAGCCCTTCTCTGTCCTGATGATTGCCCGAC
 GTTTTGACCCCTTC AATATGATCTCGGGAAGGAG

TCCCTTGGGTGTCAAAGGTAAGAAAGCAGCTTCTGATTCAAATGAGATTGTGGAAAAATTGCTTCTAAGAAGAAA
 TCCATTTTTCGTCAAGGAC ACCTAACACCTTTTTAACG TCTTCTTT

GTTTCATCCCTGATCCCAGGGCTCAAACATGATGTTTGCATTCTTGGCCAGCACTTCACGCATCAGTTTTTCAA
 CAAGTAGGGACT ACGTAAGAAACGGGTCTGTA AAGTT

GACAGATCATAAGCGAGGGCCAGCTTTCACCAACGGGCTGGGCCATGGGGTGGACTTAAATCATATTTACGGTGA
 CTGTCTAGTATTTCGC AGTGGTTGCCCGACCCGGTA TAAATGCCACT

AACTCTGGCTAGACAGCGTAAACTGCGCCTTTTCAAGGATGGAAAAATGAAATATCAGATAATTGATGGAGAGAT
 TTGAGACCG TTGACGCGGAAAAGTTCCCTA ACTACCTCTCTA

GTATCCTCCCACAGTCAAAGATACTCAGGCAGAGATGATCTACCCTCCTCAAGTCCCIGAGCATCTACGGTTTGC
 CATAGGAG TCTATGAGTCCGTCCTACT

TGTGGGGCAGGAGGTCTTTGGTCTGGTGCCTGGTCTGATGATGTATGCCACAATCTGGCTGCGGGAACACAACAG
 ACCAGACCACGGACCAGACT AGACCGACGCCCTTGTGTTG

AGTATGCGATGTGCTTAAACAGGAGCATCCGAAATGGGGTGTGAGCAGTTGTTCCAGACAAGCAGGCTAATACT
 ACGCTACACGAATTTGTCCT ACCCCACTACTCGTCAACAA TATGA

GATAGGAGAGACTATTAAGATTGTGATTGAAGATTATGTGCAACACTTGAGTGGCTATCACTTCAAACCTGAAATT
 CTATCCTCTCTGATA ATACACGTTGTGAACCTCACC TGACTTTAA

TGACCCAGAACTACTTTTTCAACAAACAATCCAGTACCAAAATCGTATTGCTGCTGAAITTAACACCCTCTATCA
 ACTGGGTCTTG AGTTGTTTGTAAAGGTCATG ACGACGACTTAAATTGTGGG

CIGGCATCCCTTCTGCTGACACCTTTCAAATTCATGACCAGAAAACAACATCAACAGTTTATCTACAACAA
 AAGTACTGGTCTTTATGTTG

CTCTATATIGCTGGAACATGGAATTACCCAGTTTGTGTAATCATTACCAGGCAAATIGCTGGCAGGGTTGCTGG
 ACGACCTTGACCTTAATGG ACAACTTAGTAAGTGGTCCG

FIG. 11 (Cont.)

TGGTAGGAATGTTCCACCCGCGAGTACAGAAAGTATCACAGGCTTCCATTGACCAGAGCAGGCAGATGAAATACCA
 TCATAGTGTCCGAAGGTAAC

GTCTTTTAATGAGTACCGCAAACGCTTTATGCTGAAGCCCTATGAATCATTGAAGAACITACAGGAGAAAAGGA
 AATTACTCATGGCGTTTGCG AGTAAACTTCTTGAATGICC TCCT

AAIGTCTGCAGAGTTGGAAGCACTCTATGGTGACATCGATGCTGTGGAGCTGTATCCTGCCCTTCTGGTAGAAAA
 TTACAGACGTCTCAAC ACCACTGTAGCTACGACACC AGGACGGGAAGACCATCTTT

GCCTCGGCCAGATGCCATCTTTGGTGAAACCATGGTAGAAGTTGGAGCACCATTCTCCTTGAAAGGACTTATGGG
 ACCACTTTGGTACCATCTTC AGAGGAACTTTCTGAATAC

TAATGTTATATGTTCTCCTGCCTACTGGAAAGCCAAGCACTTTTGGTGGAGAAGTGGGTTTTCAAATCATCAACAC
 TATACAAGAGGACGGATGAC AACCACCTCTTCACCCAAAA

TGCCTCAATTCAGTCTCTCATCTGCAATAACGTGAAGGGCTGTCCCTTTACTTCATTTCAGTGTCCAGATCCAGA
 AAGTCAGAGAGTAGACGTTA ATGAAGTAAGTCACAAGGTC

GCTCATTAANAACAGTACCATCAATGCAAGTTCTTCCCGCTCCGGACTAGATGATATCAATCCCACAGTACTACT
 TGTCAGTGGTAGTTACGTTT

AAAAGAACGTTTCGACTGAACTGTAG
 TTCTTGCAAGCTGACTTGAC

FIG. 11 (Cont.)

D. Sondas para *d2EGFP* (48 oligonucleótidos):

GCGGATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTACCCGGGTGGTGCCCATCCTGGTTCGAGCTGGACG
 CTACCACTCGTTCCCGC TCGACAAGTGGCCCCAC GGGTAGGACCAGCTCGA GC

GCGACGTAAACGGCCACAAGTTCAGCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCTGACCCTGA
 CGCTGCATTTGCCGG TCAAGTCGCACAGGCCG CCGCTCCCGCTACGGIG GCCGTTGACTGGGACT

AGTTCATCTGCACCACCGCAAGCTGCCCGTGCCCTGGCCACCCTCGTGACCACCCTGACCTACGGCGTGCAGT
 AGTAGACGTGGTGGCCG GACGGGCACGGGACCGG GGAGCACIGGTGGGACT TGCCGCACGTCA

GCTTCAGCCGCTACCCCGACCACATGAAGCAGCAGACTTCTTCAAGTCCGCCATGCCCGAAGGCTACGTCCAGG
 CGAAG GCGATGGGGCTGGTGTA CGTCGTGCTGAAGAAGT GGCGGTACGGGCTTCCG CAGGTCC

AGCGCACCATCTTCTTCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGCCGAGGIGAAAGTTCGAGGGCGACACCCTGG
 TCGCGTGGTA GAAGTTCCTGCTGCCGT TGTTCGGGCGCGGCTC TTCAAGCTCCCGCTGTG CC

TGAACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGGGCACAAGCTGGAGTACAAC
 ACTTGGCGTAGCTCG TCCCGTAGCTGAAGTTC CTGCCGTTGTAGGACCC GTTCGACCTCATGTTGA

ACAACAGCCACAACGTCTATATCATGGCCGACAAGCAGAAGAACGGCATCAAGGTGAACCTCAAGATCCGCCACA
 TGTCCGTGTTGCAGATA IACCGCTGTTCTGCTT GCCGTAGTTCACCTTGA TCTAGGCGGTGT

ACATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCCGACCCTACCAGCAGAACACCCCCATCGGGCAGCGCCCCGTGCTGC
 TGTAG CTGCCGTGCACGTCA GCTGGTGATGGTCTCT GGGGGTAGCCGCTGCCG CACGACG

TGCCGACAACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGATCACATGGTCC
 ACGGGCTGTT GATGGACTCGTGGGTCA GGGACTCGTTTTCTGGGG CTCTCGCGCTAGTGTA GG

TGCTGGAGTTCGTGACCGCCGCGGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCTGTACAAGAAGCTTAGCCATGGCTTCC
 ACGACCTCAAGCACT GCGCGCCCTAGTGAGAG TACCTGCTCGACAIGT CGAATCGGTACCGAAGG

CGCCGGAGGTGGAGGAGCAGGATGATGGCACGCTGCCCATGTCTTGTGCCAGGAGAGCGGGATGGACCGTACC
 GCCTCCACCTCCTCGTC CTACCGTGCAGCGGTA AACACGGGTCCTCTCGC ACCTGGCAGTGG

CTGCAGCCTGTGCTTCTGCTAGGATCAATGTGTAGGAATTCGTGACATGATAAGATAACATTGATGAGTTTGGACA
 GACGT ACACGAAGACGATCCTA TTACACATCCTTAAGCA TACTATTCTATGTAAC CAAACCTGT

AACCACAACCTAGAATGCAGTGAAAAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTATTGCTTTATTTG
 TTGGTGT CTTACGTCACTTTTTT AAATAAACACTTTAAAC ACGATAACGAAATAAAC

FIG. 11 (Cont.)

F. Sondas para *elt-2* (48 oligonucleótidos):

ATGGATAATAACTACAATGATAATGTCAACGGCTGGGCCGAAATGGAACCATCTCAACCAATGGG
 GTTGCCGACCCGGCTTTACC TAGAGTTGGTTACCC

AGGTCTGCGCCTACCAACTCAGAACATGGATCCACCAGAGCAAATAATGAGTCACAATTGAGTGAACCTACCGAG
 TCCAG GGATGGTTGAGTCTTGATACC TGGTCTCGTTTTATTACTCA TAACTCACTTGATGGCTC

AATGAAAATTGATAATGATTACGCATCTCCAATTGAACGGCAAAGTGTTATCACAAAGTGGCACAATAACTATGA
 TT TTAACCTGCCGTTTCACAAT TTCACCGTGTATTATTGATAC

GCCGAAAGTGGAAACTGTTACATCATTTCATCTACTGGCATAGACTACTCAAACCTTTGGAATGTTGGACCAAC
 CTTTCACCTTTGACAATGTA AAAGGTATGACCGTATCTGA TTTGAAACCTTACAACCTGG

TACCATGCAACCGTTTTATCCTCTTTACAGTGGAAATCCCGTAAACACTCTTGGAACCTTTTTCGGGATATACAAA
 ATGGTACGTTGGCAAAATAG AATGTACCTTAAGGGCATT AGAACCTTGAAAAAGCCCTA TTT

CTCCATATACGACAAACCCTCTCTGTACGACCCAGTATTCCCTACCATTAACATCCCTTCTACTTATCCAACCTGT
 GAGGTATATGCTGTTTG AGACATGCTGGGGTCATAAG GTAATTGTAGGGAAGATGAA TTGACA

GGCTCCAACCTTACGAATGCGTCAAATGCTCACAAAGTTGTGGGGCCGGGATGAAGGCAGTAAACGGAGGAATGAT
 CCGAGGTTGAATGC GCAGTTACGAGTGTTCAA CCGGCCCTACTTCCGTCATT TCCTTACTA

GTGCGTCAACTGTTCAACACCAAAAACCACGTATTCTCCTCCAGTCGCGTATAGCACTTCTTTGGGACAACCCCC
 CACGCAGTTGA TTGTGGTTTTGGTGCATAA AGGTCAGCGCAIATCGIGAA CCCIGTGGGGG

GATTCTGGAATACTTTCAGAGCAGCCAACCTGCTAAAATTGCCAAGCAATCCTCTAAAAAGTCAAGTAGCTCAA
 CTAAGACC TGGAAGTCTCGTCGGTTGAC TTAACGGTTCGTTAGGAGAT CAGTTCATCGAGTTT

TAGGGGGTCAAACGGATCTGCGTCCCGTCGGCAGGGACTTGTGTGCTCCAATTGCAATGGTACCAACACAACCTCT
 ATCC TTTGCTAGACGCAGGGCAG CCTGAACACACGAGGTTAA ACCATGGTTGTGTTGAGA

CTGGAGAAGAAATGCTGAAGGAGATCCGGTCTGCAATGCTTTCGGGCTTTACTTCAAACCTCCATCACATCCCTCG
 GA TCTTTACGACTTCTCTAG GACGTTACGAACGCCCGAAA GTTTGAGGTAAGTGTAGGGAG

GCCGACCTCAATGAAGAAAGAAGGTGCTTTACAGACAAGAAAGAGAAAATCAAAAAGCGGAGACTCTTCCACACC
 CTGGAGTTACTTCTTTCTC TTTTTCGCCTCTGAGAAGGT

ATCAACGTCACGGGCCCGAGAAAGGAAGTTTGAGAGAGCCTCTTCTTCGACCGAAAAGGCTCAAAGGTCATCTAA
 TAGTTGCAGTGCCCGGGCTC CTTCAAACCTCTCGGAGAA CTGGCTTTTCCGAGTTTCCA ATT

CCGGCGTGCGGGAAGTGCAAAGCAGACCGAGAACCTGAGCACTGCTGCCGTGCGCAGCTGCGACTGCCACATATGT
 GGCCGCACGCCCTTAC TCGTCTGGCTCTTGACTCGT TATACA

GTCACATGCCGACTTGTATCCCGTTTTCTCAGCTGCCGTCACTTGGCCAGATCAAACGTACAGTAATTACTATCA
 CAGTGTACGGCTGA AGGGCAAAGGAGTCGACGGC GAACGGTCTAGTTTGATGT

ATGGAACACTGCCGCTACAGCTGGGTTGATGATGTTCCAAACGATCAAAACTACGTGTATGCAGCAACAAACTA
 ATGTCGACCCAACCTACTACC TCGTTGTTGAT

CCGACTGGCCTAAGACCTGCCGATAACATCCAAGTTCAITGTGATGCCAGTTCAGGAIGATGAAACCAAAGCTGC
 GGCTGAC TCTGGACGGCTATTGTAGG AGTACACTACGGTCAAGTCC ACTTTGGTTTCGACG

FIG. 11 (Cont.)

GGCTCGCGATTGGAAGCGGTCGACGGAGATTCTTAA
CCGAG AAACCTTCGCCAGCTGCCTC

FIG. 11 (Cont.)

G. Sondas para FKBP5 (63 oligonucleótidos):

```

ATGACTACTGATGAAGGTGCCAAGAACAATGAAGAAAGCCCCACAGCCACTGTTGCTGAGCAGGG
TACTTCCACGGTCTTG

AGAGGATATTACCTCCAAAAAAGACAGGGGAGTATTAAGATTGTCAAAGAGTGGGAATGGTGAGGAAACGCC
TCCTTGCGG

GATGATTGGAGACAAAGTTTATGTCCATTACAAAGGAAAATTGTCAAATGGAAAGAAGTTTGATTCCAGTCATGA
CTACTAA CTGTTTCAAATACAGGT GTTCCITTTAACAGTT CTTTCTCAAACCTAAGG GTACT

TAGAAATGAACCATTTGTCTTTAGTCTTGGCAAAGGCCAAGTCATCAAGGCATGGGACATTGGGGTGGCTACCAT
ATCTTTACTTGG ACAGAAATCAGAACCCT CGGTTCAGTAGTTCCTG CTGTAACCCACCGATG

GAAGAAAGGAGAGATATGCCATTTACTGTGCAAACCAGAATATGCATATGGCTCGGCTGGCAGTCTCCCTAAAAT
CTTCTTTCCCTCTATA TAAATGACACGTTTGGT ATACGTATACCGAGCCG GTCAGAGGGATTTTA

TCCCTCGAATGCAACTCTCTTTTTTGTAGATTGAGCTCCTTGATTTCAAAGGAGAGGATTTATTTGAAGATGGAGG
AG GCTTACGTTGAGAGAAA CTCTAACTCGAGGAAGT GTTCCCTCCTCTAAATA TTCTACCTCC

CATTATCCGGAGAACCAAACGGAAAGGAGAGGGATATTCAAATCCAAACGAAGGAGCAACAGTAGAANTCCACCT
GTAATAG TCTTGGTTTGCCTTTCC CCCTATAAGTTTAGTGT TTCTCGTTGTCACTTT GTGGA

GGAAGGCCGCTGTGGTGGAAAGGATGTTTACTGCAGAGATGTGGCATTCACTGTGGGCGAAGGAGAAGACCACGA
CCTTCCGGCGAC ACCTTCCCTACAACTGA CTCTACACCGTAAGTGA CCGCTTCCCTCTTCTGGT

CATTCCAATTGGAATTGACAAAGCTCTGGAGAAAATGCAGCGGGAAGAACAATGTATTTTATATCTTGGACCAAG
GTAAGGTTAACCTTAAC TTCGAGACCTCTTTTAC GCCCTTCTTGTTACATA TATAGAACCTGGTTC

ATATGGTTTTGGAGAGGCAGGGAAGCCTAAATTTGGCATTGAACCTAATGCTGAGCTTATATATGAAGTTACT
TA CAAAACCTCTCCGTCCC GGATTTAAACCGTAAGT ATTACGACTCGAATATA TTCAATGTGA

TAAGAGCTTCGAAAAGGCCAAAGAATCCTGGGAGATGGATACCAAAGAAAAATGGAGCAGGCTGCCATTGTCAA
ATTCTCG CTTTCCGGTTTCTTAG CCTCTACCTATGGTTTC TTAACCTCGTCCGACGG CAGTT

AGAGAAGGGAAACCGTATACTTCAAGGGAGGCAAATACATGCAGGCGGTGATTGAGTATGGGAAGATAGTGTCTG
TCTCTTCCCTG TATGAAGTTCCCTCCGT TGTACGICCGCCACTAA ATACCCTTCTATCACAG

GTTAGAGATGGAATATGGTTTATCAGAAAAGGAATCGAAAGCTTCTGAATCATTTCCTTGTGCTGCTTTCTGAA
CAATCTCTACCTTATAC ATAGTCTTTTCTTAGC CGAAGACTTAGTAAAGA ACGACGGAAAGACTT

CCTGGCCATGTGCTACCTGAAGCTTAGAGAATACACCAAAGCTGTTGAATGCTGTGACAAGGCCCTTGGACTGGA
GG GGTACACGATGGACTTC TCCTTATGTGGTTTCG ACTTACGACACTGTTC AACCTGACCT

CAGTGCCAATGAGAAAGGCTTGTATAGGAGGGGTGAAGCCAGCTGCTCATGAACGAGTTTGTGTCAGCCAAGGG
GTCACGG CTCTTCCGAACATATC CCCACTTCGGGTCGACG ACTTGTCAAACCTCAGT TTCC

TGACTTTGAGAAAGTGTGGAAGTAAACCCCAAGAATAAGGCTGCAAGACTGCAGATCTCCATGTGCCAGAAAAA
ACTGAAACTCTT CGACCTTCATTTGGGGG TATTCCGAGTCTGAC TAGAGGTACACGGTCTT

GGCCAAGGAGCACACGAGCGGGACCGCAGGATATACGCCAACATGTTCAAGAAGTTTGCAGAGCAGGATGCCAA
CCGGTTCCTCGTGTTC CCCTGGCGTCTATATG TTGTACAAGTCTTCAA TCTCGTCTACGGT
    
```

FIG. 11 (Cont.)

GGAAGAGGCCAATAAAGCAATGGGCAAGAAGACTTCAGAAGGGGTCACTAATGAAAAAGGAACAGACAGTCAAGC
CC TCCGGTTATTTTCGTTAC TTCTTCTGAAGTCTCC GTGATTACTTTTTCTT TGCAGTTCG
AATGGAAGAAGAGAAACCTGAGGGCCACGTATGA
TTACCTT CTCTTTGGACTCCCGGT

FIG. 11 (Cont.)

H. Sondas para FLJ11127 (53 oligonucleótidos):

```

ATGGCGGGCGACAAGGAGCCCCACGCGGGCAAGGGAGCGGGAGCGGICTGGCGCTCCCGCCGCAGG
TTCCTCGGGGTGCGCCC      CCCTCGCCCTCGCCAGA      CGAGGGCGGGCGTCC

AAGTGACCAAGTTCACCTCCTGGATGCTAGCTACAAGCCAAAGCCTTAGACACTGICTGGAGAATGGCAAAAGGCTT
TTC      GGTTC AAGTGAGGACCT      ATCGATGTTCCGGTTCGG      CTGTGACAGACCICTTA      TTTTCCGAA

TGTGATGTTGGCAGTTTCATTTCCTGGTGGCTGCCATCTGCTACTTCCGGAGGCTACATTTATATTAGGGGCACAA
ACACTACA      GTC AAAGTAAAGACCAC      CGGTAGACGATGAAGGC      CGATGTAAATATAAGTC      TGTT

GCTGAAATGGTGGATTGGATATCTGCAGAGAAAAATCAAAAAGGAACCTCAGTGTGGAGGSCAGAGGTTGATTTAAT
CGACTTTACCACC      CCTATAGACGTCCTTT      GTTTTCTTGGAGTCAC      TCCGCTCCAACATAAT

CAGTTATTGTGCAAGAGAATGGAAAGGAGAGACACCCCGTAACAAGCTGATGAGGAAGGCTTATGAGGAGCTATT
TCAATAACACGTTCTCT      CTTTCTCTCTGTGGGG      TGTTGACTACTCCTTC      ATACTCCTCGATAA

TTGGCGGCATCACATTAATGTGTTTCGACAAGTAAGGAGAGATAACTATGATGCTCTCAGATCAGTGTATTTC A
AAC      CGTAGTGTAATTTACAC      CTGTTCAATCCTCTCTA      ATACTACGAGAGTCTAG      CAATAAAGT

GATATTCAGCCAGGGCATCTCTTTTTCCATCATGGATGAAAAGAAAAGGACATTGTTAAGCTTCTGAAAAACTGCT
CTATAAGT      TCCCGTAGAGAAAAGGT      ACCTACTTCTTTTCT      ACAATTCGAAGGACTTT      ACGA

GTTTTCAACAAGGTTGTAATTGGATTTCAGCAGTACAGTTTTGGTCTGAGAAGTATACAGGCTCGAATGTGTTTGG
CAAAAGTGTTCCA      TTAACCTAAGTCGTCAT      AAAACCAGGACTCTTCA      GTCGGAGCTTACACAAA

AAAAC TACGGAAATATGTGGAATTATTGAAAACACAGTGGACTGAATTTAATGGCATTAGAGATTATCACAAAGAG
TTTGATGCCTTTATACA      TAATAACTTTTGTGTCA      GACTTAAATTACCGTAA      CTAATAGTGTCTC

AGGAAGTATGTGCAACACCCTTTTTTTCAGATGCCATTCTGGAATATAAACTTTATGAAGCTTTAAAGTTCATCAT
TCC      ATACACGTTGTGGGAAA      GTC TACGGTAAGACCTT      TTTGAAATACTTCGAAA      CAAGTAGTA

GCTGTATCAAGTCACTGAAGTTTATGAACAAATGAAGACTAAAAGGTCATTCCAGICTTTTTAGACTCCTGTT
CGACATAG      AGTGACTTCAAATACTT      TACTTCTGATTTTTCCA      AGGGTCAGAAAAATCTG      ACAA

TTCCAGGGAGACATCCTCTGATCCTTTGAGCTTCAIGATGAATCACCTGAATTCTGTAGGGCGACACATGTGGACT
AAGGTCCCTCTGT      AGACTAGGAAACTCGAA      CTACTTAGTGGACTTAA      ATCCGCTGTGTACACCT

AGAGCAGATTGATATGTTTATACTTTGGATACTCCCTTGAAGTAAAGATAAAAGTGTTTCAGACIGTTCAAGTTTAA
GTGCTCTAACTATACAA      TGAACCTATGAGGGAAC      ATTTCTATTTTACAGAAG      GACAAGTTCAAATT

CTCCAGAGACTTTGAAGTCTGCTACCCAGAGGAGCCTCTCAGGGACTGGCCGGAGATCTCCCTGCTGACCGAGAA
GAG      TCTGAAACTTCAGACGA      GTC TCTCGGAGAGTCC      ACCGGCCTCTAGAGGGA      CTGGCTCTT

CGACCGCCACTACCACATTCAGTCTTTTTAA
GCTGGCGG      TGGTGTAAAGGTCAGAAA
    
```

FIG. 11 (Cont.)

GCCACCTGTTGCTGATGACAGCCAACCCGTAACCAGACAGTCAACTTGAAGACAIGGGGTACTGTGTGTTCAA
 CAAGTACACAGTCCCTCTCCCATCGCCAGTTCAAGACAGTGAGAATTTGTCAGGAGAGAGTGGTTCGTTTTATGA
 GGGAGAGGGTAGCGGTCAAG

AGGAACCGATGACAAAGTCCGTAGAGATTTGGCCACTGACCTTTCACATAATTGAGGTAAAACCTTGACGCTGCTGG
 AAGAGTCAAAGATGAATTCAGTCTGAGAAAGAGGCATCTCCACCCCTTCTGCTGACAAATCAGGACTGAGTAG
 GGAGTTTGACCAAGACAGGAAAGCTAATGACAAGCTGGATACTGTCCCTAGAAAAGAGCGAAGAGCATGTTGATT
 AAAAGAACATGCCAAGGAGTCAGAAGAGGTTGGGGATAAAGTAGAGCTCTTCGGATTAGGTGTAACCTATGAGCA
 AACCTCTGCCAAAGAAGTATAACAATAAAGAAACAGCACCTGAGAGAGCAGAGAAAGGTCTCAGTTCAGTGCC
 AGAGGTAGCTGAGGTAGAAACAACCACAAAAGCTGACCAAGGTCTAGATGTTGCTGCCAAGAAAGATGATCAGAG
 TCCATTAGATATAAAAGTCAGTGACTTTGGACAGATGGCTTCTGGGATGAGTGTAGATGCTGGGAAAACCATAGA
 GCTTAAGTTCGAGGTTGATCAGCAGCTGACTCTCTCATCCGAAGCACCTCAGGAAACAGATTCATTCATGGGTAT
 TGAGTCCAGCCACGTGAAGGATGGTGCCAAAGTCAGTGAAACAGAAGTCAAAGAGAAGGTGGCAAAGCCTGACTT
 GGTGCATCAGGAGGCTGTGGACAAAGAAGATCCTATGAGTCTAGTGGTGAGCATGAAAGCCTCACCATGGAGTC
 G

CCTGAAGCCTGATGAGGGCAAGAAAGAAACATCTCCAGAGACATCACTGATACAAGATGAAGTTGCCCTCAAAC
 GGACTTCGGACTACTCCCG

GTCTGTAGAAATCCCTTGCCACCTCCAGTTTCCGAAGCTGATTCATCCATTGATGAGAAGGCGGAGGTCCAGAT
 CTTCGCTCCAGGTCTA

GGAATTTATTCAGCTGCCAAGGAAGAGAGCACAGAGACTCCGGATATACCTGCCATACCTTCTGATGTCACCCA
 CC CAGTGGGT

GCCACAGCCTGAAGCAGTTGTGTCCGAACCAGCAGAGGTTGAGGTTGAGGAAGAAGAGATCGAAGCTGAGGGAGA
 CGGTGTCGGACT

ATATGACAAACTGCTCTTCCGCTCAGACACCCTCCAGATCACCGACCTGCTTGTTCAGGAAGTAGGGAGGAGTT
 GGCGAGTCTGTGGGAGGTCT

TGTGGAGACCTGCCAGGGGAGCACAAAGGTGTGGTTGAGTCCGTGGIAACCATCGAGGATGATTTTCACTACTGT
 CCTCTGGACGGGTCCCCTCG

FIG. 11 (Cont.)

AGTACAAACCACGACTGATGAGGGAGAGTTGGGATCCCACAGTGTGCGCTTTGCAGCTCCAGTTCAGCCTGAGGA
 CCTAGGGTGTACACGCGA

AGAAAGGAGACCATACCCTCATGATGAAGAGCTTGAAGTACTGATGGCAGCAGAAGCCCAGGCAGAGCCCAAGGA
 CGGGTCCGICTCGGGTTCCT

TGGCTCTCCAGATGCTCCAGCTACCCCTGAGAAAAGAAGAGGTTCCATTCTCAGAATATAAAACAGAAACCTACGA
 CCGAGAGGTCTACGAGGTCG

CGATTACAAAGATGAGACCACCATTGATGACTCCATTATGGATGCCGACAGCCTGTGGGTGGACACTCAAGATGA
 CGGCTGTCCGACACCCACCT

TGATAGAAGCATCTTGACAGAGCAGTTAGAACTATTCCCTAAAGAGGAGAGAGCTGAGAAGGAAGCTCGGAGACC
 CCTTCGAGCCTCTGG

GTCTCTCGAGAAACATAGAAAAGAAAACCTTTTAAAACCTGGGAGAGGCAGAATTTCCACTCCTGAAAGAAAAGT
 CAGAG

AGCTAAAAGGAACCTAGCACGGTCTCCAGGGATGAAGTGAGAAGGAAAAAGCAGTTTATAAGAAGGCTGAACT
 GGATCGTGCCAGAGGTCCT

TGCTAAAAAATCAGAAGTTCAGGCCCACTCTCCTTCCAGGAACTCATTTTAAAACCTGCTATCAAATACACTAG
 ACCAACTCATCTCTCCIGTGTAAAGCGGAAAACCACAGCAACAAGTGGTGAATCAGCTCAGGCTCCCAGTGCCT
 GTCGAGTCCGAGGGTCACGC

TAAACAGGCGAAGGACAAAGTCACTGATGGAATAACCAAGAGCCCAGAAAAACGTTCTTCCCTCCCAAGACCTTC
 GGGAGGGTTCGGAAG

CTCCATCCTCCCTCCTCGCAGGGGCGTATCAGGAGACAGGGAGGAGAACTCGTTCTCTCTGAACAGCTCCAATCTC
 GAGG

TTCAGCACGACGGACCACCAGGTCAGAAACCAATTCGCAGAGCAGGAAAAAGCGGCACCTCAACACCTACTACCCC
 TGGATCTACTGCAATCACCCCTGGCACTOCTCCAAGCTACTCTTCACGTACCCACAGCACCCTGGAACCCCGAG
 CTATCCCAGGACACCAGGAACCCCAAATTTGGCATCTTGGTGGCCAGTGAGAAGAAAGTTGCCATCATTCCGCAC
 TCCTCCAAAGTCCCAGCTACTCCCAAGCAGCTTCGGCTCATTAAACCAACCTCTGCCAGACCTGAAGAACGTCAA
 GTCCAAAATCGGATCAACCGACAACATCAAATACCAGCCTAAGGGGGGTCAGGTACAAATTGTTACTAAGAAGAT
 AGACTTAAGCCATGTGACTTCCAAATGTGGCTCTCTAAAGAACATCCGTCACAGGCCAGGTGGTGGACGCGTGAA
 GATTGAGAGTGTAAGCTGGATTTCAAGGAGAAGGCCCAAGCTAAAGTTGGCTCACTTGACAATGCTCACCAATGT

FIG. 11 (Cont.)

ACCTGGAGGTGGTAAACGTGAAGATTGACAGCCAAAAGCTGAACTTCCGAGAGCATGCAAAGGCCCGCGTCGACCA
CGGGGCTGAGATCATCACACAGTCGCCAAGCAGGTCAAGCGTGGCGTCTCCCCGGCGACTCAGCAATGTCTCCTC
TTC TGGAAGCATCAACCTGCTCGAATCCCCTCAGCTGGCCACTTTGGCTGAGGACGTCAC TGC GGC GCTCGCTAA
GCAGGGCTTGTGA

FIG. 11 (Cont.)

J. Sondas para STL1 (48 oligonucleótidos):

```

ATGAAGGATTTAAAATTATCGAATTTCAAAGGCCAAATTTATAAGCAGAACCAGTCACTGGGGACT
      TTAATAGCTTAAAGTTTCCG      TATTCGTCTTGGTCAGTGAC

TACGGGTAAGAAGTTGCGGTATTTCACTACTATCGCATCTATGACGGGCTTCTCCCTGTTTGGATACGACCAAGG
TGCCCAATCTTCAACGCCAT      AGCGTAGATACTGCCCGAAG      ACCTATGCTGGTTCC

GTTGATGGCAAGTCTAATTACTGGTAAACAGTTCAACTATGAATTTCCAGCAACCAAAGAAAATGGCGATCATGA
CAACT      AATGACCATTTGTCAAGTTG      TTACCGCTAGTACT

CAGACACGCAACTGTAGTGCAGGGCGCTACAACCTCCTGTTATGAATTAGGTGTGTTTCGCAGGTTCTCTATTTCGT
GTCTGT      AATCCAACAAAGCGTCCAAG      AGCA

TATGTTCTGCGGTGAAAGAATTGGTAGAAAACCATTAATCCTGATGGGTCCGTAATAACCATCATTGGTGCCGT
ATACAAGACGCCACTT      ATTAGGACTACCCAAGGCAT

TATTTCTACATGCGCATTTCGIGGTTACTGGGCATTAGGCCAGTTTATCATCGGAAGAGTCGTCACCGGTGTTGG
AAGATGTACGCGTAAAGCAC      ATCCGGTCAAATAGTAGCCT

AACAGGGTTGAATACATCTACTAITCCCGTTTGGCAATCAGAAATGTCAAAGCTGAAAATAGAGGGTTGCTGGT
      AAGGGCAAACCGTTAGTCTT      TCGACTTTTATCTCCCAACG

CAATTTAGAAGGTTCCACAATTGCTTTTGGTACTATGATTGCTTATTGGATTGATTTGGGTTGTCTTATACCAA
AATCTTCCAAGGTTAAGC      TAACCTAACTAAAACCCAAC      TGGTT

CAGTCTGTTCAGTGGAGATTCCCGTGTCAATGCAAATCGTTTTTGTCTCTTCCCTGCTTGTCTTTCATGATTAA
GTCAAGACAAGTCAAC      AGCAAAAACGAGAGAAGGAC      ATT

ACTACCTGAATCGCCACGTTGGCTGATTTCTCAAAGTCGAACAGAAGAAGCTCGCTACTTGGTAGGAACACTAGA
TGATGGACTTAGCGGTG      AAGAGTTTCAGCTTGTCTTC

CGACGCGGATCCAAATGATGAGGAAGTTA TAACAGAAGTTGCTATGCTTACGATGCTGTTAACAGGACCAAACA
ACTACTCCTCAATATTGTC      ACGAAGTGTACGACAATTG      TGT

CGAGAAACATTCACTGTCAAGTTTGTTCCTCCAGAGGCAGGTCCCAAAATCTTCAGAGGGCTTTGATTGCAGCTTC
GCTCTTTGTAAGTGACA      ACAAGAGGTCTCCGTCCAGG      AGAAGTCTCCCGAAACTAAC

AACGCAATTTTCCAGCAATTTACTGGTTGTAACGCTGCCATATACTACTCTACTGTATTATTCAACAAAACAAT
AAAGACCAACATTGCGACG      TGAIGAGATGACATAATAAG

TAAATTAGACTATAGATTATCAATGATCATAGGTGGGGTCTTCGCAACAATCIACGCCITATCTACTATTGGTTC
TAGTTACTAGTATCCACCCC      AGATGCGGAATAGATGATAA

ATTTTTCTAATTGAAAAGCTAGGTAGACGTAAGCTGTTTTTATTAGGTGCCACAGGTCAAGCAGTTTCATTAC
TTCGATCCATCTGCATTGCA      ATAATCCACGGTGTCCAGTT

AATTACATTTGCATGCTTGGTCAAAGAAAATAAAGAAAACGCAAGAGGTGCTGCCGTCGGCTTATTTTTGTTCAT
AATGTAAACGTACGAACCAG      TTCTTTTGC GTTCTCCACG      AACAAAGTA

TACATTCITTTGGTTTGTCTTTGCTATCAT TACCATGGATATACCCACCAGAAATGTCATCAATGAAAGTTTCGTGC
AIGTAAGAAACC      ATGGTIACCTATATGGGTGGT      TCAAGCAGC
    
```

FIG. 11 (Cont.)

```

-----
ATCAACAAACGCTTTCTCCACATGTACTAATTGGTTGTGTAACCTTGCGGTTGTCATGTTACCCCAATATTTAT
TAGTTGTTTGC                               AACCAACACATTGAAACGCC                               AAATA

TGGACAGTCCGGTTGGGGTTGCTACTTATTTTTTGCTGTTATGAATTATTTIATACATTCCAGTTATCTTCTTTTT
ACCTGTCAGGCCAAC                           TAAAAAACGACAATACTTAA                           TAGAAGAAAA

CTACCCTGAAACCGCCGGAAGAAGTTTTGGAGGAAATCGACATCATCTTTGCTAAAGCATAACGAGGATGGCACTCA
GAIGGGACT                                  ACCTCCTTTAGCTGTAGTAG                                  TICGTATGCTCCTACCGTGA

ACCATGGAGAGTTGCTAACCATTTGCCCAAGTTATCCCTACAAGAAGTCGAAGATCATGCCAATGCATTGGGCTC
                                TGGTAAACGGGTTCAATAGG                                ACGTAACCCGAG

TTATGACGACGAAATGGAAAAAGAGGACTTTGGTGAAGATAGAGTAGAAGACACCTATAACCAAATTAACGGCGA
AATACTGC                                TACCTTTTTCTCCTGAAACC                                TCTCATCTTCTGTGGATATT                                TTGCCGCT

TAATTCGTCTAGTTCTTCAAACATCAAAAATGAAGATACAGTGAACGATAAAGCAAATTTTGAGGGTTGA
ATTAAGCAGATC                                TTTACTTCTATGTCACTTGC

```

FIG. 11 (Cont.)